Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Evaluation of the effect of endophyte and melatonin on the improvement of stevia root growth affected by salinity under hydroponic conditions

Madeh Ahmadi[1], Azim Ghasemnezhad[*2], Mansour Ghorbanpour[3]

1. Ph.D. Student, Dept. of Horticulture Science and Green Space Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: ahmadimadeh@yahoo.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticulture Science and Green Space Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: ghasemnezhad@gau.ac.ir
3. Dept. of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. E-mail: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.26.2021
Revised: 09.08.2021
Accepted: 10.09.2021

Keywords:
Elicitor,
Environmental stresses,
Growth stimulant,
Medicinal plants

ABSTRACT

Background and Objectives: Soil and water salinity are considered as the main factors limiting plant growth. In saline conditions, the plant tries to increase the absorption potential of key elements, especially potassium. These changes are accompanied by shrinkage of the aerial parts. The increasing trend of soil salinity increases due to the imbalance of precipitation and annual evaporation on saline soil surfaces. Therefore, increasing the area under salinity-resistant plants or using conservation techniques will be very important. Stevia, despite its importance, is sensitive to soil and water salinity. Today, the role of biotic and abiotic stimulants in the adaptation of plants to adverse environmental conditions is very important. In the present study, the effect of endophytic fungi and melatonin on stevia root changes in treatment with saline under hydroponic conditions will be investigated.

Materials and Methods: The present study was performed as a factorial experiment in a completely randomized design with six replications under greenhouse and hydroponic conditions. This experiment was repeated twice to obtain more reliable results. Treatments used included endophytic fungi isolated from yew (in three levels of fungus-free control, strain TB20, strain TB2-3), melatonin application (in three levels of melatonin-free control, 0.5 µM pure melatonin and 0.5 µM *Thymus vulgaris* extract), and three salinity levels of NaCl (no salinity, medium salinity of 80 mM and high salinity of 150 mM irrigation water). In both experiments, the first foliar application was performed seven days and the first irrigation with salinity levels was performed 10 days after planting. Experimental plants were evaluated in terms of root trait as well as the over ground biomass yield.

Results: In both experiments, similar results were obtained and showed the positive effects of melatonin and endophytic fungi on the improvement of root growth characteristics under salinity stress. The best treatments used included thyme extract and TB20 endophytic fungus under salinity conditions. Most of the measured traits such as root volume, root length, fresh and dry weight of roots increased 2.5, 1.5-2 and 1.2-2, respectively, compared to the control using fungal and melatonin treatments. Although salinity increased the root traits to a moderate level, but with increasing salinity, the amount of these traits decreased sharply and significantly. A similar trend was observed in over ground biomass yield.

Conclusion: The results of the present study indicate that the application of melatonin and endophyte, especially the TB20 strain, reduces the growth limitations of stevia in saline conditions. To the extent that in this case, most parameters measured in plants treated with thyme extract and endophytic fungus have a suitable condition. It is therefore suggested that after ensuring the impact of the current treatments under field conditions, they can be used as pre-treatment in the cultivation of stevia under special conditions.

Cite this article: Ahmadi, Madeh, Ghasemnezhad, Azim, Ghorbanpour, Mansour. 2023. Evaluation of the effect of endophyte and melatonin on the improvement of stevia root growth affected by salinity under hydroponic conditions. *Journal of Plant Production Research*, 30 (2), 21-38.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2021.19343.2855
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

بررسی اثر اندوفیت و ملاتونین بر بهبود رشد ریشه استویا تحت‌تأثیر شوری در شرایط هیدروپونیک

مادح احمدی[۱]، عظیم قاسم‌نژاد*[۲]، منصور قربانپور[۳]

۱. دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: ahmadimadeh@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: ghasemnezhad@gau.ac.ir

۳. گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۴
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷

واژه‌های کلیدی:
الیسیتور،
تنش‌های محیطی،
گیاهان دارویی،
محرک رشد

چکیده

سابقه و هدف: شوری خاک و آب از عمده‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان تلقی می‌شوند. در شرایط شور، گیاه از طریق افزایش تعداد ریشه و طول ریشه، پتانسیل جذبی عناصر کلیدی به‌ویژه پتاسیم را افزایش می‌دهد. روند روبه افزایش شوری خاک به‌دلیل بهم‌خوردن موازنه نزولات و تبخیر سالانه بر سطوح خاک‌های شور می‌افزاید. بنابراین افزایش سطح زیرکشت گیاهان مقاوم به شوری و یا استفاده از روش‌های محافظتی اهمیت زیادی خواهند داشت. استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) علی‌رغم اهمیت زیاد، نسبت به شوری آب و خاک حساس است. امروزه نقش محرک‌های زیستی و غیرزیستی در سازگاری گیاهان به شرایط نامساعد محیطی اهمیت زیادی دارد. در پژوهش حاضر اثر قارچ‌های اندوفیت و ملاتونین بر تغییرات ریشه استویا در تیمار با آب شور در شرایط هیدروپونیک بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار در شرایط گلخانه و کشت هیدروپونیک در دو آزمایش متوالی انجام شد. تیمارهای استفاده شده شامل قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده از سرخدار (*Taxus baccata*) (در سه سطح شاهد بدون قارچ، سویه TB20، سویه TB2-3)، محلول‌پاشی با ملاتونین (در سه سطح شاهد بدون ملاتونین، ۰/۵ میکرومولار ملاتونین خالص و ۰/۵ میکرومولار عصاره *Thymus vulgaris*) و سه سطح شوری NaCl (بدون شوری، شوری متوسط ۸۰ میلی‌مولار و شوری زیاد ۱۵۰ میلی‌مولار آب آبیاری) بودند. در هر دو آزمایش اولین محلول‌پاشی هفت روز و اولین آبیاری با سطوح شوری ۱۰ روز پس از کاشت انجام شد. گیاهان آزمایشی از نقطه نظر صفات ریشه و عملکرد پیکر رویشی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج در هر دو آزمایش بیانگر اثرات مثبت ملاتونین و اندوفیت بر بهبود خصوصیات رشدی ریشه تحت تنش شوری بود. بهترین تیمارهای استفاده شده شامل عصاره آویشن باغی و قارچ اندوفیت TB20 تحت شرایط بدون شوری بودند. اکثر صفات اندازه‌گیری شده از جمله حجم ریشه، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه به‌ترتیب ۲/۵، ۲- ۱/۵ و ۲- ۱/۲ برابر نسبت به شاهد با کاربرد تیمارهای قارچ و ملاتونین افزایش یافت. اگرچه شوری تا حد متوسط نیز باعث افزایش صفات ریشه گردید اما با افزایش تنش شوری میزان این صفات به‌شدت و به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. روند مشابه‌ای نیز در عملکرد پیکر رویشی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: برایند نتایج پژوهش حاضر بیانگر این مطلب است که استفاده از ملاتونین و اندوفیت به‌ویژه سویه TB20، محدودیت‌های رشدی استویا در شرایط شوری را کاهش می‌دهد. به‌گونه‌ای که در این حالت اغلب پارامترهای اندازه‌گیری شده در گیاهان تیمار شده با عصاره آویشن و قارچ اندوفیت وضعیت مناسبی دارند. بنابراین پیشنهاد می‌شود پس از اطمینان از تأثیرگذاری تیمارهای حاضر در شرایط مزرعه، از آن‌ها به عنوان پیش تیمار در کشت استویا در شرایط خاص استفاده شود.

استناد: احمدی، مادح، قاسم‌نژاد، عظیم، قربانپور، منصور (۱۴۰۲). بررسی اثر اندوفیت و ملاتونین بر بهبود رشد ریشه استویا تحت‌تأثیر شوری در شرایط هیدروپونیک. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۳۰ (۲)، ۳۸-۲۱.
DOI: 10.22069/JOPP.2021.19343.2855

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni یک گیاه علفی و چندساله متعلق به خانواده آستراسه[1] (۱) و بومی آمریکای جنوبی، به‌ویژه شمال شرقی پاراگوئه است، که به‌دلیل قدرت بالا در شیرین‌سازی، به‌عنوان "استویا" یا "برگ‌های عسل" شناخته می‌شود و جزو شیرین‌کننده‌های طبیعی غیرکالری‌زا هستند (۲ و ۳). این گیاه به‌طور طبیعی در کوه آمامبیا نزدیک رودخانه مندی (منطقه‌ای باریک‌بین برزیل و پاراگوئه) رشد می‌کند و در حال حاضر در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود (۴).

