کمی‌سازی پاسخ صفات رویشی و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) به مقادیر مختلف شوری در شرایط کنترل شده

زهرا نوری آکندی[۱]، همت‌اله پیردشتی[۲*]، یاسر یعقوبیان[۳] و ولی‌اله قاسمی عمران[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۸)

چکیده

به منظور بررسی روند پاسخ صفات رویشی و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) به مقادیر مختلف تنش شوری، آزمایشی در پاییز سال ۱۳۹۳ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمار آزمایش شامل تنش شوری در ده سطح (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰، ۲۴۰ و ۲۷۰ میلی‌مولار NaCl) بود. نتایج تجزیه رگرسیونی نشان داد که پاسخ بعضی از صفات از جمله قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد برگ سبز در بوته، محتوای نسبی آب (RWC)، کلروفیل *a* و *b*، عدد کلروفیل‌متر (SPAD)، وزن تر برگ، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل از معادله‌ی خطی تبعیت کرده و با افزایش غلظت NaCl، مقدار این صفات کاهش یافت. در این میان، تعداد برگ سبز در بوته و عدد کلروفیل‌متر با ۱۰۰٪ کاهش نسبت به شاهد، بیشترین حساسیت را نسبت به تنش شوری نشان دادند. در حالی که عکس‌العمل صفاتی چون نشت الکترولیت، نسبت کلروفیل *a* بر *b* (*a/b*)، وزن تر ساقه، ریشه، اندام هوایی، وزن تر کل و وزن خشک برگ، ساقه و اندام هوایی به صورت معادله‌ی دوتکه‌ای بود. در مجموع، نتایج نشان داد که تأثیر تنش شوری بر صفات فیزیوژیک بیشتر از صفات رویشی بود.

کلمات کلیدی: تنش شوری، محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت

مقدمه

تنش‌های محیطی از عوامل محدودکننده تولید گیاهان زراعی می‌باشند که با اختلال متابولیسم طبیعی گیاه، رشد را محدود و در نهایت محصول را کاهش می‌دهند (۳۵ و ۴۴). شوری یکی از این عوامل تنش‌زای محیطی بوده که اثر زیان‌آور این تنش در تمام مراحل زندگی گیاه مشاهده شده و دامنه‌ی وسیعی از اختلالات را در همه‌ی سلول‌های گیاه ایجاد می‌کند. شدت اختلالات حاصل از شوری، به ویژگی‌های فیزیولوژیک درون سلولی گیاه بستگی دارد (۲). به طور معمول، در پاسخ به تنش شوری، رشد و عملکرد بیشتر گیاهان زراعی کاهش می‌یابد. به

۱. گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲. گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳. گروه زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h.pirdashti@sanru.ac.ir

