Journal of Vegetables Sciences
Vol 5, No 9, Spring & Summer 2021, (1-15)
DOI: 10.22034/IUVS.2021.534020.1170

دو فصلنامه علمی- پژوهشی علوم سبزی‌ها
سال ۵- شماره ۹- بهار و تابستان ۱۴۰۰- صفحات (۱۵-۱)

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

زهرا نورمحمدی[۱]، بهروز اسماعیل‌پور[۲*]، رسول آذرمی[۳]، مرتضی شیخ علیپور[۴]، اسماعیل چمنی[۵] و رقیه شهبازی یاجلو[۶]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- دانشیار 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- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۶- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
* نویسنده مسئول: bsmaielpoor2008@gmail.com
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۵- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۴)

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 به‌ترتیب 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 درگرم وزن تر) تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کاربرد ۱۵۰ میکرومولار ملاتونین به‌دست آمد. درحالی‌که 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.

مقدمه

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni گیاهی علفی چند ساله و بوته‌ای از خانواده کاسنی (Asteraceae) است (Hossein *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 چغندرقند (*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 دنیا 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*) 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 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*) و سنبل‌الطیب گردید (Salami *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*) 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 foenumgracum*) می‌شود. کاهش رشد گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش و اختلال فعالیت‌های زیستی و متابولیسمی در گیاهان باشد که نهایتاً 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 اسیدآمینه تریپتوفان است (Galano *et al*., 2011; Calvo *et al*., 2013). 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 که موجب افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده و بهبود رشد و توسعه گیاه می‌گردد (Li *et al.*, 2015). همچنین ملاتونین به‌دلیل 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 به‌صورت 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 کارتنوئیدها، فتوسنتز و کربوکسیلاسیون و در نهایت افزایش کیفیت و کمیت محصولات نقش دارد (Zhang *et al.*, 2015). گزارش‌شده است که استفاده از ملاتونین در شرایط شوری، موجب افزایش تحمل به شوری در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mayes* 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 سیب جلوگیری می‌کند. مکانیسمی که ملاتونین رشد ریشه و بخش هوایی را در گیاهان افزایش می‌دهد به‌خوبی 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؛ به‌دلیل نقش‌های متفاوت ملاتونین در گیاه این مطالعه برای بررسی تأثیر آن بر صفات رشدی و فیزیولوژی و مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاه استویا در شرایط تنش شوری استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال۱۳۹۸ انجام گرفت. فاکتور اول تنش شوری در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و فاکتور دوم محلول‌پاشی 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 دانش بنیان 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 محلول‌دهی شدند و سپس با غلظت کامل آبیاری شد. پس از اینکه گیاهان بعد از دو

هفته به استقرار کامل یافتند به‌مدت 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 یک‌بار با آب معمولی آبیاری شدند. محلول‌پاشی برگی استویا با ملاتونین هفته‌ای یک بار انجام شد. محلول‌پاشی ملاتونین یک‌بار 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 نهایت مقدار کلروفیل با استفاده از روابط زیر به‌دست آمد.

رابطه (۱) $Chl_a: 15.65A_{666}-7.340A_{65}$

رابطه (۲) $Chl_b: 27.05\ A_{653}- 11.21\ A_{666}$

رابطه (۳)

$Car: 1000A_{470}- 2.860\ Chl_a - 129.2\ Chl_b$

رابطه (۴) $Chl_t = Chl_a + Chl_b$

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 به‌دست آمد.

رابطه (۵) $AA= 1-A_{517}/ A_{517}\times100$

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 به‌مدت 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 میلی لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز، مخلوط گردید سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Jenway ساخت کشور ایتالیا) قرائت شد.

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

جهت تعیین پایداری غشا سلول‌های برگی، از روش Marcum (۱۹۹۸) استفاده شد. مقدار دو گرم وزن‌تر برگ از هر تکرار را در ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار داده شد. این ظروف به‌مدت 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 برگی به‌مدت 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 به‌ترتیب قبل و بعد از جوشیدن است در نهایت نشت الکترولیت از طریق رابطه ۶ محاسبه گردید.

