

بررسی تغییرات رشد و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شاهی در تیمار ملاتونین برونزا

حکیمه علومی^{۱*}، فاطمه نصیبی^۲ و حسین مظفری^۱

دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۵ / ویرایش: ۱۳۹۷/۳/۱ / پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۷ / انتشار: ۱۳۹۷/۶/۲۹

^۱گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

^۲گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

*مسئول مکاتبات: h.oloumi@kgut.ac.ir

چکیده. گیاهان دارویی منابع غنی از متابولیت‌های ثانویه هستند. شاهی گیاهی واجد ترکیبات مؤثره و متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات پلی‌فنل، آنتوسیانین و فلاونوئید است که بواسطه این ترکیبات، دارای اهمیت ویژه دارویی و اقتصادی است. ملاتونین یک تنظیم‌کننده رشد است که نقش آن در افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه به ایجاد تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی منجر می‌شود. در این مطالعه اثر ملاتونین برونزا بر تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شاهی در آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار ملاتونین (۰، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) در ۳ تکرار انجام شد. پس از اعمال تیمار، میزان رشد و محتوای رنگزه‌ای، محتوای آب برگ و همچنین محتوای فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی کل تحت بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار بذریه با ملاتونین به‌ویژه در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار موجب بهبود رشد و محتوای رنگزه‌های فتوسنتزی شد. همچنین مقادیر بالای ملاتونین متابولیت‌های ثانویه گیاه از جمله آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی گیاه را افزایش داد. این تغییرات می‌تواند تأیید کننده نقش ملاتونین بعنوان تنظیم‌کننده رشد و تأثیر آن بر بهبود رشد و مقاومت گیاهی باشد.

واژه‌های کلیدی. آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، کلروفیل، کاروتنوئیدها

Investigation of the growth rate and secondary metabolites content of *Lepidium sativum* under exogenous melatonin treatment

Hakimeh Oloumi^{1*}, Fatemeh Nasibi² & Hossein Mozaffari¹

Received 16.07.2017/ Revised 22.05.2018/ Accepted 28.05.2018/ Published 20.09.2018

¹Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

²Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

*Correspondent author: h.oloumi@kgut.ac.ir

Abstract. Medicinal plants are rich sources of secondary metabolites. *Lepidium sativum* possesses active compounds and secondary metabolites, including polyphenol, anthocyanin and flavonoid compounds, which have special pharmaceutical and economic importance. Melatonin, as a bio-stimulator compound, has a regulatory role on the amount of secondary metabolites and plant tolerance facing environmental stresses. In this study, the effect of exogenous melatonin on secondary metabolites production on *Lepidium sativum* was investigated in a completely randomized design with five melatonin treatments (0, 5, 10, 50 and 100 μ M) in 3 replications. After applying each treatment, the growth rate and the content of the photosynthetic pigments, the leaf water content as well as the content of flavonoids, anthocyanins and total phenolic compounds investigated. The results indicated that seeds treated with melatonin, especially at concentrations of 50 and 100 μ M, showed improvement in the growth parameters and the content of photosynthetic pigments. High levels of melatonin also increased the plant's secondary metabolites, including anthocyanins, carotenoids and plant phenolic compounds. These effects confirm the role of melatonin as a growth regulator and its impact on plant growth and resistance.

Keywords. anthocyanins, carotenoids, chlorophyll, flavonoids, phenolic compounds

مقدمه

اثر محرک‌های زیستی در گیاه، حاصل تأثیر آنها بر متابولیت‌های گیاه است که سبب تحریک بیوسنتز فیتوهورمون‌ها، تسهیل جذب عناصر غذایی، تحریک رشد ریشه و افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌شدند (Zhang et al., 2013). در گیاهان ملاتونین به عنوان محرک زیستی شناخته شده که موجب افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود رشد و توسعه گیاه می‌شود (Tan et al., 2012). ملاتونین (N-استیل ۵-متوکسی تریپتامین) یک ترکیب ایندولی است که به‌طور طبیعی در گیاهان سنتز می‌شود (Posmyk & Janas, 2008). ملاتونین در طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی از جمله غلات، حبوبات، سبزیجات و غیره کشف شده است (Janas & Posmyk, 2013). بیشترین میزان ملاتونین در گیاهان متعلق به تیره‌های گل‌سرخیان، انگوریان، گندمیان، کرفسیان و کلمیان شناسایی شده است (Nawaz et al., 2015). شواهد متعددی از نقش حفاظتی ملاتونین در گیاهان وجود دارد. در گیاهان، ملاتونین در قسمت‌های مختلفی از جمله ریشه، هیپوکوتیل، برگ، ساقه، گل، میوه و بذر وجود دارد و بیشترین میزان ملاتونین درون‌زا در بذر مشاهده شده است (Arnao & Hernández-Ruiz, 2007). حضور ملاتونین در بذر جهت حفاظت از جنین و بافت‌های تولیدمثلی در برابر تنش اکسیداتیو ضروری است (Turk et al., 2014). ملاتونین به‌دلیل طبیعت دوگانه آبدوستی و چربی دوستی، به راحتی از عرض غشا عبور کرده و وارد سلول می‌شود (Sarropoulou et al., 2012b). اثر تحریک کنندگی و بازدارندگی ملاتونین به غلظت آن بستگی دارد (Arnao & Hernández-Ruiz, 2015). در گیاه خردل و گیلاس، غلظت ۰/۱ میلی‌مولار ملاتونین سبب تحریک رشد ریشه، افزایش تعداد و طول ریشه‌ها، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، بیوماس کل و به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی سبب افزایش محتوای پرولین و کربوهیدرات شده و غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آن از رشد گیاه جلوگیری کرد (Sarropoulou et al., 2012b). ملاتونین از لحاظ ساختاری شبیه به اکسین است. هر دو ترکیب از مشتقات ایندول آمین بوده و ملاتونین می‌تواند از طریق گیرنده‌های اکسین اثر خود را اعمال کند (Arnao & Hernández-Ruiz, 2015). ملاتونین، سبب تحریک بیوسنتز ایندول استیک اسید (IAA) شده و از این طریق رشد ریشه را تحریک می‌کند