امروزه، اهمیت جهانی استویا به‌دلیل وجود برگ‌های شیرین آن است که به‌طور سنتی در ژاپن، کره، چین و آمریکای جنوبی استفاده می‌شود. شیرینی استویا به‌دلیل وجود گلیکوزیدهای آن است این ترکیبات حلال در آب هستند و ۲۵۰ تا ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از قند معمولی هستند (۵). استویا گیاهی حساس به شوری بوده و دامنه محدود pH ۷-۵/۶ برای رشد آن ایده‌ال است (۶).

شوری به‌عنوان یک مشکل عمده در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان در نظر گرفته می‌شود و رشد، کیفیت و عملکرد گیاهان باغی و دارویی را محدود می‌کند (۷). پژوهش‌گران اکنون به‌دنبال راه‌حل‌های جدید برای مقابله با پدیده شوری و به حداقل رساندن اثرات شوری و کاهش تلفات عملکرد هستند. روش‌های مختلفی به‌منظور افزایش زیست‌توده و متابولیت‌های گیاهان دارویی در شرایط نامطلوب رشدی از جمله شوری کاربرد دارد که استفاده از الیسیتورها یکی از مهم‌ترین آن‌ها است. براساس تعریف، الیسیتور می‌تواند یک عامل زیستی و یا غیرزیستی باشد که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم سبب تحریک سیستم ایمنی گیاه و تولید متابولیت ثانویه شود (۸).

یک راه‌حل احتمالی برای این زمینه استفاده از همزیستی قارچ‌های اندوفیت برای تحریک رشد گیاه، به‌ویژه در شرایط تنش‌زا و هم‌چنین بررسی‌های بیوتکنولوژی و تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی آن است (۹). گیاهان می‌توانند از طریق تعامل با میکروارگانیسم‌های خاک مانند قارچ‌های میکوریزا بر تنش شوری غلبه کنند (۱۰). میکروارگانیزم‌های اندوفیت در بافت‌های زنده گیاه میزبان استقرار یافته و در دامنه وسیعی از روابط متقابل با گیاه از همزیستی تا شکل بیماری‌زا درگیر هستند (۱۱). نحوه عملکرد آن‌ها به‌این شکل است که با اتصال به خاک سبب افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک و افزایش تخلخل خاک، تجزیه مواد آلی و نگهداری مواد غذایی در خاک می‌شوند (۱۲)، قارچ با جذب بیش‌تر مواد غذایی برای گیاه، تحمل آن را تحت شرایط تنش آبی، دما و شوری افزایش داده و هم‌چنین با دادن مقاومت سیستمیک به گیاه، آن را در مقابل عوامل بیماری‌زا، حشرات و فلزات سنگین مقاوم می‌کند (۱۳). قارچ *Piriformospora indica* با کلونیزه کردن و افزایش رشد ریشه بسیاری از گیاهان عملکرد آن‌ها را افزایش می‌دهد و رشد محصولات را در خاک‌های فقیر، با کم‌تر کردن استفاده از آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی، بهبود می‌بخشد (۱۴).

استفاده از ترکیبات یا تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به‌صورت برون‌زا در بسیاری از موارد در کاهش اثرات تنش‌های محیطی مؤثر بوده است امروزه استفاده از ترکیباتی که بتوانند اثرات تنش‌های محیطی را کاهش دهند، از لحاظ تئوری و کاربردی اهمیت زیادی دارد. یکی از ترکیباتی که باعث ایجاد مقاومت و تحمل شرایط سخت در برابر تنش‌های هم‌چون تنش شوری می‌شود ملاتونین می‌باشد (۱۵). ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی سیتپتامین)، یک ایندولامین طبیعی است که در سال ۱۹۵۸ در غده پینه‌آل گاو کشف شد (۱۶).

1- Asteraceae

ملاتونین از زمان شناسایی در گیاهان در سال ۱۹۹۵ موردتوجه گسترده زیست‌شناسان قرار گرفته است (۱۷). در گیاهان ملاتونین دارای چندین نقش فیزیولوژیکی در فرآیندهای مختلف زیستی، از جمله جوانه‌زنی بذر، شروع ریشه‌دهی، شاخه‌زایی، فتوسنتز، گلدهی، رسیدن میوه و پیری است (۱۸). علاوه‌بر این، ملاتونین نقش مهمی در کاهش تنش‌های مختلف زیستی و غیرزنده مانند تنش شوری، خشکی، سرما و گرما در گیاهان مختلف دارد (۱۹ و ۲۰).

تقریباً ملاتونین در همه گونه‌های گیاهی یافت می‌شود و میزان آن به نوع بافت گیاهی، زمان برداشت و میزان در معرض قرار داشتن در برابر نور بستگی دارد اگرچه ملاتونین در گیاهان و برگ‌های معطر بیش‌تر از دانه و بذر است (۸).

در چند وقت اخیر، ملاتونین به‌عنوان یک ماده تحریک‌کننده زیستی و تنظیم‌کننده رشد گیاه، علاقه زیست‌شناسان گیاهی را به خود جلب کرده است (۲۱). به‌عنوان مثال، با درگیری و دخالت در تنظیم پیام‌رسانی تنش، مقاومت فیزیولوژیکی و مولکولی در برابر بسیاری از تنش‌های غیرزیستی را فرآهم می‌کند (۹). علاوه بر این، اثر مفید آن بر روی فتوسنتز و سایر عوامل مرتبط با رشد در میان محصولات مختلف تحت تنش‌های مختلف غیرزیستی یکی دیگر از جنبه‌های امیدوارکننده کاربرد ملاتونین است (۲۲).

اثر محرک‌های زیستی در گیاه، ناشی از تأثیر آن بر متابولیت‌های گیاه می‌باشد که موجب تحریک در بیوسنتز فیتوهورمون‌ها، تسهیل جذب عناصر غذایی، تحریک رشد ریشه و افزایش کمیت و کیفییت محصول می‌شود تأثیر ملاتونین بر ریشه‌زایی از طریق القای هورمون اکسین و تولید اندام‌هوایی را از طریق هورمون سایتوکینین تنظیم می‌کند به‌این خاطر ملاتونین را به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌دانند. در گیاهان ملاتونین در قسمت‌های مختلف وجود دارد (۱۶). به‌همین دلیل شناخت پتانسیل اندوفیت‌ها و هم‌چنین نحوه عملکرد ملاتونین در مدیریت رشدی گیاهان در شرایط سخت دارای اهمیت است.

شوری خاک و آب از عمده‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در اکثر مناطق خشک و نیمه‌خشک بوده و در کنار کم‌آبی مهم‌ترین عامل تهدیدکننده کشاورزی محسوب می‌شوند. گیاهان دارویی جایگزین مناسبی برای کشت در شرایط سخت محسوب می‌شوند. از این‌رو مطالعه مراحل مختلف رشد گیاهان دارویی در شرایط تنش شوری اهمیت ویژه‌ای در مدیریت زراعی و کاهش اثرات منفی تنش بر رشد و تولید گیاهی دارد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر محرک‌های زیستی و غیرزیستی بر بهبود شرایط رشدی استویا در شرایط شور طراحی و اجرا شده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌صورت هیدروپونیک در شرایط گلخانه با امکان کنترل عوامل محیطی از جمله دما و رطوبت انجام شد. برای اطمینان از اثر تیمارها، آزمایش تکرار شد. قلمه‌های ریشه‌دار شده استویا از شرکت زرین گیاه ارومیه تهیه شد.

کشت و تلقیح قارچ‌های اندوفیت: به‌منظور بررسی قابلیت میزبانی استویا، قارچ‌های جداسازی شده از ریشه سرخدار (*Taxus baccata*) پس از خالص‌سازی و شناسایی در محیط PDA در شرایط استریل در ارلن‌مایر کشت شدند. پس از تشکیل زیست‌توده کافی قارچ، محتویات ارلن‌مایر فیلتر شده و ریشه قلمه‌های تازه ریشه‌دار شده به‌مدت سه ساعت در میسلیوم حاوی غلظت ۱۲×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر تیمار

گردید. سپس قلمه‌های ریشه‌دار شده در گلدان‌های سایز ۷ حاوی کوکوپیت و پرلیت کشت شدند. تعیین غلظت اسپور در سوسپانسیون با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ انجام شد (۲۳). گیاهان ریشه‌دار شده پس از انجام عمل تلقیح با قارچ‌های مورد نظر در گلخانه با شرایط دمایی ۲۵–۲۷ درجه سانتی‌گراد، وضعیت روشنایی ۱۶:۸ روز و شب و هم‌چنین رطوبت نسبی ۷۰ درصد تا زمان برداشت نگهداری شدند.

