

Effect of Melatonin Treatment on Growth and Physiological and Biochemical Characteristics of *Stevia rebaudiana* Berton under Salt Stress Conditions

Zahra Normohammadi¹, Behrooz Esmailpour^{2*}, Rasoul Azarmi³, Morteza Shiekhali-pour⁴, Esmail Chamani² and Roghayeh Shahbazi Yajlo⁵

1- M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

3- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Ph.D. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

5- M.Sc. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

*Corresponding author: bsmailpour2008@gmail.com

(Received: 5 June 2021

Revise: 22 July 2021

Accepted: 26 July 2021)

Extended Abstract

1. Introduction: Salinity is one of the most important environmental stresses that reduced the growth, development and production of plants around the world. Stevia is a perennial herbaceous plant of the Asteraceae family. Stevia has a strong sweetening effect due to steviol glycosides. Since the germination of stevia is poor and the seedling growth rate is slow and slow in the early stages, its evaluation to salinity stress is of special importance. Due to the increasing demand for the use of cultivars with better relative tolerance to non-living environmental stresses is increasing day by day. Also, the desirable properties of stevia for the health of the community and its sweetening and antidiabetic properties were selected for study; due to the different roles of melatonin in the plant, this study was used to investigate its effect on the growth, physiological, morphological and biochemical traits of stevia under salinity stress.

2. Materials and Methods: In order to investigate effects of melatonin application on growth and physiology and biochemical in salinity stress in Stevia herb, a pot factorial experiment based on completely randomized design with three replications was conducted in the research greenhouse of Agriculture Faculty, Mohaghegh University of Ardebil in 2019. Treatments were consisted of salinity stress at three levels (0, 50 and 100 mM) as the first factor and the application melatonin of at three levels (0, 75, 150 μ M) as the second factor.

3. Results and Discussion: Vegetative traits such as stem length, plant dry weight and stem dry weight, were significantly decreased with increasing salinity stress. Foliar spraying melatonin at high levels of salinity stress improved these traits compared to control plants. Also, the highest chlorophyll a, total chlorophyll and carotenoids content was obtained in control plants (non-salinity stress) with foliar spraying melatonin 150 μ M which were 6.64 and 7.46 and 6.24 mg g⁻¹ FW, respectively. The highest antioxidant activity (2.80%), total peroxidase 0.419 U mg⁻¹ protein min⁻¹) and proline (0.49 mg g⁻¹ DW) and Carbohydrat (92.65 mg g⁻¹ FW) was observed in 100 mM salinity stress treatment and application 150 μ M melatonin. But catalase (9.57 U mg⁻¹ protein min⁻¹) in 100 mM salinity stress treatment and application 75 μ M melatonin was obtained. The highest relative water content (RWC) was obtained under non salinity stress conditions (control) and application of 150 μ M melatonin. Then salinity stress cause decrease this quality but application melatonin cause improve this quality. Maximum level electrolyte leakage leaves also was observed in 100 mM salinity stress treatment and not application melatonin. Decreased vegetative growth due to salinity treatment is probably due to reduced photosynthetic levels as well as reduced photosynthetic pigments such as chlorophyll a and b, net carbon uptake, stomatal conduction and pore closure due to salinity stress salinity and melatonin stress significantly increased the antioxidant activity of stevia leaves. According to the results of this study, it can be said that stevia is a plant sensitive to salinity stress. As increasing salinity stress levels, a significant decrease in growth indices and photosynthetic pigments is seen. The use of melatonin improved these traits under salinity stress. Increasing the amount of melatonin compensated for the damage to the plant. As the biochemical and physiological properties of the plant such as antioxidant activity, the amount of proline, total carbohydrates improved and ultimately increased plant growth; therefore, it can be stated that melatonin consumption can increase the morphological, physiological and biochemical traits of stevia under salinity stress. The results of this study showed that salinity reduces and impairs plant growth and the use of melatonin can reduce the destructive effects of salinity to some extent and increase plant tolerance to salinity.

4. Conclusion: Overall, since most nutrient treatments, especially supernitroplas, showed superiority in many traits over both controls (application of NPKS fertilizer and no fertilizer application), replacing biofertilizers with chemical fertilizers is highly recommended.

Keywords: Antioxidants, Growth indices, Photosynthetic pigments, Salt water, Stevia.

Citation: Normohammadi, Z., Esmailpour, B., Azarmi, R., Shiekhali-pour, M., Chamani, E. & Shahbazi Yajlo, R. (2021). Effect of melatonin treatment on growth and physiological and biochemical characteristics of *Stevia rebaudiana* berton under salt stress conditions. *Journal of Vegetables Sciences*, 5(1), 1-15. doi: 10.22034/iuvs.2021.534020.1170

Copyrights:

Copyright for this article is retained by the author(s), with publication rights granted to Journal of Vegetables Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).



بررسی اثر ملاتونین بر خصوصیات رشد، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه استویا تحت شرایط تنش شوری

زهرا نورمحمدی^۱، بهروز اسماعیل‌پور^{۲*}، رسول آذر می^۳، مرتضی شیخ‌علی‌پور^۴، اسماعیل چمنی^۵ و رقیه شهبازی یاجلو^۵

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۴- دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- ۵- دانشجوی کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

*نویسنده مسئول: bsmaielpoor2008@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۵

چکیده

به‌منظور بررسی اثر ملاتونین بر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا تحت شرایط تنش شوری، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و محلول‌پاشی ملاتونین در سه سطح (صفر، ۷۵، ۱۵۰ میکرومولار) بودند. نتایج نشان داد که با افزایش میزان تنش شوری صفات رویشی گیاه از قبیل طول ساقه، وزن خشک بوته و وزن خشک ساقه کاهش معنی‌داری نشان دادند. محلول‌پاشی ملاتونین تحت شرایط تنش شدید شوری، سبب بهبود این صفات نسبت به عدم محلول‌پاشی گردید. بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب به‌میزان ۶/۶۴ و ۷/۴۶ و ۶/۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در گیاهان تحت شرایط عدم تنش شوری و محلول‌پاشی ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌دست آمد. همچنین بیشترین مقدار رطوبت نسبی در شرایط عدم تنش شوری و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین حاصل شد. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۲/۸۰ درصد)، پراکسیداز (۰/۴۱۹ واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)، پرولین (۰/۴۹ میکرومول در گرم وزن خشک) و کربوهیدرات کل (۹۲/۶۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌دست آمد. در حالی‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۹/۵۷ واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و ۷۵ میکرومولار ملاتونین مشاهده گردید. بالاترین میزان نشت الکترولیت برگ نیز در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و عدم کاربرد ملاتونین مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد که مصرف ملاتونین در شرایط تنش شوری می‌تواند باعث افزایش رشد گیاه و بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا شود.

واژه‌های کلیدی: آب شور، آنتی‌اکسیدانت، استویا، رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص‌های رشد.

