مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۰ شماره ۱ صفحه‌های ۴۳ تا ۵۰ (۱۳۹۸)
مقاله پژوهشی

اثر خیساندن بذر و محلول‌پاشی برگی ملاتونین بر برخی ویژگی‌های رشدی و گلدهی اسفناج رقم ورامین ۸۸[۱]

Effect of Seed Priming and Foliar Application of Melatonin on Growth and Flowering Characteristics of Spinach (*Spinacia oleraceae* cv. Varamin 88)

صدیقه عموزاده، فرشاد دشتی* و حسن ساریخانی[۲]

چکیده

ملاتونین مولکولی بسیار حفاظت شده است که منحصر به قلمرو حیوانی نبوده و حضور آن در گیاهان توسط بررسی‌های زیادی تایید شده است. ملاتونین در برخی گیاهان حساس به طول روز موجب تاخیر در زمان گلدهی می‌شود. ورود اسفناج به فاز زایشی موجب کاهش ارزش آن به‌عنوان یک فراورده کشاورزی می‌گردد. بنابراین، این آزمایش به‌منظور بررسی اثر ملاتونین بر برخی ویژگی‌های رشدی و گلدهی اسفناج، در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی با هشت تیمار در ۱۲ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل کاربرد خیساندن بذر و محلول‌پاشی برگ در غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. نتیجه‌های مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار خیساندن بذر با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین به‌ترتیب موجب افزایش ۷/۱۴، ۲۱/۸، ۲۲، ۲۹/۸۶، ۶۴/۷۸ و ۹۷ درصدی در سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد ریشه‌های جانبی، محتوی کلروفیل و مقدار ملاتونین درون‌زای گیاهان اسفناج نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار ملاتونین گلدهی اسفناج را به تاخیر انداخت به‌طوری که تیمار خیساندن بذر با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین موجب شد گیاهان از نظر زمان گلدهی با تعداد روز بیشتر و هم‌چنین از نظر سن فیزیولوژیکی با تعداد برگ‌های بیشتری به گل روند. این تأخیر در گلدهی با بررسی مریستم‌ها در مرحله دو تا سه برگی در سطح میکروسکوپی نیز تایید شد. بر اساس نتیجه‌ها، ملاتونین با تقویت رشد رویشی گیاه اسفناج، باعث باقی ماندن گیاه در فاز رویشی شده و انتقال به فاز زایشی را به تاخیر انداخته است.

واژه‌های کلیدی: تأخیر گلدهی، نورگاه، مریستم انتهایی، ملاتونین درون‌زا.

مقدمه

ملاتونین (*N*-acetyl-5-methoxytryptamine) با فرمول شیمیایی $C_{13}H_{16}N_2O_2$ هورمونی است که اولین بار در غده پینآل[۳] مغز خوک یافت شد و سپس حضور آن در موجودهای مختلف از جمله پروکاریوت‌ها، یوکاریوت‌های تک یاخته‌ای، قارچ‌ها، جلبک‌ها و گیاهان به اثبات رسید (۲۲). این هورمون در حیوان‌ها مسئول تنظیم خواب، رفتارهای جنسی و الگوهای شبانه-روزی[۴] می‌باشد. الگوهای شبانه‌روزی فرایندهای زیست‌شناسی هستند که طی یک چرخه ۲۴ ساعته حتی در صورت عدم نوسان نور تکرار می‌شوند (۱۹). وزن مولکولی ملاتونین ۲۳۲/۲۷ گرم بر مول می‌باشد و مقدار آن در گیاهان، بسته به گونه گیاهی و نوع بافت گیاه از چند پیکوگرم تا چند میکروگرم در گرم بافت تازه گیاهی متفاوت است. ملاتونین بیشتر به‌عنوان پیام‌رسان برای درک تاریکی عمل کرده و چون به‌تقریب در همه قلمروهای جانوری حضور دارد، به عنوان چندمنظوره‌ترین پیام زیستی در طبیعت، از آن نام برده شده است (۹، ۱۵). بررسی‌ها نشان داده است که ملاتونین افزون بر این‌که یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی در بیشتر موجودها از جمله گیاهان محسوب می‌شود، در تحریک رشد گیاه، ریشه‌زایی، به تاخیر انداختن زمان گلدهی، جلوگیری از تخریب کلروفیل و جوان ماندن گیاه نیز نقش دارد (۶). ملاتونین از نظر ساختار مولکولی

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۵

۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیاران گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (dashti1350@yahoo.com).

۳- Pineal gland ۴- Circadian rhythm

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]
[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

هم‌چون اکسین از ترکیب‌های ایندولی می‌باشد و هر دو طی مسیرهای زیست‌ساخت ویژه از تریپتوفان مشتق می‌شوند. ملاتونین در تنظیم رشد گیاهان (تحریک یا مهار رشد اندام‌هوایی و ریشه) مشابه اکسین عمل می‌نماید (۱۰).

