



<https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en>
Journal of Plant Biological Sciences
E-ISSN: 3041-9603
Vol. 15, Issue 4, No. 58, winter 2023
Document Type: Research Paper
Received: 21/02/2024 Accepted: 03/12/2024

Morphophysiological responses and nutrient uptake of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to the application of biofertilizers and methyl jasmonate under drought stress conditions

Fatemeh Roshdi¹, Mohsen Movahhedi Dehnavi¹ ^{*}, Amin Salehi¹, HamidReza Balochi¹

¹Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

Abstract

This research aimed to investigate the nutrient uptake and morphophysiological characteristics of *Stevia rebaudiana* under biofertilizers and methyl jasmonate (MJ) application during drought stress. A factorial experiment, based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications, was conducted in the research greenhouse of Yasouj University in 2021. The first factor included three irrigation levels after 20%, 40%, and 60% depletion of available soil water. The second factor comprised the application of *Funneliformis mosseae*, *Bacillus subtilis*, and the control, while the third factor evaluated foliar application (75 μ M) and non-application of MJ. Drought stress at 40% and 60% water depletion significantly reduced nitrogen and phosphorus content, plant height, number of leaves, lateral branches, and root and shoot dry weight compared to 20% water depletion. However, root colonization (tripled), soluble sugar content (85.41%), catalase activity (12-fold), and leaf potassium content (73.67%) increased under drought. Biofertilizers enhanced most of these traits across all stress levels, except plant height and shoot dry weight. Methyl jasmonate significantly improved leaf nitrogen, phosphorus, potassium, soluble sugars, catalase activity, number of leaves, lateral branches, and root dry weight but did not significantly impact root colonization, plant height, or shoot dry weight. Overall, biofertilizers were effective in mitigating drought stress.

Keywords: Antioxidants, Biological fertilizer, Drought stress, Root colonization, Stevia

*Corresponding author: movahhdi1354@yu.ac.ir



Introduction

Stevia rebaudiana is a perennial plant with sweet leaves, approximately 300 times sweeter than sucrose, and is widely cultivated worldwide, including in Iran. Drought stress is one of the most significant environmental challenges limiting stevia production, negatively affecting growth, development, and metabolic processes. Studies on Stevia under PEG-induced drought stress have shown reduced chlorophyll and carotenoid content, increased ROS, MDA, electrolyte leakage, and heightened enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities. Harnessing the symbiotic relationship between plants, mycorrhizal fungi, and growth-promoting bacteria is a promising strategy to mitigate drought-induced damage. The ameliorative effects of mycorrhiza in salinity and drought-stressed stevia have been demonstrated. For instance, *in vitro* cultivation with mycorrhiza reduced electrolyte leakage and significantly increased root and shoot dry weight. MJ, a novel plant growth regulator, enhances plant resistance to environmental stresses, including drought. Its application has been associated with increased phenolic content and antioxidant activity in stevia. This research was designed to evaluate nutrient uptake and morphophysiological characteristics of stevia under biofertilizer and methyl jasmonate application during drought stress.

Materials and methods

A factorial pot experiment was conducted in 2021 in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture at Yasouj University, Yasouj, Iran. The experiment followed an RCBD with three replications. Drought stress was applied at three levels: irrigation after 20%, 40%, and 60% depletion of available soil water. The biofertilizer treatments included a control, arbuscular mycorrhizal fungus (*Funneliformis mosseae*), and *Bacillus subtilis*. Foliar application of MJ was performed at two levels (0 and 75 μ M). One-month-old stevia seedlings (at the two- to three-leaf stage) were sourced from Zargiyeh Firouzabad Company. *F. mosseae* spores (120 spores/g soil) were obtained from the Hamadan Phytosanitary Clinic, and *B. subtilis* suspension (108 CFU/g) from the Karaj Water and Soil Institute. Plastic pots (32×13×10 cm) were filled with soil, leaving a 5 cm margin at the top. Mycorrhizal fungus (50 g per pot) was placed beneath the roots, while seedling roots were dipped in the bacterial suspension before transplanting into pots. Soil moisture was monitored using a soil moisture meter (Model 1-150SM, Δ T, England) to manage drought stress levels. MJ (Sigma-Aldrich, W392707) was foliar-sprayed one week before drought stress application, with a second spray three days later. Measurements included root colonization, leaf nitrogen, phosphorus, and potassium content, soluble sugar content, catalase activity, number of leaves, lateral branches, and root and shoot dry weights.

Results and Discussion

Drought stress at 40% and 60% water depletion significantly decreased nitrogen and phosphorus content, plant height, number of leaves, lateral branches, and root and shoot dry weights compared to 20% water depletion. However, root colonization (tripled), soluble sugars (85.41%), catalase activity (12-fold), and leaf potassium content (73.67%) significantly increased under higher drought stress. Biofertilizers significantly improved most traits, regardless of MJ application. Inoculation with biofertilizers also increased leaf potassium content under drought, with or without methyl jasmonate. Key traits, including shoot weight and leaf number, improved significantly with biofertilizers and methyl jasmonate under drought conditions.

Drought stress likely reduced nitrogen and phosphorus availability due to reduced transpiration, active transport, membrane permeability, root growth, and nitrogen mineralization. Biofertilizers (*F. mosseae* and *B. subtilis*) combined with MJ mitigated these effects by enhancing leaf osmotic adjustment and antioxidative activity, leading to improved root and shoot dry weights.

Conclusion

The findings demonstrate that biofertilizers (*F. mosseae* and *B. subtilis*) and MJ can mitigate drought stress in stevia. These treatments enhanced nutrient uptake, osmotic adjustment, and antioxidant activity while improving growth traits like root and shoot dry weights. To validate these findings, further experiments under field conditions are recommended.

پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیکی و جذب عناصر در گیاه استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) نسبت به کاربرد کودهای زیستی و متیل جاسمونات در شرایط تنش خشکی

فاطمه رشدی^۱، محسن موحدی دهنوی*^۱، امین صالحی^۱، حمیدرضا بلوچی^۱

اگرچه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی جذب عناصر و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) تحت تنش خشکی در شرایط کاربرد کودهای زیستی و متیل جاسمونات، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یاسوج، در سال ۱۴۰۰ انجام شد. عامل اول شامل آبیاری پس از تخلیه ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد آب قابل استفاده خاک، عامل دوم شامل کاربرد کود مایکوریزا گونه *Funneliformis mosseae* و باکتری *Bacillus subtilis* بود. همچنین از غلظت ۷۵-۰ میکرومولار متیل جاسمونات به عنوان شاهد در شرایط تنش خشکی استفاده شد. تنش خشکی در سطوح آبیاری پس از ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی سبب کاهش محتوای عناصر نیتروژن و فسفر، ارتفاع، تعداد برگ، تعداد شاخه جانبی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت به سطح آبیاری پس از ۲۰ درصد تخلیه شد، ولی درصد کلونیزاسیون ریشه (سه برابر)، محتوای قندهای محلول (۸۵/۴۱ درصد)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۲ برابر) و محتوای پتاسیم برگ (۷۳/۶۷ درصد) افزایش یافت. کودهای زیستی، نسبت به شاهد، در هر سه سطح تنش سبب افزایش صفات نام برده به جز ارتفاع بوته و وزن خشک اندام هوایی شد. کاربرد متیل جاسمونات بر محتوای نیتروژن، محتوای فسفر، محتوای پتاسیم، محتوای قندهای محلول، فعالیت آنزیم کاتالاز، تعداد برگ در بوته، تعداد شاخه‌های جانبی و وزن خشک ریشه اثر مثبت و معنی‌داری داشت، ولی بر کلونیزاسیون ریشه، ارتفاع و وزن خشک اندام هوایی اثر قابل توجهی نشان نداد. بطور کلی تیمارهای کود زیستی توانست اثر تنش خشکی را تا حد زیادی کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: استویا، تنش خشکی، کلونیزاسیون ریشه، کود زیستی

*Corresponding author: movahhdi1354@yu.ac.ir



مقدمه

افزایش بهره‌گیری از گیاهان دارویی و معطر در سطح دنیا، اهمیت و ضرورت کاشت آن‌ها را آشکارتر می‌سازد. میزان مصرف گیاهان دارویی در سراسر جهان روز به روز در حال افزایش است و یکی از گیاهان دارویی مهم که در طب سنتی به‌عنوان شیرین‌کننده طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد، استویا است (Hayat et al., 2012). استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni و متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) است. استویا گیاهی علفی و چند ساله بوده و بومی مناطق پاراگوئه، برزیل و آرژانتین با آب و هوایی نیمه گرمسیری با زمستان‌های ملایم است. برگ‌های استویا دارای گلیکوزیدهای دیتروپن یا گلیکوزیدهای استویول شیرین است که محلول در آب بوده و تقریباً ۱۵۰ تا ۳۰۰ مرتبه شیرین‌تر از شکر هستند (Haji Mohammadi et al., 2023). در سرتاسر جهان، ۳۲۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت استویا است (Hossain et al., 2017).

امروزه بحران آب مشکل اصلی اغلب کشورهای جهان است، زیرا که منابع آب تجدید شونده جهان محدود است. ایران کشوری با متوسط بارندگی ۲۳۰ میلی‌متر در سال است که در زمره مناطق خشک و نیمه خشک جهان طبقه‌بندی می‌شود (Bahamin et al., 2021). بنابراین پژوهش پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیک گیاهان جهت یافتن راه‌کارهای به‌زراعی و به‌نژادی برای غلبه بر کمبود آب از اولویت‌های پژوهشی است. خشکی رشد و تولیدات گیاهی را بیش از سایر تنش‌های زیستی و غیرزیستی کاهش می‌دهد.

مهم‌ترین تأثیر تنش خشکی در گیاهان زراعی و دارویی، کاهش تقسیم و توسعه سلولی، اندازه‌ی برگ، طویل شدن ساقه، تولید ریشه و کاهش راندمان مصرف آب است (Mechri et al., 2020). در پژوهشی بر روی استویا تحت تنش خشکی اعمال شده با PEG کاهش محتوای کلروفیل، کارتنوئیدها و افزایش ROS، MDA، میزان نشت الکترولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی مشاهده شد (Hajihashemi & Sofu, 2018). در پژوهشی نشان داده شده وزن برگ گیاه استویا در تنش کوتاه مدت از تنش متأثر نشد، ولی تنش طولانی مدت وزن برگ به‌شدت کاهش یافت (Ren & Shi, 2012). با توجه به اهمیت فراوان گیاه دارویی استویا، شناخت بهتر این گیاه و میزان مقاومت آن به تنش خشکی ضروری است.

از جمله مشکلات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک پائین بودن حاصلخیزی خاک به علت سطح پائین ماده آلی و فعالیت میکروبی است. مدیریت صحیح تغذیه خاک با مصرف کودهای زیستی راهکاری مفید جهت بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان در محیط‌های تحت تنش خشکی محسوب می‌شود (Nasiri et al., 2020). کشاورزی در ایران است، زیرا که کشور ما در منطقه خشک واقع شده و کمبود بارندگی شایع است. استویا گیاه غیر بومی ایران است و در مسیر زراعی شدن و اهلی‌سازی در کشور ما ناخواسته در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد (Karimi et al., 2013). کودهای زیستی، متشکل از

شد (Tavarini et al., 2018). در پژوهشی مایکوریزا سبب افزایش استویول گلایکوزیدها و وزن ریشه و برگ شد. این افزایش با افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی و منگنز و در نتیجه بهبود محتوای کلروفیل و کربوهیدرات همراه بود (Mandal et al., 2013). نقش بهبود دهنده مایکوریزا در استویا در هنگام مواجهه با تنش شوری و خشکی اثبات شده است (Seraj, et al., 2016). در این پژوهش در کشت درون شیشه با کاربرد مایکوریزا نشت الکترولیت کاهش یافت و وزن خشک ریشه و اندام هوایی افزایش معنی‌داری نشان داد. در گیاه جو نیز کاربرد مایکوریزا سبب بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکردی در شرایط تنش خشکی شد (Sara et al., 2024).

با کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌توان گیاهان را نسبت به شرایط نامساعد و تنش‌های محیطی مقاوم نمود (Sewedan et al., 2018). اسید جاسمونیک و مشتقات آن از جمله متیل جاسمونات، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که به عنوان پیام‌رسان نقش کلیدی در رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های محیطی دارند (Saisavoey et al., 2014). افزایش محتوای فنول کل و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی با کاربرد متیل جاسمونات در استویا مشاهده شده است (Lucho et al., 2019). با توجه به اهمیت استفاده از کاهش‌دهنده‌های تأثیر تنش و کمبود اطلاعات در رابطه با پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیکی و جذب عناصر استویا به تنش خشکی، در این پژوهش به بررسی نقش کودهای زیستی و متیل جاسمونات در بهبود جذب عناصر و

ریزجانداران مفیدی هستند که هر یک به روش‌های خاص، از جمله تثبیت زیستی نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم، آهن، جذب عناصر ماکرو و میکرو و غیره تولید می‌شوند. این ریزجانداران، در اطراف ریشه مستقر می‌شوند و با افزایش حاصلخیزی خاک، منجر به افزایش جذب عناصر توسط گیاه می‌شود (Goswami et al., 2016). از جمله این ریزجانداران می‌توان به قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه اشاره نمود که هر کدام برای منظور خاصی استفاده می‌شوند (Kazemi et al., 2017). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد با تثبیت زیستی نیتروژن و تبدیل شکل‌های نامحلول فسفر به شکل‌های محلول و در اختیار قرار دادن آن در دسترس گیاه و نیز با سازوکارهای مختلف دیگری مانند تولید سیدروفورها، ساخت آن‌تی‌بیوتیک‌ها و تولید هورمون‌های گیاهی سبب تحریک رشد گیاه می‌شود (Zortea et al., 2018). قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار نیز نقش بسیار مهمی در حفاظت از گیاهان در مقابل شرایط تنش دارند. قارچ‌ها ترکیبات کربنی تثبیت شده را از گیاهان میزبان دریافت می‌کنند، در حالی که گیاه به علت افزایش جذب عناصر غذایی توسط قارچ، از مقاومت بیشتری نسبت به تنش‌های زیستی و همچنین مقاومت در برابر بیماری‌ها برخوردار است (Shahhosseini et al., 2012). تلقیح استویا با مایکوریزا (*Rhizoglossum irregulare*) اثبات شده است. در این پژوهش مایکوریزا سبب افزایش رشد، زیست‌توده، وزن خشک برگ، ارتفاع، شاخه‌دهی و محتوای استویول گلایکوزید

باکتری با ریشه گیاه در مرحله انتقال نشاء (چهار تا شش برگی، ارتفاع ۱۰ تا ۱۵ سانتی متر و سه بوته در هر گلدان) انجام شد. در مرحله انتقال نشاء، قارچ وزیکولار آربوسکولار گونه *F. mosseae* (در هر گرم خاک تعداد ۱۲۰ اسپور برای قارچ مایکوریزا وجود داشت) به میزان ۵۰ گرم برای هر گلدان (گلدان‌های حاوی مایکوریزا) زیر ریشه قرار داده شد. همچنین ریشه‌های نشاء به سوسپانسیون باکتری‌ها (با شمارش 10^8 CFU/gr) آغشته و به گلدان‌های اصلی انتقال داده شدند.

پس از استقرار موفق نشاءها و سه ماه قبل از اعمال تنش، نشاءهای استویا سرزنی شده و همه نشاءها تا حد امکان به یک اندازه تبدیل شده و پس از رشد و شاخه‌دهی مجدد و کافی، تنش خشکی در ماه چهارم (بهمن ماه) به مدت چهار هفته اعمال شد. برای اعمال تنش، رطوبت خاک گلدان با دستگاه رطوبت‌سنج خاک (مدل ۱- SM150، ΔT ، انگلستان، پس از کالیبراسیون برای خاک گلدان) اندازه‌گیری می‌شد. زمانی که گلدان به رطوبت مد نظر (با توجه به تیمارها) می‌رسید، مقدار آب محاسبه شده برای رسیدن به ظرفیت ظرائعی به خاک اضافه می‌شد.

متیل جاسمونات از شرکت Sigma- Aldrich (W392707) خریداری شد و به صورت محلول‌پاشی یک هفته قبل از اعمال تنش خشکی برگ‌ها استفاده شد و سه روز پس از آن محلول‌پاشی مجدداً تکرار شد. برای تهیه محلول‌ها مقدار معینی از متیل جاسمونات در چند قطره اتانول ۹۶ درصد حل شد و سپس آب مقطر به آن اضافه شد تا غلظت‌های مورد نظر به دست آمد. در

ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک استویا تحت سطوح مختلف تنش خشکی در محیط گلخانه پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج با دمای 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد اجرا شد. عامل اول تنش خشکی (۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی) و عامل دوم، کود زیستی (شاهد، *Funneliformis mosseae* و باکتری *Bacillus subtilis*) و عامل سوم متیل جاسمونات (صفر و ۷۵ میکرومولار) بود.

نشاءهای یک ماهه در مرحله دو تا سه برگی استویا از شرکت زرگیاه فیروزآباد، قارچ وزیکولار آربوسکولار گونه‌ی *F. mosseae* از کلینیک گیاه‌پزشکی همدان و سوسپانسیون باکتریایی *B. subtilis* از مؤسسه‌ی آب و خاک کرج تهیه شد. گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد $10 \times 13 \times 32$ سانتی‌متر به نحوی پر شدند که سطح خاک هر گلدان تا دهانه آن ۵ سانتی‌متر فاصله داشت. گلدان‌ها از خاک (نسبت دو به یک، خاک مزرعه به ماسه نرم) پر شده و با دستگاه اتوکلاو به مدت ۲ ساعت ضدعفونی شدند. در مرحله‌ی آماده‌سازی خاک، نمونه‌هایی (پس مخلوط کردن خاک مزرعه و ماسه نرم نمونه‌های جهت آزمون خاک برداشته شد) جهت مشخص نمودن ویژگی‌های خاک تهیه شدند. نتایج آزمون خاک در جدول ۱ ارائه شده است. تلقیح قارچ و

روش محلول‌پاشی برگ‌گی، برای افزایش چسبندگی محلول به سطح گیاه، دو سی‌سی سورفکتانت Tween-20 به هرکدام از غلظت‌های تهیه شده اضافه شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Physical and chemical characteristics of the experimental soil

Soil texture	Organic carbon (percentage)	Manganese (mg/kg)	Copper (mg/kg)	Zinc (mg/kg)	Iron (mg/kg)	Phosphorus (mg/kg)	Potassium (mg/kg)	Nitrogen (percentage)	acidity
Silty loam	0.195	4.40	0.60	0.36	3.20	3.1	112	0.03	7.5

اندازه‌گیری محتوای قندهای محلول برگ

مخلوط سنجش حاوی عصاره الکلی و آنترون در بن ماری قرار داده شد و پس از استراحت برای کاهش دما، میزان قند محلول با توجه به جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر و بر اساس سطح جذب استاندارد تعیین شد (Irigoyen et al., 1992).

استخراج عصاره: بافر استخراج (فسفات پتاسیم $\text{pH} = 7/8$ ، EDTA و PVP) همراه با نمونه برگ در هاون در دمای پائین همگن شد. سپس همگن‌های حاصل ساتریفیوژ و از بخش شناور رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز: برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در مخلوط واکنش (بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیته برابر ۷ حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود) به وسیله اسپکتروفتومتری و در طول موج ۲۴۰ نانومتر

نمونه‌گیری برای ویژگی‌های ریخت شناسی

چهار هفته پس از اعمال تنش خشکی ویژگی‌های ریخت شناسی مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، تعداد شاخه‌های جانبی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان اندازه‌گیری شد. ریشه و اندام هوایی پنج بوته موجود در گلدان جدا و پس از شستشو با آب مقطر و خشک شدن در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، با ترازو وزن شدند و میانگین آن‌ها یادداشت شد.

اندازه‌گیری محتوای عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در برگ

پس از چهار هفته اعمال تنش خشکی، از هر گلدان پنج بوته انتخاب شد و نمونه‌گیری از برگ‌های بالایی جوان و کاملاً باز شده بوته‌ها در صبح زود جهت اندازه‌گیری محتوای نیتروژن برگ به روش Novozamsky et al. (1974)، محتوای فسفر برگ به روش Emami (1996) و محتوای پتاسیم برگ به روش Peterson, et al (2002) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه آماری داده‌های آزمایش با نرم‌افزار SAS انجام شد و مقایسه میانگین‌ها برای اثرهای اصلی که معنی‌دار شدند، با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد. نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان از معنی‌دار بودن تأثیر سه‌گانه کودهای زیستی، متیل جاسمونات و تنش خشکی بر ارتفاع بوته در سطح احتمال خطای پنج درصد دارد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین سطوح کودهای زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی نشان از روند صعودی و نزولی ارتفاع بوته دارد به طوری که در سطح ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد (۲۰ درصد تخلیه رطوبتی) کاهش یافت و سپس در سطح ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی ارتفاع بوته استویا نسبت به سطح ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی افزایش یافت. در سطح تنش خشکی ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین ارتفاع بوته با میانگین ۲۹/۰ سانتی‌متر از تیمار شاهد و عدم کاربرد متیل جاسمونات و کم‌ترین آن نیز با میانگین ۲۰/۸ سانتی‌متر از تیمار کاربرد مایکوریزا و عدم کاربرد متیل جاسمونات به‌دست آمد (شکل ۱).

بر اساس شکل ۱ مشاهده شد در تنش خشکی ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین ارتفاع بوته (۲۶/۸ سانتی‌متر) از تیمار کاربرد مایکوریزا

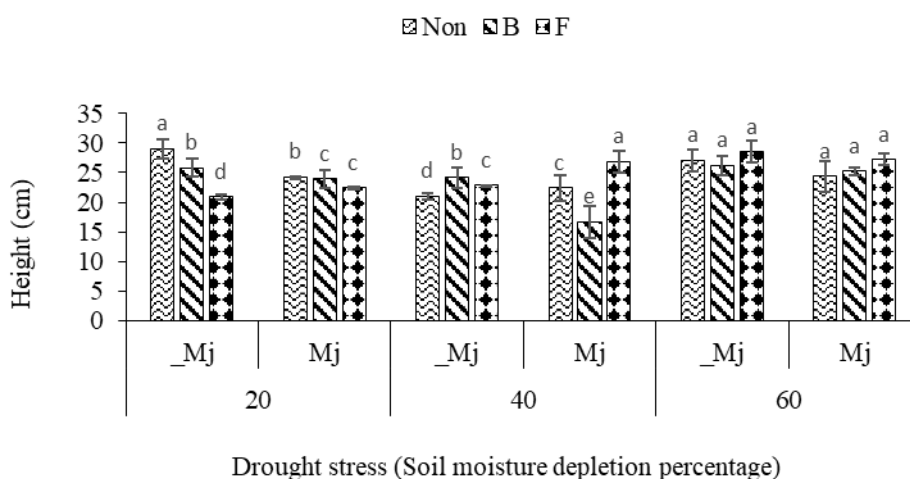
اندازه‌گیری شد. واکنش با افزودن H_2O_2 شروع و کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه خوانده شد. ضریب خاموشی برای کاتالاز ۰/۰۳۹۴ بر میلی‌مول بر سانتی‌متر بود (Aebi, 1984).

اندازه‌گیری کلونیزاسیون ریشه

ریشه‌ها بعد از برداشت از خاک گلدان به‌دقت با آب شسته شده و برای مراحل بعدی آماده شدند. برای اندازه‌گیری درصد کلونیزاسیون، ۵۰ قطعه یک سانتی‌متری از ریشه‌های نازک انتخاب شدند سپس به لوله آزمایش انتقال و به آن KOH ۱۰ درصد اضافه و درون بن ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس و به مدت نیم ساعت انتقال داده شد. پس از شفاف و شیشه‌ای شدن ریشه‌ها، جهت حذف اثر KOH با سرکه رقیق شسته شدند. ریشه‌های شفاف شده به مدت سه دقیقه داخل مخلوط سه درصد جوهر رنگی (ترجیحا آبی یا مشکی) و سرکه خالص خانگی (اسید استیک پنج درصد) جوشانده شدند (برای تهیه، سه میلی‌لیتر جوهر، جوهر خودنویس ایلمت-حجم ۸۰ میلی‌لیتر، با سرکه سفید به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد). ریشه‌های رنگ گرفته از مرحله قبل با آبی که با چند قطره سرکه اسیدی شده شستشو شدند. (Vierheilig et al., 1998). از ریشه‌ها برش نازک تهیه و ۲۰ قطعه از ریشه زیر میکروسکوپ مشاهده شدند. هر نوع قطعات رنگ شده هیف قارچ درون و بیرون ریشه‌ها، وزیکول‌ها و آربوسکول‌ها (شکل ۱) نشان از کلونیزاسیون ریشه است (Biermann & Linderman, 1981).

به‌همراه باکتری موجب کاهش ارتفاع بوته شد، اما اعمال متیل جاسمونات با قارچ میکوریزا ارتفاع بوته را افزایش داد. در سطح ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی نیز بین تیمارهای مورد استفاده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

به‌همراه متیل جاسمونات و کم‌ترین آن (۱۶/۶ سانتی‌متر) از تیمار باکتری به‌همراه با کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد. در سطوح ۲۰ و ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی اعمال متیل جاسمونات



شکل ۱- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای ارتفاع بوته در استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S.Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 1- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for plant height in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی، کودهای زیستی و متیل جاسمونات بر برخی صفات مورد بررسی در استویا

Table 2- Analysis of variance (mean square) of the effect of drought stress, biofertilizers and methyl jasmonate on some investigated traits in *Stevia*

Sources of variation	d.f.	Plant height	Number of leaf per plant	Number of lateral branches per plant	Root dry weight	Shoot dry weight	Leaf nitrogen content	Leaf phosphorus content	Leaf potassium content	Leaf soluble sugars content	Catalase activity	Root colonization
Replication (R)	2	1.2	57.5	0.2	0.02	0.02	0.0009	1.1	1.1	3.08	16.3	55.1
Drought stress (D)	2	76.2 ^{**}	71/6 ^{ns}	0.8 ^{**}	1.3 ^{**}	1.3 ^{**}	8.3 ^{**}	16.8 ^{**}	16.8 ^{**}	17.7 ^{**}	2928 ^{**}	1025 ^{**}
Biofertilizer (F-B)	2	6.7 ^{ns}	299 [°]	0.7 ^{**}	0.3 ^{ns}	0.1 [°]	19.6 ^{**}	29.2 ^{**}	29.2 ^{**}	43.2 ^{**}	632 ^{**}	13595 ^{**}
Methyl jasmonate (Mj)	1	25.1 [°]	9.3 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.9 [°]	0.01 ^{ns}	2.3 ^{**}	9.5 ^{**}	9.7 ^{**}	120 ^{**}	117 ^{**}	26.7 ^{ns}
(D) × (F-B)	4	36.1 ^{**}	181 [°]	0.06 ^{ns}	0.7 ^{**}	0.06 [°]	0.9 ^{**}	0.8 ^{ns}	0.89 ^{**}	3.28 ^{ns}	78.5 ^{ns}	790 ^{**}
(D) × (Mj)	2	1.4 ^{ns}	192 ^{ns}	1.04 ^{**}	1.2 ^{**}	0.6 ^{**}	0.007 ^{ns}	0.2 ^{ns}	0.2 ^{ns}	8.82 [°]	19.4 [°]	340 ^{ns}
(F-B) × (Mj)	2	28 [°]	93.5 ^{ns}	0.7 ^{**}	1.9 ^{**}	0.03 ^{ns}	0.4 ^{**}	0.7 [°]	0.7 [°]	3.39 ^{ns}	2.72 ^{ns}	1140 ^{**}
(D) × (F-B) × (Mj)	4	21.4 [°]	422 ^{**}	0.7 ^{**}	2.0 ^{**}	0.4 ^{**}	0.1 [°]	0.04 ^{ns}	0.04 ^{ns}	16.3 ^{**}	7.75 ^{**}	417 ^{**}
Error	34	5.4	82.5	0.1	0.1	0.01	0.03	0.1	0.7	2.43	2.45	67.2
C.V (%)		9.5	21.0	27.2	16.3	9.3	0.9	4.2	4.2	11.2	8.17	13.3

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح احتمال خطای پنج درصد و یک درصد را نشان می دهد.

ns, * and ** indicate no significant difference, significant at 0.05 and 0.01 percent of probability levels, respectively.