استناد: نورمحمدی، ز، اسماعیل‌پور، ب، آذر می، ر، شیخ‌علی‌پور، م، چمنی، ا. و شهبازی یاجلو، ر. (۱۴۰۰). بررسی اثر ملاتونین بر خصوصیات رشد، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه استویا تحت شرایط تنش شوری. علوم سبزی‌ها، (۱)۱۵، ۱-۱۵.

حق چاپ:



حق چاپ برای نویسنده (گان) این مقاله محفوظ است. بر اساس قوانین انتشارات با دسترسی آزاد، تمام مطالعات چاپ شده در این مجله به‌صورت آزاد در وب سایت مجله برای عموم بدون پرداخت هزینه قابل‌دسترسی است.

مقدمه

تنش شوری در ریحان گزارش کرد تنش شوری شدید، به‌طور معنی‌داری خصوصیات رشدی و کلروفیل را کاهش و ترکیبات اسمزی را افزایش می‌دهد. افزایش شوری باعث کاهش در وزن خشک ریشه در گیاهان زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) و سنبل‌الطیب گردید (Salamini et al., 2006). همچنین شوری موجب اختلال در تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها شده و تمام واکنش‌های متابولیک گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در پژوهش انجام شده توسط Sarani و همکاران (۲۰۱۳) شوری سبب کاهش مقادیر کلروفیل a و b در بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) گردید. همچنین Archangi و همکاران (۲۰۱۴) اظهار داشتند که افزایش شوری باعث کاهش ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و تعداد برگ در گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella foenum-gracum* L.) می‌شود. کاهش رشد گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش و اختلال فعالیت‌های زیستی و متابولیکی در گیاهان باشد که در نهایت باعث کاهش منابع انرژی در گیاه می‌شود (Gorham, 1995).

ملاتونین یک مولکول فعال است که برای اولین بار در سال ۱۹۹۵ در گیاهان شناسایی شد، این ماده مشتق شده از اسید آمینه تریپتوفان است (Galano et al., 2013; Calvo et al., 2011). ملاتونین تقریباً در همه موجودات وجود دارد (Hardeland et al., 2011). در دهه‌های اخیر، برخی از ملاتونین‌ها در گیاهان یافت شدند (Arnao, 2014). در گیاهان، ملاتونین به‌عنوان یک نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی، شبیه نقش ایندول استیک اسید (IAA)، در افزایش رشد سلول‌ها برای تسریع رشد عمل می‌کند (Zhang et al., 2013). ملاتونین همچنین نقش مهمی در تنظیم روند نور شبانه‌روزی در گیاهان دارد، اکسیداسیون نوری دستگاه‌های فتوسنتز را کاهش می‌دهد و در غلظت‌های متوسط، کلروفیل را در طول پیری محافظت می‌کند. در گیاهان، ملاتونین به‌عنوان محرک زیستی شناخته شده

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni. گیاهی علفی چند ساله و بوته‌ای از خانواده کاسنی (Asteraceae) است (Hosseini et al., 2008). گیاه استویا به‌دلیل گلیکوزیدهای استوویول دارای خاصیت شیرین‌کنندگی قوی است (Singh & Rao, 2005)؛ که به‌دلیل جذب نشدن در سیستم گوارشی افراد دیابتی به‌راحتی می‌توانند از آن استفاده کنند (Raeeszadeh & Gharineh, 2014). گلیکوزیدهای تولیدی از گیاه استویا ۱۵۰ تا ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکارز تولیدی از چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) بوده و استویا دارای ترکیبات رزینی معطر می‌باشد که اثر دارویی تقویت‌کننده بر دستگاه هاضمه دارند (Lemus-Mondaca et al., 2012).

شوری یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد، توسعه و تولید گیاهان در سراسر جهان می‌شود (Sevengor et al., 2011). آثار ناشی از تنش شوری در گیاهان شامل سمیت یونی، تنش اسمزی، کمبود عناصر معدنی، اختلالات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌باشند (Munns et al., 2002). پتانسیل اسمزی کم محلول خاک و غلظت زیاد املاح موجود در خاک که عامل سمیت و به هم‌زدن تعادل یون‌ها یا کمبود تغذیه‌ای در گیاه هستند، شوری باعث افزایش یون‌های سدیم و کلر در خاک و تجمع بالای این عناصر در گیاه می‌شوند (Mass, 1993). یون‌های سدیم و کلر به‌طور معمول رایج‌ترین یون‌های موجود در خاک‌ها و آب‌های شور هستند و می‌توانند آثار منفی بر گیاهان داشته باشند (Ashraf & McNilly, 1990). یون سدیم باعث کاهش سطح برگ، فتوسنتز و رشد گیاهان در شرایط تنش شوری می‌گردد (Steduto et al., 2000).

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تا حدودی متحمل به تنش شوری است؛ اما تنش شوری باعث کاهش رشد و عملکرد آن می‌شود (Rostami et al., 2018). Heidari (۲۰۱۲) در مطالعه خود روی اثر

مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاه استویا در شرایط تنش شوری استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. فاکتور اول تنش شوری در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و فاکتور دوم محلول پاشی ملاتونین در سه سطح (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بود.

در این مطالعه نشاء گیاه استویا از گلخانه‌ای در شیراز خریداری شد و ملاتونین نیز از شرکت دانش‌بنیان سیگما تهیه شد. در این آزمایش نشاءها، در گلدان‌هایی از جنس پلاستیک به ارتفاع ۴۰ و قطر دهانه‌ی ۳۰ سانتی‌متری و دارای زهکشی مناسب و در عمق یک سانتی‌متری مخلوط پیت ماس و پرلایت کاشته شدند. گیاهان ابتدا با محلول هوگلند با غلظت نصف محلول دهی شدند و سپس با غلظت کامل آبیاری شد. پس از اینکه گیاهان بعد از دو هفته به استقرار کامل یافتند به مدت چهار هفته و هفته‌ای دو بار در معرض تنش شوری قرار گرفتند. برای اعمال تنش شوری از کلرید سدیم استفاده گردید. برای این منظور نمک کلرید سدیم در محلول غذایی هوگلند حل گردیده و گیاهان از طریق محلول غذایی در معرض تنش شوری قرار گرفتند.

برای جلوگیری از تجمع نمک در بستر کشت، گیاهان هفته‌ای یک بار با آب معمولی آبیاری شدند. محلول پاشی برگ‌ی استویا با ملاتونین هفته‌ای یک بار انجام شد. محلول پاشی ملاتونین یک بار قبل از اعمال تنش شوری و بار دیگر به فاصله دو هفته بعد از اعمال شوری انجام شد.

