تأثير الرش الورقي بالميلاتونين (MT) على تبغ شك البنت تحت ظروف الإجهاد الجفافي المُحدث بالبولي ايتيلين غليكول (PEG)

أحمد أدهم صوفي*[1]

[1] قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(*للمراسلة: د. احمد ادهم صوفي البريد الإلكتروني: 7mada.movo9@gmail.com ، الهاتف:00963991266905)

تاريخ الاستلام: 23/ 07/ 2024 **تاريخ القبول:** 8/ 10/ 2024

الملخّص

نُفذ البحث في عام 2024م، بالمزرعة التجريبية بقرية قره فلاح التابعة لمحافظة اللاذقية- سورية، لدراسة تأثير المعاملة بالميلاتونين بالتراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر في بعض المؤشرات البيوكيميائية لنبات التبغ البلدي (شك البنت) وإنتاجيته تحت ظروف الإجهاد الجفافي المصطنع بمحلول يحوي البولي ايتيلين غليكول(PEG) ، والذي تمَّ استخدامه بالتراكيز (15، 30 و45)%، التي تعادل الضغوط الاسموزية (-0.52، -1.04 و-1.56) ميغا باسكال، وذلك في تجربة عاملية استخدم فيها التصميم العشوائي الكامل (R.C.D) بثلاثة مكررات، تمَّ قياس العديد من المؤشرات، منها محتوى الأوراق من كلٍّ من: الكلوروفيل (ميكروغرام/غ)، البرولين (ميكرومول/غ)، المالونيل دي-ألدهيد MDA) نانومول/غ)، بالإضافة إلى غلّة الأوراق الخضراء والجافّة (غ/نبات.) أظهرت النتائج انخفاض غلة التبغ الخضراء التي بلغت (75 غ/ نبات) والجافّة (20 غ/ نبات) تحت ظروف الإجهاد الجفافي عند التركيز 45%، كما انخفض أيضاً محتوى الأوراق من الكلوروفيل بشكل مطّرد مع زيادة الإجهاد المطبق والذي بلغ (463 ميكروغرام/غ)، وعلى النقيض من ذلك ازداد محتوى الأوراق من الكلوروفيل وذلك عند الرش بالميلاتونين عند التركيز 50 ميكروليتر (710 ميكروغرام/غ)، ما انعكس بشكلٍ إيجابي على الغلّة الورقية الخضراء والجافّة، كما انخفض أيضاً محتوى الأوراق من البرولين (0.9 ميكرومول/غ) وخاصّةً عند التركيز المنخفض من الميلاتونين . بيّنت النتائج تفوّق المعاملة بالتركيز المخفف من حمض الميلاتونين على جميع المعاملات والشاهد وذلك عند جميع المؤشرات المدروسة، ولذلك ينصح باستخدام حمض الميلاتونين وخاصّة عند التركيز المنخفض (50) ميكروليتر، لدوره في تحسين العديد من المؤشرات الكيميائية، ما ينعكس على زيادة إنتاجيّة التبغ تحت ظروف الإجهاد الجفافي.

الكلمات المفتاحية: الميلاتونين، التبغ، صنف شك البنت، الإجهاد الجفافي.

المقدمة:

يتبع نبات التبغ *Nicotiana tabacum* L. للفصيلة الباذنجانية (Solanaceae)، ويُعد واحداً من أهم المحاصيل الصناعية المزروعة في العديد من البلدان، ويَضُم حوالي 80 نوعاً نباتيّاً (Barbeć, 2015).

تُستخدم ساق التبغ في العديد من المجالات التصنيعية، منها: إنتاج بعض مبيدات الآفات الحشرية كتحضير سلفات النيكوتين (Kulić and Radojičić, 2011)، ويمكن أيضاً استخدام أوراق وبذور التبغ كمصدر في الصناعات المختلفة مثل مستحضرات

التجميل والدهانات الزيتيّة، بناءً على خصائصه الكيميائية، ويمكن اعتبار تركيب الزيوت الدهنيّة لبذور التبغ مصدر بديل للمواد الخام للديزل الحيوي (Camlica and Yaldiz, 2021)، كما يمكن استخدام أوراق وساق التبغ كمصدر أيضاً للوقود الحيوي (Berbe´c and Matyka, 2020)، كما يُستخدم في العديد من الصناعات الدوائيّة (Ghulaxe and Verma, 2015).

تشكل الإجهادات البيئية عائقاً رئيسياً لإنتاجية المحاصيل المختلفة في جميع أنحاء العالم (Sharma *et al*., 2020)تُعد مشكلة الإجهاد الجفافي من أهم العوامل البيئية التي تؤدي إلى ضعف إنتاجية التبغ كماً ونوعاً بسبب تأثيرها المباشر على عملية التمثيل الضوئي وبالتالي نمو هذه النباتات التبغ (Jia *et al*., 2024)، وقد وجد إن الإجهاد البيئي الناجم عن الجفاف يثبط إنبات البذور ونمو نباتات التبغ، ويؤثر بشكل سلبي على غلة أوراق التبغ وجودتها (Ren *et al*., 2024)، كما يعمل أيضاً على تكوين الجذور الحرّة أي بمعنى آخر يعمل على سرعة تراكم أنواع الأوكسجين التفاعلية R.O.S (Habib *et al*., 2020)، إن هذه المستويات المرتفعة من أنواع الأكسجين التفاعلية التي يسببها الإجهاد البيئي من خلال انخفاض نقل الإلكترون في دورة كالفن وتسرب إلكترون أعلى أثناء عملية التمثيل الضوئي في تفاعل ميلر، يؤدي إلى ارتفاع التنفس وانخفاض التمثيل الضوئي في الأنسجة المجهدة (Nadarajah *et al*., 2020).