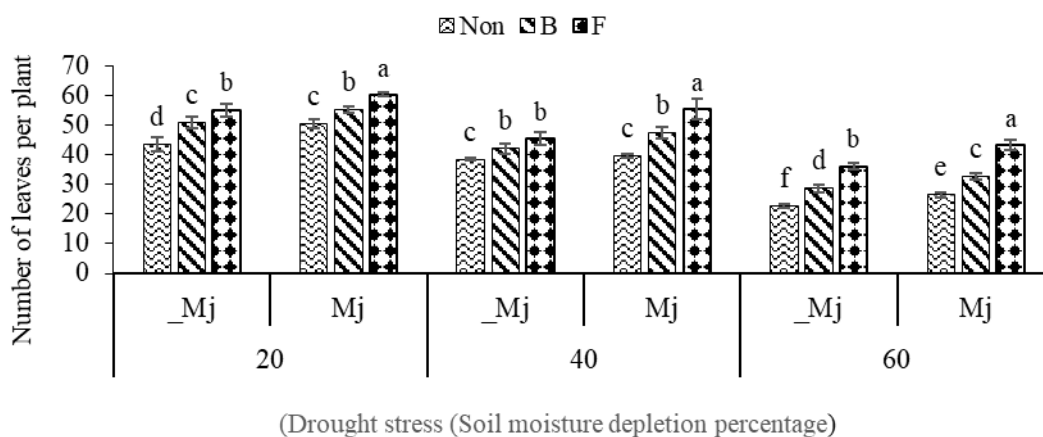
۸۸/۸ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد متیل جاسمونات و کودهای زیستی) افزایش داد (شکل ۲).

تعداد شاخه‌های جانبی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهم‌کنش سه‌گانه کودهای زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی بر تعداد شاخه‌های جانبی در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش سطوح تنش خشکی از تعداد شاخه‌های جانبی کاسته شد.

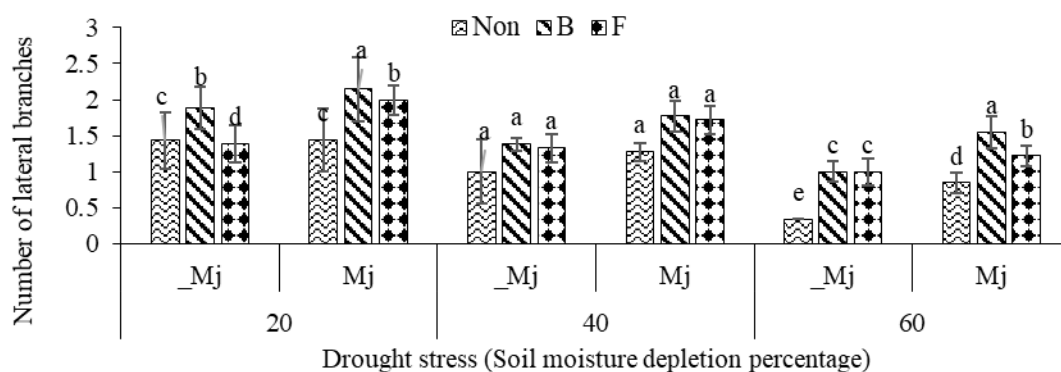
تعداد برگ در بوته

برهم‌کنش سه‌گانه کودهای زیستی، متیل جاسمونات و سطح تنش خشکی در سطح احتمال خطای یک درصد بر تعداد برگ در بوته معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان دادند با افزایش سطوح تنش وارد شده به گیاه استویا از تعداد برگ در بوته کاسته شد و به‌طور کلی کاربرد کودهای زیستی در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد متیل جاسمونات تعداد برگ در بوته را افزایش داد. در سطوح ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی کاربرد متیل جاسمونات همراه با مایکوریزا به ترتیب تعداد برگ را ۳۸/۵، ۴۴/۵ و



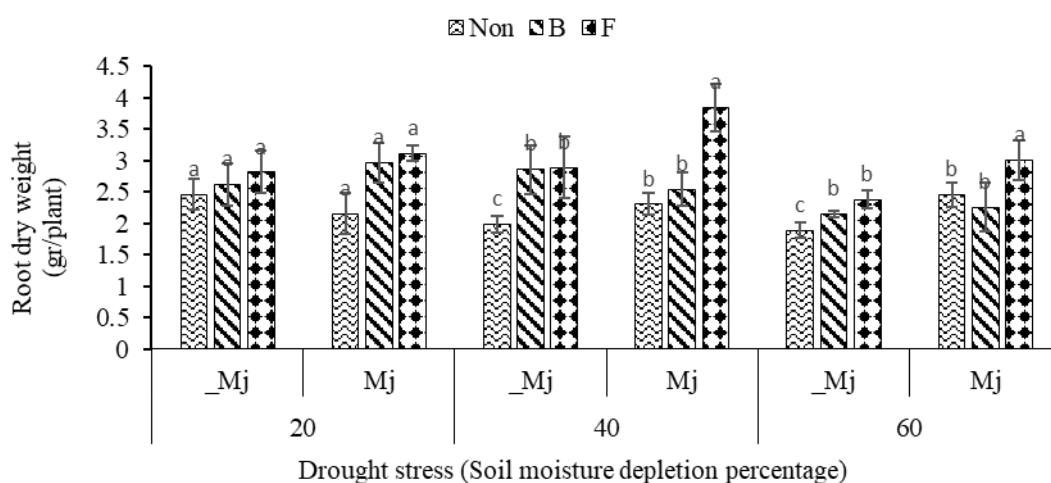
شکل ۲- مقایسه میانگین برهم‌کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای تعداد برگ در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S.Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 2- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for number of leaves per plant in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.



شکل ۳- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای تعداد شاخه جانبی در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 3- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for number of lateral branches in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.



شکل ۴- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای وزن خشک ریشه در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 4- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for root dry weight in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

دارای بیشترین وزن خشک ریشه در بوته با میانگین ۳/۸ گرم بر بوته و تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی همراه با عدم کاربرد متیل جاسمونات کم‌ترین وزن خشک ریشه در بوته با میانگین ۱/۹ گرم بر بوته بود (شکل ۴). در سطح ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی نیز همه تیمارها نسبت به شاهد وزن خشک ریشه را افزایش دادند. بیشترین وزن خشک ریشه در بوته (۳/۰ گرم بر بوته) از تیمار مایکوریزا همراه با کاربرد متیل جاسمونات و کم‌ترین آن (۱/۸ گرم بر بوته) از تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی به همراه عدم کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد.

وزن خشک اندام هوایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد تأثیر سه‌گانه کودهای زیستی، متیل جاسمونات و تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بطور کلی وزن خشک اندام هوایی با تنش ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه، نسبت به سطح ۲۰ درصد تخلیه، کاهش یافت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که در سطح تنش ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی کاربرد کودهای زیستی در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد متیل جاسمونات وزن خشک اندام هوایی در بوته را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند و کاربرد متیل جاسمونات نیز اثر مثبتی بر افزایش وزن خشک بوته در هر سه سطح کود زیستی داشت. بیشترین وزن خشک اندام هوایی در بوته در تیمار عدم کاربرد مایکوریزا همراه با کاربرد عدم متیل جاسمونات با میانگین ۱/۵ گرم بر بوته و کم‌ترین آن با میانگین ۱/۱ گرم

در سطح ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی در تیمار کاربرد باکتری همراه با کاربرد متیل جاسمونات با میانگین ۲/۱ عدد حاصل شد و کم‌ترین آن با میانگین ۱/۳ عدد در تیمار کاربرد مایکوریزا و همراه با عدم کاربرد متیل جاسمونات بود که بین آن‌ها اختلاف ۳۵/۸ درصدی وجود داشت. در سطح ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. در سطح ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی (۱/۵ عدد) از تیمار کاربرد باکتری به همراه متیل جاسمونات و کم‌ترین آن (۰/۳ عدد) از تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی و به همراه عدم کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد (شکل ۳).

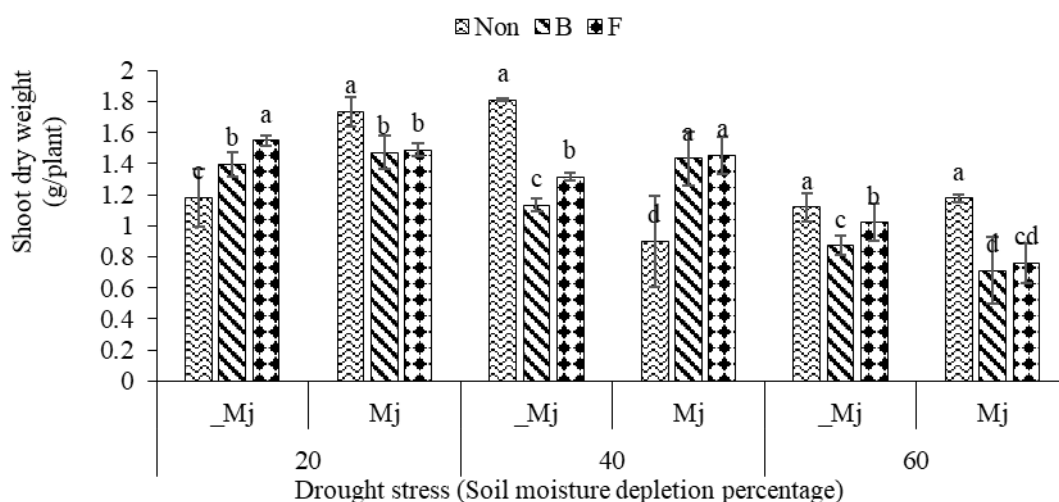
وزن خشک ریشه

جدول تجزیه واریانس بیانگر معنی‌داری برهم‌کنش سه‌گانه کودهای زیستی، متیل جاسمونات و تنش خشکی در سطح احتمال خطای یک درصد بر وزن خشک ریشه در بوته استویا است (جدول ۲). به طور کلی در سطح ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی وزن خشک خشک ریشه نسبت به سطح ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی کاهش یافت. نتایج مقایسه میانگین کودهای زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی نشان دادند در سطح ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی تیمارهای مورد بررسی از نظر آماری در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۴).

در سطح تنش ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی همه تیمارها نسبت به شاهد وزن خشک ریشه را افزایش دادند. اما تیمار کاربرد مایکوریزا و متیل جاسمونات

میانگین حاکی از آن بود که در سطح ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی تیمار کاربرد عدم کاربردهای زیستی به همراه کاربرد متیل جاسمونات دارای بیشترین وزن خشک اندام هوایی در بوته (۱/۱ گرم بر بوته) و تیمار کاربرد باکتری و کاربرد متیل جاسمونات دارای کمترین وزن خشک اندام هوایی در بوته (۰/۷ گرم بر بوته) بود (شکل ۵).