گلدهی از مهم‌ترین رویدادهای چرخه زندگی گیاه و نشانه کلیدی گذار از فاز رویشی به فاز زایشی می‌باشد. انتقال موفقیت‌آمیز به مرحله زایشی برای گیاه از آن جهت بسیار اهمیت دارد که بقا نسل گیاه را تضمین می‌کند (۱۶). اما در بحث تولید سبزی‌های برگی هم‌چون اسفناج[1]ورود به مرحله زایشی موجب خشبی شدن بافت و افزایش تلخی و کاهش کیفیت محصول می‌گردد (۲). گزارش‌ها حاکی از این است که ملاتونین در برخی گیاهان سبب تأخیر در گل‌انگیزی شده است (۱۴).

در پژوهشی، Byeon و Back (۶) گزارش کردند که گیاهان برنج دستکاری شده ژنتیکی که دارای مقدار ملاتونین بالاتری نسبت به گیاهان شاهد بودند با یک هفته تاخیر گل دادند. گزارش شده است که کاربرد خارجی ملاتونین در گیاهان عالی می‌تواند بر مراحل اولیه انگیزش نورگاهی گلدهی اثرگذار باشد (۱۸). هم‌چنین، Murch و همکاران (۱۷ اثر تیمار ملاتونین بر مراحل بعدی توسعه گل در گیاه داتوره[2] را گزارش نمودند. اسفناج به‌عنوان گیاهی که گلدهی آن حساس به نورگاه می‌باشد در شرایط روز کوتاه (۸ ساعت روشنایی: ۱۶ ساعت تاریکی) دستکم ۶ هفته در مرحله رویشی باقی می‌ماند و فرایند گلدهی در شرایط روز بلند (۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی) آغاز می‌شود (۱۲). آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف ملاتونین و مقایسه روش‌های خیساندن بذر و محلول‌پاشی آن بر زمان گلدهی و برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گیاه اسفناج رقم ورامین ۸۸ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر ملاتونین بر ویژگی‌های رشدی و گلدهی اسفناج، در گلخانه پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی با هشت تیمار (خیساندن بذر و محلول‌پاشی با غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در سه تکرار و ۱۲ گلدان در هر تکرار انجام شد.

ملاتونین از شرکت سیگما و بذرهای اسفناج رقم ورامین ۸۸ از مرکز موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شدند. بذرهای اسفناج پس از گندزدایی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به‌مدت ۱۰ دقیقه، به دو دسته تقسیم شدند. یک دسته از آن‌ها به‌منظور تیمار خیساندن بذر با غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند (۲۶) و دسته دیگر به‌منظور اعمال تیمار محلول‌پاشی، ۲۴ ساعت درون آب مقطر قرار گرفتند و سپس در گلدان‌های یک لیتری کاشت شدند و در گلخانه با میانگین دمای روزانه ۲۰ و شبانه ۱۵ درجه سلسیوس رشد یافتند. تیمار محلول‌پاشی زمانی که گیاهچه‌ها دارای یک تا دو برگ حقیقی به‌طورکامل باز شده بودند با غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر ملاتونین اعمال شد. برای تهیه محلول اولیه، ملاتونین در یک میلی‌لیتر حلال اتانول و آب مقطر بخ نسبت ۱:۱ حل و سپس به حجم و غلظت‌های مورد نظر رسانده شد (۱۴). خیساندن بذرها در مکان تاریک و تیمار محلول‌پاشی نیز در پایان روز، در تاریکی انجام شد تا از تخریب نوری ملاتونین جلوگیری شود (۱۳). گیاهان در شرایط نورگاهی روز بلند (۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) که برای گل‌انگیزی مناسب است، پرورش داده شدند.

وزن تر و خشک ریشه و شاخساره

در مرحله چهار برگ حقیقی برای تعیین وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، در تعدادی از گلدان‌ها ابتدا قسمت هوایی گیاه از سطح خاک قطع و وزن تر آن‌ها ثبت گردید. سپس اندام هوایی و ریشه‌ها در پاکت‌های کاغذی در آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس تا ثابت شدن وزن خشک گیاه قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها به‌دست آمد.

سطح برگ و مقدار کلروفیل

برای اندازه‌گیری سطح برگ، چهارمین برگ از گیاهان باقیمانده در مرحله ۵ تا ۶ برگی جدا شد و در آزمایشگاه روی سطح صاف قرار داده شد. سپس با قرار دادن خط‌کش در سمت راست هر برگ، عکس‌برداری از فاصله ۲۰ سانتیمتری صورت گرفت. سطح برگ با نرم‌افزار Image J (نسخه u ۱/۴۳) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش Strain و Svec استفاده شد (۲۳).