طوری که کاهش سطح برگ سریع‌ترین پاسخ گیاه به شوری است و با افزایش سطح شوری، توسعه برگ‌ها متوقف می‌گردد (۳۶). همچنین، افزایش غلظت نمک به بیش از سطح آستانه تحمل گیاهان زراعی، نه تنها رشد، بلکه اندازه‌ی نهایی آن‌ها را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد (۲۶). نتایج مطالعات نشان داده که شوری سبب تغییر الگوی رشد و نمو در گیاهان شده و تداوم آن سبب تغییر در فنولوژی گیاه می‌گردد (۴۸)، به طوری که مهمترین اثر شوری بر گیاهان زراعی، توقف رشد آن‌هاست. در زمینه تأثیر تنش شوری بر رشد گیاه، عبید و همکاران (۶) در ذرت، اثر شوری ناشی از کلرید سدیم را به صورت کاهش میزان رشد نسبی و در نتیجه کاهش ماده خشک کل گیاه گزارش کرده‌اند. در بررسی دیگری، با ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ‌های مختلف گندم، افزایش سطح شوری، کاهش تعداد برگ، تعداد پنجه و وزن خشک گیاه را به همراه داشت (۱۲). سلطانی هویزه و همکاران (۴۵) گزارش دادند که افزایش شوری سبب کاهش رشد گیاه و صفاتی مانند وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، تعداد پنجه و سطح برگ در گیاه نیشکر گردید؛ اما این کاهش در واریته‌ای متحمل کمتر بود. نتایج مطالعه محمود و همکاران (۲۹) نشان داد که ارتفاع بوته در ارقام مورد مطالعه کنجد تا شوری ۶۰ میلی‌مولار NaCl اختلاف معنی‌داری نداشت. ولی با افزایش شوری، افت شدیدی در ارتفاع گیاهان دیده شد. در شرایط شور، سلول‌ها آب خود را از دست داده و کوچک می‌شوند. این فرایند، سرعت طویل شدن آن‌ها را کاهش داده (۳۲) و به همین دلیل شوری بیشتر از آستانه تحمل، میزان رشد و اندازه گیاه را در بسیاری از گونه‌ها کاهش می‌دهد (۲۶). از سوی دیگر، هنگامی که گیاه در شرایط شور رشد می‌کند، فعالیت فتوسنتری آن نیز کاهش یافته و در نتیجه میزان رشد، سطح برگ و محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد (۴۸). به عنوان مثال، تنش شوری میزان فتوسنتز را در گندم (۳)، پنبه (۳۷)، فلفل (۵۰) و استویا (۴۰) کاهش داد. همچنین، در ارزیابی ارقامی از سورگوم علوفه‌ای در شرایط تنش شوری، کاهش محتوای کلروفیل کل و کلروفیل a و b در نمونه‌های مورد آزمایش گزارش شده است (۵). کومار و همکاران (۲۲) نیز با مطالعه‌ی واکنش برنج ایندیکا بیان کردند که در تنش شوری، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کاهش پیدا کرده است. گریو و همکاران (۱۶) گزارش کردند که شوری ۱۴۰ میلی‌مولار NaCl سبب تسریع در نمو گندم به مدت ۱۸ روز شده است. با این وجود، تسریع در فنولوژی گیاه در پاسخ به شوری ممکن است لزوماً یک پاسخ عمومی در بین همه گیاهان نباشد. برای نمونه، در گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) با افزایش شوری تا غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl هیچ تغییری در فنولوژی گیاه مشاهده نشد (۴۱).

استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاه علفی، متعلق به خانواده آستراسه (Astraceae)، بومی مناطق شمالی آمریکای جنوبی، پاراگوئه و برزیل است (۳۰). در قرن ۱۶، با شناخت ارزش پزشکی این گیاه، کشت آن به طور وسیعی در سراسر اروپا و آسیا رایج شد (۸). برگ‌های این گیاه حاوی مقدار زیادی ترکیبات شیرین گلیکوزیدی است که بدون کالری بوده و به دلیل نداشتن اثرهای سوء، و جانبی کلیوی یا نورولوژیک، مصرف قندهای مصنوعی، می‌توانند در جایگزینی شیرین‌کننده‌های مصنوعی همچون آسپارتام، سدیم ساخارین و سیکلامات، به کار روند. همچنین، می‌توانند به عنوان قند رژیمی در صنایع غذایی، شیرینی‌جات و تولیدات دارویی و بهداشتی مورد استفاده قرار گیرند (۲۴ و ۲۷). با این وجود، این گیاه به تنش شوری حساس است، به طوری که زنگ و همکاران (۴۹) نشان دادند که در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار، وزن خشک کل گیاه به میزان ۴۰٪ کاهش یافت. اما در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار مقدار آن ثابت باقی ماند. بنابراین، این پژوهش با هدف کمی‌سازی اثر تنش شوری بر صفات رویشی و فیزیولوژیک گیاه دارویی استویا در شرایط کنترل شده اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییز سال ۱۳۹۳ در گلخانه و آزمایشگاه تنش‌های محیطی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد.