بر بوته در تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی همراه با عدم کاربرد متیل جاسمونات بود (شکل ۵). در سطح ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین وزن خشک اندام هوایی در بوته (۱/۴ گرم بر بوته) از تیمار کاربرد مایکوریزا به همراه کاربرد متیل جاسمونات و کمترین آن (۰/۹ گرم بر بوته) از تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی به همراه کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد (شکل ۵). نتایج مقایسه



شکل ۵- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای وزن خشک اندام هوایی در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 5- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for shoot dry weight in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

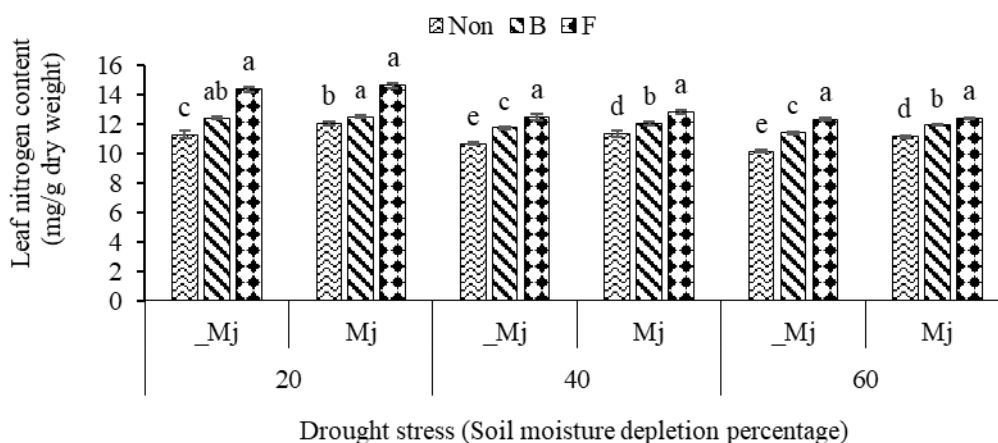
تنش خشکی نشان داد با افزایش تنش وارد شده به گیاه استویا از محتوای نیتروژن برگ کاسته شد و در هر سه سطح تنش خشکی کاربردهای زیستی سبب افزایش محتوای نیتروژن برگ نسبت به تیمار شاهد شد. در شرایط کاربرد متیل جاسمونات تیمارهای عدم کاربرد کود زیستی،

محتوای نیتروژن برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان از معنی داری برهم کنش سه گانه تنش خشکی، کودهای زیستی و متیل جاسمونات بر نیتروژن برگ در سطح احتمال خطای پنج درصد دارد. نتایج مقایسه میانگین تأثیر کودهای زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح

کم‌ترین آن به ترتیب با میانگین‌های ۱۱/۳، ۱۰/۶ و ۱۰/۱ میلی‌گرم بر گرم از تیمار عدم کاربرد کود زیستی و متیل جاسمونات به دست آمد. همچنین تیمار مایکوریزا در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد متیل جاسمونات در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۶).

کاربرد باکتری و مایکوریزا نسبت به شرایط عدم متیل جاسمونات از محتوای نیتروژن بیشتری برخوردار بودند. در هر سه سطح تنش بیشترین محتوای نیتروژن برگ به ترتیب با میانگین‌های ۱۴/۶، ۱۲/۸ و ۱۲/۳ میلی‌گرم بر گرم از تیمار کاربرد همزمان مایکوریزا و متیل جاسمونات و



شکل ۶- مقایسه میانگین برهم‌کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای محتوای نیتروژن برگ در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 6- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for leaf nitrogen content in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

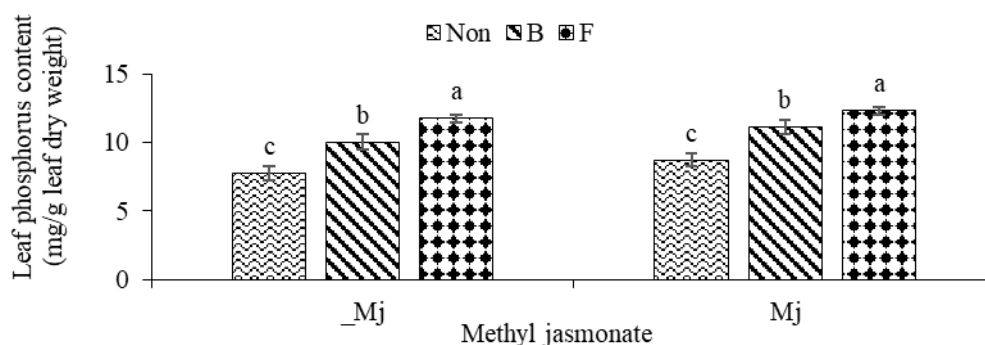
کودهای زیستی در شرایط کاربرد متیل جاسمونات از محتوای فسفر برگ بیشتری برخوردار بود. به طوری که در شرایط کاربرد و عدم کاربرد متیل جاسمونات تیمار مایکوریزا به ترتیب سبب افزایش ۱۳/۲ و ۳۴/۳ درصدی محتوای فسفر برگ نسبت به تیمار عدم کاربرد کود زیستی شد (شکل ۷). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی نیز بیانگر آن بود که محتوای فسفر برگ با افزایش سطوح تنش

محتوای فسفر برگ

نتایج تجزیه واریانس بیانگر معنی‌داری برهم‌کنش کودهای زیستی و متیل جاسمونات در سطح احتمال خطای پنج درصد و تأثیر اصلی تنش خشکی در سطح احتمال خطای یک درصد بر محتوای فسفر برگ بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین سطوح کودهای زیستی در هر سطح متیل جاسمونات حاکی از آن است که به طور کلی هر سه سطح

بر گرم) از تیمار تنشی ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی حاصل شد که با یکدیگر اختلاف ۴۵/۵ درصدی نشان دادند (شکل ۷).

خشکی روند کاهشی داشت. بیشترین محتوای فسفر برگ (۱۲/۶ میلی گرم بر گرم) از تیمار تنشی ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی و کمترین آن (۸/۷ میلی گرم



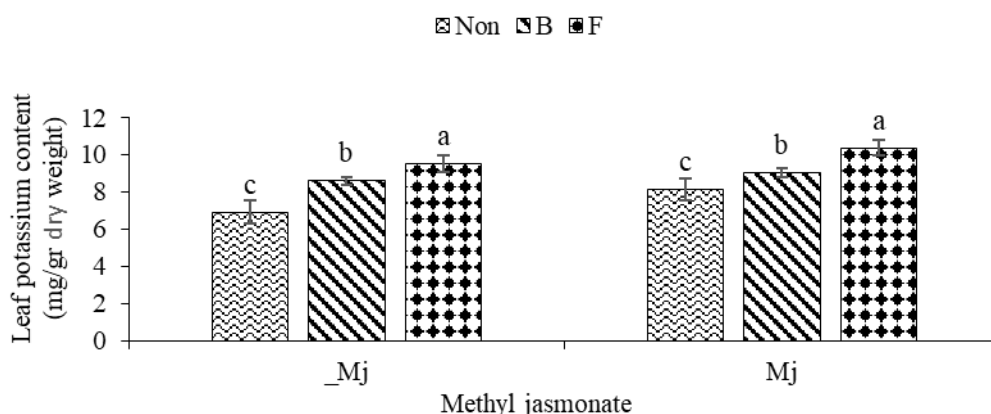
شکل ۷- مقایسه میانگین کود زیستی در هر سطح تنش متیل جاسمونات برای محتوای فسفر برگ در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، -Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 7- Mean comparison of the biofertilizer at each methyl jasmonate levels for leaf phosphorus content in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), -Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

(به ترتیب ۹/۴ و ۱۰/۳ میلی گرم بر گرم) برخوردار بود. در شرایط عدم کاربرد متیل جاسمونات کاربرد مایکوریزا سبب افزایش ۹/۲ و ۲۷/۰ درصدی محتوای پتاسیم برگ به ترتیب نسبت به تیمار کاربرد باکتری و عدم کاربرد کود زیستی شد. در شرایط کاربرد متیل جاسمونات نیز مایکوریزا سبب افزایش ۱۲/۹ و ۲۱/۶ درصدی محتوای پتاسیم برگ به ترتیب نسبت به تیمار کاربرد باکتری و عدم کاربرد کود زیستی شد (شکل ۸).

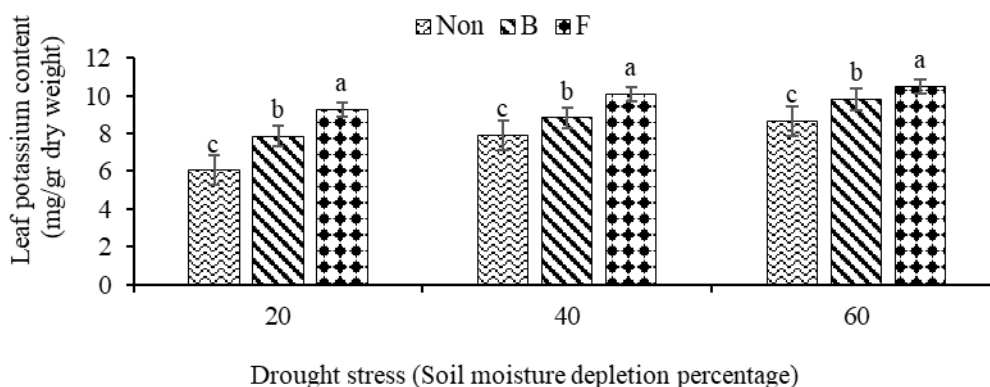
محتوای پتاسیم برگ

برهم‌کنش کود زیستی و متیل جاسمونات و نیز برهم‌کنش تنش خشکی و متیل جاسمونات به ترتیب در سطح احتمال خطای پنج و یک درصد بر محتوای پتاسیم برگ معنی دار شد (جدول ۲). نتایج نشان داد به‌طور کلی کاربرد متیل جاسمونات منجر به افزایش محتوای پتاسیم برگ شد. در هر دو سطح عدم کاربرد و کاربرد متیل جاسمونات کاربرد مایکوریزا از بیشترین محتوای پتاسیم برگ



شکل ۸- مقایسه میانگین کدو زیستی در هر سطح متیل جاسمونات برای محتوای پتاسیم برگ در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 8- Mean comparison of the biofertilizer at each methyl jasmonate levels for leaf potassium content in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.



شکل ۹- مقایسه میانگین کدو زیستی در هر سطح تنش خشکی برای محتوای پتاسیم برگ در گیاه استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا). در هر سطح متیل جاسمونات حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 9- Mean comparison of the biofertilizer at each drought stress levels for leaf potassium content in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza). At each level of methyl jasmonate, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

۶۴/۳ درصدی محتوای قندهای محلول برگ نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد متیل جاسمونات و کودهای زیستی) شد. در این سطح از تنش اختلاف معنی داری بین تیمارهای کاربرد باکتری در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد متیل جاسمونات و همچنین عدم کاربرد کودهای زیستی در شرایط کاربرد و عدم کاربرد متیل جاسمونات مشاهده نشد (شکل ۱۰).

در سطح تنش خشکی ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین محتوای قندهای محلول برگ (۱۶/۲ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) از تیمار کاربرد میکوریزا به همراه متیل جاسمونات و کمترین آن (۱۱/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) از تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی به همراه عدم کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد. در سطح تنش ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی تمامی تیمارها نسبت به شاهد (عدم کاربرد کودهای زیستی و متیل جاسمونات) افزایش یافتند. نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن بود که در سطح تنش خشکی ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی تیمار میکوریزا به همراه کاربرد متیل جاسمونات دارای بیشترین محتوای قندهای محلول برگ (۱۸/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی و عدم کاربرد متیل جاسمونات دارای کمترین محتوای قندهای محلول برگ (۱۳/۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) بود که با تیمار عدم کاربرد کودهای زیستی + کاربرد متیل جاسمونات در یک گروه آماری قرار گرفتند و مابقی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشتند (شکل ۱۰).

مقایسه میانگین سطوح کودهای زیستی در هر سطح از تنش خشکی حاکی از آن است که بطور کلی با افزایش سطوح تنش خشکی محتوای پتاسیم برگ افزایش یافت. بیشترین محتوای پتاسیم برگ در سطوح تنشی ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد از تخلیه رطوبتی به ترتیب با میانگین‌های ۹/۲، ۱۰/۰ و ۱۰/۴ میلی گرم بر گرم در شرایط کاربرد میکوریزا و کمترین آن به ترتیب با میانگین‌های ۶/۰، ۷/۹ و ۸/۶ میلی گرم بر گرم از تیمار شاهد (عدم کاربرد کودهای زیستی) به دست آمد که به ترتیب اختلاف کاربرد باکتری نیز در هر سه سطح تنش پس از تیمار میکوریزا قرار گرفت و اختلاف معنی داری با سایر تیمارهای کودی نشان داد (شکل ۹).