تیمارهای مورد استفاده: در پژوهش حاضر از دو اندوفیت قارچی محرک رشد (TB20) و محرک متابولیت (TB2-3) (۲۴) استفاده شد. تیمار ملاتونین در سه سطح (شاهد بدون ملاتونین، ۰/۵ میکرومولار ملاتونین خالص و عصاره آویشن (*Thymus vulgaris*) در غلظت ۰/۵ میکرومولار) و شوری در سه سطح (بدون شوری، شوری متوسط ۸۰ میلی‌مولار و شوری زیاد ۱۵۰ میلی‌مولار) اعمال شد. بررسی‌ها نشان داد که عصاره آویشن از منابع گیاهی غنی از ملاتونین است (۲۵). ملاتونین خالص از قرص‌های حاوی ملاتونین به روش پیشنهادی (۲۶) تهیه شد. برای تهیه سطوح مختلف عصاره ملاتونین و عصاره آویشن از حلال متانول ۷۰ درصد به نسبت ۱:۱۰ حلال و ماده خشک استفاده شد (۸).

غلظت‌های مختلف ملاتونین و عصاره آویشن به‌صورت محلول‌پاشی با هدف افزایش مقاومت به شوری در سه نوبت و هر نوبت به فاصله یک هفته انجام شد. اولین محلول‌پاشی در یک هفته بعد از کاشت و اطمینان از استقرار گیاه انجام شد. جهت تعیین سطوح مختلف شوری آب آبیاری در سه سطح صفر، متوسط (۸۰ میلی‌مولار) و زیاد (۱۵۰ میلی‌مولار) از کلرید سدیم خالص شرکت شیمیایی مجللی (Mojajali co) استفاده شد.

استقرار گیاهان در گلدان‌های سایز ۷ حاوی مخلوطی از کوکوپیت و پرلیت کشت شده و در طول دوره رشد با محلول هوگلند (شرکت سبزینه مارال) تغذیه شدند و حدوداً هر سه روز یکبار بار تغذیه و هر دوره آزمایش سه ماه به طول انجامید. گیاهان پس از تشکیل زیست‌توده کافی و قبل از ظهور گل از نقطه‌نظر صفاتی هم‌چون، وزن تر و خشک برگ و اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، حجم ریشه، طول و قطر ریشه مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS (Version 9) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل سطح معنی‌داری (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی‌ها نشان داد که استویا توانایی همزیستی با اندوفیت‌های جداسازی شده از درخت سرخدار را داشته و هم‌چنین استفاده از تیمار ملاتونین تأثیرات مثبتی را بر صفات اندازه‌گیری شده داشت. در هر دو آزمایش، تمام صفات اندازه‌گیری شده ریشه به‌جز قطر ریشه به‌صورت معنی‌داری تحت‌تأثیر اثر ساده تیمارها قرار داشتند. تیمار ملاتونین تأثیر معنی‌داری بر قطر ریشه در دو آزمایش نداشت (جدول ۱). اثر متقابل شوری و ملاتونین در دو آزمایش در اغلب پارامترها به‌غیر از قطر ریشه در آزمایش اول معنی‌دار بود. اثرات متقابل تیمار شوری و قارچ نیز بر تمام صفات ریشه اندازه‌گیری شده اثر معنی‌داری را نشان داد. هم‌چنین در هر دو آزمایش اغلب صفات اندازه‌گیری شده تحت‌تأثیر اثر متقابل ملاتونین و اندوفیت قرار داشتند. بااین‌وجود، طول ریشه در آزمایش اول تحت‌تأثیر اثر مذکور قرار نداشت (جدول ۱).

اثر متقابل سه‌گانه تیمارها در آزمایش اول تنها بر وزن خشک ریشه اثر معنی‌داری را نشان نداد و بر

دیگر صفات ریشه این اثر معنی‌دار بود این درحالی است که اثرات متقابل سه‌گانه تیمارهای استفاده شده در آزمایش دوم بر صفاتی هم‌چون طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه اثر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱). وجود تفاوت معنی‌دار بین دو آزمایش را می‌توان به افزایش مقطعی شدت نور و دما در طول آزمایش اول مرتبط دانست. به نظر می‌رسد که افزایش شدت نور و به دنبال آن دما در شرایط گلخانه در مقاطعی از آزمایش اول با وجود استفاده از سایبان، بر شرایط فتوسنتزی گیاه اثر مستقیم داشت. استویا از گیاهان بومی مناطق گرم و مرطوب پاراگوئه در آمریکای جنوبی است (۱۵). در بررسی‌های انجام شده، نشان داده شد که کشت استویا در مناطقی با شدت نور بالا سبب افزایش دما بافت و کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد می‌شود (۲). بنابراین تفاوت مشاهده شده در برخی از پارامترهای اندازه‌گیری شده در دو آزمایش از این منظر قابل بیان است.

نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر گیاه استویا در جدول ۱ آمده است. تحت‌تأثیر اثر متقابل سه‌گانه شوری، ملاتونین و اندوفیت، بیش‌ترین و کم‌ترین حجم ریشه گیاه استویا در دو آزمایش به‌ترتیب در شرایط شوری متوسط به‌همراه عصاره آویشن و قارچ TB20 و در شرایط شوری زیاد به همراه شاهدهای ملاتونین و قارچ (۱۳/۲–۲/۷ میلی‌لیتر) مشاهده شد تیمارهای ملاتونین و قارچ اندوفیت استفاده شده، هر کدام اثرات مثبت و معنی‌داری داشتند و بهترین تیمار قارچی و ملاتونین مربوط به قارچ TB20 عصاره آویشن بود که نسبت به شاهدهای هر کدام از تیمارها، این اختلاف به‌صورت مثبت و معنی‌دار مشاهده شد اگرچه در شرایط غیرشور TB2-3 نتایج بهتری نسبت به TB20 داشت (شکل‌های ۱ و ۲).

در بررسی حاضر و در آزمایش اول طول ریشه گیاهان آزمایشی آبیاری شده با آب غیرشور، تیمار شده با عصاره آویشن و قارچ اندوفیت TB20 و TB2-3 در بیش‌ترین مقدار بود این در حالی است که کم‌ترین طول ریشه در گیاهانی مشاهده شد که در بیش‌ترین سطح شوری رشد کرده و یا تحت تیمار شوری و تیمارهای فاقد ملاتونین و قارچ قرار داشتند (شکل ۳). در اکثر موارد قارچ TB20 تأثیر مثبت و بهتری نسبت به TB2-3 داشت اگرچه در شاهد غیرشور، TB2-3 اثر بهتری را نشان داد.

تغییرات تنش شوری بر پتانسیل اسمزی سبب برهم‌زدن تعادل آب گیاه، کاهش تورژسانس سلول و جلوگیری از رشد نهایی گیاه می‌شود (۲۷). تنش شوری با ایجاد محدودیت در جذب آب و نیز سمیت یونی بر وضعیت آب بافتی گیاه، فرآیندهای متابولیکی و رشد گیاه تأثیر می‌گذارد، کاهش میزان صفات مربوط به ریشه و بخش هوایی گیاه سبب کاهش قابل‌توجهی در رشد می‌شود (۲۸). گزارش شد که شوری باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه گوجه‌فرنگی شد و همزیستی با قارچ‌های اندوفیت سبب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گردید و با افزایش تنش شوری، قارچ‌های اندوفیت باعث کاهش روند نزولی تأثیرات مضر تنش بر میزان وزن خشک ریشه و اندام هوایی می‌شود (۲۹).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات اندازه‌گیری ریشه استویا.