يّعد الميلاتونين (MT) من منظمات النمو التي لها دوراً هاماً في نمو النباتات ورفع قدرتها الإنتاجيّة حسب دراسة كلا الباحثين (Arnao and Hernández-Ruiz, 2019)، إذ يمكنه تنظيم العديد من العمليات الفيسيولوجية والكيميائية داخل النباتات (Gao *et al*., 2019)، ويزيد الميلاتونين بشكل فعال أيضاً من قدرة تحمل نباتات التبغ لمختلف الإجهادات البيئية (Gao *et al*., 2022)، حيث يعمل الميلاتونين عن طريق تثبيط أنواع الأكسجين التفاعلية بطريقة مباشرة، أو بشكل غير مباشر كجزيء إشارة، عن طريق تعديل التعبير عن جينات التحمل عن الإجهاد البيئي. وقد أظهرت العديد من الدراسات أن N-acetyl-5-methoxytryptamine يتفاعل مع أنواع الأكسجين التفاعلية، وهي جزيئات إشارة معروفة، لتنشيط الاستجابات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية للنباتات لمواجهة الظروف البيئية غير المناسبة (Eke *et al*., 2023).

يلعب الميلاتونين دوراً مهماً في عمليات النبات التي تتراوح من إنبات البذور إلى الشيخوخة، ويلعب دوراً في تحسين إنتاجية النبات تحت ظروف الإجهاد التأكسدي الناتج عن الجفاف (Rehaman *et al*., 2021)، تمّ استخدام حمض الميلاتونين من قبل العديد من الباحثين وذلك في دراستهم على نبات البندورة (Liu *et al*., 2015) وفول الصويا (El-Esawi *et al*., 2020)، يمتلك خصائص مضادّة للأكسدة ويعمل بالتآزر مع غيره من مضادات الأكسدة على حماية النباتات من الإجهادات، مثل حمض الأسكوربيك والجلوتاثيون (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2019).

أهميّة البحث وأهدافه:

تُعد مشكلة الجفاف أحد أهم المشاكل البيئيّة التي نتعرض لها حالياً والتي تسبب انخفاض معدل نمو المحاصيل، وتؤدي إلى إحداث خلل في عمليات النبات الفسيولوجية والكيميائية وبالتالي انخفاض الإنتاجية، لذلك كان الهدف من هذا البحث هو:

تحسين نوعية أوراق التبغ البلدي وذلك عند تعرضه لظروف الإجهاد الجفافي عن طريق الرش الورقي بالميلاتونين من خلال بعض المؤشرات البيوكيميائية، ما ينعكس بشكل إيجابي على إنتاجيّته الخضراء والجافّة.

مواد البحث وطرائقه:

استخدم في هذا البحث شتول صنف التبغ البلدي (شك البنت)، تمَّ الحصول عليها من المؤسسة العامّة للتبغ (General Organization of Tobacco -G.O.T) في جب حسن– اللاذقية– سورية، ويمتاز هذا الصنف بمحتواه العالي من النيكوتين (1–3%) كونه من أصناف القوّة، إذ يمتلك قوّة تدخين فيزيولوجية ظاهرة جدّاً.

تصميم التجربة:

نُفذت التجربة خلال العام 2024م، وذلك في تجربة عاملية استخدم فيها التصميم العشوائي الكامل (R.C.D) حيث شملت: (16 معاملة مع الشاهد × ثلاث مكررات) ضمن المزرعة التجريبية بقرية قره فلاح التابعة لمحافظة اللاذقيّة في سورية.

زرعت شتول التبغ في أصص بلاستيكية (40 × 60) سم، بسعة (25) كغ تربة تحتوي على خليط من الرمل والطين بنسبة (1:2)، حيث زرعت شتلة واحدة في كل أصيص.

معاملات الميلاتونين (MT):

حُضّرَت من خلال إذابة 50 ملغ من الميلاتونين في الإيثانول (1) مل، تمَّ تخفيفه بعدها بالماء للحصول على التراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر، ليتم رش أوراق التبغ وذلك قبل تطبيق الإجهاد الجفافي في المرحلة الحرجة النبات بعد 40 يوما من الزراعة (Liu *et al*., 2019).

معاملات الإجهاد الجفافي (D):

استخدم لإحداث الإجهاد الجفافي المصطنع مادة البولي ايتيلين غليكول (PEG-6000) كنسب مئوية (%) وما يعادلها من ضغط اسموزي (Osmotic potential) (Muscolo *et al*., 2014) عبر الري بمعدل ريتين، بين الرية والثانية أسبوعين بمعدل 200 مل لكل شتلة، وذلك بعد الرش بحمض الميلاتونين بأسبوع لتكون معاملات الإجهاد كما يلي:

D_0: رويت النباتات بالماء العذب فقط.