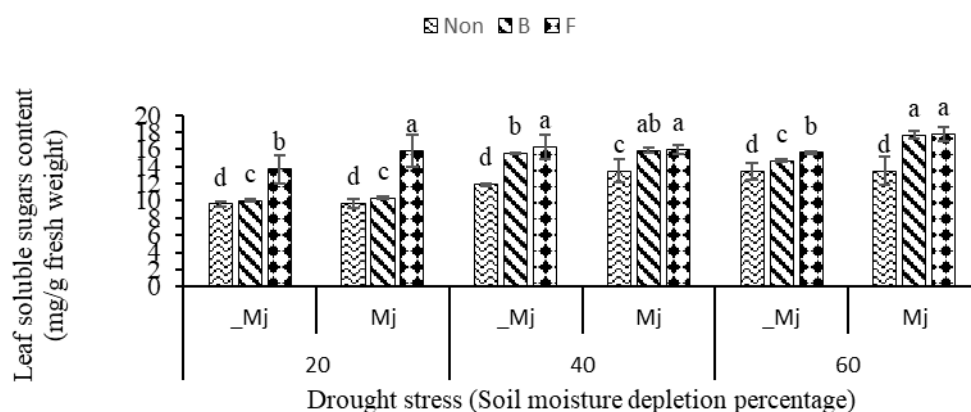
محتوای قندهای محلول برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهم کنش سه گانه تنش خشکی، کودهای زیستی و متیل جاسمونات بر محتوای قندهای محلول برگ در سطح احتمال خطای یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). همچنین نتایج نشان دادند با افزایش سطوح تنش خشکی به محتوای قندهای محلول برگ افزوده شد و کاربرد متیل جاسمونات و نیز کودهای زیستی نسبت به عدم کاربرد متیل جاسمونات و عدم کاربرد کودهای زیستی محتوای قندهای محلول برگ را افزایش داد. به طوری که در سطح تنش ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین محتوای قندهای محلول برگ در تیمار کاربرد میکوریزا همراه با کاربرد متیل جاسمونات با میانگین ۱۵/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ حاصل شد که سبب افزایش

فعالیت آنزیم کاتالاز

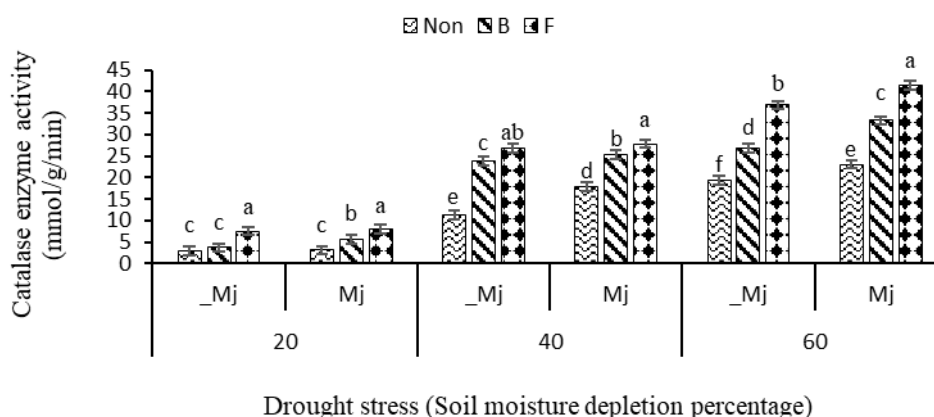
نتایج تجزیه واریانس نشان دادند برهم کنش سه گانه تنش خشکی، کودهای زیستی و متیل جاسمونات در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که فعالیت آنزیم کاتالاز همراه با افزایش سطوح تنش خشکی افزایش یافت و کاربرد کودهای زیستی و متیل جاسمونات نیز این روند افزایشی را تسریع کرد.

سطوح تنشی ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب با میانگین‌های ۷/۹، ۲۷/۸ و ۴۱/۵ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد مایکوریزا به همراه متیل جاسمونات و کم‌ترین آن نیز به ترتیب با میانگین‌های ۳/۰، ۱۱/۳ و ۱۹/۳ از تیمار شاهد+ عدم کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد (شکل ۱۱).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای محتوای قندهای محلول برگ در استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S.Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 10- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for leaf soluble sugars in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.



شکل ۱۱- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای فعالیت آنزیم کاتالاز در استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 11- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for catalase enzyme activity in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

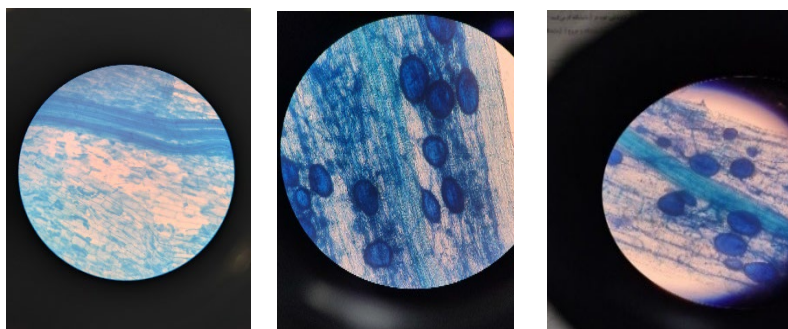
مایکوریزا و کم‌ترین آن نیز با میانگین (۲۳/۳۳)

درصد از تیمار عدم کاربرد کود زیستی و متیل جاسمونات به دست آمد. همچنین مشاهده شد در شرایط کاربرد متیل جاسمونات بین تیمارهای عدم کاربرد کودهای زیستی و کاربرد باکتری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱۳).

در سطح تنش خشکی ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی با کاربرد متیل جاسمونات تیمارهای عدم کاربرد کود زیستی و کاربرد باکتری نسبت به تیمار شاهد از درصد کلونیزاسیون کم‌تری برخوردار بودند. هرچند در شرایط عدم کاربرد متیل جاسمونات تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و باکتری وجود نداشت.

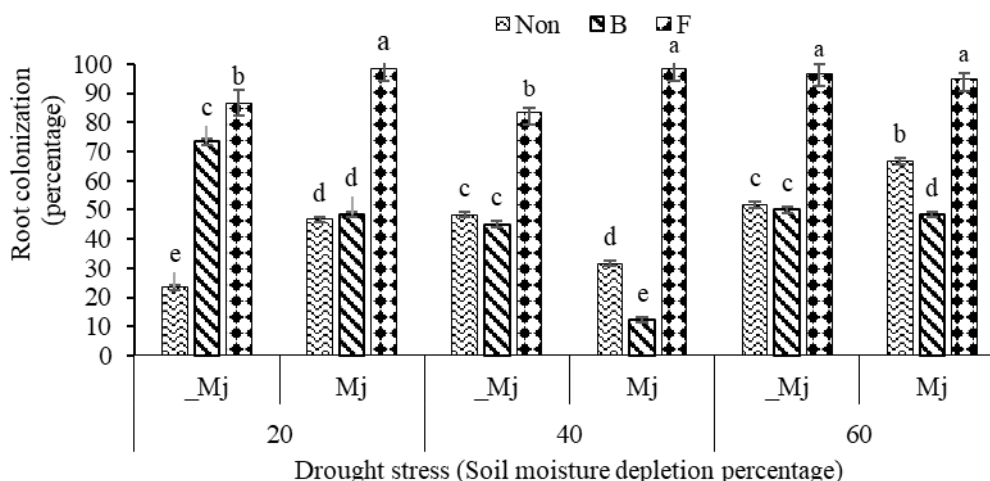
درصد کلونیزاسیون ریشه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد برهم کنش سه گانه تنش خشکی، کودهای زیستی و متیل جاسمونات بر درصد کلونیزاسیون ریشه در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد تنش خشکی سبب افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه استویا شد. در سطح تنش خشکی ۲۰ درصد تخلیه رطوبتی درصد کلونیزاسیون ریشه در سایر تیمارها نسبت به شاهد (عدم کاربرد کود زیستی و عدم کاربرد متیل جاسمونات) افزایش یافت. به‌طوری که بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه با میانگین (۹۸/۳۳) درصد از تیمار کاربرد همزمان متیل جاسمونات و



شکل ۱۲- اندام‌های برون و درون ریشه‌ای قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار مشاهده شده در گیاه استویا

Figure 12- Extra- and intra-root organs of arbuscular mycorrhizal fungi observed in *Stevia* plant root.



شکل ۱۳- مقایسه میانگین برهم کنش کود زیستی و متیل جاسمونات در هر سطح تنش خشکی برای درصد کلونیزاسیون ریشه در استویا. Non (عدم کاربرد کود زیستی)، B (باکتری)، F (مایکوریزا)، Mj (متیل جاسمونات)، _Mj (عدم کاربرد متیل جاسمونات). در هر سطح متیل جاسمونات و تنش خشکی حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر اساس رویه L.S. Means است. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 13- Mean comparison of the interaction of biofertilizer and methyl jasmonate at each drought stress level for root colonization percentage in *Stevia*. Non (non-use of biological fertilizer), B (bacteria), F (mycorrhiza), Mj (methyl jasmonate), _Mj (non-use of methyl jasmonate). At each level of methyl jasmonate and drought stress, at least one common letter indicates no statistical difference between the means at the five percent probability level based on the L.S. Means procedure. Bars indicate standard error.

درصد تخلیه رطوبتی سایر تیمارها به استثنای تیمار کاربرد متیل جاسمونات+ کاربرد باکتری نسبت به تیمار شاهد از درصد کلونیزاسیون بیشتری برخوردار بودند. همچنین تیمارهای شاهد و عدم کاربرد متیل جاسمونات+ باکتری در یک گروه

در این سطح تنش، بیشترین درصد کلونیزاسیون (۹۸/۳ درصد) از تیمار کاربرد مایکوریزا به همراه متیل جاسمونات و کم‌ترین آن نیز (۱۲/۳ درصد) از تیمار کاربرد باکتری به همراه کاربرد متیل جاسمونات حاصل شد. در سطح تنش خشکی ۶۰

خشک و محتوای اسانس نیز افزایش یافت و همچنین گیاهان میکوریزی درصد کلونیزاسیون بیش تری نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی ایجاد کردند.

باکتری‌های محرک رشد با سازوکارهایی شامل تولید تنظیم‌کننده‌های رشد، ممکن است سبب افزایش جوانه‌زنی اسپور قارچ، رشد میسلیوم، انشعابات و درصد کلونیزاسیون ریشه شوند (Arjani et al., 2020). افزایش پذیرش میکوریزا توسط سلول‌های ریشه‌های کلونیزه شده با باکتری، افزایش طول لوله تندش اسپورهای جوانه‌زده، جهت‌دهی به حرکت لوله تندش به سمت ریشه‌های کلونیزه شده با باکتری بر اساس مواد مترشحه از ریشه انجام می‌پذیرد و کاربرد همزمان قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری‌های محرک رشد گیاه، یکی از راهبردهای مؤثر بر افزایش تأثیر هر دو عامل است (Attarzadeh et al., 2019). Ghorchiani و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند گیاه ذرت (*Zea mays*) در تیمار تنش خشکی و استفاده از ریزموجودات حل‌کننده فسفات از جمله قارچ میکوریزا و باکتری ریزوسفری محرک رشد توانست درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به تیمار آبیاری شاهد و عدم استفاده از ریز موجودات حل‌کننده فسفات به طور معنی‌داری افزایش دهد. در پژوهش حاضر، ابتدا با افزایش سطوح تنش خشکی از ۲۰ به ۴۰ درصد تخلیه رطوبتی درصد کلونیزاسیون ریشه افزایش و سپس با افزایش تنش خشکی از ۴۰ به ۶۰ درصد تخلیه رطوبتی میزان آن ثابت ماند که احتمالاً علت آن افزایش سهم کربنی گیاه برای قارچ در سطح تنش ۴۰ و ۶۰ درصد

آماری قرار گرفتند. تیمار کاربرد میکوریزا به همراه عدم کاربرد متیل جاسمونات دارای بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه (۹۶/۶ درصد) بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار کاربرد میکوریزا به همراه کاربرد متیل جاسمونات نشان نداد و تیمار کاربرد باکتری و متیل جاسمونات دارای کم‌ترین درصد کلونیزاسیون ریشه (۴۸/۳ درصد) بود (شکل ۱۲). با وجود استریل شدن خاک گلدان مشاهده حدود ۲۰ درصد کلونیزاسیون در تیمار شاهد می‌تواند به علت آلودگی احتمالی بستر نشاهای خریداری شده در محل تولید باشد.

بحث

کلونیزاسیون ریشه تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی قرار می‌گیرد. گیاه زمانی که تحت شرایط تنش خشکی قرار دارد، سهم کربنی را که در اختیار قارچ می‌گذارد، افزایش می‌دهد و این شرایط در بیشتر مواقع سبب افزایش کلونیزاسیون ریشه می‌شود. در این پژوهش کاهش معنی‌دار درصد کلونیزاسیون در برخی از تیمارها با افزایش سطوح تنشی احتمالاً به علت کاهش در تندش و رشد هیف است. مرحله مهم‌تر پس از تندش اسپور رشد هیف حاصل از تندش است که نقش اساسی در کلونیزاسیون ریشه ایفا می‌کند. به ظاهر رشد هیف بیشتر از تندش اسپور تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد (Khandan-Mirkohi et al., 2016). در آزمایشی Gupta و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که در اثر تلفیح با قارچ میکوریزا، کلونیزاسیون ریشه نعناع (*Mentha*) بهبود یافته و در نتیجه ویژگی‌های رشدی گیاه، عملکرد ماده‌ی

کاهش می‌دهد. دوره‌های خشکی می‌تواند مستقیماً بر جذب نیتروژن تأثیر بگذارد و کارایی مصرف نیتروژن ممکن است به علت تنش آبی در مراحل اولیه رشد تحت تأثیر قرار گیرد و این کاهش جذب نیتروژن می‌تواند نتیجه کاهش انتقال نیتروژن از ریشه به اندام هوایی و نرخ تعرق پائین باشد (Sanchez-Rodriguez et al., 2011). Attarzadeh و همکاران (۲۰۱۹) گزارش دادند که در شرایط تنش خشکی مقدار جذب نیتروژن در سر خارگل (*Echinacea angustifolia*) حتی با وجود نیتروژن کافی در خاک کاهش یافت که این نتیجه در آزمایش حاضر نیز مشاهده شد.

گزارش شده است که تنش خشکی با کاهش رشد ریشه و انتقال عناصر غذایی به ریشه سبب کاهش جذب عنصر فسفر می‌شود (Ortiz et al., 2015). علت این امر می‌تواند کاهش جذب عناصر و کاهش انتقال عناصر از ریشه به اندام هوایی در شرایط خشکی باشد. همچنین به این علت که فسفر به ذرات رس در خاک چسبیده است سرعت انتشار کمتری از خاک به سطح ریشه دارد. در گزارش دیگری نیز آمده است که افزایش تنش خشکی منجر به کاهش مقدار فسفر در گیاه می‌شود (Auge et al., 2015).