بعد از چهار ماه از رشد، صفات مورفولوژیکی شامل طول ساقه، وزن خشک بوته، وزن خشک ساقه بررسی شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کل و کاروتنوئید از روش Lutts و همکاران (۱۹۹۶) استفاده شد. در

که موجب افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود رشد و توسعه گیاه می‌گردد (Li *et al.*, 2015). همچنین ملاتونین به دلیل طبیعت دوگانه (خاصیت آب‌دوستی و چربی‌دوستی)، به آسانی از عرض غشا عبور کرده و وارد سلول می‌شود (Tan *et al.*, 2014). ملاتونین علاوه بر اینکه در شرایط تنش به صورت یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند، در فرآیندهایی مانند جوانه‌زنی، نمو و توسعه ریشه و اندام هوایی القای رشد، افزایش سطح برگ، وزن تر، به تعویق انداختن پیری برگ و در نتیجه افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها، فتوسنتز و کربوکسیلاسیون و در نهایت افزایش کیفیت و کمیت محصولات نقش دارد (Zhang *et al.*, 2015). گزارش شده است که استفاده از ملاتونین در شرایط شوری، موجب افزایش تحمل به شوری در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays* L.) شده است (Jiang *et al.*, 2016). Tan و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند پیش‌تیمار ملاتونین قبل از اعمال تنش شوری، سبب کاهش اثرات منفی شوری شده و از کاهش رشد سیب‌جولوگیری می‌کند. مکانیسمی که ملاتونین رشد ریشه و بخش هوایی را در گیاهان افزایش می‌دهد به خوبی شناخته نشده است، اما احتمال دارد که ملاتونین تعادل هورمونی را در گیاه تغییر داده و تحت شرایط تنش، سبب افزایش اکسین و سیتوکینین می‌شود (Chen *et al.*, 2009).

از آنجایی که جوانه‌زنی گیاه دارویی استویا ضعیف و همچنین سرعت رشد گیاهچه آن در مراحل اولیه کند و آهسته است و ارزیابی آن به تنش شوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به افزایش تقاضا برای استفاده از ارقام با تحمل نسبی بهتر در برابر تنش‌های محیطی غیرزیستی روزبه‌روز در حال افزایش است همچنین ویژگی‌های مطلوب گیاه دارویی استویا برای سلامت افراد جامعه و خاصیت شیرین‌کنندگی و آنتی‌دیابتیک آن برای مطالعه انتخاب شد؛ به دلیل نقش‌های متفاوت ملاتونین در گیاه این مطالعه برای بررسی تأثیر آن بر صفات رشدی و فیزیولوژی و

ظروف به مدت سه ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار گرفتند. پس از سه ساعت، هدایت الکتریکی آن‌ها با استفاده از EC متر اندازه‌گیری شد. سپس، شیشه‌های محتوی نمونه برگ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و برای بار دوم EC آن‌ها پس از سرد شدن اندازه‌گیری شد. درصد هدایت الکتریکی بیانگر میزان نشت الکتریکی مواد از غشاء می‌باشد؛ که مطابق رابطه ۶ محاسبه می‌گردد. در این فرمول، E1 و E2 هدایت الکتریکی محلول‌ها به ترتیب قبل و بعد از جوشیدن است در نهایت نشت الکترولیت از طریق رابطه ۶ محاسبه گردید.

$$\text{EL: } \left(\frac{E1}{E2}\right) \times 100 \quad \text{رابطه (۶)}$$

برای اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی برگ از روش Barrs و Weaterey (۱۹۶۲) استفاده گردید. برای تعیین میزان محتوای رطوبت نسبی برگ از رابطه ذیل استفاده شد:

$$\text{RWC \%: } [(FW-DW)/(TW-DW)] \times 100$$

در این معادله RWC محتوای رطوبت نسبی برگ بر حسب درصد، FW وزن تر نمونه، DW وزن خشک نمونه و TW وزن آماس نمونه است.

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و شکل‌ها نیز با Excel رسم گردید.

نتایج

صفات مورفولوژیکی

شاخص‌های رشدی در گیاه دارویی استویا با افزایش سطوح تنش شوری به شدت کاهش یافتند. همچنین محلول‌پاشی ملاتونین در هر سطح تنش باعث تعدیل اثرات سوء تنش شوری بر این صفات گردید. بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای شوری و محلول‌پاشی ملاتونین بر شاخص‌های رشدی مورد مطالعه استویا، بیشترین طول ساقه (۶۶/۴۹ سانتی‌متر)، وزن خشک بوته (۳۱/۲۲ گرم بوته) و وزن خشک ساقه

نهایت مقدار کلروفیل با استفاده از روابط زیر به دست آمد.

$$\text{Chl}_a: 15.65A_{666} - 7.340A_{65} \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$\text{Chl}_b: 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666} \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$\text{رابطه (۳)}$$

$$\text{Car: } 1000A_{470} - 2.860 \text{ Chl}_a - 129.2 \text{ Chl}_b$$

$$\text{Chl}_t: \text{Chl}_a + \text{Chl}_b \quad \text{رابطه (۴)}$$

میزان کلروفیل a: Chl_a، میزان کلروفیل b: Chl_b، کاروتنوئید کل: Car، کلروفیل کل: Chl_t

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ بر اساس روش Moon و Terao (۱۹۹۸) انجام شد. درصد بازداری از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه کنترل و استفاده از رابطه ۵ به دست آمد.