(Bajwa et al., 2014). ملاتونین ریشه‌زایی را از طریق القای اکسین و تولید اندام هوایی را از طریق افزایش سیتوکینین تنظیم می‌کند، به همین دلیل از ملاتونین به‌منزله تنظیم‌کننده رشد گیاهی نام می‌برند (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014). در بین تمامی تنظیم‌کننده‌های رشد، ملاتونین دارای بیشترین ظرفیت آنتی-اکسیدانی است و به‌مثابه قوی‌ترین مولکول با ویژگی آنتی-اکسیدانی شناخته شده است (Zhang & Zhang, 2014). ملاتونین با کاهش واکنش فنتون، صدمات اکسیداتیو در مولکول‌های حیاتی از جمله DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها را کاهش می‌دهد (Kennaway, 2017). این ترکیب با حفظ فعالیت فتوشیمیایی غشاهای کلروپلاستی و واکنش‌های کربوکسیلاسیون در فتوسنتز و ثبات عمل‌کرد فتوسیستم II، موجب کاهش تنش اکسیداتیو می‌شود (Liu et al., 2015). شواهدی وجود دارد که تیمار دانه‌های سویا با ملاتونین، به‌طور درخور توجهی به سطح برگ گسترده‌تر، ارتفاع بیشتر و تعداد گره و دانه بیشتر در هر گیاه منجر می‌شود (Wei et al., 2014). مطالعه گیاه پنجه‌مرغی نشان داده است که کاربرد برون‌زای ملاتونین به افزایش مقاومت به تنش‌های غیرزیستی از طریق اثر بر بیان ژن‌های درگیر در متابولیسم ازت، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای تری کربوکسیلیک و متابولیت‌های ثانویه منجر می‌شود. Sarrau و همکاران (2015) در مطالعه روی تأثیر هم‌زمان ملاتونین، سالیلات و جیبرالین روی اسانس و متابولیت‌های ثانویه گیاهچه پرتقال تلخ ثابت کردند که اعمال هم‌زمان این تنظیم‌کننده‌های رشد بر فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تأثیر می‌گذارد. در مقاله‌ای مروری تحت عنوان عمل‌کرد فیزیولوژیکی ملاتونین در گیاهان به اثرات این اندول آمین بر متابولیت‌های ثانویه گیاهی اشاره شده است (Arnao & Hernández-Ruiz, 2006)، اما به‌طور کلی، مطالعات در زمینه اثرات ملاتونین بر متابولیت‌های ثانویه گیاهی بسیار محدود است. در این پژوهش اثر کاربرد ملاتونین برون‌زا بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شاهی تحت بررسی قرار گرفت. شاهی گیاهی است علفی و یک‌ساله از خانواده شب‌بوین که به‌دلیل داشتن ترکیبات دارویی و مقادیر زیاد ویتامین C مصارف خوراکی و دارویی دارد.

مواد و روش‌ها

برگ عصاره‌گیری شده در ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

$$\text{Chla} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{Chlb} = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

$$\text{Total Chl} = \text{chla} + \text{chlb}$$

$$\text{Carotenoids} = (1000A_{470} - 1.8 \text{ chla} - 85.02 \text{ chlb}) / 198$$

فلانوییدهای کل

محتوای فلانوییدی براساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید انجام شد (Toor & Savage, 2005). یک دهم گرم بافت برگ گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری و ۰/۵ میلی‌لیتر از آن با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به محلول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر NaNO_2 ۵ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۶ میلی‌لیتر AlCl_3 ۱۰ درصد اضافه شد. در نهایت ۲ میلی‌لیتر NaOH ۱ مولار و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد.

محتوای آنتوسیانین‌ها

مقدار ۰/۱ گرم برگ خشک در ده میلی‌لیتر متانول اسیدی (الکل متیلیک ۹۹/۵ درصد و کلریدریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) همگون شد. عصاره حاصل پس از ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه، به مدت ۱۰ دقیقه در $4000 \times g$ سانتریفیوژ شد. شدت جذب ۳ میلی‌لیتر از محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-Visble خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین‌ها از ضریب خاموشی معادل $\text{cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$ و فرمول $A = \epsilon bc$ استفاده شد (Wagner, 1979).

ترکیبات فنلی کل

مقدار ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاهچه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد سائیده شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول روئی، به ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب دو بار تقطیر، حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰٪ و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگه‌داری شد. سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Cary 50 خوانده شد. برای محاسبه غلظت ترکیبات فنلی از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد (Soland & Laima, 1999).