۱- *Spinacia oleracea*

۲- *Datura metel* L.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

استخراج ملاتونین

نمونه‌برداری از برگ‌های به‌طورکامل باز شده (برگ چهارم)، یک ساعت پس از تاریکی صورت گرفت. مقدار ۰/۵ گرم بافت تازه گیاهی به قطعه‌های کوچک سه تا پنج میلی‌متری تقسیم و به لوله‌های آزمایش حاوی سه میلی‌لیتر کلروفرم منتقل شد و به مدت ۱۵ ساعت در تاریکی و دمای چهار درجه سلسیوس روی همزن صفحه‌ای قرار گرفتند. سپس، قطعه‌های گیاهی با ۰/۵ میلی‌لیتر کلروفرم شستشو داده و به عصاره اولی افزوده شدند و در نهایت این قطعه‌ها دور ریخته شدند. عصاره به‌دست آمده در اولتراسونیک قرار گرفت و در مرحله بعد زیر اثر خلأ، تبخیر و خشک شد. ته مانده‌های خشک شده در ۰/۵ میلی‌لیتر استونیتریل حل و از فیلتر ۰/۲ میکرومتری عبور داده شد (۵).

اندازه‌گیری ملاتونین درون‌زا با دستگاه HPLC

عصاره استخراج شده به‌دستگاه کروماتوگرافی با عملکرد بالا (Knauer 2050، آلمان) تزریق شد. از ستون C18 با جریان ۰/۲۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد و حلال شامل آب و استونیتریل به نسبت ۴۰:۶۰ بود. فعالیت با دتکتور فلورسانس با طول موج تحریک ۳۱۳ و طول موج انتشار ۳۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

بررسی زمان گلدهی و بررسی میکروسکوپی مریستم انتهایی

برای بررسی اثر ملاتونین بر زمان گلدهی، مریستم‌های انتهایی به‌صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و تعداد روز از کاشت تا گلدهی و نیز تعداد برگ‌های گیاه، زمانی که جوانه گل قابل تشخیص بود، ثبت شد.

بررسی میکروسکوپی مریستم انتهایی

به‌منظور بررسی میکروسکوپی اثر ملاتونین بر زمان انتقال مریستم از حالت رویشی به زایشی، تعداد ۵۰ مریستم انتهایی در سن فیزیولوژیکی یکسان (مرحله دو تا سه برگ حقیقی) برداشت شد، در FAA (Formaldehyde Acetic Acid Alcohol) تثبیت و در الکل ۷۰٪ نگهداری شد. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین با ضخامت ۷ تا ۱۰ میکروتوم برش‌گیری و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین انجام شد. مریستم‌ها با میکروسکوپ نوری LABOMED مدل LX50 مورد بررسی قرار گرفتند (۱).

واکاوی آماری داده‌ها

برای واکاوی داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ملاتونین و روش‌های کاربرد آن بر سطح برگ و وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد ریشه‌های جانبی، کلروفیل کل برگ، تعداد برگ در زمان گلدهی، تعداد روز تا گلدهی و مقدار ملاتونین درون‌زا گیاه معنی‌دار بود.

اثر ملاتونین بر رشد اندام هوایی اسفناج

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار سطح برگ در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین در خیساندن بذر به‌دست آمد و به‌طورکلی تیمار خیساندن بذر به‌ویژه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اثر بهتری بر افزایش سطح برگ داشت (جدول ۱). در رابطه با وزن تر و خشک اندام هوایی بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر بود. بین سطح‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر اختلاف معنی‌دار دیده نشد. در تیمارهای محلول‌پاشی تنها تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر از نظر وزن تر اندام هوایی با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد. در تیمار محلول‌پاشی در بیشتر ویژگی‌های رشدی اختلاف معنی‌دار بین عدم کاربرد و غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد.

گزارش شده که تیمار خیساندن بذر ملاتونین منجر به افزایش رشد گیاهچه، سطح برگ، ارتفاع و زیست‌توده گیاه سویا (۲۸) و هم‌چنین موجب افزایش رشد اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس، گندم و خیار (۲۱) شده است و نتیجه‌های بررسی حاضر با نتیجه‌های بررسی‌های پیشین در یک راستا است. تیمار ملاتونین به‌ویژه در شرایطی که گیاهان زیر تنش‌های زیستی

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

یا غیر زیستی هستند باعث افزایش سه تا چهار برابری رشد اندام هوایی گیاهان می‌گردد. این اثر ملاتونین مشابه با نقش اکسین در تحریک رشد اندام هوایی می‌باشد. ملاتونین و اکسین از نظر ساختاری شباهت‌ها و تفاوت‌هایی دارند و از نظر عملکردی مشابه‌اند. با توجه به تفاوت‌های ساختاری ملاتونین با اکسین، احتمال این‌که ملاتونین به‌طورمستقیم به‌عنوان اکسین عمل کند اندک است، اما ممکن است به ایندول استیک اسید متابولیزه شود و یا مقدار اکسین درون‌زای گیاه را افزایش داده و از این راه موجب افزایش رشد اندام‌هوایی گیاه گردد (۴).