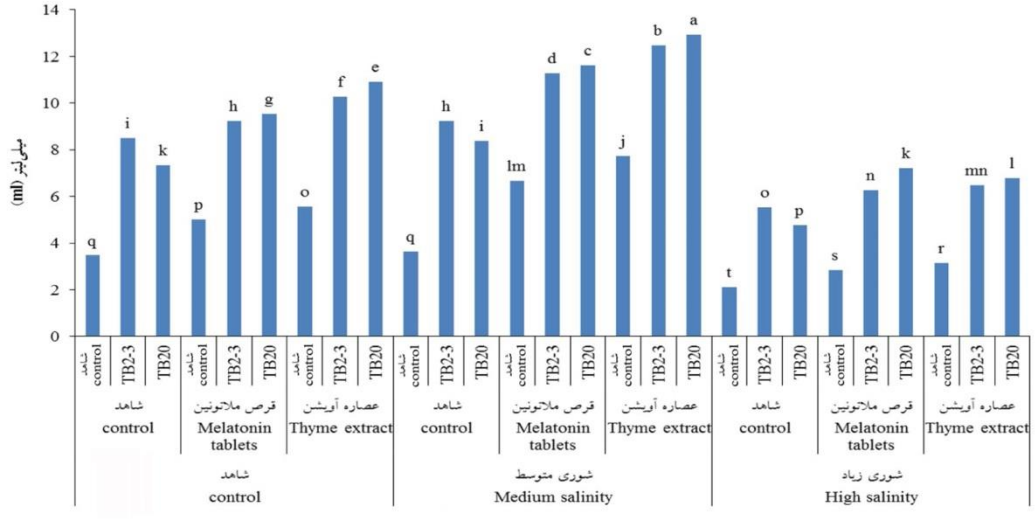
Table 1. Analysis of variance of the effect of treatments on measured traits of stevia root.

قطر ریشه Root diameter		وزن خشک ریشه Root dry weight		وزن تر ریشه Root fresh weight		طول ریشه Root length		حجم ریشه Root volume		درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of variations
آزمایش دوم The second experiment	آزمایش اول The first experiment	آزمایش دوم The second experiment	آزمایش اول The first experiment	آزمایش دوم The second experiment	آزمایش اول The first experiment	آزمایش دوم The second experiment	آزمایش اول The first experiment	آزمایش دوم The second experiment	آزمایش اول The first experiment		
0.17**		9.7**		24.4**		316.4**		2.63**		1	آزمایش Experiment
0.32**	0.17**	81.1**	126.9**	302.7**	384.5**	491.4**	1320.4**	48.2**	128.4**	2	شوری Salinity
0.0004 ns	0.0002ns	7.6**	9.8**	20.3**	21.4**	291**	230.1**	27.3**	48.2**	2	ملاتونین Melatonin
0.0003 ns	0.027**	16.6**	24.7**	57.7**	83.7**	794.3**	359.4**	121.8**	171**	2	قارچ اندوفیت Endophytic fungus
0.0021**	0.0003ns	0.9**	5.9**	3.2**	2.6**	12.6*	14**	0.7**	4.1**	4	شوری × تیمار ملاتونین Salinity × Melatonin
0.0027**	0.011**	4.6**	9.3**	15.7**	12.8**	59.4**	37.6**	1.7**	1.8**	4	شوری × قارچ اندوفیت Salinity × Endophytic fungus
0.0023**	0.0009*	0.3**	1.6*	1**	0.2**	1.1ns	7.6**	1.6**	1.5**	4	تیمار ملاتونین × قارچ اندوفیت Melatonin ×Endophytic fungus
0.0014*	0.0013**	0.01 ns	0.71ns	0.1 ns	0.35**	5.1 ns	4.9**	0.3**	0.2**	8	شوری×تیمار ملاتونین×قارچ اندوفیت Salinity × Melatonin × Endophytic fungus
0.0005	0.0002	0.03	0.49	0.07	0.04	4.02	0.7	0.11	0.02		خط Error
4.2	2.78	5.9	19.4	4.48	3.13	8.16	3.8	4.75	2.3		ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد، ns فاقد اثر معنی‌داری

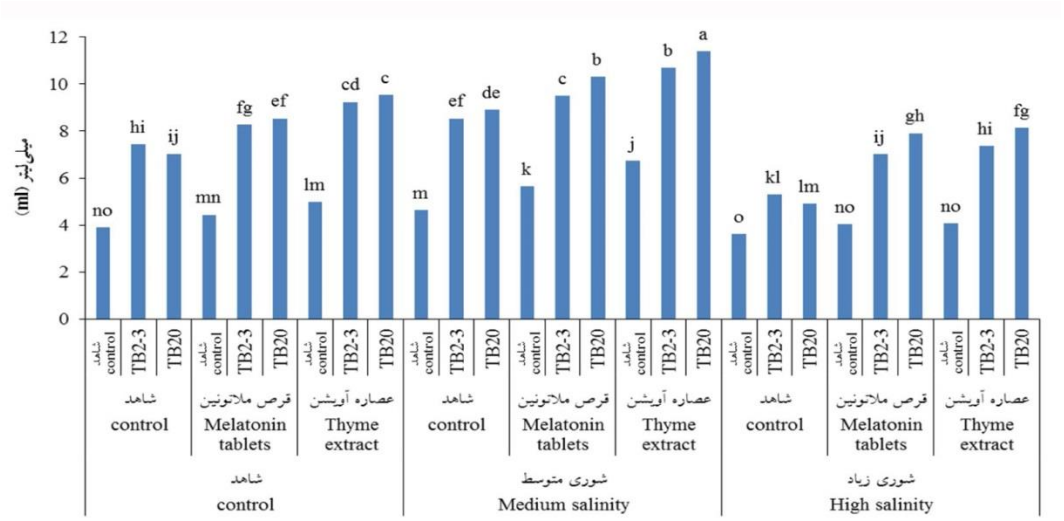
** significant at the level of 0.01, * significant at the level of 0.05, ns non- significant

بررسی‌ها نشان داد که قارچ‌های همزیست اثر معنی‌دار افزایشی بر پارامترهای رویشی گیاه و عملکرد و وزن خشک ریشه نعناع فلفلی دارند (۳۰). در گزارشی بیان شد که قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* به‌عنوان اندوفیت محرک رشد و بالا برنده میزان مقاومت اکثر گیاهان به تنش‌های محیطی است (۳۱ و ۳۲). هم‌چنین نشان داده شد که میزان کلروفیل برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه استویا در تیمارهای ورمی‌کمپوست ۲۰ درصد و تلقیح با قارچ مایکوریزای *Glomus mosseae* افزایش یافته است (۳۳). مارتین و استوتز (۲۰۰۴) نشان دادند که تلقیح گیاه فلفل با دو گونه از قارچ مایکوریز بر خصوصیات رشدی گیاه مؤثر بوده و از طریق تحریک در تولید زیستی تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اکسین، سبب تحریک رشد گیاهان می‌شود.



شکل ۱- اثر متقابل تیمارهای به‌کار برده شده بر حجم ریشه در آزمایش اول.

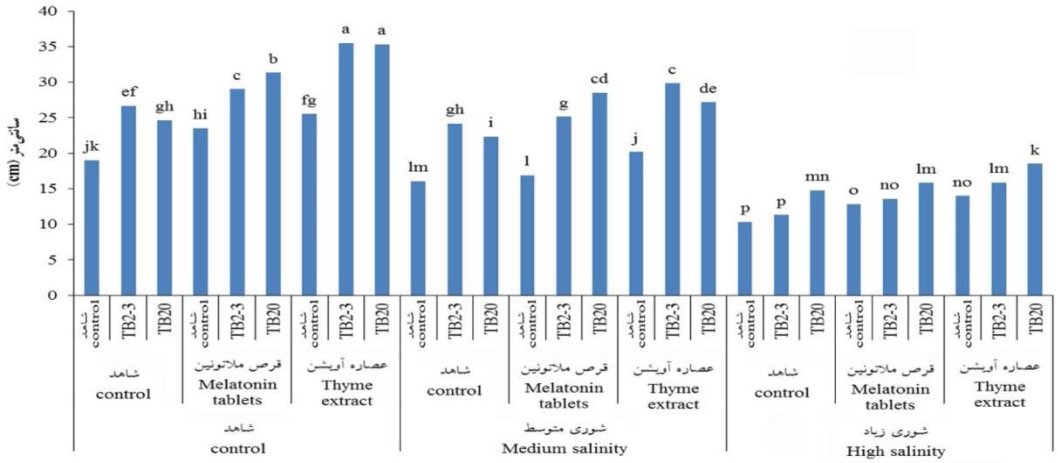
Fig. 1. Interaction of treatments used on root volume in the first experiment.