به‌منظور بررسی اثر ملاتونین بر ویژگی‌های رشدی و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شاهی، آزمایشی در سال ۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. بذرهای شاهی (*Lepidium sativum* L.) تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان به مدت ۳۰ ثانیه در هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضدعفونی و با آب مقطر شسته شدند. بذرهای در گلدان‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر حاوی ماسه بادی شسته در شرایط گلخانه کاشته شدند. یک هفته پس از سبز شدن، ۳ گیاه همسان در هر گلدان حفظ شد. آبیاری گلدان‌ها با محلول هوگند به صورت دو بار در هفته انجام شد. در هفته دوم، محلول پاشی ملاتونین روی گیاهان در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار اعمال شد. تیماردهی به صورت دو روز در میان انجام گرفت. پس از گذشت ده روز برداشت گیاهان انجام شد. رشد طولی اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد. وزن خشک نمونه‌های ریشه و اندام هوایی خشک شده با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون بررسی و گزارش شد. جهت سنجش متابولیت‌های ثانویه و رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ‌های گیاهان در نیتروژن مایع فریز و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطح برگ‌های ردیف اول و دوم گیاهان نیز با استفاده از کاغذ میلی‌متری محاسبه و میانگین آن گزارش و مقایسه شد.

محتوای آب برگ

برای محاسبه درصد نسبی آب بافت، وزن تر اندام هوایی گیاهان اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به مدت ۵ ساعت در آب دیونیز قرار گرفته و وزن حالت تورگور آنها نیز اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در فویل آلومینیمی خشک شدند. وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و RWC با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Türkan et al., 2005).

$$100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تورگور}) / \text{وزن خشک}$$

$$\text{RWC (\%)} = (\text{وزن تر} - \text{وزن خشک}) / \text{وزن تر}$$

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای سنجش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (کاروتنوئید و گزانثوفیل) با استفاده از روش استاندارد (Lichtenthaler, 1987)، مقدار جذب در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر مقدار ۰/۲ گرم از

بررسی‌های آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS تحلیل شد و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در تحلیل واریانس (ANOVA)، مقایسه میانگین-ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel (ver. 2010) انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه شاهی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین داده تیمارها در تمامی ویژگی‌های تحت بررسی بود. نتایج حاصل از تأثیر ملاتونین بر رشد طولی ریشه و اندام هوایی در شکل ۱ نشان داده شده است. طول اندام هوایی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین مقدار را نشان داد ($P < 0.05$) و در غلظت ۵ میکرومولار تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. رشد طولی ریشه نیز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار بیشترین و در تیمار شاهد و ۱۰ میکرومولار ملاتونین کمترین مقدار را نشان داد (شکل ۱).

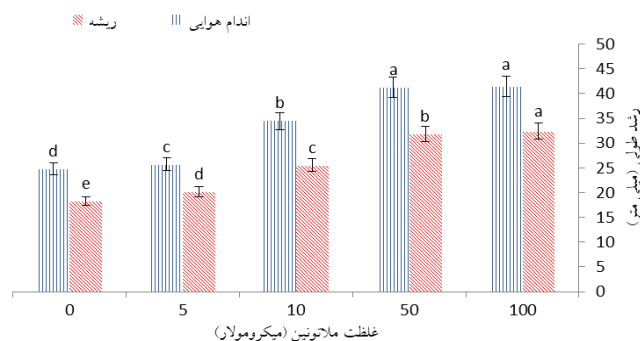
همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است محلول‌پاشی ملاتونین بر میزان بیومس و وزن خشک ریشه و اندام هوایی مؤثر بود. بیشترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد ($P < 0.05$) به‌طوری‌که در این تیمار مقدار وزن خشک اندام هوایی در حدود ۶۲٪ در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین به افزایش معنی‌دار بیومس ریشه نیز منجر شد ($P < 0.05$). غلظت ۵ میکرومولار ملاتونین تأثیر قابل توجهی بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی نداشت. ملاتونین برون‌زا تأثیر قابل توجهی بر گسترش سطح برگ در مقایسه با گیاهان شاهد نداشت (شکل ۳). در بین غلظت‌های ملاتونین به کار رفته، تیمار ۱۰ میکرومولار بیشترین تأثیر را نشان داد. بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری در میزان گسترش سطح برگ شاهی مشاهده نشد ($P < 0.05$).

در شکل ۴ نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر محتوای آب برگ آورده شده است. براساس نتایج، بیشترین محتوای آب برگی به ترتیب در گروه شاهد و تیمار ۵ میکرومولار ملاتونین به دست آمد ($P < 0.05$). غلظت ۵۰ و به دنبال آن غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۰ میکرومولار ملاتونین به کاهش معنی‌دار