$$\text{AA: } 1 - A_{517} / A_{517} \times 100 \quad \text{رابطه (۵)}$$

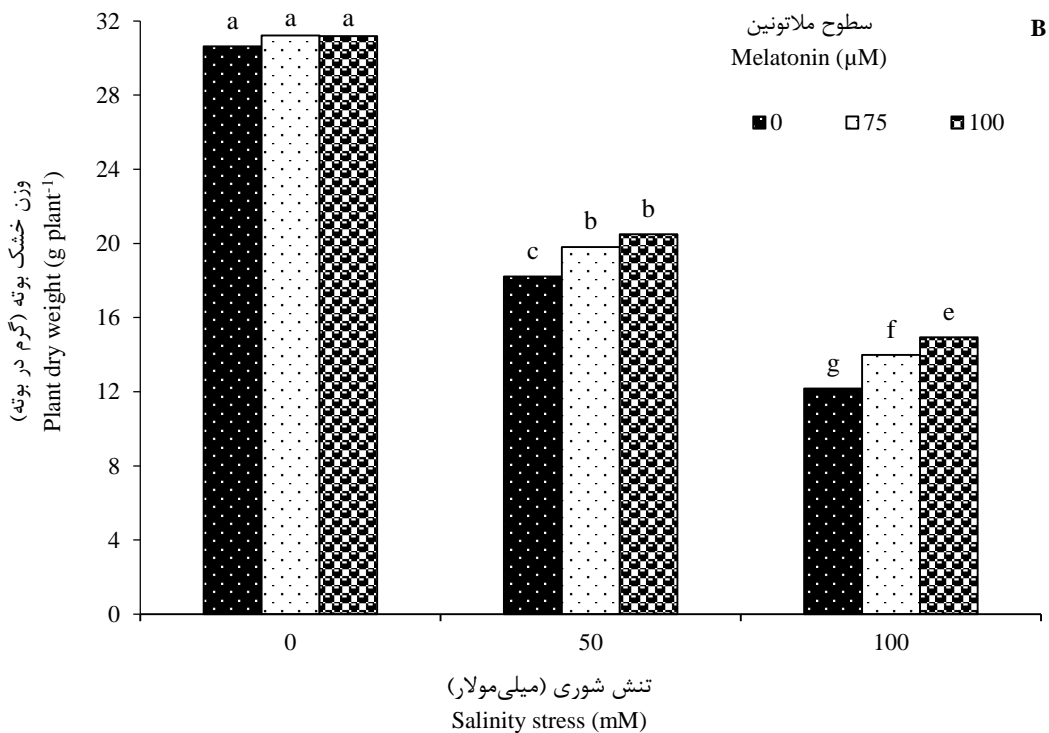
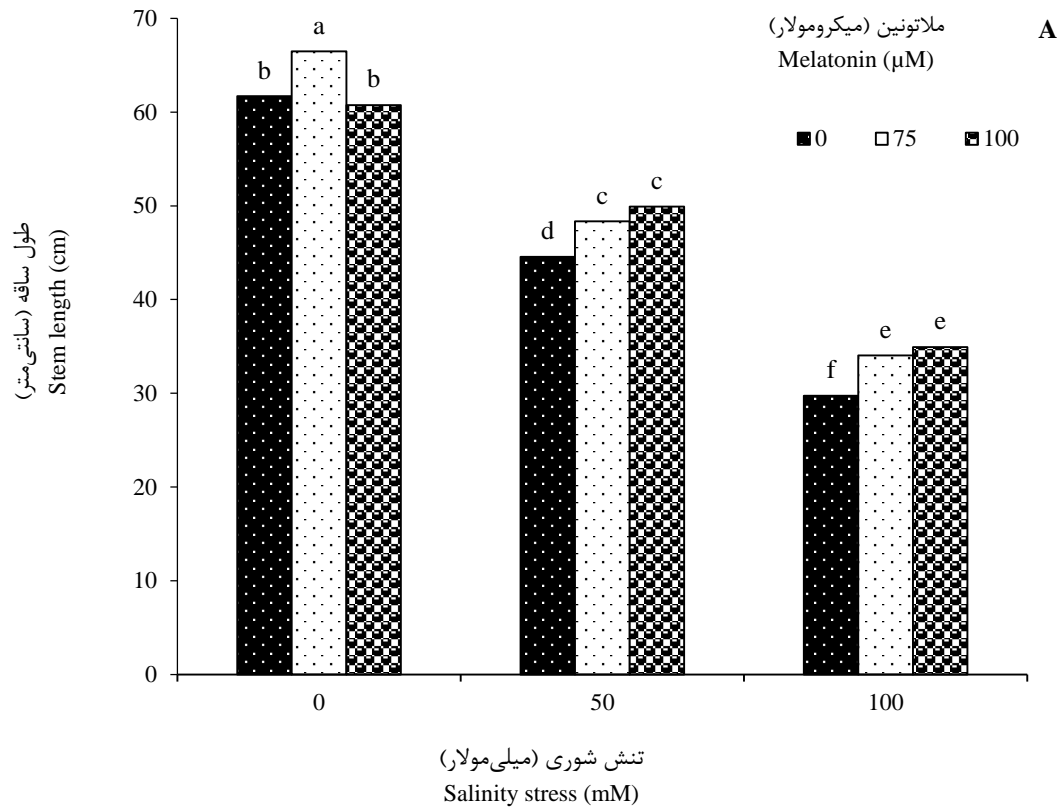
برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش MacAdam و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گایوکول توسط این آنزیم انجام می‌شود. برای اندازه‌گیری، ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز، مخلوط کرده و جذب آن به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) استفاده شد. بر اساس این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز، مخلوط گردید سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Jenway) ساخت کشور ایتالیا) قرائت شد.

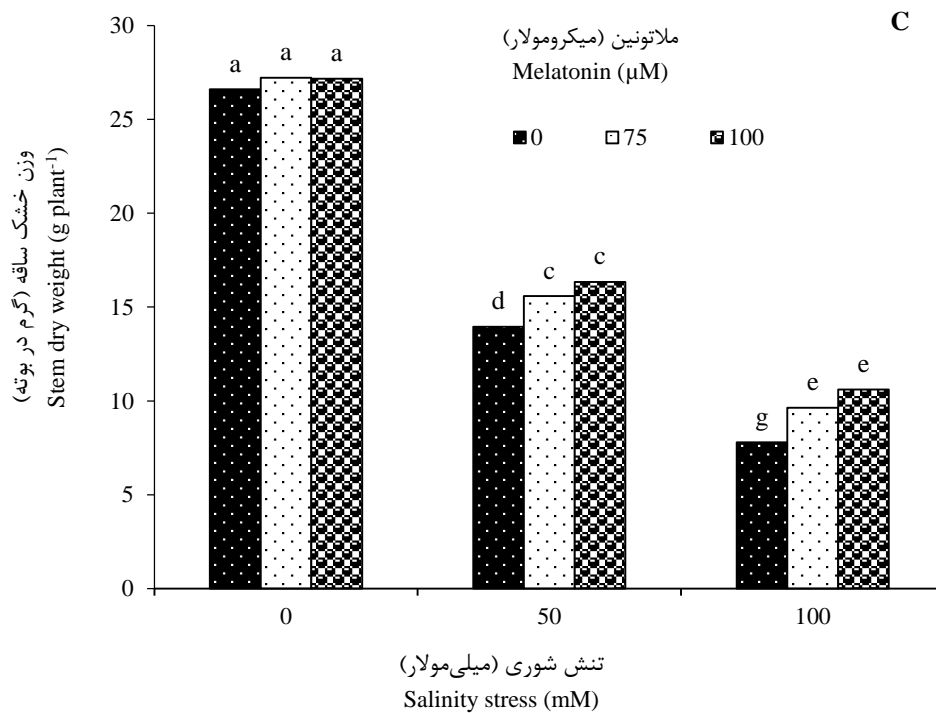
برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول با روش معرف آنترون (Hadege & Hofreiter, 1962) و برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده گردید.

جهت تعیین پایداری غشا سلول‌های برگ، از روش Marcum (۱۹۹۸) استفاده شد. مقدار دو گرم وزن تر برگ از هر تکرار را در ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار داده شد. این

رشدی تحت تنش شوری شدید (۱۰۰ میلی مولار) و عدم محلول پاشی ملاتونین به دست آمدند (شکل ۱ الف، ب و ج).