شکل ۲- اثر متقابل تیمارهای به‌کار برده شده بر حجم ریشه در آزمایش دوم.

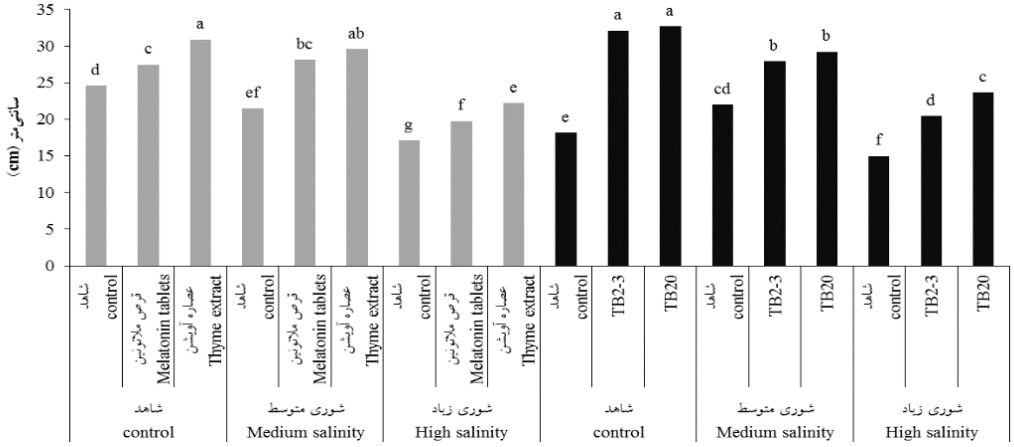
Fig. 2. Interaction of treatments used on root volume in the second experiment.

در این حالت قارچ از طریق افزایش تولید ریشه گیاه میزبان در بلندمدت باعث افزایش جذب آب و مواد غذایی شده که در نهایت افزایش رشد رویشی و عملکرد را به‌دنبال دارد (۳۴). عصاره آویشن نیز نسبت به قرص ملاتونین و شاهد اختلاف معنی‌دار و مثبتی را نشان داد (شکل ۳). این در حالی است که بیش‌ترین طول ریشه با توجه به اثرات متقابل دوگانه تیمارهای شوری به همراه ملاتونین و شوری به‌همراه قارچ در آزمایش دوم به‌ترتیب در بین تیمار آب غیرشور (شاهد) به‌همراه عصاره آویشن و آب غیرشور (شاهد) به‌همراه قارچ TB20 و TB2-3 مشاهده شد اگرچه در موارد دیگر قارچ TB20 برتری بهتری نسبت به قارچ TB2-3 داشت و کم‌ترین طول ریشه نیز در آزمایش دوم مربوط به تیمار بالاترین سطح شوری به‌همراه شاهد ملاتونین (بدون ملاتونین) و شاهد قارچ (بدون قارچ) بود (شکل ۴).



شکل ۳- اثر متقابل تیمارهای به‌کار برده شده بر طول ریشه در آزمایش اول.

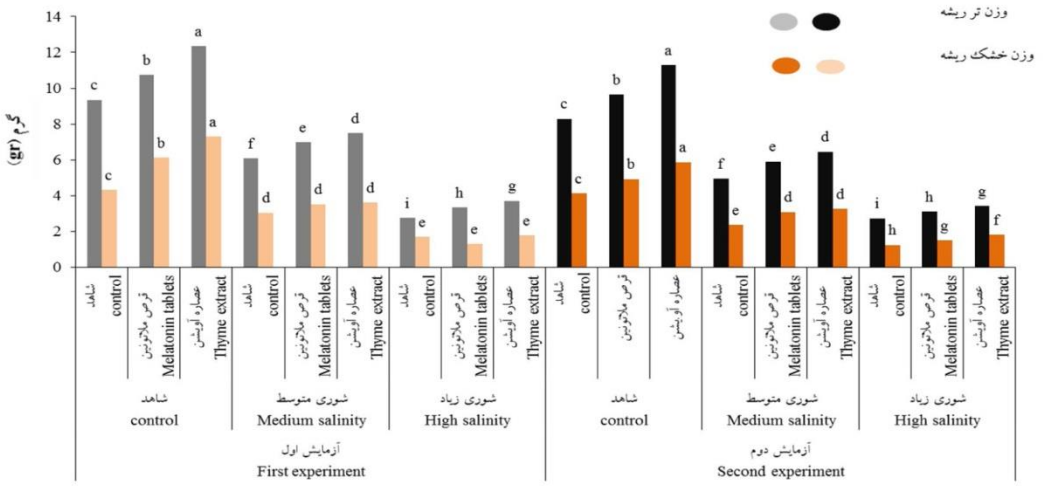
Fig. 3. Interaction of treatments used on root length in the first experiment.



شکل ۴- اثر متقابل تیمارهای شوری و ملاتونین به همراه شوری و قارچ بر طول ریشه در آزمایش دوم.

Fig. 4. Interaction of salinity and melatonin treatments with salinity and fungus on root length in the second experiment.

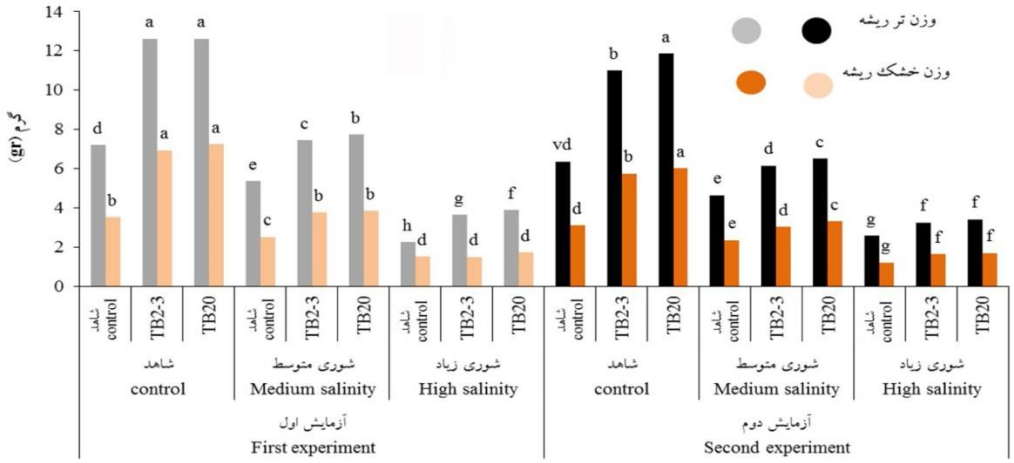
با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه شوری به‌همراه ملاتونین، بیش‌ترین میزان وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش مربوط به آبیاری غیرشور به‌همراه عصاره آویشن (۱۲/۲–۱۱/۷ گرم) مشاهده شد و کم‌ترین وزن تر و خشک ریشه در آزمایش اول مربوط به بالاترین سطح شوری و شاهد ملاتونین (۱/۹ گرم) بود اگرچه وزن خشک ریشه در سطح شوری زیاد در بین سطوح ملاتونین اثر معنی‌داری وجود نداشت. هم‌چنین کم‌ترین میزان وزن تر و خشک ریشه در آزمایش دوم نیز مربوط به تیمار بالاترین سطح شوری به‌همراه شاهد ملاتونین (۱/۶ گرم) بود (شکل ۵). لی و همکاران (۹) در بررسی خود نشان دادند که کاربرد خارجی ملاتونین به‌صورت محلول‌پاشی نسبت به شاهد، دارای میزان وزن خشک ریشه بالاتری بود (۲۰). تان و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که اعمال ملاتونین قبل از تنش شوری به‌عنوان پیش‌تیمار، باعث کاهش اثرات مضر تنش شوری شده و از کاهش رشد گیاه جلوگیری می‌کند (۳۵). پژوهش‌گران گزارش کردند که ملاتونین به‌عنوان جلودار در برابر مقابله با آسیب‌های ناشی از تنش‌های غیرزیستی عمل کرده و سایر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاه به‌عنوان پشتیبان بعد از ملاتونین وارد عمل می‌شوند اگرچه ملاتونین هم می‌تواند به‌عنوان تحریک‌کنندگی و هم بازدارندگی رشد عمل کند و این واکنش به میزان غلظت آن بستگی دارد (۳۶).