محتوای آب برگی منجر شد ($P < 0.05$). تیمار ملاتونین با ضریب اطمینان ۹۵ درصد بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و کل مؤثر بود (شکل ۵). تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین به ترتیب به افزایش ۶۵ و ۶۷ درصدی کلروفیل کل در مقایسه با شاهد منجر شد. تیمار شاهد و ۵ میکرومولار ملاتونین کمترین محتوای کلروفیل را نشان داد ($P < 0.05$). نتایج حاصل از تأثیر ملاتونین بر محتوای کاروتنوئیدها در شکل ۶ آورده شده است. محتوای کاروتنوئیدها در غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). در غلظت ۵ میکرومولار تفاوت معنی‌داری در محتوای کاروتنوئیدها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد. در شکل ۷ نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های متفاوت ملاتونین بر محتوای فلاونوئیدها مشاهده می‌شود. براساس نتایج بیشترین محتوای فلاونوئیدها به ترتیب در تیمار ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار ملاتونین به دست آمد ($P < 0.05$). غلظت ۱۰ و ۵ میکرومولار ملاتونین تأثیر درخورتوجهی بر محتوای فلاونوئیدی در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد. تیمار ملاتونین با ضریب اطمینان ۹۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر محتوای آنتوسیانین‌های برگ شاهی داشت (شکل ۸). تیمار ۱۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین گروه شاهد کمترین مقدار آنتوسیانین را نشان داد. بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مشاهده نشد. نتایج حاصل از تأثیر ملاتونین بر محتوای ترکیبات فنلی کل در شکل ۹ نشان داده شده است. براساس نتایج بیشترین محتوای ترکیبات فنلی در تیمار غلظت ۱۰۰ میکرومولار و پس از آن با اختلاف قابل توجه در غلظت ۵۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد ($P < 0.05$). در تیمار ۱۰۰ میکرومولار، محتوای ترکیبات فنلی در حدود ۱۱۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. غلظت ۱۰ به کاهش ترکیبات فنلی در مقایسه با گروه شاهد منجر شد و تیمار ۱۰ میکرومولار تأثیر درخورتوجهی محتوای ترکیبات فنلی نداشت (شکل ۹).

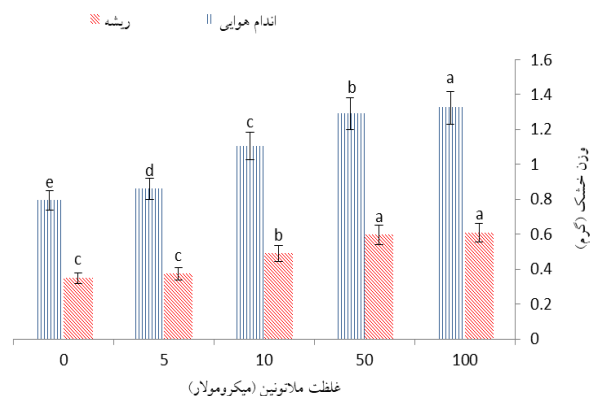
بحث

در این پژوهش تأثیر ملاتونین برون‌زا به عنوان یک محرک زیستی و تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر ویژگی‌های رشدی و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه شاهی تحت بررسی قرار گرفت. در



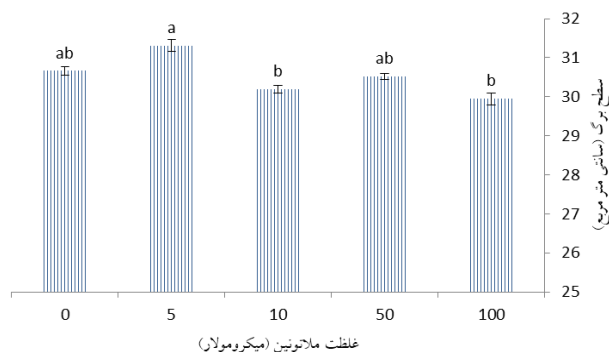
شکل ۱- تأثیر ملاتونین برون‌زا بر رشد طولی ریشه و اندام هوایی شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 1. Effect of exogenous melatonin treatment on root and shoot length of *Lepidium sativum*. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



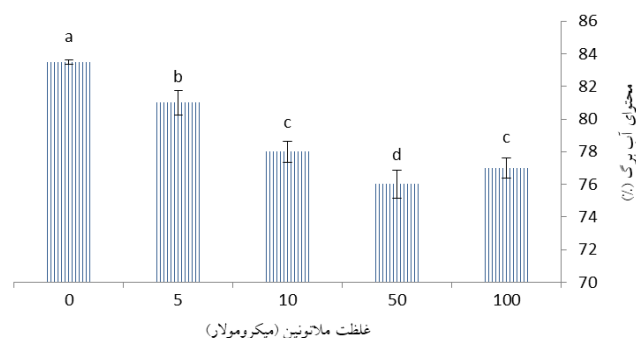
شکل ۲- تأثیر ملاتونین برون‌زا بر تولید زی‌توده ریشه و اندام هوایی شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 2. Effect of exogenous melatonin treatment on biomass production in *Lepidium sativum* plants. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



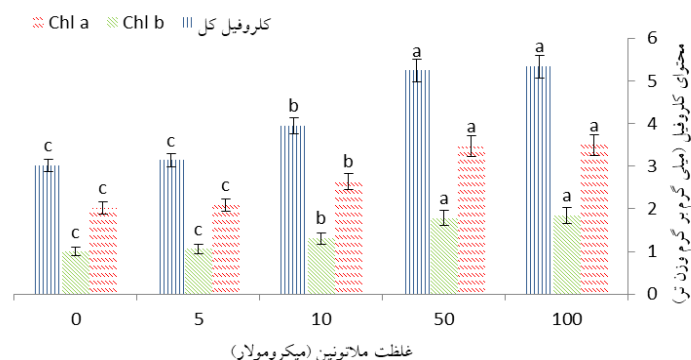
شکل ۳- تأثیر ملاتونین برون‌زا بر گسترش برگ گیاه شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است و خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 3. Effect of exogenous melatonin treatment on leaf expansion in *Lepidium sativum*. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