D_1: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 15 % (V/W) ما يعادل ضغط اسموزي –0.52 ميغا باسكال.

D_2: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 30 % (V/W) ما يعادل ضغط أسموزي –1.04 ميغا باسكال.

D_3: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 45 % (V/W) ما يعادل ضغط أسموزي –1.56 ميغا باسكال.

المؤشرات والصفات المدروسة:

- **المؤشرات البيوكيميائية:**

- **محتوى الاوراق من الكلوروفيل Chlorophyll content in leaves (ميكروغرام/غ وزن رطب):**

سُحق 100 ملغ من أوراق التبغ البلدي في الأسيتون النقي، ومن ثمَّ تم قياس الامتصاص الضوئي للمستخلص باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر Spectrophotometer على أطوال الموجات 470، 645 و662 نانومتر، ومن ثم تقدير المحتوى من الكلوروفيل (Lichtenthaler, 1987).

- **محتوى الأوراق من البرولين Proline content in leaves (ميكرومول/غ وزن رطب):**

تم تحليل محتوى الأوراق من البرولين وفقاً لطريقة (Bates *et al*., 1973)، فقد تمَّ سحق 100 ملغ من أوراق التبغ البلدي الطازجة في 5 مل من حمض سلفوساليسيليك (3)%، تم أخذ 2 مل من المستخلص وأضيف له 2 مل من محلول النينهدرين المنشط للتفاعل (نينهدرين+ حمض الخل الثلجي+ حمض أورثوفوسفوريك) و2 مل من حمض الخل الثلجي، وضعت الأنابيب في حمام مائي ساخن 100°م لمدة ساعة، وبعد التبريد على الماء المثلج تمَّ وضع 4 مل من التولوين، ثمَّ قياس الامتصاص الضوئي

على طول موجة 520 نانومتر باستخدام جهاز Spectrophotometer ومن ثم تقدير نسبة البرولين في العينات بالاعتماد على منحى قياسي للبرولين النقي.

- **محتوى الأوراق من المالونيل دي- الدهيد Malonyldialdehyde (MDA) (نانومول/غ وزن رطب):**

تم الاستخلاص وفقاً للطريقة المعدّلة من قبل (Heath and Packer, 1968)،وذلك باستخدام حمض ثلاثي كلور- أسيتيك 0.1(TCA)وحمض الثيوباربيتوريك(TBA)،وقياس الامتصاص الضوئي للمستخلص باستخدام جهاز Spectrophotometer عند طول موجة 532 نانومتر ثم حساب كمية المعقد MDA-TBA باستخدام المعامل 155 ميلي مول/ سم.

- **صفات الغلة الورقية:**

- **الغلة من الأوراق الخضراء Leaves Fresh Weight:**

إنتاجية النباتات من الأوراق الخضراء (غ/نبات).

- **الغلة من الأوراق الجافة Leaves Dry Weight:**

إنتاجية النباتات من الأوراق الجافّة هوائياً (غ/نبات).

التحليل الإحصائي:

أجري تحليل التباين للبيانات التي تمَّ الحصول عليها من خلال برنامج R statistical software باستخدام ANOVA مع Tukey، عرضت النتائج بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE) والفروقات ذات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P<0.05$).

النتائج والمناقشة:

تأثير الرش بالميلاتونين (MT) في محتوى الأوراق من الكلوروفيل (ميكروغرام/غ) تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

نلاحظ من خلال معطيات الجدول (1) وجود فروق معنوية بين معاملات التجربة من حيث صفة محتوى الأوراق من الكلوروفيل، حيث أدّى الإجهاد الجفافي إلى انخفاض معنوي في محتوى أوراق التبغ من الكلوروفيل (512، 487 و463 ميكروغرام/غ) بشكلٍ مطّرد مع زيادة مستوى الإجهاد الجفافي المطبّق وذلك مقارنةً مع الشاهد (652 ميكروغرام/ غرام).

أدّت بالمقابل معاملات الرش بالميلاتونين إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل بشكلٍ معنوي (710 ميكروغرام/غ) وخاصّةً عند التركيز المنخفض منه وهو 50 ميكروليتر على باقي المعاملات والشاهد، كما تفوقت أيضاً المعاملة MT_1D_1 بالتركيز المنخفض من الميلاتونين تحت ظروف الإجهاد الجفافي المخفّف (696 ميكروغرام/غ) على معاملات الإجهاد الجفافي والميلاتونين معاً والشاهد.

الجدول (1): محتوى أوراق التبغ من الكلوروفيل التي تمَّ معاملتها بالميلاتونين تحت ظروف الجفاف.