شکل ۵- اثرات متقابل تیمارهای شوری و ملاتونین بر وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش.

Fig. 5. Interactions of salinity and melatonin treatments on fresh and dry weight of roots in two experiment.

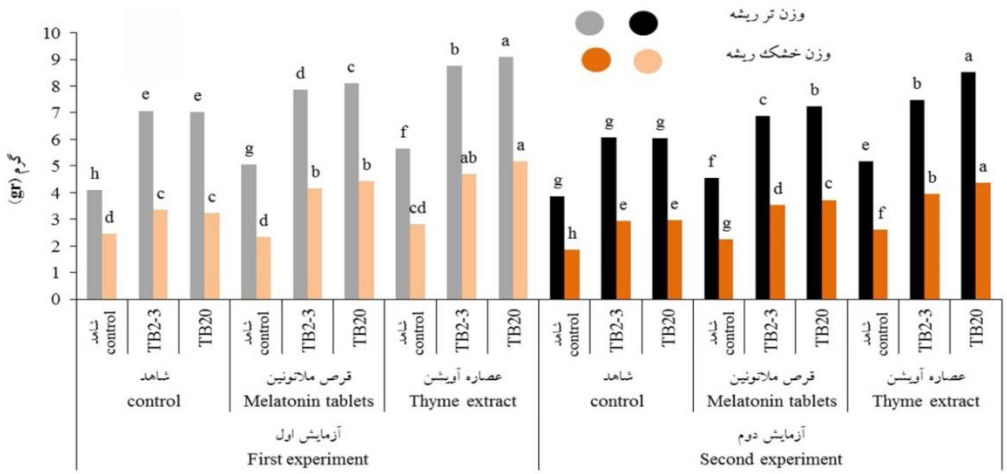
همان‌گونه که در نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه شوری به‌همراه قارچ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش مربوط به آبیاری غیرشور به‌همراه قارچ TB20 (۱۲/۱ گرم) بود اگرچه در آزمایش اول در سطح آبیاری غیرشور، بین دو قارچ اندوفیت TB20 و TB2-3 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما نسبت به شاهد این اختلاف معنی‌دار بود و کم‌ترین وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش مربوط به بالاترین سطح شوری و شاهد قارچ (۱/۸ گرم) بود (شکل ۶).



شکل ۶- اثر متقابل تیمارهای شوری و قارچ بر میزان وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش.

Fig. 6. Interaction of salinity and fungal treatments on fresh and dry weight of roots in two experiments.

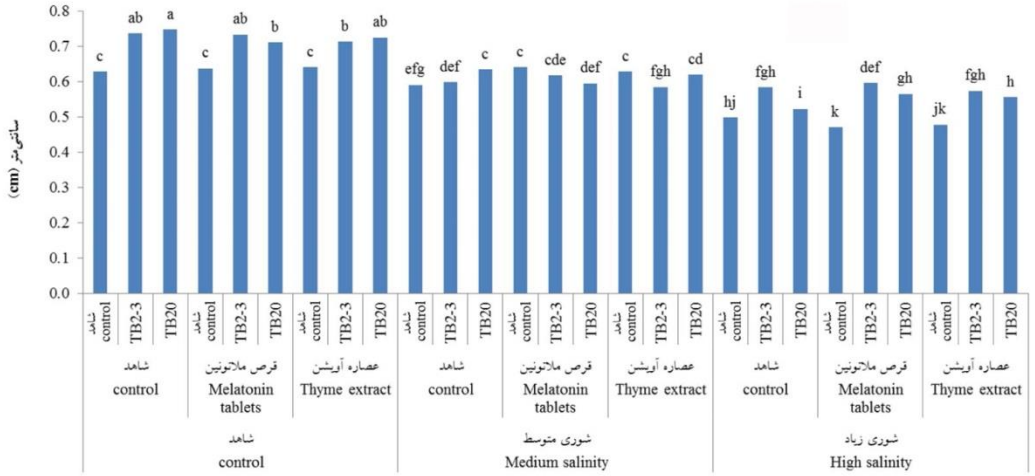
بیش‌ترین میزان وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش در میان اثرات متقابل تیمارهای ملاتونین و قارچ، مربوط به عصاره آویشن به‌همراه قارچ TB20 (۹- ۸/۹ گرم) بود و کم‌ترین میزان وزن تر و خشک ریشه نیز در اثرات متقابل شاهدهای این دو تیمار (۱/۹ گرم) مشاهده شد (شکل ۷). کلیبه و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که در تمام گیاهان زیتون تلقیح یافته به قارچ‌های اندومایکوریز از نظر میزان عملکرد اندام هوایی و توسعه‌پذیری ریشه نسبت به شاهد وضعیت مناسبی مشاهده شد (۳۷). در بررسی‌های قبلی پژوهش‌گران مشخص شد که تأثیرگذاری میکوریزا به‌دلیل در اختیار گذاشتن بیش‌تر میزان فسفر، منگنز و آهن در گیاهان دارویی هم‌چون آویشن باغی موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی شده است (۳۸). قارچ‌های مایکوریزآربوسکولار اثر معنی‌دار بر پارامترهای رویشی و عملکرد و وزن خشک ریشه نعناع فلفلی داشت (۳۰). در پژوهشی مشاهده شد که تلقیح ریشه‌های شوید و زنیان با دو گونه قارچ مایکوریزا سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه شد (۳۹).



شکل ۷- اثر متقابل تیمارهای ملاتونین و قارچ بر وزن تر و خشک ریشه در دو آزمایش.

Fig. 7. Interaction of melatonin and fungal treatments on fresh and dry weight of roots in two experiments.

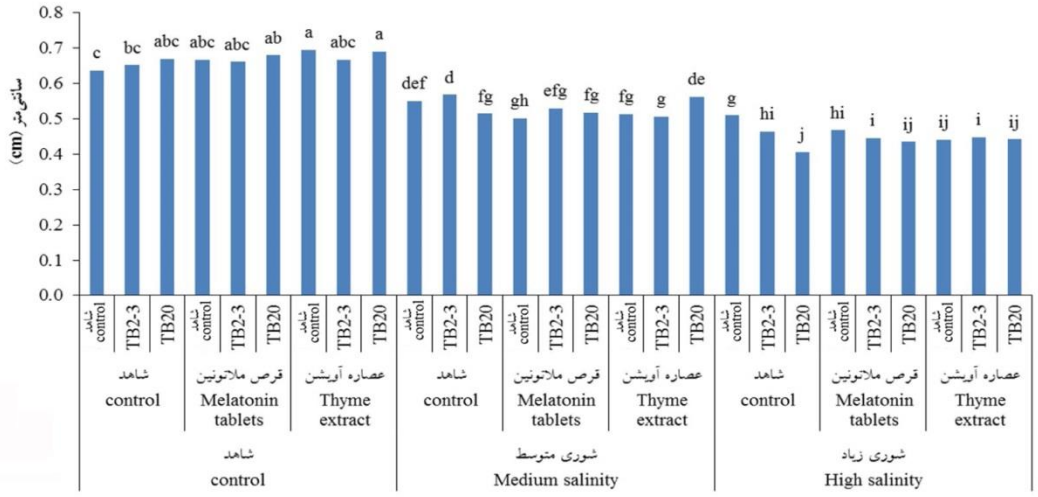
همان‌گونه که از نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه تیمارهای به‌کار برده شده در آزمایش اول مشخص شد در تیمار آبیاری غیرشور به‌همراه شاهد ملاتونین و قارچ TB20 بیش‌ترین میزان قطر ریشه بود اگرچه بین سطوح قارچ و ملاتونین زیاد اختلاف معنی‌داری در آبیاری غیرشور مشاهده نشد اما نسبت به شاهدهای هر کدام از تیمارها این اختلاف معنی‌دار بود و در تیمار بالاترین سطح شوری به‌همراه شاهدهای ملاتونین و قارچ، کم‌ترین میزان قطر ریشه مشاهده شد (شکل ۸).



شکل ۸- اثر متقابل تیمارهای به‌کار برده شده بر قطر ریشه در آزمایش اول.

Fig. 8. Interaction of the treatments used on root diameter in the first experiment.