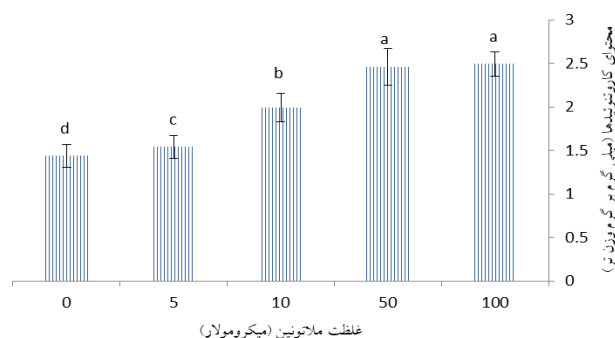
شکل ۴- تأثیر ملاتونین برونزا بر محتوای آب برگ شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار و خطوط نشان دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 4. Effect of exogenous melatonin treatment on leaf water content in *Lepidium sativum*. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



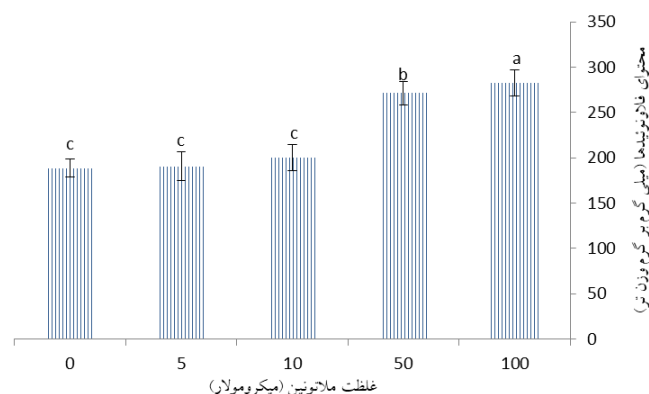
شکل ۵- تأثیر ملاتونین برونزا بر محتوای کلروفیل a (Chl a)، کلروفیل b (Chl b) و کلروفیل کل (total Chl) برگ شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار و خطوط نشان دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 5. Effect of exogenous melatonin treatment on chlorophyll a (Chl a), b (Chl b) and total chlorophyll (Total Chl) content in *Lepidium sativum*. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



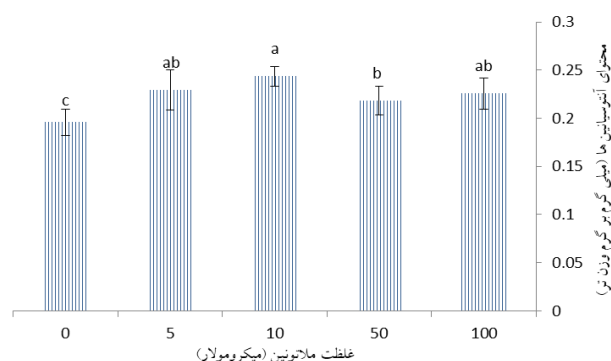
شکل ۶- تأثیر ملاتونین برونزا بر محتوای کاروتنوئیدهای برگ شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار و خطوط نشان دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 6. Effect of exogenous melatonin treatment on carotenoids content in *Lepidium sativum* leaves. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



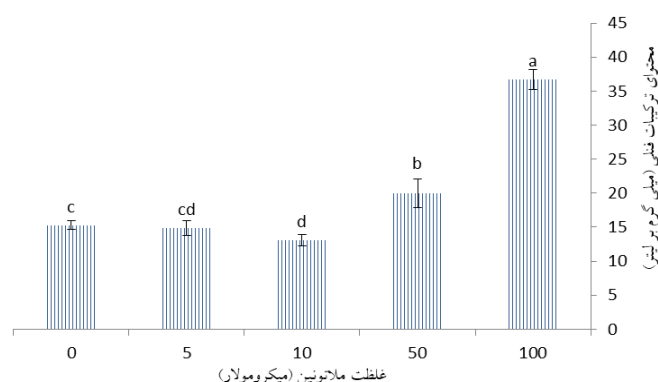
شکل ۷- تأثیر ملاتونین برون‌زا بر محتوای فلاونوئیدهای برگ شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 7. Effect of exogenous melatonin treatment on flavonoids content in *Lepidium sativum* leaves. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



شکل ۸- تأثیر ملاتونین برون‌زا بر محتوای آنتوسیانین‌های برگ شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 8. Effect of exogenous melatonin treatment on anthocyanins content in *Lepidium sativum* leaves. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.



شکل ۹- تأثیر ملاتونین برون‌زا بر محتوای ترکیبات فنلی کل برگ شاهی. مقایسه میانگین ۳ تکرار توسط آزمون دانکن و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گرفت. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و خطوط نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 9. Effect of exogenous melatonin treatment on leaf water content in *Lepidium sativum* leaves. Mean comparison of three replications was done by Duncan test and at a significant level of 95%. Different letters indicate a significant difference and error bars show standard error of means.