تیمار آزمایش شامل تنش شوری در ده سطح (صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰، ۲۴۰ و ۲۷۰ میلی‌مولار NaCl) بود. نشاهای حاصل از کشت بافت گیاه استویا پس از گذراندن دوره سازگاری در اتاقک رشد و گلخانه (به‌مدت ۴۰ روز)، در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۰ و قطر ۱۵ سانتی‌متر و با گنجایش دو کیلوگرم خاک کشت و در شرایط مطلوب رشدی (دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۵ ساعت) نگهداری شدند. گلدان‌ها تا اواخر مرحله‌ی رویشی (۴۰ روز) به صورت یک روز در میان با آب معمولی و سپس به مدت دو هفته و به صورت یک روز در میان با آب آبیاری که حاوی غلظت‌های مورد نظر کلرید سدیم بود، آبیاری شد. میزان آب آبیاری در هر مرحله ۱۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان لحاظ گردید. پس از پایان آزمایش، نمونه‌برداری از برگ‌های انتهایی گیاه انجام شده و صفات فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب برگ (RWC)، رنگیزه‌های فتوسنتزی و نشت الکترولیت اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری RWC یک برگ از برگ‌های انتهایی گیاه برداشت و بلافاصله توزین و به لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر منتقل و بعد از ۲۴ ساعت وزن آماس برگ‌ها تعیین شد. سپس نمونه‌های برگی در آون در دمای ۷۲ درجه و به مدت ۴۸ ساعت خشک و محتوای نسبی آب برگ‌ها با استفاده از معادله ۱ به‌دست آمد (۴۳):

$$\mathrm{RWC}=\frac{\mathrm{WF}-\mathrm{WD}}{\mathrm{WT}-\mathrm{WD}}\times ۱۰۰ \qquad [۱]$$

که WF وزن تر برگ، WD وزن خشک برگ و WT وزن آماس برگ است.

همچنین، رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش پورا (۳۸) اندازه‌گیری و میزان کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئید بر اساس معادله‌های ۲، ۳ و ۴ محاسبه گردیدند:

$$C_a\,(\mu g/ml)=۱۶.۷۲A_{۶۶۵.۲}-۹.۱۶A_{۶۵۲.۴} \qquad [۲]$$

$$C_b\,(\mu g/ml)=۳۴.۰۹A_{۶۵۲.۴}-۱۵.۲۸A_{۶۶۵.۲} \qquad [۳]$$

$$\mathrm{Carotenoid}\,(\mu g/ml)= \left(۱۰۰۰A_{۴۷۰}-۱.۶۳C_a-۱۰۴.۹۶C_b\right)/۲۲۱ \qquad [۴]$$

به منظور اندازه‌گیری نشت الکترولیت، نمونه‌ی برگی در لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (CON 410) اندازه‌گیری شد (EC_1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش در دستگاه بن ماری با دمای ۹۰ درجه و به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (EC_2). سپس، درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله ۵ محاسبه شد (۴۶):

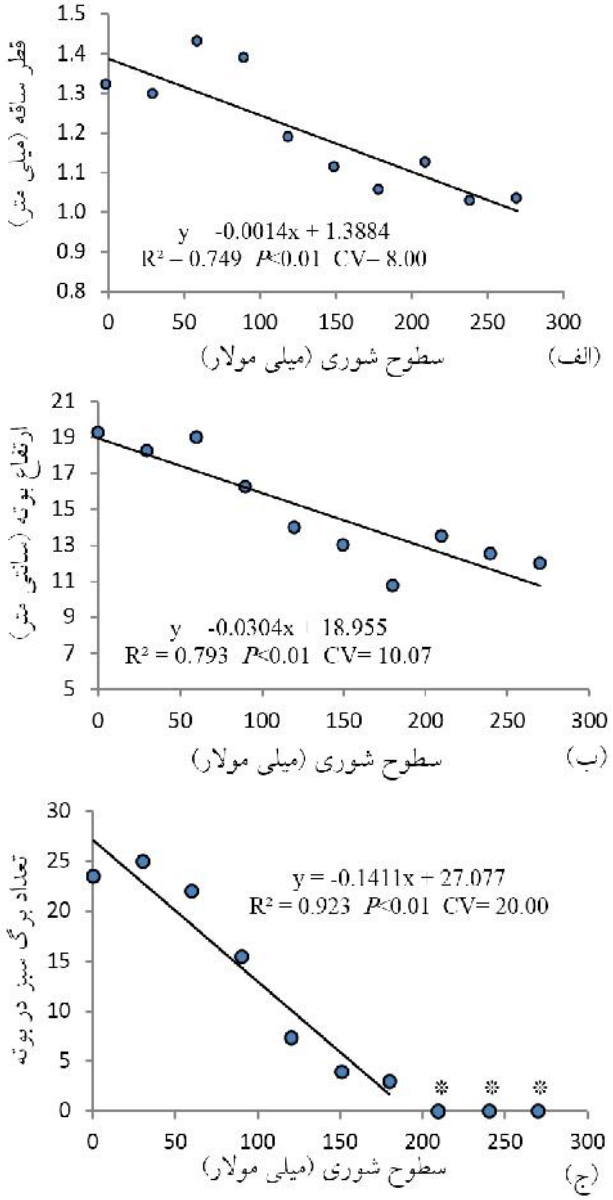
$$\text{Electrolyte leakage}(\%)=\frac{\mathrm{EC}_۱}{\mathrm{EC}_۲}\times ۱۰۰ \qquad [۵]$$