در آزمایشی بر گیاه دارویی سرخارگل مشخص شد که افزایش تنش افزایش غلظت پتاسیم برگ را به دنبال دارد که علت آن می‌تواند نقش مهم پتاسیم در تنظیم اسمزی، تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها و پایداری غشاء تحت تنش خشکی باشد (Jalil Sheshbahreh et al., 2018).

تخلیه رطوبتی است. همچنین با کاربرد مایکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفر افزایش کلونیزاسیون ریشه را می‌توان به ایجاد تغییرات ریخت شناسی در ریشه گیاهان نسبت داد که منجر به افزایش سطح ریشه می‌شود. بنابراین ریشه‌ها ساختاری را برای حمایت گیاهان و افزایش کارایی جذب آب و عناصر غذایی معدنی برای گیاه میزبان و دامنه وسیعی از ریزوموجودات خاک فراهم می‌کنند (Aliabadi Farahani & Valadabadi, 2010).

پژوهشگران نتایج متفاوتی از تأثیر کاربرد متیل جاسمونات بر کلونیزاسیون گزارش کرده‌اند. این نتایج گزارش شده تا حدود زیادی بستگی به زمان، فراوانی کاربرد، غلظت فیتوهورمون، گونه گیاهی و گونه قارچی دارد و همچنین تنوع در روش‌های به کار رفته می‌تواند علت نتایج متفاوت به دست آمده باشد. نتایج پژوهش Tejada-Sartorius و همکاران (۲۰۰۸) بیانگر آن است که یکی از سازوکارهای احتمالی جاسمونات‌ها برای تنظیم رابطه همزیستی، تنظیم تخصیص کربن در بخش‌های مختلف گیاه است و افزایش کلونیزاسیون قابل توجه در گیاهان مایکوریزی در اثر کاربرد متیل جاسمونات را علت نقش این هورمون به عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت همزیستی دانسته‌اند.

به نظر می‌رسد تنش خشکی با کاهش معدنی شدن نیتروژن خاک منجر به کاهش فراهمی نیتروژن برای گیاه می‌شود. تنش خشکی با کاهش تعرق، سامانه انتقال فعال، نفوذپذیری غشاء و قدرت جذب‌کنندگی ریشه گیاه، سرعت انتشار مواد غذایی از محیط خاک به سطح جذب‌کننده ریشه را

انتقال نیتروژن با استفاده از تیمار متیل جاسمونات تحت تنش کم آبی است.

یکی از راهکارهای مهم برای افزایش فراهمی فسفر خاک یا افزایش جذب آن توسط ریشه گیاه، ایجاد زندگی همزیستی با قارچ مایکوریزا در گیاهان زراعی است. همزیستی مایکوریزا در ریزوسفر گیاهان زراعی با تشکیل ریشه قارچ سبب افزایش سطح تماس و قدرت جذب ریشه گیاه و در نتیجه بهبود جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر می شود و به دنبال آن رشد گیاه در شرایط تنش خشکی افزایش می یابد (Wang et al., 2019). در پژوهشی Abbaszadeh & Zakerian (2016) بر گیاه بادرنجبویه مشخص نمودند با کاربرد قارچ مایکوریزا آربوسکولار (*Glomus mosseae*) و *Glomus intraradices* نسبت به عدم کاربرد، میزان فسفر در گیاه ۵۳ درصد افزایش یافت.

باکتری های حل کننده فسفات می توانند قابلیت دسترسی به عناصر غذایی را برای گیاهان افزایش دهند (Kostic et al., 2017). افزایش میزان جذب عناصر غذایی توسط بوته ها در اثر کاربرد باکتری های حل کننده اثبات شده است. آزمایش ها نشان دادند تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه مهم ترین سازوکار تأثیرگذار باکتری حل کننده فسفر بر رشد و ریخت شناسی ریشه محسوب می شود که به صورت افزایش سطح ریشه گیاه میزبان بروز می کند و در نتیجه افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و آب از خاک و رشد بیشتر گیاه ناشی از آن می باشد که این امر به علت افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه است. در پژوهش دیگری مشخص شد استفاده از باکتری های

کودهای زیستی غالباً حاوی غلظت های مختلف از باکتری های ازتوباکتر، آزوسپیریلوم و باکتری های محرک رشد هستند که سبب جذب نیتروژن خاک توسط گیاه می شود و با بهبود مواد آلی و فعالیت زیستی خاک و عرضه عناصر غذایی، موجب بهبود جوانه زنی و رشد گیاه زراعی می شود (Gomaa, 2013). افزودن کود مایکوریزا مقدار نیتروژن برگ را به طور معنی داری افزایش می دهد. افزایش نیتروژن در گیاهان تلقیح شده با مایکوریزا ممکن است به علت جذب بهتر فسفر در این گیاهان باشد. بنابراین افزایش دسترسی به فسفر می تواند سبب افزایش جذب سایر عناصر از جمله نیتروژن شود (Attarzadeh et al., 2019). همچنین پژوهشگران گزارش کردند قارچ مایکوریزا با تأثیر بر فعالیت های آنزیم های کلیدی موثر در احیاء نترات مانند نترات ردوکتاز، گلوتامین سنتتاز و گلوتامات سنتتاز سبب افزایش جذب نیتروژن در ریشه می شود (Makarov, 2019).

به نظر می رسد متیل جاسمونات با تأثیری که بر فرآیندهای فیزیولوژیکی دارد به طور غیرمستقیم جذب نیتروژن و انتقال آن به اندام هوایی را تحت تأثیر قرار می دهد. Abdelgawad و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند پیش تیمار گیاه ذرت با متیل جاسمونات منجر به افزایش نیتروژن در شرایط بدون تنش و یا در سطوح متفاوت تنش کم آبی شد که نتایج پژوهش حاضر با نتایج این پژوهشگران مطابقت دارد. نتایج به دست آمده از بررسی Asensio و همکاران (۲۰۱۲) نشان دهنده ظرفیت بیشتر گیاهان یونجه (*Medicago sativa*) تلقیح شد نسبت به گیاهان یونجه تلقیح نشده برای جذب و

قارچ‌های مایکوریزا در تنش خشکی، سبب افزایش میزان پتاسیم در ریشه می‌شود.

نتایج پژوهش‌ها نشان داد باکتری *Bacillus subtilis* در افزایش پتاسیم قابل استفاده از خاک و همچنین بهبود همزیستی مایکوریزایی تاثیرگذار است. همین امر موجب گسترش و نفوذ مطلوب هیف‌های خارجی قارچ به منافذ باریک خاک شده و منجر به افزایش حجم خاک قابل دسترس شده و به دنبال آن جذب عنصر پتاسیم که در لایه‌های پائین‌تر خاک قرار دارد، افزایش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد باکتری *Bacillus subtilis* با تجزیه سیلیکات‌ها و انحلال کانی‌ها سبب آزادسازی پتاسیم و به تبع آن سبب افزایش میزان پتاسیم اندام هوایی در شرایط تنش خشکی می‌شود (Kostic et al., 2017). در گیاه گشنیز، غلظت پتاسیم دانه در تلقیح با مایکوریزا و کود فسفات زیستی در مقایسه با تیمار عدم تلقیح حدود ۹۶ درصد افزایش یافت که در اینجا یک اثر تقویت‌کننده در تیمار تلقیح با مایکوریزا و کود زیستی به طرز محسوسی مشاهده می‌شود (Bastami & Majidian, 2016).

تنظیم اسمزی به‌عنوان جزء مهمی از سازوکارهای تحمل به خشکی در گیاهان مطرح است. گیاهان در شرایط متفاوت محیطی، اسمولیت‌ها (مواد محلول سازگار) را، که مواد محلول با وزن مولکولی کم هستند، انباشته می‌کنند (Farsi et al., 2016). تنش خشکی بر فرآیند فتوسنتز در گیاهان تأثیر مهمی دارد و منجر به کاهش انتقال سری الکترون‌ها شده و تشکیل مواد اولیه فتوسنتز را تغییر داده و بر میزان کربوهیدرات‌های گیاهان مؤثر است. در شرایط تنش خشکی کربوهیدرات‌های مرکب به

حل‌کننده فسفات مقدار فسفر قابل دسترس خاک و نیز مقدار جذب فسفر در برگ را افزایش داد. در این پژوهش که بر چهار جنس مختلف باکتری‌های حل‌کننده فسفات انجام شده بود جنس سودوموناس بالاترین مقدار فسفر خاک و جذب این عنصر در آلوئه‌ورا (*Aloe vera*) را سبب شد (Gupta et al., 2002). Asensio و همکاران (۲۰۱۲) برهم‌کنش تنش خشکی و متیل جاسمونات با همزیستی مایکوریزا را در گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) بررسی و مشاهده کردند تولید ایزوپروپونوئیدهای ضروری یکی از متابولیت‌های گیاهی که در پاسخ دفاعی گیاه به تنش نقش دارد و محتوای فسفر در بخش هوایی گیاهان تلقیح‌شده با قارچ مایکوریزا و تحت تیمار متیل جاسمونات افزایش معنی‌داری داشت.

Cardarelli و همکاران (۲۰۱۳) نیز بیان کردند که کودهای زیستی می‌توانند مقدار عنصر پتاسیم را در برگ گیاه آلوئه‌ورا افزایش دهد و افزایش مقدار کوددهی منجر به افزایش بیشتر این عنصر خواهد شد. همچنین تلقیح مایکوریزا سبب افزایش مقدار پتاسیم در برگ‌های این گیاه می‌شود. کودهای زیستی با توجه به اینکه که سبب کاهش pH خاک می‌شوند، اسیدی شدن خاک و به دنبال آن افزایش مواد آلی خاک را سبب می‌شوند که در نتیجه دسترسی به عناصری مانند پتاسیم را برای گیاه افزایش می‌دهند (Nazarli et al., 2014). گاهی اوقات رابطه همزیستی مایکوریزا با اجتناب از خشکی، گیاهان را در مقابل تنش حفظ می‌کند و این کار را با افزایش جذب عناصر ضروری برای رشد و توسعه گیاه انجام می‌دهد. تأثیر مثبت حضور

در بین تنش‌ها بیشترین آسیب در گیاهان مربوط به تنش خشکی بوده که با آسیب اکسیداتیو در سطح سلول همراه است. آنزیم کاتالاز دارای خاصیت پاداکسندگی برای فعال شدن بسیاری از پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌ها بوده که همراه با آنزیم‌های دیگر فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد را انجام می‌دهد. کاتالاز برای برخی از انواع سلول‌ها تحت شرایط طبیعی الزامی بوده و نقش مهمی در کسب مقاومت در برابر تنش اکسایشی در واکنش‌های تطبیقی سلول‌ها دارد (Farsi et al., 2016). پژوهش حاضر نشان داد تلقیح گیاه استویا با کودهای زیستی قارچ مایکوریزا و باکتری *Bacillus subtilis* سبب تعدیل تأثیر سوء ناشی از تنش خشکی شد. بالاتر بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز در گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی نسبت به گیاهان تلقیح نشده تأییدی بر این مدعاست. تلقیح ریز جانداران مفید خاکزی در پاسخ گیاه به تنش خشکی با تنظیم واکنش‌های اکسیداتیو و القا دفاع آنتی‌اکسیدانی در ارتباط است (Koussevitzky et al., 2008). در شرایط تنش خشکی، لازم است که سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در یک شکل هماهنگ و نظام‌مند برای مهار و دفاع از گیاه عمل نمایند. به‌طور کلی، بالاترین سطح از این فعالیت‌ها ممکن است در نتیجه افزایش آسیب سلولی صورت گرفته باشد. متیل جاسمونات با افزایش فنل‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده و از این روش منجر به افزایش انسجام غشاء در برابر تنش‌ها می‌شود. در بررسی‌های انجام شده مشخص شده است که فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تیمار با متیل جاسمونات در گیاه آراییدوپسیس

کربوهیدرات‌های ساده تجزیه می‌شوند، بنابراین میزان قندهای محلول افزایش می‌یابد (Soleimani & Pirzad, 2014).

در پژوهش حاضر با توجه به اینکه محتوای عناصر غذایی مانند نیتروژن (شکل ۶) با کاربرد کودهای زیستی افزایش یافت، نقش مؤثر این عناصر در ساخت ترکیبات ضروری سلول نظیر پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها، افزایش قند محلول برگ در نتیجه کاربرد کود زیستی باکتریایی و مایکوریزا دور از انتظار نبود. در پژوهشی بر روی به‌لیمو، مصرف کودهای زیستی فسفره در شرایط تنش خشکی به علت تخریب پروتئین‌ها سبب انباشت قندهای محلول برگ در جهت تنظیم اسمزی گیاه شد (Zare et al., 2018).

Wu و همکاران (۲۰۱۲) عدم تفاوت در تولید قندهای محلول در گیاهچه‌های گل کلم (*Brassica oleracea var. botrytis*) تیمار شده با متیل جاسمونات تحت شرایط بدون تنش رطوبتی را در مقایسه با شاهد بدون کاربرد این تیمار نشان‌دهنده عدم القاء تنش خشکی در اثر کاربرد متیل جاسمونات دانسته‌اند. همچنین آنان افزایش قابل توجه قندهای محلول در گیاهچه‌های تیمار شده با متیل جاسمونات تحت تنش آبی را گزارش کرده‌اند. نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان‌دهنده کاهش آسیب ناشی از تنش خشکی با کاربرد متیل جاسمونات می‌باشد زیرا انباشت قندهای محلول موجب کاهش پتانسیل اسمزی سلولی شده و منجر به جذب آب، حفظ فشار تورگر و تعادل اسمزی می‌شود.