بررسی گیاه کلم، Zhang و همکاران (2014) گزارش کردند که ملاتونین برونزا توسط گیاه جذب می‌شود و از این طریق بر میزان رشد گیاه تأثیر می‌گذارد. با افزایش رشد گیاه، ملاتونین درونزا افزایش می‌یابد که می‌تواند مبین نقش این ترکیب در رشد گیاه باشد (Zhang et al., 2014). براساس نتایج این پژوهشگران، ملاتونین بر رشد طولی ریشه و شاخه و وزن خشک گیاه اثر معنی‌دار داشت. بر اساس نتایج آزمون دانکن، ملاتونین به‌ویژه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار باعث افزایش معنی‌دار ویژگی‌های رشدی شاهی در شرایط گلخانه‌ای شد. به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار ملاتونین بیشترین زیاده درمقایسه با سایر گروه‌ها به‌دست آمد. طول اندام هوایی و ریشه در غلظت‌های بالای ملاتونین بیشترین مقدار را نشان داد. ملاتونین موجب ریشه‌زایی، تحریک رشد ریشه و اندام هوایی و به تأخیر انداختن پیری برگ در گیاه باقلای مصری (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014)، خیار (Zhang et al., 2013) و آرابیدوپسیس و برنج شد. مکانیسمی که ملاتونین رشد ریشه و بخش هوایی را در گیاهان افزایش می‌دهد، بخوبی شناخته نشده است، اما احتمال دارد که ملاتونین تعادل هورمونی را در گیاه تغییر داده و تحت شرایط تنش، سبب افزایش اکسین و سیتوکینین شود (Hernandez-Ruiz et al., 2004). گزارش شده است که ملاتونین از طریق تأثیر بر افزایش ترشح هورمون‌های محرک رشد مانند ایندول استیک اسید، سیتوکینین، جبرلین، اکسین، ترکیبات آنتی‌اکسیدان و کاروتنوئیدها و کاهش بیوستز بازدارنده‌های رشد از جمله اتیلن، میزان تقسیم سلولی بافت‌های مریستمی را افزایش می‌دهد (Li et al., 1994). ملاتونین از لحاظ ساختاری شبیه اکسین است و اثراتی مشابه آن دارد که موجب تشکیل ریشه و طول شدن کلنوپتیل می‌شود. در گیاه خردل، گیلان و آرابیدوپسیس، غلظت ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین موجب افزایش رشد ریشه و اندام هوایی شده در حالیکه غلظت‌های بالاتر، بازدارنده رشد ریشه و اندام هوایی بودند (Chen et al., 2003). در این پژوهش کاربرد ملاتونین موجب افزایش وزن خشک و بیومس گیاه شد. مطالعات نشان داده است که ملاتونین موجب افزایش وزن خشک گیاهچه شیرین بیان (Afreen et al., 2006) و سیب (Wang et al., 2007) می‌شود. ترکیبات ایندولی (از جمله ملاتونین) با تأثیر بر فرآیندهایی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب

یون، نفوذپذیری غشا، فعالیت آنزیم‌ها و هورمون‌ها، میزان رشد و تولید زی‌توده (وزن خشک کل) را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Zhang et al., 2013). به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل افزایش وزن اندام هوایی تحت تأثیر ملاتونین، تحرک بیشتر مواد غذایی و انتقال کمتر آنها از لپ‌ها به محور جنینی باشد. عواملی که سرعت رشد محور جنینی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، می‌توانند بر تحرک مواد غذایی و انتقال آنها از لپ‌ها به محور جنینی نیز تأثیر بگذارند. بین میزان تجمع ماده خشک و رشد اندام هوایی گیاهان متحمل به تنش‌های مختلف، رابطه مستقیمی گزارش شده است (Nagashiro & Shibata, 1995). در این پژوهش محتوای آب برگ گیاه با افزایش غلظت ملاتونین کاهش یافت. بنابراین به‌نظر می‌رسد افزایش رشد گیاه بیش از آنکه وابسته به محتوای آب گیاه باشد، تحت تأثیر بهبود تغذیه معدنی و تولید زی‌توده گیاه است. تأثیر بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از اثرات ملاتونین است و این تأثیر به نوع گیاه، مدت و شدت تنش و مرحله نمو گیاه بستگی دارد (Sarropoulou et al., 2012a). در این بررسی، ملاتونین موجب افزایش مقدار کلروفیل a و b، کلروفیل کل (به عنوان یکی از اجزای اصلی فتوسنتزی و تأثیرگذار بر وزن خشک) و کاروتنوئیدها در شاهی شد. این اثر نشان‌دهنده توانایی ملاتونین برای بهبود رشد است. Sarropoulou و همکاران (2012a) گزارش کردند که تیمار ملاتونین در غلظت مناسب، علاوه بر اینکه قادر به گسترش سیستم ریشه‌ای است قادر است بیوستز پورفیرین و کلروفیل را افزایش دهد. از طرفی مشخص شده است که پیش‌تیمار ملاتونین از فعالیت آنزیم کلروفیل‌از و آنزیم فتوفوریداکسیژناز (آنزیم‌های کلیدی در تجزیه کلروفیل) جلوگیری می‌کند (Turk et al., 2014) و در نتیجه موجب حفظ و افزایش محتوای کلروفیل، به تعویق انداختن پیری برگ، حفظ ثبات و عملکرد PSII و در نهایت افزایش سرعت فتوسنتز خواهد شد (Wang et al., 2007). القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش توسط ملاتونین می‌تواند به‌دلیل نقش حفاظتی آنها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت کاهش تنش اکسیداتیو می‌شوند (Yin et al., 2013). کاربرد طولانی‌مدت ملاتونین روی درختان یکساله سیب تحت تنش خشکی، سبب بهبود کارایی PSII، افزایش هدایت روزنه‌ای (از طریق کاهش