(۲۷/۲۱ گرم در بوته) در تیمار بدون تنش شوری (شاهد) با محلول پاشی ۷۵ میکرومولار ملاتونین، مشاهده شدند. همچنین کمترین میزان شاخص‌های





شکل ۱- تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر طول ساقه (الف)، وزن خشک بوته (ب) و وزن خشک ساقه (ج) استویا تحت شرایط تنش شوری

Figure 1- Effect of melatonin foliar application on stem length (a), plant dry weight (b) and stem dry weight (c) of stevia under salinity stress conditions

بر اساس نتایج جدول ۲ بیشترین میزان رطوبت نسبی برگ (۹۴/۲۴ درصد) در تیمار شاهد (بدون تنش) و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین حاصل گردید. همچنین، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کمترین میزان محتوای رطوبت نسبی برگ (۵۶/۸۴ درصد) در تیمار تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و بدون مصرف ملاتونین (شاهد) مشاهده گردید (جدول ۲).

نشت الکترولیت

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط عدم تنش، محلول‌پاشی ملاتونین می‌تواند میزان نشت الکترولیت برگ‌های استویا را کاهش دهد. این کاهش با محلول‌پاشی ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین بیشتر اتفاق افتاد. همچنین، مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان نشت الکترولیت در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و عدم محلول‌پاشی ملاتونین اتفاق می‌افتد (جدول ۲).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطوح مختلف تنش شوری به محلول‌پاشی ملاتونین پاسخ متفاوتی نشان دادند؛ ولی در مجموع کاهش مقدار این صفت با افزایش تنش شوری معنی‌دار بود. به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل a (۶/۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کلروفیل کل (۷/۴۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کاروتنوئید (۶/۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد با محلول‌پاشی ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده شد. ضمن اینکه عدم کاربرد تیمار ملاتونین با تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کمترین مقدار را داشت. بیشترین میزان کلروفیل b با محلول‌پاشی ۷۵ میکرومولار ملاتونین در شرایط بدون تنش شوری حاصل شد. همچنین افزایش میزان تنش شوری موجب کاهش این صفت گردید (جدول ۱).

محتوای رطوبت نسبی برگ

جدول ۱- تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ استویا تحت سطوح مختلف تنش شوری

Table 1- Effect of melatonin foliar application on the concentration of photosynthetic pigments of stevia leaves under different levels of salinity stress

تنش شوری (میلی مولار) Salinity stress (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (μ M)	کلروفیل a a chlorophyll	کلروفیل b b chlorophyll	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids
0	0	6.48 ^a	0.825 ^a	7.30 ^a	6.03 ^b
	75	6.55 ^a	0.823 ^a	7.37 ^a	6.11 ^{ab}
	150	6.64 ^a	0.822 ^a	7.46 ^a	6.24 ^a
50	0	4.77 ^d	0.715 ^d	5.48 ^d	5.37 ^d
	75	5.14 ^c	0.742 ^c	5.88 ^c	5.72 ^c
	150	5.43 ^b	0.766 ^b	6.20 ^b	5.83 ^c
100	0	3.37 ^f	0.632 ^f	4.00 ^f	4.69 ^f
	75	3.94 ^e	0.674 ^e	4.61 ^e	4.87 ^e
	150	4.06 ^e	0.695 ^d	4.75 ^e	4.69 ^e

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

کربوهیدرات کل و پرولین

نتایج نشان داد بیشترین میزان کربوهیدرات کل در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین (۱/۸۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) به‌دست آمد (جدول ۲).

همچنین نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل داده‌ها نشان داد که میزان پرولین و کربوهیدرات کل با افزایش تنش شوری و مقدار محلول پاشی ملاتونین افزایش یافت. در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و محلول پاشی ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین، مقدار پرولین (۰/۴۹ میکرومول در گرم وزن خشک) و کربوهیدرات کل (۹۲/۶۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش شوری و کاربرد ملاتونین) به‌طور معنی‌داری بیشتر بودند (جدول ۲).

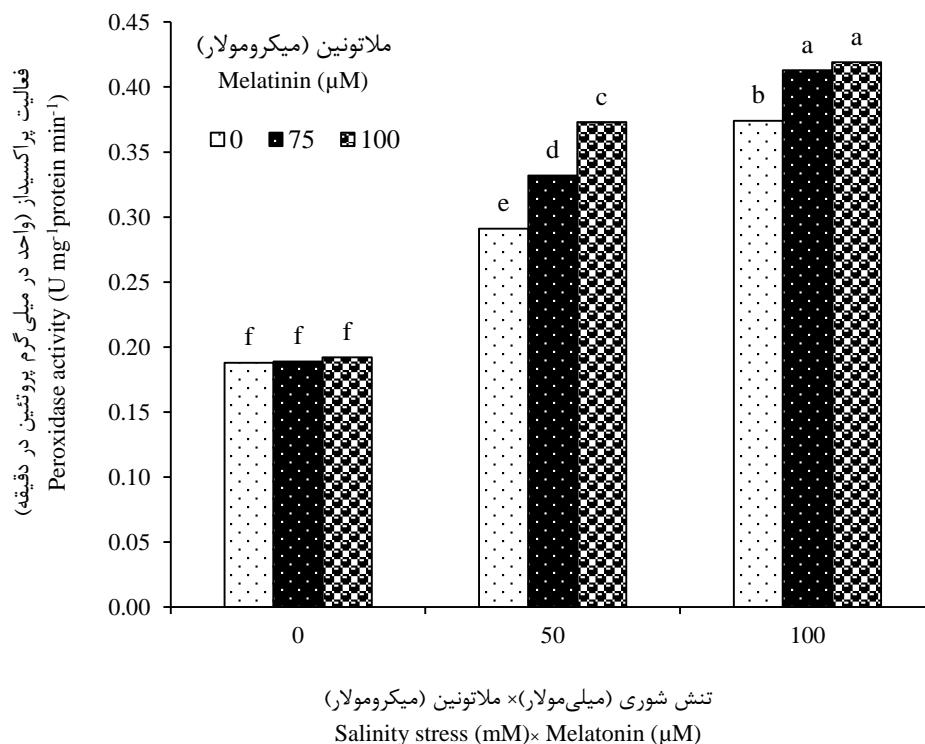
فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز

با افزایش تنش شوری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداز افزایش معنی‌داری یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۲/۸۰ درصد) و پراکسیداز (۰/۴۱۹) واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و محلول پاشی ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین حاصل گردید که نسبت به گیاهان شاهد (عدم تنش و عدم استفاده از ملاتونین) حالت افزایشی نشان داده است. از سوی دیگر کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۸۸ درصد) و پراکسیداز (۰/۱۸۸) واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در شرایط بدون تنش شوری و عدم محلول پاشی ملاتونین حاصل شد (شکل ۲ و ۳).