المعاملات	D_0	D_1	D_2	D_3
MT_0	652 ± 13^{b}	512 ± 13^{e}	487 ± 18^{ef}	463 ± 14^{f}
MT_1	710 ± 15^{a}	696 ± 17^{a}	609 ± 18^{c}	553 ± 13^{d}
MT_2	637 ± 20^{bc}	596 ± 22^{c}	578 ± 19^{cd}	516 ± 13^{e}

تُشير الرموز: (D) لمعاملات الإجهاد الجفافي، (MT) معاملة الرش بالميلاتونين بالتراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

يَحدث التمثيل الضوئي عن طريق استقبال الكلوروفيل الطاقة الضوئية التي تسبب سلسلة من التفاعلات الكيميائية بين ثاني أوكسيد الكربون والماء مكوّنة الجلوز (سكر مختزل) والماء كنواتج نهائية لعملية التمثيل الضوئي، الأمر الذي يؤدي إلى زيادة تراكم المواد الجافة في الأوراق وبالتالي زيادة الإنتاجية الجافة (Baker, 2008).

يؤثر الإجهاد الجفافي في محتوى الأوراق من الكلوروفيل، كونه يعمل على تحلل الكلوروفيل نتيجة الإجهاد التأكسدي الناتج عن الجفاف (Farooq *et al*., 2009)، بالمقابل يعد حمض الميلاتونين (MT) من منظمات النمو التي تؤثر إيجابياً في نمو النباتات وله وظائف فسيولوجية متعددة، منها حماية صبغات عمليات التمثيل الضوئي من التأكسد كونه عاملاً مضاداً للأكسدة (Arnao and Hernández-Ruiz., 2019).

أدّت معاملة الرش بحمض الميلاتونين إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل، فقد بيّنت نتائج دراسة rnao and Hernández-Ruiz (2019) إلى زيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل نتيجة الرش بالميلاتونين مقارنة بالنباتات غير المعاملة، اتفقت هذه النتيجة مع نتائج دراسة (Liu *et al*., 2021)، حيث أدى رش أوراق التبغ بالميلاتونين تحت ظروف الإجهاد الجفافي إلى تنظيم العمليات الأيضية، ورفع معدلات عملية التمثيل الضوئي، وزيادة نشاط مضادات الأكسدة، وبالتالي حماية صبغات التمثيل الضوئي من التأكسد.

تأثير الرش بالميلاتونين (MT) في محتوى الأوراق البرولين (ميكرومول/غ) تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

وجدت فروق معنوية بين معاملات التجربة من حيث صفة محتوى الأوراق من البرولين، فقد عمل الإجهاد الجفافي على زيادة محتوى أوراق التبغ من البرولين بشكلٍ معنوي ومطرد مع زيادة الإجهاد المطبق (15 و30 و45%) حيث أعطى قيم بلغت (1.82، 1.96 و2.04 ميكرومول/غ) على التوالي مقارنةً بالشاهد الذي بلغت محتوى أوراقه من البرولين (0.99 ميكرومول/غ) كما هو موضح في الجدول (2).

أدّت معاملات الرش بالميلاتونين إلى انخفاض محتوى أوراق التبغ من البرولين (0.90 ميكرومول/غ) وذلك عند التركيز المنخفض منه (50 ميكروليتر) مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد، كما تفوقت أيضاً المعاملة MT_1D_1 على جميع التراكيز المستخدمة تحت ظروف الجفاف والميلاتونين معاً والشاهد، فقد أعطت أوراقه محتوى من البرولين وصل إلى (0.88 ميكرومول/غ).

الجدول (2): محتوى أوراق التبغ من البرولين التي تمَّ معاملتها بالميلاتونين تحت ظروف الجفاف.

المعاملات	D_0	D_1	D_2	D_3
MT_0	0.99 ± 0.03^{g}	1.82 ± 0.04^{c}	1.96 ± 0.07^{bc}	2.04 ± 0.08^{b}
MT_1	0.90 ± 0.03^{h}	0.88 ± 0.04^{h}	1.37 ± 0.05^{ef}	1.56 ± 0.09^{de}
MT_2	1.29 ± 0.04^{f}	1.43 ± 0.07^{e}	1.48 ± 0.06^{e}	1.78 ± 0.05^{c}
MT_3	1.65 ± 0.03^{d}	2.07 ± 0.06^{b}	2.14 ± 0.05^{ab}	2.2 ± 0.04^{a}

تُشير الرموز: (D) لمعاملات الإجهاد الجفافي، (MT) معاملة الرش بالميلاتونين بالتراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

تقاوم النباتات جفاف أنسجة أوراقها عن طريق تراكم العديد من المواد الذائبة التي تمسك جزيئات الماء، ومن بين هذه المواد هو البرولين، حيث يؤدي تراكم البرولين في الأوراق إلى تعديل الضغط الأسموزي في ظل ظروف الجفاف، حيث أشارت نتائج العديد من الدراسات السابقة إلى أن العجز الجفافي يؤدي إلى زيادة محتوى الأوراق من البرولين كنوع من التكيف وزيادة تحمل نبات التبغ للإجهاد الجفافي (Khan *et al*., 2021).

يوجد حمض الميلاتونين في الخلايا النباتية ضمن العديد من النباتات الراقية، وله العديد من الوظائف أهمّها قدرته على حماية النباتات من الجذور الحرة وبالتالي زيادة قدرة هذه النباتات على تحمل الإجهاد التأكسدي الناتج عن الإجهاد الجفافي (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2015)، قد يؤدي التداخل بين الميلاتونين وعمل الهرمونات النباتية الأخرى خاصة عند التراكيز المرتفعة من الميلاتونين إلى زيادة محتوى البرولين في الأوراق، بينت دراسة Ibrahim *et al.* (2020) إلى قلة تراكم البرولين عند المعاملة بالميلاتونين بالتراكيز المخففة، حيث يحافظ الميلاتونين على ضغط اسموزي متوازن بواسطة آليات مختلفة مثل تنظيم حركة الثغور وتعديل مجموعة واسعة من الجوانب التشريحية أي الحفاظ على سلامة الأغشية الخلوية.