اثر ملاتونین بر رشد ریشه اسفناج (وزن تر و خشک ریشه و تعداد ریشه‌های جانبی)

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاهان تیمار خیساندن بذر ملاتونین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تعداد ریشه‌های جانبی را داشتند. هم‌چنین تیمار خیساندن بذر ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش معنی‌دار تعداد ریشه‌های جانبی شدند (جدول ۱). ریشه‌ها نقش‌های مهم بسیاری در گیاهان دارند، استحکام گیاه در خاک را فراهم می‌کنند و جذب آب و ماده‌های مغذی و در بعضی موارد ذخیره‌سازی کربوهیدرات را به‌عهده دارند. بنابراین، یک سیستم ریشه توسعه یافته برای رشد سبزی‌ها و بهبود عملکرد محصول بسیار حیاتی است. شکل ساختاری ریشه توسط چندین عامل درونی و بیرونی کنترل می‌شود. اکسین به عنوان "هورمون ریشه‌زایی" شناخته شده است که نقش اصلی را در شکل دادن به معماری ریشه ایفا می‌کند (۲۰).

بررسی‌ها نشان داده است که اثر ملاتونین بر تحریک یا بازدارندگی رشد ریشه به غلظت آن بستگی دارد. تیمار با غلظت‌های بالای ملاتونین موجب کاهش رشد ریشه گندم شده است (۴). در واقع همان‌طور که غلظت‌های بالای اکسین باعث کاهش رشد ریشه می‌شود، ملاتونین نیز در غلظت‌های بالا کاهش رشد ریشه را موجب می‌شود (۲۴). در بررسی حاضر با وجود غلظت‌های بالای ملاتونین، عدم کاهش وزن تر و خشک ریشه مشاهده شد که احتمال دارد افزایش تعداد ریشه‌های جانبی تا حدودی کاهش رشد ریشه را جبران کرده باشد. سازوکار اثر ملاتونین در ریشه‌زایی تا سال‌های اخیر مبهم بود اما پیشتر گزارش شده است که ملاتونین یکی از فاکتورهای مهم در تنظیم رشد ریشه می‌باشد. پژوهشگران با بررسی‌هایی که روی گیاه برنج انجام دادند نشان دادند که ملاتونین مانع از رشد ریشه‌های اولیه می‌گردد ولی انگیزاننده تشکیل ریشه‌های جانبی و نابجا است. تیمار ملاتونین موجب فعال‌سازی ژن‌های اکسین می‌شود و از مسیری وابسته به مسیر سیگنالی اکسین رشد ریشه را تنظیم می‌نماید (۷، ۳۰).

مقدار کلروفیل برگ

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاهان تیمار شده با روش‌های خیساندن بذر و محلول‌پاشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش مقدار کلروفیل برگ شدند (جدول ۱). تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم خیساندن بذر بیشترین مقدار کلروفیل را داشتند. تیمارهای محلول‌پاشی و خیساندن بذر ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر، اثری بر مقدار کلروفیل برگ نداشتند.

ملاتونین می‌تواند با محافظت از سیستم‌های فتوسنتز و فرایندهای مرتبط با آن، منجر به تأخیر در پیر شدن گیاه شود (۱۱). هم راستا با نتیجه‌های این بررسی، گزارش شده است ملاتونین تجزیه کلروفیل را در برگ‌های سیب به تاخیر انداخته است که این اثر همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و حفظ مقدار بالایی از اسکوربیک‌اسید و گلوتاتیون در برگ‌های تیمار شده با ملاتونین نسبت به برگ‌های شاهد بوده است (۲۷). در پژوهشی، Zhang و همکاران (۲۸) بیان نمودند که ملاتونین موجب افزایش محتوای کلروفیل در گیاهچه‌های خیار زیر تنش کم‌آبی شد. ملاتونین یکی از سازوکارهای حفاظتی است که گیاهان در طی تکامل برای مقابله در برابر تنش‌ها به دست آورده‌اند که با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه موجب حفظ کلروفیل و به تاخیر افتادن پیری می‌گردد (۳۱) پژوهشگران امکان دخالت ملاتونین در تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم تجزیه کلروفیل را پیشنهاد داده‌اند (۱۳).

مقدار ملاتونین درون‌زای گیاه اسفناج

مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر با مقداهای ۰/۰۴۵ و ۰/۰۳۵ میکروگرم در گرم بافت تازه گیاهی، به‌ترتیب موجب افزایش ۹۷/۸ و ۵۳/۴ درصدی مقدار ملاتونین درون‌زا نسبت به گیاهان شاهد شدند (جدول ۱). گزارش‌های متعددی از مقدار ملاتونین درون‌زای گیاهان در سبزیجات، میوه‌ها، مغزها، گیاهان دارویی و گیاهان

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

وحشی وجود دارد. مقدار ملاتونین درون‌زای گزارش شده در گیاهان فلفل شیرین[1]ترب سفید[2] آلوئه ورا[3] و گوجه‌فرنگی[4] به‌ترتیب ۰/۰۴۲، ۰/۴۵، ۰/۵۱ و ۰/۱۱ میکروگرم در گرم بافت تازه گزارش شده است (۸، ۳) که با پژوهش حاضر در یک راستا می باشد. در بررسی حاضر تیمار خیساندن بذر ملاتونین در غلظت‌های بالا (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش مقدار ملاتونین درون‌زا و باقی ماندن این سطح بالای ملاتونین در مراحل بعدی رشد گیاه شد، اما تیمار محلول‌پاشی در هیچ یک از غلظت‌ها منجر به چنین افزایشی در مقدار ملاتونین درون‌زا نشد.