پدیده محیطی دارد. در واقع با پیشرفت تنش خشکی همچنان که فتوسنتز برگ کاهش پیدا می‌کند، احتیاجات قندی برای تنظیم اسمزی در گیاهان زیاد می‌شود و به دنبال آن رشد ریشه کم می‌شود و در نهایت رشد ریشه به طور اجتناب ناپذیری متوقف می‌شود. گیاه هنگام مواجه شدن با تنش خشکی برای بالا بردن توانایی جذب ریشه ماده خشک بیشتری را به سامانه ریشه اختصاص می‌دهد (Michele et al., 2009).

با بررسی تنش خشکی بر نخود (*Cicer arietinum*) گزارش کردند با افزایش تنش خشکی میزان وزن خشک ریشه کاهش پیدا کرد. با افزایش تنش خشکی نشت یونی نیز افزایش می‌یابد که این سبب کاهش در رشد ریشه در نهایت منجر به اعمال تنش شدید بر گیاه و آسیب دیدن گیاه می‌شود (Nasr Esfahani, 2011).

در این پژوهش، تلفیق کود زیستی مایکوریزا و باکتری سبب بهبود جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن (شکل ۶) و فسفر (شکل ۷) شده، بنابراین افزایش ارتفاع بوته استویا در اثر استفاده از کودهای زیستی تأییدی بر این ادعا است. در پژوهش دیگری گزارش شده است نیتروژن با تأثیر بر فرایند فتوسنتز و تقسیم سلولی سبب ازدیاد رشد رویشی و سطح سبز و ارتفاع گیاه می‌شود (Saikia et al., 2010). در پژوهش حاضر، کودهای زیستی در افزایش شاخص‌های رویشی گیاه در شرایط تنش خشکی مؤثر بود، به طوری که بیش‌ترین طول بوته، تعداد شاخه فرعی، وزن خشک ساقه و طول و وزن خشک ریشه در تلقیح گیاه استویا با کودهای زیستی به دست آمد و کم‌ترین مقدار برای این

(*Arabidopsis thaliana*) (Jung, 2004) و کلزا (*Brassica napus*) (Comparot et al., 2002)، افزایش پیدا کرده است.

رشد و ارتفاع بوته به شرایط محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند وابسته است. یکی از این شرایط، فراهم بودن آب کافی برای گیاه است. در صورت عدم تأمین آب مورد نیاز گیاه، فشار تورژسانس سلول‌ها کاهش می‌یابد و با تأثیر بر طول سلول‌ها، کاهش ارتفاع رخ می‌دهد. کاهش ارتفاع بوته آفتابگردان در شرایط تنش خشکی با کاهش رشد گیاه، گزارش است (Heidari & Karami, 2013; Yadollahi et al., 2014). اما در پژوهش حاضر ارتفاع بوته‌ها از تنش زیاد متأثر نشد که علت آن می‌تواند مقاومت به تنش در این مدت زمان کوتاه کاربرد تنش در این گیاه چندساله باشد.

به نظر می‌رسد که خشکی روی تشکیل سلول‌های اولیه برگ و تمایز آن‌ها تأثیر گذاشته و سبب کاهش تعداد برگ می‌شود. کاهش تعداد برگ در اثر افزایش تنش خشکی سبب کاهش اتلاف آب و تعرق و متعاقب آن افزایش مقاومت گیاهان در برابر خشکی می‌شود. ریزش و متعاقب آن کاهش تعداد برگ در شرایط تنش خشکی یک سازش ریخت‌شناسی و عاملی برای انتشار مجدد مواد غذایی در گیاه است (Lobato et al., 2008).

کاهش معنی‌دار تعداد شاخه جانبی، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی در نتیجه وزن خشک کل در اثر تنش خشکی، دلالت بر تحت تأثیر قرار گرفتن همه اندام‌های گیاه، همچنین ریشه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزاء گیاه در اثر این

نیتروژن و فسفر (شکل های ۶ و ۷) و نقش این عناصر در رشد و توسعه گیاه، تعداد شاخه‌های جانبی افزایش یافته است. لازم به ذکر است که کودهای زیستی، سبب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش نیز می‌شود (Saravanakumar et al., 2011).

تأثیر متیل جاسمونات به عواملی نظیر گونه، مرحله نموی گیاه، نحوه اعمال تیمار و غلظت آن وابسته است، متیل جاسمونات در غلظت‌های بالاتر وضعیت اکسایشی گیاه را بیش از حد توان گیاه تحت تأثیر قرار می‌دهد و در نهایت منجر به مرگ گیاه می‌شود. نتایج پژوهش حاضر همسو با نتایجی است که نشان داد متیل جاسمونات سبب افزایش شاخص‌های رشدی و محتوای کلروفیل می‌شود. این افزایش ممکن است به جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های کلروفیل اکسیداز مرتبط باشد که مانع تجزیه کلروفیل شده و از این طریق سبب افزایش فتوسنتز می‌شوند و در نهایت منجر به افزایش شاخص‌های رشدی گیاه می‌شود (Schaller et al., 2005).

نتایج پژوهش دیگری نشان داد تنش خشکی سبب کاهش تعداد برگ، ارتفاع بوته، وزن تر بوته، طول ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی و در نتیجه وزن خشک کل و وزن تر ریشه در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*) شد (Ghaidi et al., 2014). همچنین در شرایط تنش غلظت‌های پائین متیل جاسمونات (۵ و ۱۰ میکرومولار) تأثیر منفی تنش را کاهش دادند و سبب افزایش فاکتورهای فوق در گیاهان تحت تنش کم آبی شدند. افزایش وزن خشک اندام

صفات در تیمار شاهد (بدون کودهای زیستی) حاصل شد. این مطالب گویای این امر است که با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی، صفات رویشی گیاهان بهبود می‌یابد. کودهای زیستی سبب افزایش معنادار ارتفاع بوته و تعداد برگ در ساقه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) نسبت به تیمار شاهد می‌شوند که می‌تواند ناشی از افزایش جذب نیتروژن است (Saikia et al., 2010).

Suliman & Bajwa (2010) افزایش رشد رویشی گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus*) و تعداد برگ‌های گیاه در تیمار کود زیستی را گزارش کرده‌اند. نتایج Mahmoudzadeh و همکاران (2014) بر روی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) حاکی از آن بود که تأثیر کاربرد باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های آربوسکولار مایکوریزا بر ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد شاخه‌های جانبی و مجموع طول شاخه‌های جانبی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. در این آزمایش در تمامی تیمارهای زیستی، ارتفاع، تعداد برگ و تعداد شاخه‌های جانبی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه به طور معنی‌داری بیش‌تر از شاهد بود. در آزمایش حاضر در تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، طول بوته، تعداد برگ و مجموع طول شاخه‌های جانبی به طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بود. اما در شرایط تنش، کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی و محلول‌پاشی متیل جاسمونات، صفات رویشی ذکر شده را داد. با کاربرد کودهای زیستی و کاربرد متیل جاسمونات به دلیل جذب و انتقال بهتر عناصر غذایی مانند

فسفر، نیتروژن، تعداد برگ، تعداد شاخه‌های جانبی، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی شد. کاربرد متیل جاسمونات بر صفات محتوای نیتروژن برگ، محتوای فسفر برگ، محتوای پتاسیم برگ، قندهای محلول، آنزیم کاتالاز، تعداد برگ در بوته، تعداد شاخه‌های جانبی و وزن خشک ریشه در بوته اثر مثبت و معنی‌داری داشت، ولی بر صفاتی مانند کلونیزاسیون ریشه، ارتفاع بوته و وزن خشک اندام هوایی در بوته اثر قابل توجهی نشان نداد.

با توجه به اینکه پژوهش حاضر در شرایط گلخانه صورت گرفت و شرایط برای این گیاه کنترل شده بود پیشنهاد می‌شود این پژوهش در سطح مزرعه نیز تکرار شود تا عملکرد واقعی آن در شرایط غیرقابل کنترل نیز مشاهده شود.

هوایی و ریشه در گیاه بابونه تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار متیل جاسمونات (Salimi & Shekari, 2013) و همچنین افزایش وزن خشک اندام هوایی در گیاه سویا تیمار شده با غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار متیل جاسمونات گزارش شده است (Keramat & Daneshmand, 2012).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

با توجه به اینکه هدف از کشت استویا افزایش عملکرد برگ آن است، براساس نتایج پژوهش حاضر می‌توان با کاربرد کودهای زیستی نظیر قارچ‌های میکوریزا و باکتری محرک رشد و هورمون رشد متیل جاسمونات از تأثیر سوء تنش خشکی کاسته و عملکرد برگ، محتوای قند محلول برگ و آنزیم کاتالاز را در شرایط تنش خشکی، افزایش داد. تنش خشکی سبب کاهش صفاتی مانند

References

- Abbaszadeh, B., & Zakarian, F. (2015). Elements uptake in Balm (*Melissa officinalis* L.) under the effect of mycorrhiza and piriformospora indica and vermicompost. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants of Iran*, 32(1), 47-59. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106136> [In Persian].
- Abdelgawad, Z., Khalafaallah, A. A., & Abdallah, M. (2014). Impact of methyl jasmonate on antioxidant activity and some biochemical aspects of maize plant grown under water stress condition. *Agricultural Sciences*, 5(12), 1077-1088. <https://doi.org/10.4236/AS.2014.512117>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Method in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Al-Arjani, A. B. F., Hashem, A., & Abdallah, E. F. (2020). Arbuscular mycotizal fungi modulates dynamics tolerance expression to mitigate drought stress in *Ephedra foliate* Boiss. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 380-394. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.10.008>
- Aliabadi Farahani, H., & Valadabadi, S. A. R. (2010). The role of arbuscular mycorrhizal fungi on the medicinal plant coriander (*Coriandrum sativum* L.) under drought stress conditions. *Journal of Soil Research (Soil and Water Sciences)*, 24(1), 69-80. <https://doi.org/10.22092/IJSR.2010.126530> [In Persian].
- Asensio, D., Rapparini, F., & Peñuelas, J. (2012). AM fungi root colonization increases the production of essential isoprenoids vs. nonessential isoprenoids

- especially under drought stress conditions or after jasmonic acid application. *Phytochemistry*, 77, 149-161.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.12.012>
- Attarzadeh, M., Balouchi, H., Rajaie, M., Movahhedi Dehnavi, M., & Salehi, A. (2019) Growth and nutrient content of *Echinacea purpurea* as affected by the combination of phosphorus whit arbuscular mycorrhiza fungus and *Pseudomonas fluorescens* bacterium under different irrigation regimes. *Journal of Environmental Management*, 231, 182-188.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.040>
- Auge, R. M, Toler, H. D., & Saxton, A. M (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 25(1), 13-24.
<https://doi.org/10.1007/s00572-014-0585-4>
- Bahamin, S., Koocheki, A., Mahallati, M. N., & Behashti, S. (2021). Effect of nitrogen and phosphorus fertilizers on yield and nutrient efficiency indices in maize under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 14(3), 675-690.
<https://doi.org/10.22077/escs.2020.3095.1793> [In Persian].
- Bastami, A., & Majidian, M. (2016). Comparison between mycorrhizal fungi, phosphate biofertilizer and manure application on growth parameters and dry weight of coriander (*Coriandrum sativum* L.) medicinal plant. *Journal of Soil and Plant Interactions*, 7(2), 23-33.
<http://dx.doi.org/10.18869/acadpub.ejgcst.7.2.23> [In Persian].
- Biermann, B., & Linderman, R. G. (1981). Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. *New Phytologist*, 87, 63-67.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1981.tb01690.x>
- Cardarelli, M., Roupheal, Y., Rea, E., Lucini, L., Pellizzoni, M., & Colla, G. (2013). Effects of fertilization, arbuscular mycorrhiza, and salinity on growth, yield, and bioactive compounds of two *Aloe* species. *HortScience*, 8(5), 568-575.
<https://doi.org/10.21273/Hortsci.48.5.568>
- Comparot, S. M., Graham, C. M., & Reid, D. M. (2002). Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. *Journal Plant Growth Regulation*, 38, 21-30.
<https://doi.org/10.1023/A:1020970319190>
- Emami, A. (1996). *Analytical methods for plant analyses* (Technical Report, 1(982), pp. 147-153). Soil and water research institute, research department, agricultural education and development. [In Persian].
- Farsi, M., Abdullahi, F., Salehi, A., & Ghasemi, Sh. (2016). The study of the physiological characteristics of the medicinal plant *Origanum (Origanum majorana)* in response to zinc element under drought stress conditions. *Environmental Stresses in Agricultural Sciences*, 10(4), 559-570.
<https://doi.org/10.22077/escs.2017.68.1017> [In Persian].
- Ghaidi Jashani, M., & Mousavinik, S. M. (2015). The effect of drought stress and phosphorus and zinc fertilizers on morphological traits and the amount of essential oil of German chamomile (*Matricaria chamomilia* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 8(1), 65-72.
<https://doi.org/10.22077/escs.2015.201> [In Persian].