تأثير بالميلاتونين (MT) في محتوى الأوراق من مركب المالونيل دي-ألدهيد MDA (نانومول/غ) تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

كانت الفروق معنوية بين المعاملات المدروسة من حيث صفة محتوى الأوراق من المالونيل دي-ألدهيد، إذ أدى الإجهاد الجفافي إلى زيادة محتوى أوراق التبغ من المالونيل دي-ألدهيد بشكلٍ معنوي مع زيادة الإجهاد المطبق (15 و30 و45%) حيث أعطى قيم بلغت (0.0075، 0.0079 و0.008 نانومول/غ) على التوالي مقارنةً بالشاهد (0.0064 نانومول/غ) كما هو مبيّن في الجدول (3).

عمل الميلاتونين على انخفاض محتوى أوراق التبغ من المالونيل دي-ألدهيد خاصة عند التركيز المنخفض 50 ميكروليتر، فقد بلغ محتوى أرواقه من المالونيل دي-ألدهيد (0.0059 نانومول/غ) مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد، كما تفوقت أيضاً المعاملة MT_1D_1 على جميع التراكيز المستخدمة تحت ظروف الجفاف والميلاتونين معاً والشاهد، فقد بلغ محتوى أوراقه من المالونيل دي-ألدهيد (0.006 نانومول/غ).

الجدول (3): محتوى أوراق التبغ من MDA التي تمَّ معاملتها بالميلاتونين تحت ظروف الجفاف.

المعاملات	D_0	D_1	D_2	D_3
MT_0	0.0064 ± 0.00017^{e}	0.0075 ± 0.00012^{c}	0.0079 ± 0.00014^{b}	0.008 ± 0.00012^{b}
MT_1	0.0059 ± 0.00011^{f}	0.006 ± 0.00012^{f}	0.0067 ± 0.00014^{de}	0.0071 ± 0.00015^{d}
MT_2	0.0065 ± 0.00015^{e}	0.0068 ± 0.00013^{de}	0.007 ± 0.00015^{d}	0.0077 ± 0.00015^{bc}
MT_3	0.0073 ± 0.00013^{cd}	0.0081 ± 0.00011^{ab}	0.0082 ± 0.00014^{ab}	0.0083 ± 0.00011^{a}

تُشير الرموز: (D) لمعاملات الإجهاد الجفافي، (MT) معاملة الرش بالميلاتونين بالتراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

سبب الإجهاد الناتج عن الجفاف أكسدة الدهون عبر تكوين أنواع الأكسجين التفاعلية وبالتالي أدى إلى حدوث تأثيرات سلبية على نمو الخلايا النباتية (Liu *et al.*, 2021)، أشار Li *et al.* (2011) إلى أن تراكم مركب المالونيل دي ألدهيد من المؤشرات الهامة والدالة على حالة الإجهاد الجفافي، حيث ازداد محتوى الأوراق من MDA تحت ظروف الإجهاد الجفافي وهذا ما أشارت إليه دراسة (Gharibi *et al.*, 2016)، في حين أظهرت المعاملة بالميلاتونين بدورها تثبيط (MDA) بيروكسيد الدهون Arnao (and Hernandez-Ruiz, 2015).

تأثير بالميلاتونين (MT) في غلة النبات من الأوراق الخضراء (غ/نبات) تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

نلاحظ من خلال معطيات الجدول (4) وجود فروق معنوية بين معاملات التجربة، فقد أدى الإجهاد الجفافي إلى انخفاض غلة نبات التبغ الخضراء معنوياً وبشكل مطرد مع زيادة الإجهاد المطبق وذلك مقارنة بالشاهد، فقد بلغت عند المعاملة D_3 (75غ/نبات) وعند الشاهد (123غ/ نبات).

فيما أدّت معاملات الميلاتونين إلى تحسين غلة النبات الخضراء وخاصة عند التركيز المنخفض، فقد وصلت غلّة التبغ الخضراء إلى (191غ/نبات) وذلك عند التركيز المنخفض من الميلاتونين MT_1 مقارنة بباقي بالتراكيز والشاهد، وتفوقت المعاملة بالتركيز المنخفض من الميلاتونين مع الإجهاد الجفافي المخفف MT_1D_1 على جميع التراكيز تحت ظروف الجفاف والميلاتونين معاً والشاهد من حيث صفة الغلة الخضراء والتي وصلت إلى (164غ/نبات).

الجدول (4): غلة التبغ الخضراء التي تمَّ معاملتها بالميلاتونين تحت ظروف الجفاف.