جدول ۱- اثر ملاتونین بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک اسفناج.

Table 1. Effect of melatonin on some morphological and physiological traits of spinach.

روش کاربرد Method of application	غلظت ملاتونین Melatonin concentration (Ppm)	سطح برگ Leaf area (cm^2)	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	تعداد ریشه‌های جانبی No. of lateral roots	محتوی کلروفیل کل Total chlorophyll content (mg g^{-1} F.W)	مقدار ملاتونین درون‌زا Endogenous melatonin content (µg g^{-1} F.W)
محلول‌پاشی Foliar application	صفر Control	29.20^{c}†	5.20^{c}	0.58^{b}	2.45^{a}	0.31^{a}	27.33^{c-e}	1.4^{c}	0.024^{c}
	25	29.28^{c}	5.23^{c}	0.59^{b}	2.51^{a}	0.32^{a}	28.23^{c-e}	1.65^{bc}	0.024^{c}
	50	28.89^{c}	6.20^{ab}	0.63^{ab}	2.30^{a}	0.30^{a}	30.11^{b-d}	2.07^{ab}	0.024^{c}
	100	29.42^{bc}	5.50^{bc}	0.60^{b}	2.37^{a}	0.31^{a}	32.66^{ab}	2.1^{ab}	0.025^{bc}
خیساندن بذر Seed priming	صفر Control	29.54^{bc}	5.30^{c}	0.59^{b}	2.42^{a}	0.28^{a}	26.55^{e}	1.42^{c}	0.023^{c}
	25	30.69^{bc}	5.97^{abc}	0.68^{ab}	2.31^{a}	0.30^{a}	26.95^{ed}	1.62^{bc}	0.025^{bc}
	50	33.78^{a}	6.35^{a}	0.71^{a}	2.42^{a}	0.30^{a}	30.21^{bc}	2.2^{a}	0.035^{b}
	100	31.65^{b}	6.46^{a}	0.72^{a}	2.45^{a}	0.32^{a}	34.48^{a}	2.34^{a}	0.045^{a}

†In each column, means that have at least one similar letter are not statistically significant (LSD= 5%).

†در هر ستون میانگین‌های دارای دستکم یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌دار ندارند (LSD = ۵٪).

اثر ملاتونین بر زمان گلدهی اسفناج

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین تعداد روز تا گلدهی در تیمار خیساندن بذر ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین به‌دست آمد (جدول ۲). تیمارهای خیساندن بذر ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین به‌ترتیب موجب افزایش ۹/۱۱ و ۱۷/۷۸ درصدی تعداد روز از کاشت تا گلدهی نسبت به شاهد خیساندن بذر شدند. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد گیاهان اسفناج تیمار خیساندن بذر ملاتونین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در زمان گلدهی تعداد برگ بیشتری نسبت به دیگر تیمارها داشتند. در واقع از نظر سن فیزیولوژیکی، تیمار خیساندن بذر ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین موجب شد گیاهان در سن فیزیولوژیکی بیشتری به گل روند. بین تعداد برگ دیگر تیمارها در زمان گلدهی تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

تیمار ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکرومولار ملاتونین گلدهی را در گیاه روز بلند آرابیدوپسیس به‌ویژه از نظر سن فیزیولوژیکی به تاخیر انداخته است که با نتیجه‌های این بررسی در یک راستا می باشد. با کاربرد ملاتونین تعداد برگ‌های گیاه آرابیدوپسیس در زمان گلدهی افزایش ۱۰ تا ۸ درصدی نشان دادند، یعنی گیاهان با تعداد برگ‌های بیشتری به گل رفتند (۱۴). اثر ملاتونین در

۱- *Capsicum annuum* L. ۲- *Raphanus sativus* L. ۳- *Aloe vera* L. ۴- *Solanum lycopersicum* L.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

پاسخ‌های نورگاهی گیاهان، در گیاه روزکوتاه قازیاغی[۳]نیز مشاهده شده است، به طوریکه تیمار با غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین، درصد گلدهی را کاهش داده است. البته، تیمار ملاتونین تنها هنگامی موثر بود که پیش از شروع دوره تاریکی یا در نیمه اول دوره تاریکی اعمال شد (۱۳). در پژوهشی، Zhang و همکاران (۳۰) نشان دادند که کیفیت نور بر تنظیم بیان ژن‌های آنزیم‌های مسیر ساخت ملاتونین سیب اثرگذار است، به طوری‌که نورهای آبی و قرمز دور موجب کاهش ساخت ملاتونین و کاهش ملاتونین منجر به گلدهی فصلی می‌شود. به نظر می‌رسد در بررسی حاضر تاخیر زمان گلدهی اسفناج در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر ارتباط مستقیمی با افزایش محتوای ملاتونین درون‌زای گیاه در این دو تیمار دارد.