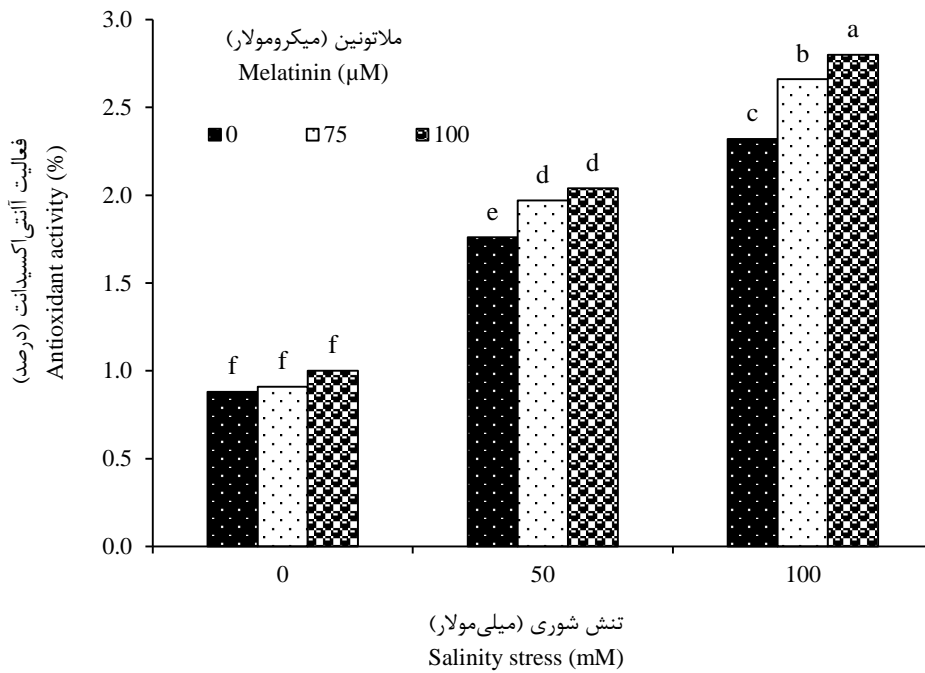
جدول ۲- تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا تحت سطوح مختلف تنش شوری
 Table 2- The effect of melatonin foliar application on physiological characteristics of stevia under different levels of salinity stress

تنش شوری (میلی مولار) Salinity stress (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (μM)	نشت یونی (درصد) Leaf ion leakage (%)	مقدار رطوبت نسبی (درصد) Relative water content (%)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن خشک) Proline content (mg dw^{-1})	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر) Soluble sugars (mg fw^{-1})
0	0	40.33 ^g	92.11 ^a	0.23 ^g	46.46 ^e
	75	42.23 ^g	92.94 ^a	0.24 ^{fg}	47.79 ^e
	150	41.85 ^g	94.24 ^a	0.25 ^f	46.73 ^e
50	0	64.60 ^d	75.96 ^c	0.33 ^e	70.77 ^{cd}
	75	60.34 ^e	78.01 ^c	0.36 ^d	69.60 ^d
	150	51.15 ^f	82.30 ^b	0.35 ^d	71.88 ^c
100	0	86.98 ^a	56.84 ^f	0.42 ^c	86.77 ^b
	75	82.94 ^b	60.11 ^e	0.47 ^b	91.65 ^a
	150	78.77 ^c	63.93 ^d	0.49 ^a	92.65 ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
 Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).



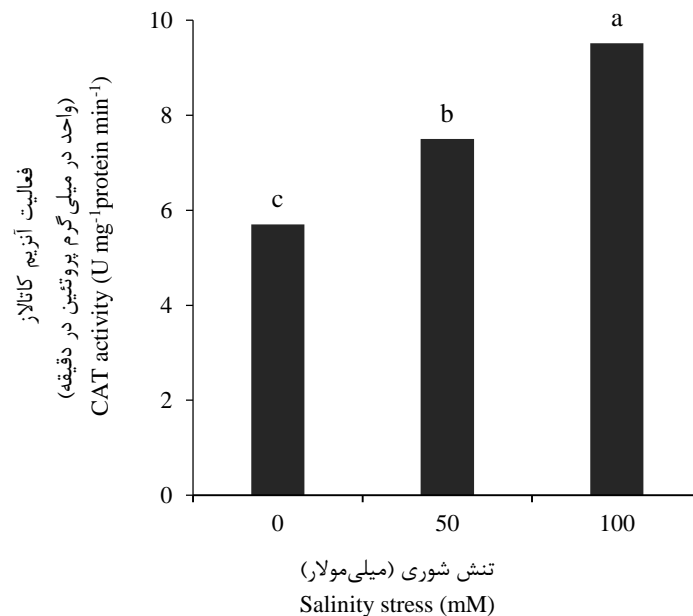
شکل ۲- تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه استویا تحت سطوح مختلف تنش شوری
 Table 2- The effect of melatonin foliar application on peroxidase activity of stevia under different levels of salinity stress



شکل ۳- تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر فعالیت آنتی‌اکسیدانت گیاه استویا تحت سطوح مختلف تنش شوری
 Table 3- The effect of melatonin foliar application on antioxidant activity of stevia under different levels of salinity stress

حاصل گردید که نشان می‌دهد شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است (شکل ۴).

بیشترین مقدار کاتالاز (۹/۵۷) واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار



شکل ۴- فعالیت آنزیم کاتالاز تحت سطوح مختلف تنش شوری
 Figure 4- Catalase activity under different levels of salinity stress

کاهش سطح فتوسنتز و همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل a و b، جذب خالص دی‌اکسید

بحث کاهش رشد رویشی در اثر تیمار شوری می‌تواند به دلیل

پایداری غشاء کاهش و نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد (Noctor & Foyer, 1998). در این مطالعه، افزایش میزان رطوبت نسبی برگ در سطوح مختلف تنش شوری با استفاده از ملاتونین مشاهده شد. کاربرد ملاتونین توانست میزان نشت الکترولیت این گیاه را کاهش دهد. در هندوانه، پیش‌تیمار برگی باعث کاهش نشت الکترولیت تحت تنش شوری شد که تحت تأثیر کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد توسط ملاتونین است که نقش آنتی‌اکسیدانی آن به‌خوبی به اثبات رسیده است (Dongxiao *et al.*, 2017). مشخص شده است که ملاتونین با استفاده از مکانیسم‌های محافظ دوگانه کاهش مقدار پراکسید هیدروژن و اسید آسزیک وضعیت آب و کارایی روزنه را بهبود می‌بخشد. ملاتونین تحت تنش سرما نیز در گیاهچه‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) توانست محتوای آب نسبی را بهبود بخشد (Turk *et al.*, 2014).