المعاملات	D_0	D_1	D_2	D_3
MT_0	123 ± 5^{e}	90 ± 4^{g}	79 ± 4^{h}	75 ± 3^{h}
MT_1	191 ± 7^{a}	164 ± 6^{b}	134 ± 5^{cd}	121 ± 4^{de}
MT_2	143 ± 10^{c}	120 ± 4^{de}	119 ± 4^{de}	102 ± 3^{f}
MT_3	131 ± 5^{d}	117 ± 3^{e}	98 ± 3^{f}	97 ± 3^{f}

تُشير الرموز: (D) لمعاملات الإجهاد الجفافي، (MT) معاملة الرش بالميلاتونين بالتراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

إن الإجهاد الناتج عن الجفاف يعمل على تثبيط نمو النباتات وتطورها ما ينتج عنها نباتات ذات مساحة ورقية صغيرة عن طريق تقليل انقسام الخلايا وتمايزها وبالتالي انخفاض إنتاجيتها (Khan *et al*., 2020)، ويُعد الجفاف السبب الرئيسي في انخفاض الإنتاج (Leng and Hall, 2019)، حيث أثبتت النتائج أن انخفاض رطوبة التربة يؤدي إلى انخفاض الوزن الجاف للمجموع الخضري في نبات التبغ (Biglouei *et al*., 2010)

يُعتبر الميلاتونين مهماً في تكوين هرمون الأوكسين، حيث يمكن أن تحفز تخليق حمض الأكساليك لتعزيز نمو النبات (Hernández-Ruiz *et al*., 2005)، علاوة على ذلك، أظهرت بعض الدراسات أن تطبيق تراكيز منخفضة من نظائر الأوكسين يمكن أن يؤدي إلى زيادة إنتاجية النبات على عكس التراكيز المرتفعة (Hernández-Ruiz *et al*., 2004).

تأثير بالميلاتونين (MT) في غلة النبات من الأوراق الجافة (غ/نبات) تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

نلاحظ من خلال معطيات الجدول (5) وجود فروق معنوية بين معاملات التجربة، فقد أدى الإجهاد الجفافي إلى انخفاض غلة نبات التبغ الخضراء معنوياً وبشكل مطرد مع زيادة الإجهاد المطبق وذلك مقارنة بالشاهد، فقد بلغت عند المعاملة D_3 (20غ/نبات) وعند الشاهد (36غ/ نبات).

أدّت بالمقابل معاملات الرش الوقي بالميلاتونين إلى زيادة غلّة النبات الجافّة، وخاصّةً عند التركيز المنخفض منه، حيث أعطت هذه المعاملة غلّة جافّة وصلت إلى (58 غ/نبات) مقارنة بباقي التراكيز والشاهد (35 غ/نبات)، كما تفوقت المعاملة بالتركيز المنخفض من الميلاتونين والإجهاد المخفف MT_1D_1 على باقي التراكيز تحت ظروف الجفاف والميلاتونين معاً والشاهد، والتي أعطت غلّة ورقية جافّة بلغت (55 غ/نبات).

الجدول (5): الغلّة الجافّة من أوراق التبغ المعاملة بالميلاتونين تحت ظروف الجفاف.

المعاملات	D_0	D_1	D_2	D_3
MT_0	35 ± 1.5^{c}	21 ± 0.6^{g}	20 ± 0.8^{gh}	20 ± 0.5^{h}
MT_1	58 ± 1.9^{a}	55 ± 1.7^{a}	42 ± 1.2^{b}	33 ± 1.3^{c}
MT_2	44 ± 1^{b}	32 ± 1^{cd}	30 ± 1.1^{d}	28 ± 1.4^{e}
MT_3	43 ± 0.9^{b}	29 ± 1.2^{de}	27 ± 0.9^{f}	23 ± 0.9^{f}

تُشير الرموز: (D) لمعاملات الإجهاد الجفافي، (MT) معاملة الرش بالميلاتونين بالتراكيز (50، 100 و150) ميكروليتر، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

يمكن أن يُفسر هذا الانخفاض الملحوظ في إنتاجية نبات التبغ من الأوراق الجافة تحت ظروف الإجهاد الجفافي، للتأثير السلبي للإجهاد في معدل التمثيل الضوئي وبالتالي قلة تراكم المادة الجافة في الأوراق (Jiahao *et al*., 2020).

الاستنتاجات:

أثر الإجهاد الجفافي على محتوى أوراق التبغ من الكلوروفيل وإنتاجية النبات من الأوراق الخضراء والجافة، في حين أدت معاملات الرش الورقي بالميلاتونين بتركيز 50 ميكروليتر يزيد من إنتاجية النبات الخضراء والجافة وزيادة في محتوى الأوراق من الكلوروفيل، وفي الوقت نفسه، انخفض محتوى الأوراق من البرولين وMDA في النباتات المعاملة بالـ MT، وبالتالي يمكن استخدام MT كمعاملات رش ورقية زراعية واعدة لتحسين إنتاجية التبغ ونوعيته.

المقترحات:

نقترح تطبيق معاملات الرش الورقي بحمض الميلاتونين عند التركيز 50 ميكروليتر، كونه أكثر التراكيز فعاليّة في زيادة تحمل نبات التبغ في ظل ظروف الإجهاد الجفافي، إذ يمكن أن تُسلّط النتائج التي تم الوصول إليها الضوء على التأثير الإيجابي للميلاتونين في تعزيز إنتاجية أوراق التبغ كماً ونوعاً وبالتالي زيادة الدخل كونه من أهم المحاصيل الصناعية حالياً، كما نقترح إجراء المزيد من الأبحاث في ظل الظروف الحقلية وعلى نباتات ومحاصيل أخرى.