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه تیمارهای به‌کار برده شده در آزمایش دوم نیز مشخص شد که نتایج تقریباً مشابهی با آزمایش اول داشتند با این تفاوت که کم‌ترین میزان قطر ریشه در بالاترین سطح شوری به‌همراه شاهد ملاتونین و قارچ TB20 مشاهده شد اما در بین سطوح زیاد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۹).



شکل ۹- اثر متقابل تیمارهای به‌کار برده شده بر قطر ریشه در آزمایش دوم.

Fig. 9. Interaction of treatments used on root diameter in the second experiment.

گزارش اثر شوری بر فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی کار بسیار پیچیده‌ای است. زیرا گیاهان براساس ژنوتیپ و مرحله رشدی، ممکن است پاسخ‌های متفاوتی در برابر تنش شوری داشته باشند (۴۰). گیاهان از طریق سازوکارهای متعددی چون کاهش فشار اسمزی ناشی از متعادل کردن غلظت یون‌ها، تغییر در یون‌های مضر به ترکیبات بی‌اثر یا سازگار، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد و تغییر در مسیر فتوسنتز در مقابله با تأثیرات نامطلوب تنش شوری، از خود مقاومت نشان می‌دهند (۴۱). تأثیر الیسیتورهای زنده مانند باکتری‌های و قارچ‌ها در بهبود تغذیه گیاه و کنترل عوامل محیطی تنش‌زا بسیار مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است (۴۲). نتایج مطالعه‌های متعدد به نقش مؤثر قارچ‌های اندوفیت مانند قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار در افزایش سازگاری گیاهان میزبان مختلف به تنش‌های محیطی غیرزیستی (خشکی، شوری، فلزات سنگین، گرما و ...). و زیستی (آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی) اشاره نموده‌اند. گیاهان هم زیست با قارچ‌های اندوفیت در جذب آب و مواد معدنی از خاک موفق‌تر بوده و به بیماری‌های نیز مقاوم‌تر هستند (۴۳). قارچ‌های هم‌زیست باعث افزایش جذب عناصر معدنی به‌طور خاص عناصر با تحرک کم مانند فسفر، روی و مس می‌شوند که در نتیجه باعث افزایش زیست‌توده ریشه و ساقه و بهبود رشد گیاه می‌شوند (۴۴).

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله ملاتونین نقش مهمی در رشد گیاهان و تحمل آن‌ها به تنش دارند (۲۰). در بررسی چن و همکاران (۲۰۱۲) مشخص شد که در شرایط عادی استفاده از تیمار ملاتونین موجب تحریک رشد ریشه در گیاهان اتیوله (*Brassica juncea*) شد (۴۵). هم‌چنین در پژوهشی دیگر ملاتونین باعث تحریک ریشه‌زایی در ریزنمونه‌های گیاه گیلاس شده است که در نتیجه آن افزایش رشد گیاه گزارش شد (۳۶). اگرچه بررسی‌ها بیانگر اثر مثبت ملاتونین بر رشد گیاه به‌ویژه در شرایط تنش است، با این وجود تیمار غلظت‌های بالای این ترکیب اثر معکوس دارد.

وو و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی که روی توت‌فرنگی انجام دادند بیان کردند که غلظت‌های ملاتونین به‌کار برده شده بر توت فرنگی سبب بهبود در صفات رشدی برگ، میوه و ریشه شده است و با افزایش غلظت ملاتونین محلول‌پاشی شده میزان وزن تر و خشک میوه، طول و قطر ریشه افزایش قابل‌توجه و معنی‌داری نسبت به شاهد داشته است و در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بالاترین میزان این صفات رو بیان کردند اما گزارش کردند که با افزایش غلظت تا ۲۰۰ میکرومولار باعث روند کاهشی این صفات گشته اگرچه کماکان نسبت به شاهد، این سطوح نیز افزایش معنی‌داری را نشان دادند (۴۶).

عزیزی و همکاران (۱۳۹۸) با بررسی تأثیر تنش شوری و استفاده خارجی از ملاتونین بر گیاه لوبیا رقم صدری بیان کردند که تنش شوری سبب کاهش وزن خشک ریشه و وزن اندام هوایی در گیاه دارد اما استفاده خارجی از غلظت‌های مختلف اثر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه گذاشت و با افزایش ملاتونین خارجی، میزان این صفات افزایش قابل‌توجهی را نشان دادند که نسبت به شاهد این اختلاف معنی‌دار بود.پس ملاتونین به‌طور معنی‌دار از میزان اثر کاهش نمک نسبت به این دو صفت جلوگیری کرده و روند کاهشی را بسیار کند کرد (۷). کاربرد غلظت‌های مختلف ملاتونین سبب بهبود در میزان وزن اندام هوایی و ریشه در گل جعفری شده است تنش شوری میزان این صفات رو کاهش داده و با کاربرد ملاتونین روند کاهشی کندتر و مقاومت گیاه نسبت به تنش افزایش پیدا کرد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر بیانگر اثر مثبت ملاتونین و اندوفیت بر بهبود خصوصیات ریشه گیاه استویا در شرایط شور است. با وجودی‌که شوری اثرات نامطلوبی بر صفات مورد بررسی داشت، اما تیمارهای استفاده شده شیب کاهش بازدارنده‌های رشد ریشه استویا در شرایط شور را متعادل نمود. نتایج کلی به‌دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که تلقیح استویا با قارچ‌های اندوفیت نه‌تنهای اثرات مثبت و افزایشی را بر گیاه اعمال می‌کند بلکه اثرات منفی و کاهشی تنش شوری را نیز متعادل کرده و سرعت روند کاهشی آن را کند می‌کند. هم‌چنین قارچ‌های هم‌زیست جداسازی شده از گیاه سرخدار از طریق افزایش جذب عناصر معدنی به‌طور خاص عناصر با تحرک کم مانند فسفر، روی و مس (داده‌های ارائه نشده) سبب افزایش زیست‌توده ریشه و ساقه و بهبود رشد گیاه می‌شوند. اگرچه بر اساس نتایج حاصله بهترین شرایط رشد ریشه گیاه استویا در شرایط غیرشور (شاهد) حاصل شد و استفاده از عصاره آویشن و قارچ اندوفیت TB20 سبب بهبود قابل‌توجهی در پارامترهای رشدی ریشه استویا شد، اما به‌دلیل نقش متعادل‌کننده رشدی که تیمارهای استفاده شده در در شرایط شور داشتند، پیشنهاد می‌گردد که از تیمارهای پژوهش حاضر برای کشت گیاه استویا در شرایط شوری استفاده شود.

منابع

1. Ghaheri, M., Kahrizi, D., Bahrami, G. & Mohammadi-Motlagh, H. (2019). Study of gene expression and steviol glycosides accumulation in *Stevia rebaudiana* Bertoni under various mannitol concentrations. *Molecul. Bio. Rep.* 46, 7-16.
2. Jarma-Orozco, A., Combatt-Caballero, E. & Jaraba-Navas, J. (2020). Growth and development of Stevia rebaudiana Bert., in high and low levels of radiation. *Cur. Pl. Biol.* 22, 1-5. **https://doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100144.**
3. Rady, M. M. & Mohamed, G. F. (2015). Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of *Phaseolus vulgaris* L. plants by the combined application of salicylic acid and *Moringa oleifera* leaf extract, *Sci. Hort.* 193, 105-113.
4. Smith, S. E. & Read, D. J. (2008). Mycorrhizal Symbiosis, 3rd edn Elsevier, Academic Press, New York, USA.
5. Arnao, M. B. & Hernandez-Ruiz, J. (2018). Melatonin and its relationship to plant hormones. *Anna. Bot.* 121, 195-207.
6. Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Bio. Adv.* 27, 84-93.
7. Azizi, F., Amiri, H. & Ismaili, A. (2020). Effect of Melatonin on Some Morphophysiological Characteristics of *Phaseolus vulgaris* cv. Sadri under Salinity Stress. *J. Plant Res.* 32, 3. [In Persian]
8. Zare Hoseini, R., Mohammadi Goltapeh, E., Kalatejari, S. & Dehghani, M. (2015). Effect of Vermicompost and Fungi Inoculation on Growth Characteristics and Steviosid Content of *Stevia rebaudiana* Bert. *J. Med. Plants.* 14 (56), 179-188. [In Persian]
9. Li, H., Guo, Y., Cui, Q., Zhang, Z., Yan, X., Ahammed, G. J., Yang, X., Yang, J., Wei, C. & Zhang, X. (2020). Alkanes (C_{29} and C_{31})-mediated intracuticular wax accumulation contributes to melatonin- and ABA-induced drought tolerance in watermelon. *J. Plant Gro. Reg.* 39 (4), 1441-1450.
10. Demir Kaya, M., Atak, M., Çikili, Y. & Kolsarici, O. (2006). Seed treatment to overcomealt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Eur. J. Agr.* 24, 291-295.
11. Veerendra, C., Ravindra, G., Kavita, D., Patil, S. & Shitalkumar, S. (2016). Development of Spectrophotometric Method and Validation for Melatonin in