با توجه به مشاهدات Drazkiewicz (۱۹۹۴) در شرایط تنش شوری میزان آنزیم کلروفیل‌از افزایش یافته و بدین دلیل میزان کلروفیل کاهش می‌یابد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. کاهش مقدار کلروفیل در شرایط تنش می‌تواند به‌علت تخریب کلروفیل ناشی از جدا شدن فیتولی از حلقه پورفیرینی در اثر گونه‌های فعال اکسیژن یا آنزیم کلروفیل‌از باشد. افزایش بیان ژن کلروفیل‌از در اثر تنش شوری و خشکی مشاهده شده است (Inze & Van Montagu, 1995). مطالعه حاضر نشان داد که افزایش میزان ملاتونین، افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در سطوح مختلف شوری را به‌دنبال دارد. در گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت تنش شوری ملاتونین توانست میزان کلروفیل کل را بهبود بخشد، این نشان می‌دهد که ملاتونین می‌تواند در شرایط تنش شوری بر میزان گیاهان، افزایش دهد. کلروپلاست‌ها نقش اساسی در فتوسنتز ایفا می‌کنند و تنش شوری باعث ایجاد شکل متورم و تیلاکوئید غیرطبیعی در آن‌ها می‌شود. ملاتونین توانست تعداد کلروپلاست‌های غیرطبیعی را کاهش و ساختار کلروپلاست‌ها را بهبود بخشد (Wang *et al.*, 2016).

کربن، هدایت روزنه‌ای و بسته شدن روزنه‌ها در اثر تنش شوری می‌باشد (Netondo *et al.*, 2004). عامل محتمل دیگری که سبب کاهش فتوسنتز می‌گردد اثر بازدارنده تنش شوری بر روی فرآیند جذب و انتقال مواد فتوسنتزی می‌باشد (Demiral *et al.*, 2005). به‌طور کلی، کاهش وزن خشک در اثر تنش شوری به‌دلیل کاهش جذب آب، فتوسنتز و سنتز کربوهیدرات‌ها است (Alla *et al.*, 2002). جلوگیری از رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند به‌علت کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب، اختلال در جذب عناصر، تأثیر یون‌های سمی به‌ویژه سدیم، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارایی فتوسنتز باشد (Parida & Das, 2005). نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از ملاتونین اثرات سوء تنش شوری را به حداقل رساند. به‌طوری‌که صفات رویشی گیاه و همچنین رنگیزه‌های فتوسنتزی آن در مقایسه با گیاهان شاهد دارای وضعیت مطلوب‌تری بودند. در گیاه سویا (*Glycine max*) تحت تنش شوری سطح برگ و ارتفاع بوته با ملاتونین افزایش یافته است (Zang *et al.*, 2018). کاربرد باکتری اندوفیت تولیدکننده ملاتونین در انگور (*Vinifera sp.*) تحت تنش شوری و خشکی سبب افزایش ارتفاع بوته، وزن تر، محتوای کلروفیل برگ، طول ریشه و تعداد ریشه‌های جانبی و رشد قابل‌توجهی در انگور گردید (Jiao *et al.*, 2016).

Zhang و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که ملاتونین نقش مهمی در روند رشد برگ دارد و در غلظت‌های مختلف، مانع از پیری زودرس در گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) می‌شود. آن‌ها بیان کردند که ملاتونین سبب افزایش ویژگی‌های رشدی از جمله طول ساقه، سطح برگ، تعداد برگ در مقایسه با گیاهان شاهد شد. حفظ تمامیت غشاء سلول تحت شرایط تنش، نشانه‌ای از وجود مکانیسم‌های کنترلی در تحمل به پسابدگی است. در تنش شوری رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن در سلول‌ها تجمع می‌یابند؛ به‌طوری‌که پراکسید شدن چربی‌های غشاء افزایش و

گیاه سیب‌زمینی ترش (*Helianthus tuberosus*) که مقاوم به شوری است، تنش شوری سبب ذخیره شدن مونوساکاریدهایی مانند گلوکز و فروکتوز شد (Zhang *et al.*, 2018). همچنین Arnao و Hernandez-Ruiz (۲۰۱۴) گزارش کردند که ملاتونین در شرایط تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های از بین برنده رادیکال‌های آزاد، از جمله کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهان می‌شوند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات پیشین استویا گیاهی حساس به تنش شوری است. به طوری که با افزایش سطوح تنش شوری، کاهش قابل توجهی در شاخص‌های رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی آن دیده می‌شود. استفاده از ملاتونین باعث بهبود این صفات در شرایط تنش شوری شد. افزایش میزان ملاتونین سبب جبران خسارت وارده به گیاه شد؛ به طوری که ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه از قبیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان پرولین، کربوهیدرات کل را بهبود و در نهایت رشد گیاه را افزایش داد؛ بنابراین می‌توان اظهار داشت که مصرف ملاتونین می‌تواند در شرایط تنش شوری باعث افزایش صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا شود.

در گیاه هندوانه (*Citrullus lanatus*) نیز ملاتونین از طریق تنظیم عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای اثرات مهارکننده ناشی از شوری را کاهش و از محتوای کلروفیل گیاه حفاظت می‌کند (Dongxiao *et al.*, 2017).

تنش شوری و ملاتونین به طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ استویا گردید. در آزمایشی Oueslati و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه پونه (*Mentha pulegium*) در شرایط تنش شوری افزایش یافت. افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است. همان‌طور که ذکر گردید میزان پرولین گیاهان تیمار شده با ملاتونین تحت سطوح مختلف تنش شوری به طور معنی‌دار افزایش یافت. پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، حفظ و سنتز پروتئین مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد (Sahar *et al.*, 2011). ملاتونین نیز اثر مثبتی بر انباشت پرولین در هر دو گیاه میخک (*Syzygium aromaticum*) و قرنفل (*Dianthus barbatus* L.) تحت تنش شوری داشت. نقش ملاتونین در افزایش پرولین به علت نقش آن در حفظ آب سلول و محافظت از غشا و پروتئین از بین رونده ROS و خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (Turk *et al.*, 2014). در

References

- Alla, M. M. N., Younis, M. E., El-Shihaby, O. A. & El-Bastawisy, Z. M. (2002). Kinetin regulation of growth and secondary metabolism in waterlogging and salinity treated *Vigna sinensis* and *Zea mays*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 24(1), 19-27.
- Archangi, A., Khodambashi, M. & Mohammadkhani, A. (2012). The effect of salt stress on morphological characteristics and Na⁺, K⁺ and Ca⁺ ion contents in medicinal plant fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) under hydroponic culture. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 3(10), 33-40. (In Persian)
- Arnao, M. B. (2014). Phytomelatonin: discovery, content, and role in plants. *Advances in Botany*, 2014, 1-11.
- Arnao, M. B. & Hernandez-Ruiz, J. (2014). Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress?. *Trends in Plant Science*, 19(12), 789-797.
- Ashraf, M. & McNeilly, T. (1990). Responses of four Brassica species to sodium chloride. *Environmental and Experimental Botany*, 30(4), 475-487.
- Barrs, H. D. & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity

- technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15(3), 413-428.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
 - Calvo, J. R., Gonzalez Yanes, C. & Maldonado, M. D. (2013). The role of melatonin in the cells of the innate immunity: a review. *Journal of Pineal Research*, 55(2), 103-120.
 - Chen, Q., Qi, W. B., Reiter, R. J., Wei, W. & Wang, B. M. (2009). Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of Brassica juncea. *Journal of Plant Physiology*, 166(3), 324-328.
 - Demiral, M. A., Aydin, M. & Yorulmaz, A. (2005). Effect of salinity on growth chemical composition and antioxidative enzyme activity of two malting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Turkish Journal of Biology*, 29(2), 117-123.
 - Dhindsa, R. H., Plumb-Dhindsa, R. & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence correlated with increased level of membrane permeability, lipid peroxidation and decreased level of SOD and CAT. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93-101.
 - Dongxiao, L. I., Zhang, D., Hongguang, W. A. N. G., Yanming, L. I. & Ruiqi, L. I. (2017). Physiological response of plants to polyethylene glycol (PEG-6000) by exogenous melatonin application in wheat. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104(3), 219-228.
 - Drzakiewicz, M. (1994). Chlorophyllase: occurrence, functions, mechanism of action, effects of external and internal factors. *Photosynthetica*, 30, 321-331.
 - Galano, A., Tan, D. X. & Reiter, R. J. (2011). Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. *Journal of Pineal Research*, 51(1), 1-16.
 - Gorham, J. (1995). Mechanism of salt tolerance of halophytes. *Plant and Biology*, 28, 89-121.
 - Hardeland, R., Cardinali, D. P., Srinivasan, V., Spence, D. W., Brown, G. M. & Pandi-Perumal, S. R. (2011). Melatonin-A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in Neurobiology*, 93(3), 350-384.
 - Hedge, J. E. & Hofreiter, B. T. (1962). In Carbohydrate Chemistry, 17. In: R. L. Whistler & J. N. Be Miller (Eds.), *Methods in carbohydrate chemistry*. Volume 1, analysis and preparation of sugars (pp. 17-22). Academic Press, New York.
 - Heidari, M. (2012). Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 379-384.
 - Hossein, M. A., Shamim Kabri, A. M., Jahan, T. A. & Hassan, M. N. (2008). Micropropagation of *Stevia Rebaudiana*. *International Journal of Sustainable Crop Production*, 3, 1-90.
 - Inze, D. & Van Montagu, M. (1995). Oxidative stress in plants. *Current opinion in Biotechnology*, 6(2), 153-158.
 - Jiang, C., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, C. & Zheng, Q. (2016). Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4), 82.
 - Jiao, J., Ma, Y., Chen, S., Liu, C., Song, Y., Qin, Y. & Liu, Y. (2016). Melatonin-producing endophytic bacteria from grapevine roots promote the abiotic stress-induced production of endogenous melatonin in their hosts. *Frontiers in Plant Science*, 7.
 - Lemus-Mondaca, R., Vega-Galvez, A., Zura-Bravo, L. & Ah-Hen, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the

- biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132(3), 1121-1132.
- Li, C., Tan, D. X., Liang, D., Chang, C., Jia, D. & Ma, F. (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 669-680.
 - Lutts, S., Kinet, J. M. & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78(3), 389-398.
 - Maas, E. V. (1993). Plant growth response to salt stress. In: L. Helmut & A. Al Masoom (Eds.), *Towards the rational use of high salinity tolerant plants* (pp. 279-291). Springer, Dordrecht.
 - MacAdam, J. W., Nelson, C. J. & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878.
 - Marcum, K. B. (1998). Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 38(5), 1214-1218.
 - Moon, J. H. & Terao, J. (1998). Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5062-5065.
 - Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 239-250.
 - Netondo, G. W., Onyango, J. C. & Beck, E. (2004). Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. *Crop Science*, 44(3), 797-805.
 - Noctor, G. & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology*, 49(1), 249-279.
 - Oueslati, S., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri, R. & Lachaal, M. (2010). Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32(2), 289-296.
 - Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324-349.
 - Raeeszadeh, M. & Gharineh, M. H. (2014). Effects of gibberellic acid, nitric acid and moist chilling on seed germination *Stevia*. *First International Congress and the Thirteenth National Congress of the Plant Breeding and Seed Science and Technology Conference*. (In Persian)
 - Rostami, G., Moghaddam, M., Narimani, R. & Mehdizadeh, L. (2018). The effect of different priming treatments on germination, morphophysiological, and biochemical indices and salt tolerance of basil (*Ocimum basilicum* L. cv. Keshkeni Levelou). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 11(4), 1107-1123. (In Persian)
 - Sahar, K., Amin, B. & Taher, N. M. (2011). The salicylic acid effect on the *Salvia officianlis* L. sugar, protein and proline contents under salinity (NaCl) stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(4), 80-87.
 - Salami, M. R., Safarnezhad, A. & Hamidi, H. (2006). Effect of salinity stress on morphological characters of *Cuminum cyminum* and *Valeriana officinalis*. *Journal of Research and Construction in Natural Resources*, 72, 77-83. (In Persian)
 - Sarani, S., Heidari, M., Glavi, M. & Siahshar, B. A. (2013). Effects of salinity and iron on growth, photosynthetic pigments and electrophoresis bands in two genus chamomile (*Matricaria chamomilla* L. and *Anthemis nobilis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(4), 732-746. (In Persian)

- Sevengor, S., Yasar, F., Kusvuran, S. & Ellialtioglu, S. (2011). The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. *African Journal of Agricultural Research*, 6(21), 4920-4924.
- Singh, S. D. & Rao, G. P. (2005). Stevia: The herbal sugar of 21 st century. *Sugar Technology*, 7(1), 17-24.
- Steduto, P., Albrizio, R., Giorio, P. & Sorrentino, G. (2000). Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 44(3), 243-255.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Helton, P. & Reiter, R. J. (2007). Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. *Plant Signaling & Behavior*, 2(6), 514-516.
- Tan, D. X., Korkmaz, A., Reiter, R. J. & Manchester, L. C. (2014). Ebola virus disease: potential use of melatonin as a treatment. *Journal of Pineal Research*, 57(4), 381-384.
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y. & Yanmis, D. (2014). The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74(2), 139-152.
- Wang, L., Liu, J. L., Wang, W. & Sun, Y. (2016). Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica*, 54(1), 19-27.
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H. J., Weeda Yang, Z. C. & Guo, Y. D. (2013). Melatonin promotes water stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 54(1), 15-23.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S. & Guo, Y. D. (2015). Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 647-656.
- Zhang, A., Han, D., Wang, Y., Mu, H., Zhang, T., Yan, X. & Pang, Q. (2018). Transcriptomic and proteomic feature of salt stress-regulated network in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) root based on de novo assembly sequencing analysis. *Planta*, 247(3), 715-732.