المراجع:

Arnao, M. B., and J. Hernandez-Ruiz (2015). Functions of melatonin in plants: a review. J. Pineal Res. 59,133–150. doi: 10.1111/jpi. 12253.

Arnao, M.B. and J. Hernández-Ruiz (2019). Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator?. Trends in Plant Science, 24(1), 38-48.

Baker, N.R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol*., 59, pp.89-113.

Barbeć, A. (2015). Nicotiana hybridization map—"blank spots" yet to be filled. CORESTA, AP28, Quebec, Canada.

Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Tear (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39, 205–207.

Berbe´C, A.K. and M. Matyka (2020). Biomass characteristics and energy yields of tobacco (Nicotiana tabacum L.) cultivated in eastern Poland. Agriculture, 10(11), 551.

Biglouei, M.H., M.H. Assimi and A. Akbarzadeh (2010). Effect of water stress at different growth stages on quantity and quality traits of Virginia (flue-cured) tobacco type. Plant, Soil and Environment, 56(2), 67-75.

Camlica, M. and G. Yaldiz (2021). Analyses and evaluation of the main chemical components in different tobacco (Nicotiana tabacum L.) genotypes. Grasas y Aceites, 72(1), 389.

Eke, P., V.N. Dinango, R. Fokom, D.Y. Youmbi, L.N. Wakam and F.F. Boyom (2023). Interaction of Melatonin with Reactive Oxygen Species in Plants. In Melatonin in Plants: A Regulator for Plant Growth and Development (pp. 137-171). Singapore: Springer Nature Singapore.

El-Esawi, M.A., A. Elkelish, M. Soliman, H.O. Elansary, A. Zaid and S.H. Wani (2020). Serratia marcescens BM1 enhances cadmium stress tolerance and phytoremediation potential of soybean through modulation of osmolytes, leaf gas exchange, antioxidant machinery, and stress-responsive genes expression. Antioxidants, 9(1),43.

Farooq, M., A. Wahid, N.S.M.A. Kobayashi, D.B.S.M.A. Fujita and S.M. Basra (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Sustainable agriculture.153-188.

Gao, H., L. Huang, Z. Gong, X. Wang, X. Qiao, F. Xiao, Y. Yang, B. Yu, X. Guo, C. Yu, and H. Zhang (2022). Exogenous melatonin application improves resistance to high manganese stress through regulating reactive oxygen species scavenging and ion homeostasis in tobacco. *Plant Growth Regulation*, *98*(2), pp.219-233.

Gao, W., Z. Feng, Q. Bai, J. He and Y. Wang (2019). Melatonin-mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt-tolerant naked oat under salt stress. International journal of molecular sciences, 20(5), 1176.

Gharibi, S., B.E.S. Tabatabaei, G. Saeidi and S.A.H. Goli (2016). Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of Achillea species. Applied biochemistry and biotechnology, 178(4), 796-809.

Ghulaxe, C. and R. Verma (2015). Review on transdermal drug delivery systems. Pharma Innov. J., 4, 37–43

Habib, N., Q. Ali, S. Ali, M.T. Javed, M. Zulqurnain Haider, R. Perveen, M.R. Shahid, M. Rizwan, M.M. Abdel-Daim, A. Elkelish and M. Bin-Jumah (2020). Use of nitric oxide and hydrogen peroxide for better yield of wheat (Triticum aestivum L.) under water deficit conditions: growth, osmoregulation, and antioxidative defense mechanism. Plants, 9(2), 285.

Heath, R.L. and L. Packer (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I-kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys. 125, 189–198.

Hernández-Ruiz J, A. Cano and M.B Arnao (2004) Melatonin: a growth-stimulating compound present in lupin tissues. Planta 220:140–144.

Hernández-Ruiz J, A. Cano and M.B Arnao (2005) Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. J Pineal Res 39:137–142.

Ibrahim, M.F., O.H.A Elbar, R. Farag, M. Hikal, A. El-Kelish, A. A. El-Yazied and H.G.A. El-Gawad (2020). Melatonin counteracts drought induced oxidative damage and stimulates growth, productivity and fruit quality properties of tomato plants. Plants, 9(10), 1276.

Jia, H., M. Xia, J. Li, H. Li, D. Chang, D. Yan, M. Lai, Y. Wei, P. Chang, X. Yang and X. Ji (2024). Effect and mechanism of biochar-based hydrogel to alleviate drought stress in tobacco. *Plant Stress*, p.100499.

Jiahao, H.E., C.H. Jianzhong, X.U. Jianqiang, X.I. Jinyou, Y.A. Yide, Z.H. Xuewei and C.H. Yuyuan (2020). Effects of Exogenous Melatonin on Physiological Mechanism of Drought Resistance of Tobacco Seedlings. Journal of Agricultural Science & Technology (1008-0864), 22(2).

Khan, R., X. Ma, S. Shah, X. Wu, A. Shaheen, L. Xiao, Y. Wu and S. Wang (2020). Drought-hardening improves drought tolerance in Nicotiana tabacum at physiological, biochemical, and molecular levels. *BMC Plant Biology*, *20*, pp.1-19.