جدول ۲- اثر ملاتونین بر تعداد برگها در زمان گلدهی و تعداد روزها از کاشت تا گلدهی اسفناج.

Table 2. Effect of melatonin on number of leaves at flowering time and number of days to flowering of spinach.

روش کاربرد Method of application	غلظت ملاتونین Melatonin concentration (Ppm)	روز تا گلدهی Days to flowering	تعداد برگ در زمان گلدهی No. of leaves at flowering time
محلول‌پاشی Foliar application	صفر Control	45.9 c†	4.62 b
	25	46.4 c	4.75 b
	50	46.4 c	5.10 b
	100	48.3 bc	4.65 b
خیساندن بذر Seed priming	صفر Control	46.1 c	4.86 b
	25	46.6 c	4.74 b
	50	50.3 b	5.50 b
	100	54.3 a	6.99 a

†In each column, means that have at least one similar letter are not statistically significant (LSD= 5%).

†در هر ستون میانگین‌های دارای دستکم یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌دار ندارند (LSD = ۵٪).

بررسی میکروسکوپی مریستم انتهایی

با توجه به نتیجه‌های جدول ۲ تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر زمان گلدهی را از نظر تعداد روز تا گلدهی به تاخیر انداختند. بنابراین، برای بررسی دقیق‌تر اثر ملاتونین بر زمان گلدهی، بررسی مریستم انتهایی در سطح میکروسکوپی در تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر در مقایسه با تیمار شاهد خیساندن بذر انجام شد. مریستم‌های مشاهده شده زیر میکروسکوپ، بر اساس مرحله پیشرفت گلدهی در دو گروه قرار گرفتند (شکل ۱). گروه I مریستم‌هایی که در مراحل اولیه گلدهی قرار داشتند و گروه II مریستم‌هایی که در مراحل پیشرفته گلدهی قرار داشته و تمایز گل رخ داده بود.

نتیجه‌های بررسی میکروسکوپی نشان داد که تیمارهای خیساندن بذر ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین موجب تأخیر در گلدهی نسبت به تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر (شاهد) شدند. در تیمار شاهد تنها ۲۸٪ از مریستم‌ها در گروه I و ۷۲٪ آن‌ها

۳- *Chenopodium rubrum*

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

در گروه II قرار داشتند که گلدهی تا مراحل پیشرفته‌ای رخ داده بود. تیمار خیساندن بذر ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین به‌طور موثری موجب به تاخیر افتادن گلدهی شد به‌طوری‌که ۶۸٪ مریستم‌ها در گروه I و ۳۲٪ آن‌ها در مراحل پیشرفته گلدهی یعنی گروه II قرار داشتند. در تیمار خیساندن بذر ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ملاتونین، ۶۴٪ مریستم‌ها در گروه I و ۳۶٪ آن‌ها در گروه II قرار داشتند.

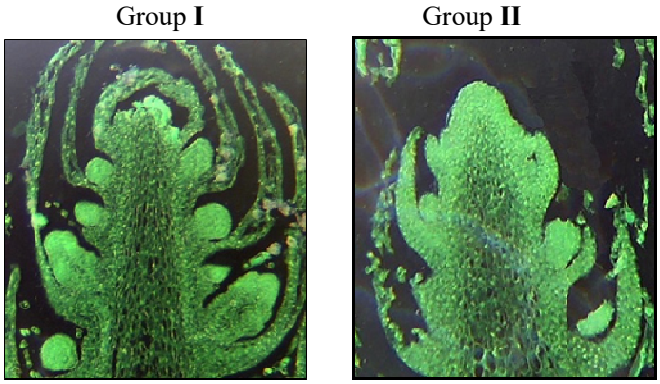

Fig. 1. Microscopic images of longitudinal cutting of spinach meristem in four leaf stage. Group I: meristems in the early stages of flowering; Group II: meristems in advanced flowering stages.

شکل ۱- تصویر میکروسکوپی برش طولی مریستم‌های اسفناج در مرحله ۲ تا ۳ برگی. گروه I: مریستم‌ها در مراحل اولیه گلدهی؛ گروه II: مریستم‌ها در مراحل پیشرفته گلدهی.

گزارش شده است افزایش بیان آنزیم Serotonin *N*-acetyltransferase (SNAT) که آخرین آنزیم در مسیر زیست‌ساخت ملاتونین می‌باشد منجر به افزایش مقدار ملاتونین درون‌زای گیاهان برنج تاریخته نسبت به گیاهان وحشی شده و گلدهی گیاهان تاریخته نسبت به گیاهان وحشی یک هفته تاخیر نشان داده‌اند (۶). بررسی‌ها نشان داده است که خیساندن بذر ملاتونین نه تنها بر تنژگی و رشد گیاه موثر است بلکه عملکرد گیاه را نیز زیر تاثیر قرار می‌دهد. این‌که تیمار خیساندن بذر ملاتونین موجب تغییر در چه مسیرهای متابولیکی می‌گردد نیاز به بررسی دارد (۱۱، ۲۵).