براساس نتایج، ملاتونین برون‌زا قادر به بهبود ویژگی‌های رشدی شاهی است. با بررسی مؤلفه‌های رشدی گیاه به نظر می‌رسد تیمار ملاتونین در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار تأثیر بیشتری بر بهبود رشد طولی و زی‌توده گیاه دارد. درحالی‌که، تیمار با ملاتونین در غلظت‌های کمتر (۵ و ۱۰ میکرومولار) در مقایسه با گروه شاهد تأثیر چندانی بر ویژگی رشدی گیاه نداشت. نتایج این پژوهش مبین نقش ملاتونین در محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و متابولیت‌های ثانویه گیاه بود. محتوای کلروفیل، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی در غلظت‌های بالاتر ملاتونین به‌طور درخور توجهی افزایش یافت. بنابراین، کاربرد ملاتونین می‌تواند یک روش علمی و مقرون به صرفه در بهبود کیفیت محصولات کشاورزی کشور مورد استفاده قرار گیرد. همچنین استفاده از این ترکیب به‌صورت پاششی جهت افزایش رشد و تحمل گیاه شاهی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از پژوهشگاه علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و تکنولوژی پیشرفته جهت تامین اعتبار مالی این پروژه (با شماره قرارداد ۵۱۶۳۰/۹۴/ص/۷) قدردانی می‌شود.

REFERENCES

- Afreen, F., Zobayed, S. and Kozai, T. 2006. Melatonin in *Glycyrrhiza uralensis*: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation. – J. Pineal. Res. 41: 108-115.
- Aguilera, Y., Herrera, T., Liébana, R., Rebollo-Hernanz, M., Sanchez-Puelles, C. and Martín-Cabrejas, M.A. 2015. Impact of melatonin enrichment during germination of legumes on bioactive compounds and antioxidant activity. – J. Agric. Food Chem. 63: 7967-7974.
- Arnao, M.B. and Hernández-Ruiz, J. 2006. The physiological function of melatonin in plants. – Plant Signal. Behav. 1: 89-95.
- Arnao, M.B. and Hernández-Ruiz, J. 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? – Trends Plant Sci. 19: 789-797.
- Arnao, M.B. and Hernández-Ruiz, J. 2007. Melatonin promotes adventitious-and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. – J. Pineal. Res. 42: 147-152.
- Arnao, M.B. and Hernández-Ruiz, J. 2015. Functions of melatonin in plants: a review. – J. Pineal. Res. 59: 133-150.
- Bajwa, V.S., Shukla, M.R., Sherif, S.M., Murch, S.J. and Saxena, P.K. 2014. Role of melatonin in alleviating

سطح ABA) و در نتیجه انتشار CO_2 به داخل گیاه موجب حفظ ظرفیت بالای اسیمیلایسون CO_2 می‌شود (Zhao et al., 2013).

نتایج این پژوهش نشان‌دهنده نقش مؤثر ملاتونین برون‌زا بر محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاه از جمله فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی بود. در این بررسی ملاتونین به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بیشترین تأثیر افزایشی را بر محتوای فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی داشت. محتوای آنتوسیانین‌ها نیز در تیمار برون‌زای ملاتونین به‌ویژه در غلظت ۱۰ میکرومولار افزایش یافت. نتایج این پژوهش با مطالعات روی پرتقال تلخ (Sarro et al., 2015)، لگوم‌ها (Aguilera et al., 2015) و پایه‌های گیلاس (Zhang et al., 2016) مطابقت دارد. در پرتقال تلخ، ملاتونین ۱۵ میکرومولار بیشترین تأثیر را بر محتوای ترکیبات فنلی گیاه نشان داد (Sarro et al., 2015). نتایج پژوهش Sarrou و همکاران (2015) نشان داد که در پرتقال تلخ تیمارهای ملاتونین، جبریلین و سالیسیلات با بالابردن مقادیر ترکیبات فنلی و محتوای فلاونوئیدی به بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه منجر می‌شود. آنتوسیانین‌ها به‌طور مستقیم در قابلیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نقش دارند (Hu et al., 2016). Zhang و همکاران (2016) نشان دادند که ملاتونین می‌تواند محتوای آنتوسیانین گیاه را در کلم بهبود بخشد (Zhang et al., 2016). مطالعات این محققان نشان داد که بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز آنتوسیانین‌ها در تیمار ملاتونین افزایش می‌یابد. ملاتونین و آنتوسیانین‌ها هردو دارای قابلیت آنتی‌اکسیدانی بوده و تیمار ملاتونین نه تنها بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز آنتوسیانین‌ها را افزایش می‌دهد، بلکه قادر به کاهش سطوح رادیکال‌های آزاد در گیاه می‌شود (Zhang et al., 2016). به دلیل تأثیری که ملاتونین بر محتوای ترکیبات ثانویه گیاهی دارد، پیشنهاد شده است که ملاتونین برای اهداف تغذیه‌ای در حوزه کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد (Wang et al., 2013). براساس نتایج این پژوهش در مورد نقش ملاتونین در بهبود رشد و به‌ویژه تولید متابولیت‌هایی که منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود پیشنهاد می‌شود، تأثیر کاربرد ملاتونین بر محصولات مهم کشاورزی در شرایط تنش تحت بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