Khan, R., Y. Ma, J. Zhang, X. Wu, A. Iqbal, Y. Wu, L. Zhou and S. Wang (2021). Circular drought-hardening confers drought tolerance via modulation of the antioxidant defense system, osmoregulation, and gene expression in tobacco. *Physiologia plantarum*, *172*(2), pp.1073-1088.

Kulić, G. and V. Radojičić (2011). Analysis of cellulose content in stalks and leaves of large leaf tobacco. Journal of Agricultural Sciences (Belgrade), 56(3),.207-215.

Leng, G. and J. Hall (2019). Crop yield sensitivity of global major agricultural countries to droughts and the projected changes in the future. Science of The Total Environment 654, PP 811-821.

Li, F., S. Xing, Q. Guo, M. Zhao, J. Zhang, Q. Gao and W. Wang (2011). Drought tolerance through over-expression of the expansin gene TaEXPB23 in transgenic tobacco. Journal of plant physiology, 168(9), 960-966.

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthesis biomebranes. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. (eds). Methods in Enzymology. Academic Press, New York, 350–382.

Liu, J., Wang, W., Wang, L. and Sun, Y. (2015). Exogenous melatonin improves seedling health index and drought tolerance in tomato. Plant growth regulation, **77** (n/a),317-326.

Liu, L., D. Li, Y. Ma, H. Shen, S. Zhao and Y. Wang (2021). Combined application of arbuscular mycorrhizal fungi and exogenous melatonin alleviates drought stress and improves plant growth in tobacco seedlings. Journal of Plant Growth Regulation, 40,

Liu, L., D. Li, Y.L. Ma, L.J.Wang, S.M. Zhao, J.X. Zhou, H.T. Shen and Y.F. Wang (2019). Alleviation of drought stress and the physiological mechanisms in tobacco seedlings treated with exogenous melatonin. Acta Prataculturae Sinica, 28(8), 95.

Muscolo, A., M. Sidari, U., Anastasi, C., Santonoceto and A. Maggio (2014). Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. Journal of Plant Interactions. 9, 354–363.

Nadarajah, K.K. (2020). ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. *International journal of molecular sciences*, *21*(15), p.5208.

Rehaman, A., A.K. Mishra, A. Ferdose, T.S. Per, M. Hanief, A.T. Jan and M. Asgher (2021). Melatonin in plant defense against abiotic stress. Forests, 12(10), 1404.

Ren, X., C. Yang, X. Zhu, P. Yi, X. Jiang, J. Yang, S. Xiang, Y. Li, B. Yu, W. Yan and X. Li (2024). Insights into drought stress response mechanism of tobacco during seed germination by integrated analysis of transcriptome and metabolome. *Plant Physiology and Biochemistry*, *209*, p.108526.

Sharma, A., J. Wang, D. Xu, S. Tao, S. Chong, D. Yan, Z. Li, H. Yuan and B. Zheng (2020). Melatonin regulates the functional components of photosynthesis, antioxidant system, gene expression, and metabolic pathways to induce drought resistance in grafted Carya cathayensis plants. Science of the Total Environment, 713, 136675.

Effect of foliar spraying with melatonin (MT) on tobacco var. Shak Al-Bint under artificial drought stress conditions with polyethylene glycol (PEG)

Ahmed soufi[1*]

[1] Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

(*Corresponding author: Ahmed. E-mail: 7mada.movo9@gmail.com, phone:+963991266905).

Received: 23/ 07/ 2024 **Accepted:** 8/ 10/ 2024

Abstract

The research was carried out in 2024, on the experimental farm in the village of Qara Falah in Latakia Governorate- Syria, to study the effect of treatment with melatonin acid at concentrations (50, 100 and 150 microliters) on some biochemical and productive characteristics of the local tobacco plant (Shak Al-Bint) under conditions of drought soil treatments by Poly Ethylene Glycol (PEG) solutions (15, 30 and 45 %), corresponding to final osmotic potentials -0.52, -1.04 and -1.56 MPa, which were distributed according to the randomized complete design (R.C.D) with three replicates. Many important indicators were measured, including: leaf content of: chlorophyll (µg/g), proline (µmol/g), manol d-aldehyde MDA (nmol/g), and yield of green and dry leaves (g/plant). The results showed a decrease in the green tobacco yield (75 g/plant) and dry (20 g/plant) under drought stress conditions at a concentration of 45%. The chlorophyll content of the leaves also decreased steadily with increasing applied stress, which in this context reached (463 µg/g). In contrast, the chlorophyll content of the leaves increased when spraying with melatonin at a concentration of 50 µl (710 µg/g), which was positively reflected on the green and dry leaf yield. The proline content of the leaves also decreased (0.9 µmol/g), especially at a low concentration of melatonin. The results showed that the treatment with a diluted concentration of melatonin acid was superior to all treatments and the control for all studied indicators. Therefore, it is recommended to use melatonin acid, especially at a low concentration (50) µl, for its role in improving many chemical indicators, which is reflected in increasing tobacco productivity under drought stress conditions.

Keywords: melatonin, tobacco, Shak Al-Bint cultivar, drought stress.