رابطه (۶) $EL=(\frac{E1}{E2})\times100$

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

$$RWC\ \% = [(FW-DW)/ (TW-DW)] \times 100$$

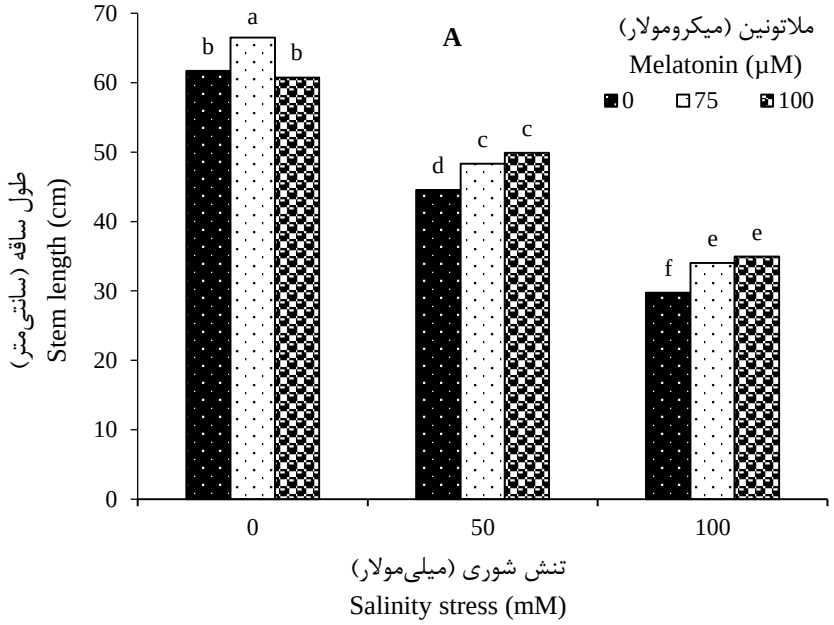
در این معادله RWC محتوای رطوبت نسبی برگ بر حسب درصد، FW وزن تر نمونه، DW وزن خشک نمونه و TW وزن آماس نمونه است.

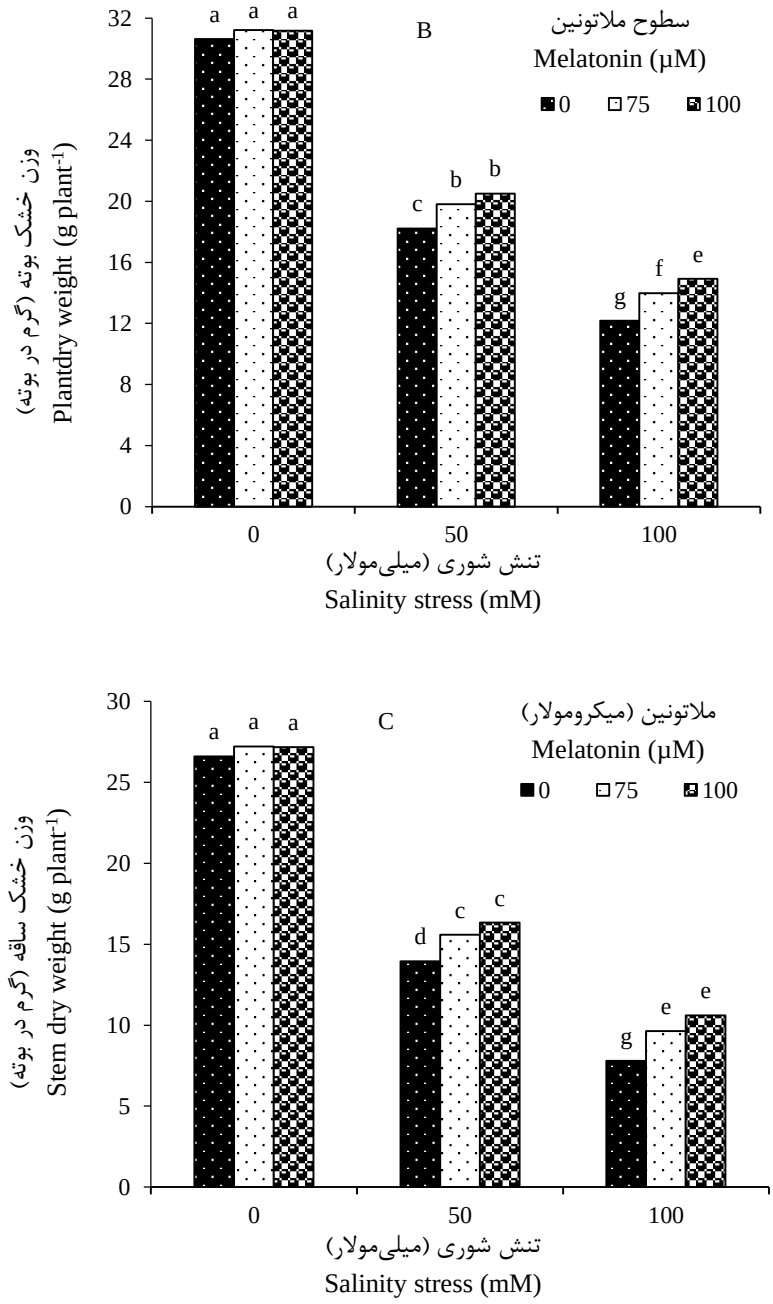
داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و نمودار نیز با Excel رسم گردید.