- Ghorchiani, M., Akbari, G. A., Alikhani, H. A. Zarei, M., & Elah Dadi, I. E. (2013). The interaction of arbuscular mycorrhizal fungus and *Pseudomonas fluorescens* bacteria on the efficiency of phosphorus fertilizer use, mycorrhizal dependency and corn yield under water stress conditions. *Journal of Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources, Water and Soil Sciences*, 17(63), 123-136. <https://jstnar.iut.ac.ir/article-1-2547-fa.html> [In Persian].
- Gomaa, E. F. (2013). Effect of nitrogen, phosphorus and bio fertilizers on quinoa plant. *The Journal of Applied Sciences Research*, 9(8), 5210-5222. <http://www.aensiweb.com/jasr/jasr/2013/5210-5222.pdf>
- Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food and Agriculture*, 2, 1-19. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1127500>
- Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M., & Kumar, S. (2002). Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81(1), 77-79. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00109-2)
- Hajihashemi, S., & Sofu, A. (2018). The effect of polyethylene glycol-induced drought stress on photosynthesis, carbohydrates and cell membrane in *Stevia rebaudiana* grown in greenhouse. *Acta Physiology Plant*, 40, 142. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2722-8>
- Haji Mohammadi, A., Zarghami R., Kashani, A. Heydari Sharifabad, H., & Noormohammadi Q. (2023). The effect of mycorrhizas under water deficit conditions on some morphophysiological and biochemical traits in greenhouse cultivation of *Stevia* tissue culture plantlets. *Iranian Biology Journal*, 36(1), 16-28. https://plant.ijbio.ir/article_2083.html?lang=en [In Persian].
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signaling and Behavior*, 7, 1456-1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
- Heidari, M., & Karami, A. V. (2013). Effect of drought stress and strains of mycorrhiza on yield, photosynthetic pigments sunflower. *Journal of Environmental Stress on Crops*, 6(1), 17-26. <https://doi.org/10.22077/escs.2013.134> [In Persian].
- Hossain, M. F., Islam, M. T., Islam M. A., & Akhtar S. (2017). Cultivation and uses of *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni): A review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 17(4), 12745-12757. <https://doi.org/10.18697/ajfand.80.16595>
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal of Plant Physiology*, 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>
- Jalil Sheshbahreh, M. Movahhedi Dehnavi, M., Bahraini Nejad, B., & Salehi, A. (2018). The response of yield and physiological characteristics of *Echinacea purpurea* (L.) Moench to nitrogen sources at different irrigation

- levels. *Crop Production Journal*, 10(3), 143-156.
<https://doi.org/10.22069/EJCP.2018.11991.1921> [In Persian].
- Jung, S. (2004). Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 231-255.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.01.001>
- Karimi, M., Hashemi, J., Ahmadi, A., & Abbasi, A. (2013). Effect of drought stress on growth and content of steviol glycosides in *Stevia* plant (*Stevia rebaudiana*). *Iranian Plant Sciences*, 44(4), 693-702.
<https://doi.org/10.22059/ijfcs.2013.50338> [In Persian].
- Kazemi, Sh., Farhamand, A., Pirdashti, H., & Mahmoudi, M. (2017). The effect of coexisting of mycorrhiza-like and mycorrhiza fungi on water use efficiency of corn under different irrigation regimes and phosphorus in different climatic conditions of Mazandaran province. *Journal of Crop Improvement*, 19(2), 371-386.
<https://doi.org/10.22059/jci.2017.60420> [In Persian].
- Keramat, B., & Daneshmand, F. (2012). Dual role of methyl jasmonate in physiological responses of soybean (*Glycine max* L.) plant. *Journal of Plant Process and Function*, 1(1), 25-37.
<https://jispp.iut.ac.ir/article-1-24-en.html> [In Persian].
- Khandan-Mirkohi, A., Taheri, M. R., Zafarfarrokhi, F., & Rejali, F. (2016). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under drought stress on growth of ornamental osteospermum (*Osteospermum hybrida* 'Passion Mix'). *Horticultural Sciences of Iran*, 47(2), 177-191.
<https://www.sid.ir/paper/148192/fa> [In Persian].
- Kostic, L., Nikolic, N., Bosnic, D., Samardzic, J., & Nikolic, M. (2017). Silicon increases phosphorus (P) uptake by wheat under low P acid soil conditions. *Plant and Soil*, 419, 447-455. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3364-0>
- Koussevitzky, S., Suzuki, N., Huntington, S., Armijo, L., Sha, W., Cortes, D., & Mittler, R. (2008). Ascorbate peroxidase 1 plays a key role in the response of *Arabidopsis thaliana* to stress combination. *Journal of Biological Chemistry*, 283(49), 34197-34203.
<https://doi.org/10.1007/s00344-011-9224-x>
- Lobato, A. K. S., Oliveira, Neto, C. F., Santos Filho, B. G., Costa, R. C. L., Cruz, F. J. R., Neves, H. K. B., & Lopes, M. J. S. (2008). Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. Sambaiba) plants under water deficit. *Australian Journal Crop Science*, 2, 25-32.
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20083249445>
- Lucho, S. R., Do Amaral, M. N., López-Orenes, A. et al. (2019). Plant growth regulators as potential elicitors to increase the contents of phenolic compounds and antioxidant capacity in stevia plants. *Sugar Technology*, 21, 696-702.
<https://doi.org/10.1007/s12355-018-0673-4>
- Mahmoudzadeh, M., Rasouli Sedkiani, M. H., & Asgari Lejair, H. (2014). The effect of plant growth stimulating rhizospheric bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on the morphological characteristics and concentration of essential elements of the medicinal plant peppermint (*Mentha piperita* L.) in greenhouse conditions. *Science and*

- Techniques of Greenhouse Crops*, 6(4), 155-168. <https://jspi.iut.ac.ir/article-1-1093-fa.html> [In Persian].
- Makarov, M. I. (2019). The role of mycorrhiza in transformation of nitrogen compounds in soil and nitrogen nutrition of plants: a review. *Eurasian Soil Science*, 52, 193-205. <https://doi.org/10.1134/S1064229319020108>
- Mandal, S., Evelin, H., Giri, B., Singh, V. P., & Kapoor, R. (2013). Arbuscular mycorrhiza enhances the production of stevioside and rebaudioside-A in *Stevia rebaudiana* via nutritional and non-nutritional mechanisms. *Applied Soil Ecology*, (72), 187-194. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.07.003>
- Mechri, B., Tekaya, M., Hammami, M., & Chehab, H. (2020). Effects of drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown olive trees (*Olea europaea*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 92, 104112. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104112>
- Michele, A., Doughlas, T., & Frank, A. (2009). The effects of clipping and soil moisture on leaf and root morphological root respiration in two temperate and two tropical grasses. *Plant Ecology*, 200, 205-215. <https://doi.org/10.1007/s11258-008-9445-7>
- Nasiri, Y., Mousavizadeh, S. A., & Asadi, M. (2020). Effect of farmyard, biological and chemical fertilizers on yield, yield components and some morphological characteristics of wheat. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(1), 313-328. https://sustainagriculture.tabrizu.ac.ir/article_10426_en.html?lang=en [In Persian].
- Nasr Isfahani, M. (2011). Effect of drought stress on growth and antioxidant system in three chickpea cultivars. *Plant Biology*, 5(15), 111-124. https://ijpb.ui.ac.ir/article_18875.html?lang=en [In Persian].
- Nazarli, H., Ahmadi, A., & Hadian, J. (2014). Salicylic acid and methyl jasmonate enhance drought tolerance in chamomile plants. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 3(2), 87-92. https://herbmedpharmacol.com/Article/JHP_20150527162528
- Novozamsky, I., Van Eck, R., Van Schouwenburg, C. H., & Walinga, I. (1974). Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol blue method. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 22, 3-5. <https://doi.org/10.18174/njas.v22i1.17230>
- Ortiz, N., Armada, E., Duque, E., Roldan, A., & Azcon, R. (2015). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. *Journal of Plant Physiology*, 174, 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.08.019>
- Peterson, J. R., Flanagan, J., & Shmact, K. T. (2002). PAM application method and electrolyte source effects on plot-scale runoff and erosion. *Transactions of the Asae (American Society of Agricultural and Biological Engineers)*, 45(6), 1859-1867. <https://doi.org/10.13031/2013.11437>
- Ren, G. & Shi, Y. (2012). The effects of drought stress on the photosynthetic parameters and dryleaf yield of *Stevia Rebaudina* (Bertoni). *Advanced Materials Research Onlines*, 518-523, 4786-4789. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.4786>
- Sara, M. K. S., Seyed Sharifi, R., & Sedghi, M. (2024). Effects of bio-organic

- fertilizers and foliar application of zinc and putrescine on chlorophyll fluorescence indices and some physiological traits of barley (*Hordeum vulgare* L.) under water limitation conditions. *Journal of Plant Biological Sciences*, 15(3), 115-145. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2024.140572.1356> [In Persian].
- Saikia, S. P., Dutta, S. P., Goswami, A., Bhau, B. S., & Kanjilal, P. B. (2010). Role of Azospirillum in the improvement of legumes. *Microbes for Legume Improvement*, 5, 389-408. https://doi.org/10.1007/978-3-211-99753-6_16
- Saisavoey, T., Thongchul, N., Sangvanich, P., & Karnchanatat, A. (2014). Effect of methyl jasmonate on isoflavonoid accumulation and antioxidant enzymes in *Pueraria mirifica* cell suspension culture. *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(9), 401-407. <https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5363>
- Salimi., F., & Shekari, (2013). The effect of methyl jasmonate on some morphological characteristics and flower performance in German chamomile (*Matricaria chamomilia* L.). *Plant Biology*, 4(11), 27-38. https://ijpb.ui.ac.ir/article_18835.html?lang=en [In Persian].
- Sanchez-Rodriguez, E., Del Mar Rubio-Wilhelmi, M., Rios, J. J., Blasco, B., Rosales, M. A., Melgarejo, R., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2011). Ammonia production and assimilation: its importance as a tolerance mechanism during mild water deficit in tomato plants. *Journal of Plant Physiology*, 168, 816-823. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.11.018>
- Saravanakumar, D., Kavino, M., Raguchander, T., Subbian, P., & Samiyappan, R. (2011). Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 203-209. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0539-1>
- Schaller, F., Schaller, A., & Stintzi, A. (2005). Biosynthesis and metabolism of jasmonates. *Plant Growth Regulation*, 23, 179-199. <https://doi.org/10.1007/s00344-004-0047-x>
- Seraj, F., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y., & Ghasemi Omra, V. (2016). The effect of *Piriformospora indica* inoculation on salt and drought stress tolerance in *Stevia rebaudiana* under in vitro conditions. *Journal of Plant Biological Sciences*, 8(29), 1-20. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2016.21032> [In Persian].
- Sewedan, E., Osman, A. R., & Moubarak, M. (2018). Effect of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of *Gladiolus grandifloras* L. *Nature and Science*, 6(16), 40-47. <https://B2n.ir/b75469>
- Shahhosseini, Z., Gholami, A., & Asghari, H. (2012). Study the correlation among some growth characteristics of maize and yield under symbiosis with mycorrhizae fungi. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, 4(11), 696-698. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20123364509>
- Soleimani, F., & Pirzad, A. R. (2014) The effect of mycorrhizal fungi on the activity of antioxidant enzymes in the medicinal plant hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under water deficit conditions. *Iran Medicinal and Aromatic Plants Research*, 31(6), 1013-1023. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.105890> [In Persian].

- Suliman, R., & Bajwa, R. (2010). Appraisal of two *Pseudomonas* species as a biofertilizer for sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Biology and Biotechnology*, 7(1, 2), 49-52.
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20103213492>
- Tavarini, S., Passera, B., Martini, A., Avio, L., Sbrana, C., Giovannetti, M., Angelini, L.G., (2018). Plant growth, steviol glycosides and nutrient uptake as affected by arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorous fertilization in *Stevia rebaudiana* Bert. *Industrial Crops and Products*, (111), 899-907.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.055>
- Tejeda-Sartorius, M., Martínez, de la Vega, O., & Délano-Frier, J. P. (2008). Jasmonic acid influences mycorrhizal colonization in tomato plants by modifying the expression of genes involved in carbohydrate partitioning. *Physiologia Plantarum*, 133, 339-353.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01081.x>
- Wang, J., Fu, Z., Ren, Q., Zhu, L., Lin, J., Zhang, J., Cheng, X., Ma, J., & Yue, J. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, photosynthesis, and nutrient uptake of *Zelkova serrata* (thunb.) makino seedlings under salt stress. *Forests*, 186.
<https://doi.org/10.3390/f10020186>
- Wu, H., Wu, X., Li, Z., Duan, L., & Zhang, M. (2012). Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *Journal Plant Growth Regulation*, 31(1), 113-123.
<https://doi.org/10.1007/s00344-011-9224-x>
- Yadollahi Dehcheshmeh, P., Bagheri, A. A., Amiri, A., & Esmailzadeh, S. (2014). Effects of drought and foliar application on yield and photosynthetic pigments sunflower. *Journal of Crop Physiology*, 6(21), 73-83.
<https://www.sid.ir/paper/496475/fa> [In Persian].
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U. R. S., & Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12), 5004-5007.
<https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.5004-5007.1998>
- Zare, A., Malkuti, M., Bahrami, H., & Blehkan, F. (2018). The effect of using biofertilizers on the quantitative and qualitative characteristics of the medicinal plant lemon (*Lippia citriodora*) *Horticultural Plant Nutrition*, 1(1), 10-40.
<https://www.sid.ir/paper/268533/fa> [In Persian].
- Zortea, R. B., Maciel, V. G., & Passuello, A. (2018) Sustainability assessment of soybean production in Southern Brazil: A life cycle approach. *Sustainable Production and Consumption*, 13, 102-112.
<https://doi.org/10.1016/j.spc.2017.11.002>