نتیجه‌گیری

تیمار ملاتونین موجب افزایش شاخص‌های رشدی اسفناج و مقدار کلروفیل برگ گردید. تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خیساندن بذر ملاتونین، موجب افزایش ملاتونین درون‌زای گیاه اسفناج شدند و از سوی دیگر این دو تیمار زمان گلدهی را به تاخیر انداختند. بنابراین، به نظر می‌رسد سطح‌های بالای ملاتونین، ذخایر انرژی گیاه را صرف رشد رویشی نموده و گذر به فاز زایشی را به تاخیر می‌اندازد. در این بررسی، گیاهان اسفناج در شرایط نورگاهی انگیزاننده گلدهی (روز بلند / شب کوتاه) پرورش داده شدند، بنابراین این احتمال وجود دارد که ملاتونین به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان حیاتی در گیاهان، با دخالت در ساز و کارهای مولکولی مسیر نورگاهی گلدهی، موجب تأخیر در ورود به فاز زایشی شده باشد. استفاده از ملاتونین می‌تواند در به تاخیر انداختن گلدهی اسفناج و افزایش کیفیت محصول موثر باشد. هم‌چنین، با توجه به نقش به سزایی که ملاتونین در سلامت انسان دارد، افزایش ملاتونین درون‌زا در اثر کاربرد خارجی آن، ارزش غذایی این سبزی را به‌عنوان یکی از منابع طبیعی ملاتونین برای مصرف کننده بالا می‌برد.

منابع

References

۱. چهرگانی راد، ع.، ف. محسن‌زاده و س. غفوری. ۱۳۹۱. مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Anthemis odontostephana* Boiss. var. *odontostephana* مجله پژوهش‌های گیاهی، ۵۴۴-۵۵۶: (۴)۸.

2. Abe, E., K. Fujino, K. Masuda and Y. Yamaguchi. 2014. Isolation and expression profiling of a CONSTANS-like gene and two FLOWERING LOCUS T-like genes from *Spinacia oleracea* L. Amer. J. Plant Sci. 5(25):4018-4028.
3. Arnao, M.B. and J. Hernández-Ruiz. 2018. The Potential of Phytomelatonin as a Nutraceutical. Molecules, 23(1):1-19.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