نتایج

صفات مورفولوژیکی

شاخص‌های رشدی در گیاه دارویی استویا با افزایش سطوح تنش شوری به‌شدت 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 (۲۷/۲۱ گرم در بوته) در تیمار بدون تنش شوری (شاهد) با محلول‌پاشی ۷۵ میکرومولار ملاتونین، مشاهده شدند. همچنین کمترین میزان شاخص‌های رشدی تحت تنش شوری شدید (۱۰۰ میلی‌مولار) و عدم محلول‌پاشی ملاتونین به‌دست آمدند (شکل ۱ الف، ب و ج).





شکل ۱- تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر طول ساقه، وزن خشک ساقه و وزن خشک بوته گیاه استویا تحت شرایط تنش شوری

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

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و کارتنوئید 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. به‌طوری که بیشترین مقدار کلروفیل a (۶/۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کلروفیل کل (۷/۴۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کاروتنویید

(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).

جدول ۱- تأثیر محلول‌پاشی 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 (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (µM)	کلروفیل a a chlorophyll	کلروفیل b b chlorophyll	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoid
		(میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) (mg g leaf fresh weight^{-1})			
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.^{00f}	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 ($p \leq 0.05$).

محتوای رطوبت نسبی برگ

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).

کربوهیدارت 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 محلول‌پاشی ملاتونین افزایش یافت. در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و محلول‌پاشی 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 محلول‌پاشی 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 محلول‌پاشی ملاتونین حاصل شد (شکل ۲ و ۳).

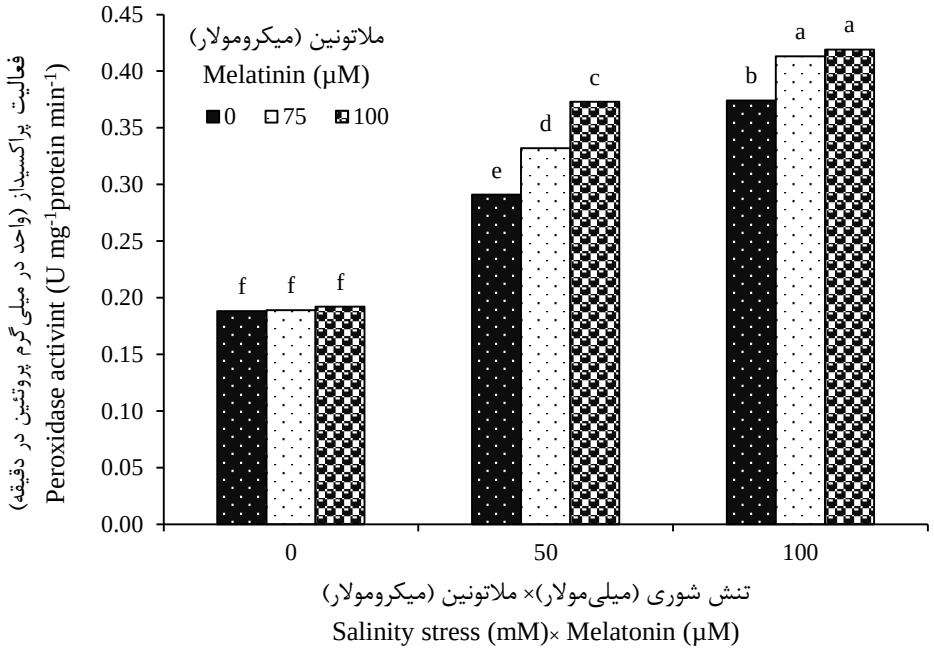
جدول ۲- تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا تحت سطوح مختلف تنش شوری

Table 2 - The effect of melatonin foliar application on physiological characteristics of stevia under different levels of salinity stress

تنش شوری (میلی‌مولار) Salinity stress (mM)	ملاتونین (میکرومولار) Melatonin (µM)	نشت یونی (درصد) Leaf ion leakage (٪)	مقدار رطوبت نسبی (درصد) Relative water content (٪)	پرولین (میکرمول بر گرم وزن خشک) Proline content ($mg.dw^{-1}$)	قندهای محلول (میلی‌گرم 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}