Tablet Dosage Form. *W. J. Phar Phar Sci.* 5 (6), 1440-1451.
12. Ansari, M. W., Kumar Trivedi, D., Kumar Sahoo, R., Singh Gill, S. & Tuteja, N. (2013). A critical review on fungi mediated plant responses with special emphasis to *Piriformospora indica* on improved production and protection of crops. *Plant Phys. Biol.* 70, 403-410.
13. Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F. & Mornhinweg, D. W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicator. *Crop Sci.* 28, 526-531.
14. Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotox. Environ. Saf.* 60, 324-349.
15. Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., & Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni). *Cana J. Plant Sci.* 91, 1-27. **doi:10.4141/CJPS10086.**
16. Arnao, M. B. & Hernandez-Ruiz, J. (2018). Melatonin and its relationship to plant hormones. *Anal. Bot.* 121, 195-207.
17. Akbari, F., Arminian, A., Kahrizi, D., Fazeli, A. & Ghaheri, M. (2018). Effect of nitrogen sources on gene expression of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) under *in vitro* conditions. *Mole Cell Biol.* 64, 11-16.
18. Ahammed, G. J., Li, X., Liu, A. & Chen, S. (2020). Physiological and defense responses of tea plants to elevated CO_2: a review. *Front. Plant Sci.* 11, 305.
19. Hasan, M. K., Ahammed, G. J., Sun, S., Li, M., Yin, H. & Zhou, J. (2019). Melatonin inhibits cadmium translocation and enhances plant tolerance by regulating sulfur uptake and assimilation in *Solanum lycopersicum* L. *J. Agric. Food Chem.* 67, 10563-10576.
20. Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. (2002). Effect of the vesicular arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fascilucatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bio. Tech.* 81, 77-79.
21. Arnao, M. B. (2015). Phytomelatonin: Discovery, content, and role in plants. *Advance Bot.* pp. 1-11.
22. Waller, W., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D., Franken, P. & Kogel, K.H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102, 13386-13391.
23. Drüge, U., Baltruschat, H. & Franken, P. (2007). *Piriformospora indica* promotes adventitious root formation in cuttings. *Sci. Hort.* 112, 422-426.
24. Ghasemnezhad, A., Ahmadi, M. & Frouzy, A. (2020). Effect of some Yew endophytes on vegetative growth and phytochemical variation of *Stevia rebaudiana* B. *J. Hort. Post. Res.* 3 (Special Issue: Abiotic and Biotic Stresses in Horticultural Crops), Pp: 11-28.
25. Soufi, S., D'Urso, G., Pizza, P., Rezgui, S., Bettaieb, T. & Montoro, P. (2016). Steviol glycosides targeted analysis in leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) from plants cultivated under chilling stress conditions. *Food Chem.* 190, 572-580.
26. Tan, D. X., Manchester, L. C., Helton, P. & Reiter, R. J. (2007). Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. *Plant Sig. Beha.* 2, 514-516.
27. Ganjali, A. R., Ajorlo, M. & Khaksafidi, A. (2017). The Effect of Drought and Salinity Stress on Seed Germination of (*Alyssum Homalocarpum*). *J. Crop Bre*. 9 (21), 139-146. [In Persian]
28. Peskan-Berghofer, T., Shahollari, B., Giong, P. H., Hehl, S., Markert, C., Blanke, V., Kost, G., Varma, A. & Oelmuller, R. (2004). Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant-microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmatic reticulum and at the plasma membrane. *Phy. Planta*. 122, 465-477.

29. Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi, V. & Pirdeshti, H. (2019). Effects of endophyte fungi symbiosis on some physiological parameters of tomato plants under 10-day long salinity stress. *J. Plant Proc. Func.* 7 (27), 193-208. [In Persian]
30. Liang, D., Wang, B., Song, S., Wang, J., Wang, L., Wang, Q., Ren, X. & Zhao, X. (2019). Analysis of genetic effects on a complete diallel cross test of *Pinus koraiensis*. *Euphytica*. 215 (5), 1-12.
31. Ghasemnezhad, A. & Babaeizad, V. (2011). The influence of piri fungus (*Priformospora indica*) on vegetative growth and the content of caffeic acid of leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *In J. Plant Prod.* 18 (1), 130-140. [In Persian]
32. Setayeshmehr, Z. & Esmaeilzadeh, S. (2013). Effect of salt stress on some phonological and biochemical characteristics in *Coriandrum sativum* L. *In J. Plant Prod.* 20 (3), 111-126.
33. Wu, Sh., Wang, Y., Zhang, J., Gong, X., Zhang, Zh., Sun, J., Chen, X. & Wang, Y. (2020). Exogenous Melatonin Improves Physiological Characteristics and Promotes Growth of Strawberry Seedlings under Cadmium Stress. *Hort. Plant J.* Pp: 2468-0141.
34. Mahmoudzadeh, M., Rasouli-Sadaghiani, M. H., Hassani, A. & Barin, M. (2015). The Role of Mycorrhizal Inoculation on Growth and Essential Oil of Peppermint (*Mentha piperita*). *J. Hort. Sci.* 29 (3), 342-348. [In Persian]
35. Stege, P. W., Sombra, L. L., Messina, G., Martinez, L. D. & Silva, M. F. (2010). Determination of melatonin in wine and plant extracts by capillary electrochromatography with immobilized carboxylic multi-walled carbon nanotubes as stationary phase. *Electrophoresis*, 31, 2242-2248.
36. Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E. & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phyto*. 182 (2), 314-330.
37. Chliyeh, M., Touhami, A. Q., Filali-Maltouf, A., Modafar, C., Moukhli, A., Oukabli, A., Benkirane, R. & Douira, A. (2014). Effect of a composite endomycorrhizal inoculum on the growth of olive trees under nurseries conditions in Morocco. *In J. Pure Ap. Biol.* 2 (2), 1-14.
38. Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, E., Moieni, A. & Varma, A. (2012). Evaluation of different densities of auxin and endophytic fungi (*Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera*) on *Mentha piperita* and *Thymus vulgaris* growth. *J. Biotech.* 11 (7), 1644-1650.
39. Kahrizi, D., Ghari, S., Ghaheri, M., Fallah, F., Ghorbani, T., Kazemi, E. & Ansarypour, Z. (2017). Effect of KH_2PO_4 on gene expression, morphological and biochemical characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni under *in vitro* conditions. *Cell Mol. Biol.* 63, 107-111.
40. Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167, 645-663.
41. Sharma, Sh. & Shahzad, A. (2015). High Frequency Clonal Multiplication of *Stevia rebaudiana* Bertoni, Sweetener of the Future. *J. Fun Env. Bot.* 1 (1), 70-76.
42. Rasouli, D., Werbrouck, S., Maleki, B., Jafary, H. & Schurdi-Levraud, V. (2021). Elicitor-induced in vitro shoot multiplication and steviol glycosides production in *Stevia rebaudiana*. *S. Afri J. Bot.* 137, 265-271.
43. Goussous, S. J. & Mohammad, M. J. (2009). Effect of two arbuscular mycorrhizae and N and P fertilizers on growth and nutrient uptake of onions. *In J. Agri. Biol.* 11, 463-467.
44. Sarropoulou, V. N., Dimassi-Theriou, K., Therios, I. & Koukourikou-Petridou, M. (2012). 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.
45. Chen, Q., Qi, W. B., Reiter, R. J., Wei, W. & Bao, M. W. (2012). Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indole acetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *J. Plant Phys*. 166, 324-328.
46. Wang, L., Liu, J., Wang, W. & Sun, Y. (2016). Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica*. 54, 19-27.