4. Arnao, M.B. and J. Hernández-Ruiz. 2017. Growth activity, rooting capacity, and tropism: three auxinic precepts fulfilled by melatonin. Acta Physiol. Plant. 39(6):127-139.
5. Arnao, M.B. and J. Hernández-Ruiz. 2009. Assessment of different sample processing procedures applied to the determination of melatonin in plants. Phytochem. Anal. 20(1):14-18.
6. Byeon, Y. and K. Back. 2014. An increase in melatonin in transgenic rice causes pleiotropic phenotypes, including enhanced seedling growth, delayed flowering, and low grain yield. J. Pineal Res. 56(4):408-414.
7. Chen, Q., W.B. Qi, R.J. Reiter, W. Wei and B.M. Wang. 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. J. Plant Physiol. 166(3):324-328.
8. Hasan, M., G.J. Ahammed, L. Yin, K. Shi, X. Xia, Y. Zhou and J. Zhou. 2015. Melatonin mitigates cadmium phytotoxicity through modulation of phytochelatins biosynthesis, vacuolar sequestration, and antioxidant potential in *Solanum lycopersicum* L. Front. Plant Sci. 601:1-14.
9. Hardeland, R. 2014. Melatonin in plants and other phototrophs: advances and gaps concerning the diversity of functions. J. Exp. Bot. 66(3):627-646.
10. Hernandez-Ruiz, J., A. Cano and M.B. Arnao. 2005. Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. J. Pineal Res. 39(2):137-142.
11. Janas, K.M. and M.M. Posmyk. 2013. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. Acta Physiol. Plant. 35(12):3285-3292.
12. Karege, F., C. Penel and H. Greppin. 1982. Floral induction in spinach leaves by light, temperature and gibberellic acid: use of the photocontrol of basic peroxidase activity as biochemical marker. J. PI Physiol. 107(4):357-365.
13. Kolář, J. and I. Macháčková. 2005. Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions. J. Pineal. Res. 39(4):333-341.
14. Kolar, J., C.H. Johnson and I. Machackova. 2003. Exogenously applied melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) affects flowering of the short-day plant *Chenopodium rubrum*. Physiol. Plant. 118(4):605-612.
15. Liang, C., A. Li, H. Yu, W. Li, C. Liang, S. Guo and C. Chu. 2017. Melatonin regulates root architecture by modulating auxin response in rice. Front. Plant Sci. 8:134-145.
16. Machacckova, I. and J. Krekule. 2002. Sixty-five years of searching for the signals that trigger flowering. Rus. J. Plant Physiol. 49(4):451-459.
17. Murch, S.J., A.R. Alan, J. Cao and P.K. Saxena, 2009. Melatonin and serotonin in flowers and fruits of *Datura metel* L. J. Pineal Res. 47(3):277-283.
18. Murch, S.J. and P.K. Saxena. 2002. Mammalian neurohormones: potential significance in reproductive physiology of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.)?. Sci. Nature. 89(12):555-560.
19. Park, W.J. 2011. Melatonin as an endogenous plant regulatory signal: debates and perspectives. J. Plant Biol. 54(3): 143-149.
20. Pelagio-Flores, R., E. Muñoz-Parra, R. Ortiz-Castro and J. López-Bucio. 2012. Melatonin regulates Arabidopsis root system architecture likely acting independently of auxin signaling. J. Pineal Res. 53(3):279-288.
21. Posmyk, M.M., M. Bałabusta, M. Wieczorek, E. Sliwinska and K.M. Janas. 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. J. Pineal Res. 46(2):214-223.
22. Sarropoulou, V.N., I.N. Therios and K.N. Dimassi-Theriou. 2012. Melatonin promotes adventitious root regeneration in in vitro shoot tip explants of the commercial sweet cherry rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus L.*), Gisela 6 (P. *cerasus*× *P. canescens*), and MxM 60 (*P. avium*× *P. mahaleb*). J. Pineal Res. 52(1):38-46.
23. Strain, H. H. and W.A. Svec. 1966. Extraction, separation, estimation, and isolation of the chlorophylls. The chlorophylls. 21-66.
24. Szafranska, K., R. Szewczyk and K.M. Janas. 2014. Involvement of melatonin applied to *Vigna radiata* L. seeds in plant response to chilling stress. Cent. Eur. J. Biol. 9(11):1117-1126.
25. Tan, D.X., R. Hardeland, L.C Manchester, A. Korkmaz, S. Ma, S.,Rosales-Corral and R.G. Reiter. 2011. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. J. Exp. Bot. 63(2):577-597.
26. Taylor, A.G., P.S. Allen, M.A. Bennett, K.J. Bradford, J.S. Burris and M.K. Misra. 1998. Seed enhancements. Seed Sci. Res. 8(2):245-256.
27. Wang, P., L. Yin, D. Liang, C. Li, F. Ma and Z. Yue. 2012. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. J. Pineal Res. 53(1):11-20.
28. Wei, W., Q. Li, Y.N. Chu, R.J. Reiter, X.M. Yu, D.H. Zhu and S.Y. Chen. 2014. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. J. Exp. Bot. 66(3): 695-707.
29. Zhang H, Wang L, Shi K, Shan D, Zhu Y, Wang C, Bai Y, Yan T, Zheng X, Kong J. 2018. Apple tree flowering is mediated by low level of melatonin under the regulation of seasonal light signal. J. Pineal Res. 30:e12551.
30. Zhang, N., B. Zhao, H.J. Zhang, S. Weeda, C. Yang, Z.C. Yang and Y.D. Guo. 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). J. Pineal Res. 54(1):15-23.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 20 (1): 43- 50 (2019)
Research article

Effect of Seed Priming and Foliar Application of Melatonin on Growth and Flowering Characteristics of Spinach (*Spinacia oleraceae* cv. Varamin 88)

S. Amoozadeh, F. Dashti* and H. Sarikhani[1]

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) is a highly conserved molecule that is not exclusive to the animal kingdom and its presence in plants has been confirmed by numerous studies. Melatonin has delayed flowering in some day-sensitive plants. When spinach enters the reproduction phase, its nutritional value is markedly reduced. This experiment was conducted to evaluate the effects of melatonin on some growth and flowering traits of spinach based on a completely randomized design with 8 treatments and 12 replications. Treatments included seed priming and foliar application of melatonin at concentrations of 0, 25, 50, and 100 mg L^{-1}. The results showed that leaf area, fresh and dry weight of shoots, the number of lateral roots, chlorophyll content, and the amount of endogenous melatonin in seed-primed plants were increased by 14.8, 21.8, 22, 29.86, 64.78, and 97%, respectively. Flowering time of plants was delayed by exogenous application of melatonin. Plants derived from seeds primed with 100 mg L^{-1} of melatonin showed greater days to flowering with higher number of leaves at this stage. This delay in flowering was confirmed at the microscopic level by examining the meristems at four-leaf stage. Based on the results of this study, it can be concluded that melatonin delayed the transition to the reproductive phase and left the plant in the vegetative phase by enhancing vegetative growth of the spinach plant.

Keywords: Delayed flowering, Photoperiod, Apical meristem, Endogenous melatonin.

1. Ph.D. Student and Associate Professors, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
*Corresponding author, Email: (dashti1350@yahoo.com).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.1.9.6]