- cold stress in *Arabidopsis thaliana*. – J. Pineal. Res. 56: 238-245.
- Chen, G., Huo, Y., Tan, D.-X., Liang, Z., Zhang, W. and Zhang, Y.** 2003. Melatonin in Chinese medicinal herbs. – Life Sci. 73: 19-26.
- Hernandez-Ruiz, J., Cano, A. and Arnao, M.B.** 2004. Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues. – Planta 220: 140-144.
- Hu, Y., Deng, L., Chen, J., Zhou, S., Liu, S., Fu, Y., Yang, C., Liao, Z. and Chen, M.** 2016. An analytical pipeline to compare and characterize the anthocyanin antioxidant activities of purple sweet potato cultivars. – Food Chem. 194: 46-54.
- Janas, K.M. and Posmyk, M.M.** 2013. Melatonin, an underestimated natural substance with great potential for agricultural application. – Acta Phys. Plant. 35: 3285-3292.
- Kennaway, D.J.** 2017. Are the proposed benefits of melatonin-rich foods too hard to swallow? – Critic. Rew. Food Sci. Nut. 57: 958-962.
- Li, Q., Levy, A.D., Battaglia, G., Cabrera, T.M. and Van de Kar, L.D.** 1994. Attenuation of hormone responses to the 5-HT 1A agonist ipsapirone by long-term treatment with fluoxetine, but not desipramine, in male rats. – Biol. Psychiat. 36: 300-308.
- Lichtenthaler, H.K.** 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. – Methods in Enzymology 148: 350-382.
- Liu, N., Jin, Z., Wang, S., Gong, B., Wen, D., Wang, X., Wei, M. and Shi, Q.** 2015. Sodic alkaline stress mitigation with exogenous melatonin involves reactive oxygen metabolism and ion homeostasis in tomato. – Sci. Hortic. 181: 18-25.
- Nagashiro, C. and Shibata, F.** 1995. Influence of flooding and drought conditions on herbage yield and quality of phasey bean (*Macroptilium lathyroides* (L.) Urb.). – J. Japan. Soc. Grassland Sci. (Japan). 41: 218-225.
- Nawaz, M.A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R.J., Niu, M. and Hameed, S.** 2015. Melatonin: current status and future perspectives in plant science. – Front. Plant Sci. 6: 1-12
- Posmyk, M.M. and Janas, K.M.** 2008. Melatonin in plants. – Acta Phys. Plant. 31: 1-12
- Sarropoulou, V., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. and Koukourikou-Petridou, M.** 2012a. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*). – Plant Phys. Biochem. 61: 162-168.
- Sarropoulou, V.N., Therios, I.N. and Dimassi-Theriou, K.N.** 2012b. 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: 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. – J. Essen. Oil Res. 27: 487-496.
- Soland, S. and Laima, S.** 1999. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. – Plant Agric. 1: 1-5.
- Tan, D.-X., Hardeland, R., Manchester, L.C., Korkmaz, A., M., S., Rosales-Corral, S. and Reiter, R.J.** 2012. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. – J. Exp. Bot. 63: 577-597.
- Toor, R.K. and Savage, G.P.** 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. – Food Res. Int. 38: 487-494.
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, 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 Regul. 74: 139-152.
- Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F. and Koca, H.** 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. – Plant Science. 168: 223-231.
- Wagner, G.J.** 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. – Plant Physiol. 64: 88-93.
- Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D. and Ma, F.** 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. – J. Pineal Res. 54: 292-302.
- Wang, Y.-L., Wang, X.-D., Zhao, B. and Wang, Y.-C.** 2007. Reduction of hyperhydricity in the culture of *Lepidium meyenii* shoots by the addition of rare earth elements. – Plant Growth Regul. 52: 151-159.
- Wei, W., Li, Q.-T., Chu, Y.-N., Reiter, R.J., Yu, X.-M., Zhu, D.-H., Zhang, W.-K., Ma, B., Lin, Q. and Zhang, J.-S.** 2014. Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. – J. Exp. Bot. 66: 695-707.
- Yin, L., Wang, P., Li, M., Ke, X., Li, C., Liang, D., Wu, S., Ma, X., Li, C. and Zou, Y.** 2013. Exogenous melatonin improves *Malus* resistance to Marssonina apple blotch. – J. Pineal. Res. 54: 426-434.
- Zhang, H.M. and Zhang, Y.** 2014. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. – J. Pineal. Res. 57:131-146.
- Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y. and Ren, S.** 2016. Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. – Font. Plant Sci. 7: 197. doi: 10.3389/fpls.2016.00197.
- Zhang, N., Zhang, H.J., Zhao, B., Sun, Q.Q., Cao, Y.Y., Li, R., Wu, X.X., Weeda, S., Li, L. and Ren, S.** 2014. The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation. – J. Pineal. Res. 56: 39-50.
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, C., 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.). – J. Pineal. Res. 54: 15-23.

Zhao, Y., Tan, D.X., Lei, Q., Chen, H., Wang, L., Li, Q.t., Gao, Y. and Kong, J. 2013. Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. – J. Pineal. Res. 55: 79-88.

How to cite this article:

Oloumi, H., Nasibi, H and Mozaffari, H. 2018. Investigation of the growth rate and secondary metabolites content of *Lepidium sativum* under exogenous melatonin treatment. – Nova Biologica Rep. 2018: 144-154.

علوم، ح.، نصیبی، ف. و مظفری، ح. ۱۳۹۷. بررسی تغییرات رشد و محتوای متابولیت‌های ثانویه گیاهچه شاهی در تیمار ملاتونین برونزا. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۳۹۷: ۱۴۴-۱۵۴.