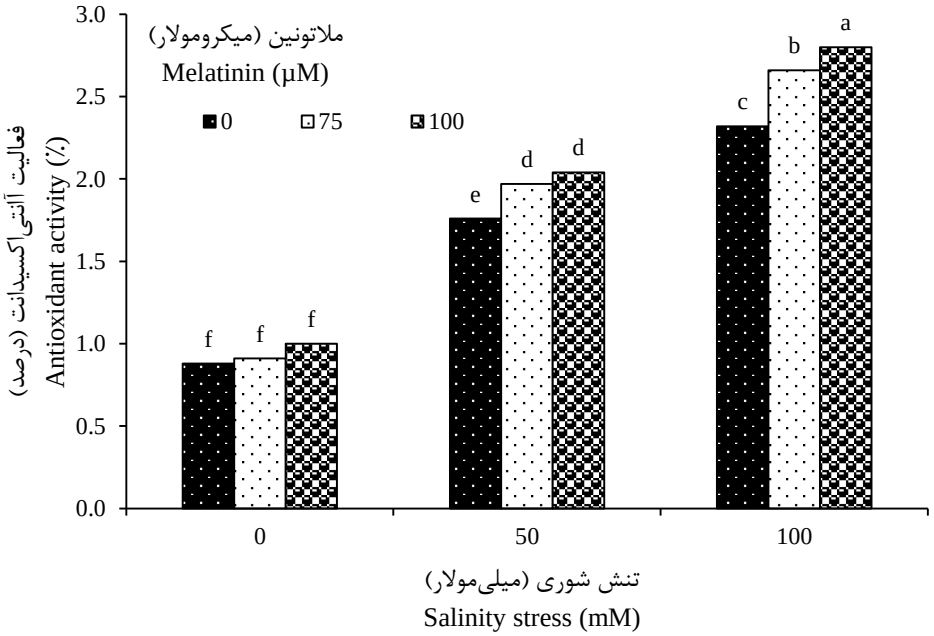
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

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 محلول‌پاشی ملاتونین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه استویا تحت سطوح مختلف تنش شوری

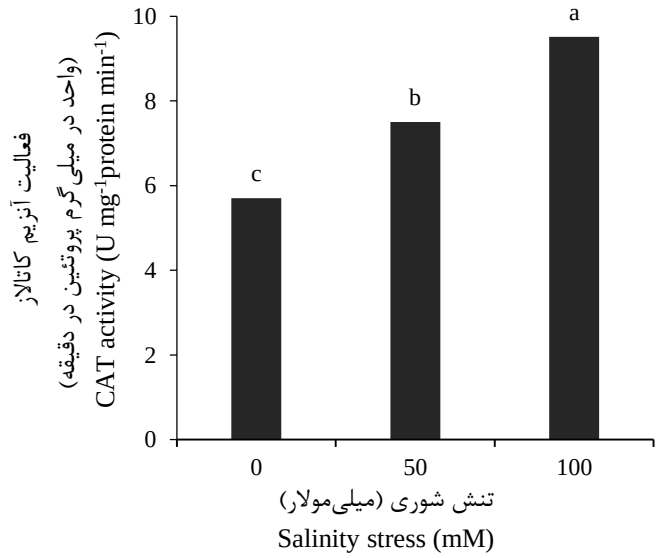
Table 2 - The effect of melatonin foliar application on peroxidase activity of stevia under different levels of salinity stress



شکل ۳- تأثیر محلول‌پاشی 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

بیشترین مقدار کاتالاز (۹/۵۷ واحد در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار حاصل گردید که نشان می‌دهد شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است (شکل ۴).



شکل ۴- فعالیت آنزیم کاتالاز تحت سطوح مختلف تنش شوری

Figure 4 - Catalase activity under different levels of salinity stress

بحث

کاهش رشد رویشی در اثر تیمار شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش سطح فتوسنتز و همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل a و b، جذب خالص دی‌اکسید 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). به‌طورکلی، 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 کارآیی 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). افزودن باکتری اندوفیت تولیدکننده ملاتونین به 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 قابل‌توجه گیاهان 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 پسابیدگی است. در تنش شوری رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن در سلول‌ها تجمع می‌یابند. به‌طوری‌که پراکسیده شدن چربی‌های غشاء افزایش و 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 ازملاتونین 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 مکانیزم‌های محافظ دوگانه کاهش مقدار پراکسید هیدروژن و اسید آبسزیک 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 حلقهٔ 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). 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 به‌طور 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 به‌طور 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 نیر 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 به‌علت نقش آن درحفظ آب سلول و محافظت از غشا و پروتئین ازبین رونده ROS و خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (Turk *et al*., 2014). در گیاه سیب‌زمینی ترش (*Helianthus tuberosus*) که مقاوم به شوری است، تنش شوری سبب انباشته شدن مونوساکاریدهایی مانند گلوکز و فروکتوز شد (Zhang *et a*l., 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. به‌طوری که با افزایش سطوح تنش شوری، کاهش قابل‌توجهی 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. به‌طوری‌که 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.

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 Farsi)
- 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.
- Drazkiewicz, 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 (Eds. Whistler R.L. and Be Miller, J.N.). 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). Micropropagagation 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 *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 Farsi).
- 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 Farsi)
- 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).
- 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 Farsi).
- Sarani, S., Heidari, M., Glavi, M. & Siahsar, 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 Farsi)

- 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. Y., Liu, J. L., Wang, W. X. & 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, S., Yang, C., 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.