همچنین، صفات مورفولوژیک گیاه، از جمله قطر ساقه، با کمک کولیس دیجیتالی، ارتفاع بوته و تعداد برگ سبز در بوته و همچنین وزن تر و خشک اندام‌های رویشی شامل ساقه، برگ، ریشه، اندام هوایی و کل بوته اندازه‌گیری گردید. در نهایت، جهت کمی‌سازی روند تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه استویا، تحت تنش شوری، از تجزیه رگرسیونی و برازش معادله درجه یک و دو تکه‌ای استفاده گردید. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیونی داده‌های آزمایش نشان داد که روند تغییرات قطر ساقه، ارتفاع بوته و تعداد برگ سبز در بوته در پاسخ به افزایش شوری به صورت خطی و کاهشی (به ترتیب با شیب ۰/۰۰۱۴- ، ۰/۰۳۰۴- و ۰/۱۴۱۱- واحد) بود (شکل ۱). بیشترین قطر ساقه در سطح ۶۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد و این میزان در سطح ۲۴۰ میلی‌مولار به کمترین حد خود رسید (شکل ۱- الف). بیشترین ارتفاع بوته مربوط به سطح صفر میلی‌مولار بود که با افزایش سطح شوری، ارتفاع بوته به صورت معنی‌داری کاهش نشان داد، به طوری که در سطح ۲۷۰ میلی‌مولار شوری، حدود ۳۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱- ب). این نتایج با نتایج سایر

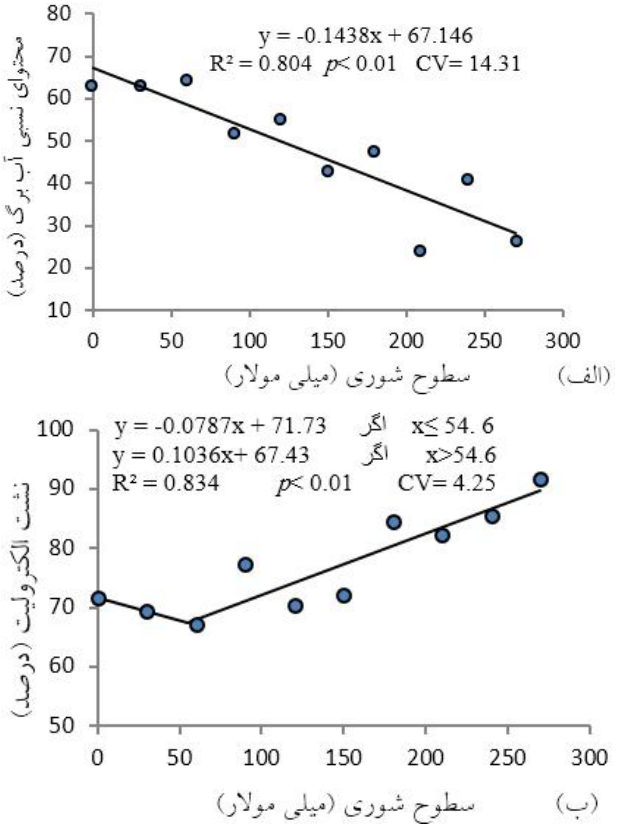


شکل ۱. روند پاسخ صفات قطر ساقه (الف)، ارتفاع بوته (ب) و تعداد برگ سبز (ج) در گیاه استویا به سطوح مختلف شوری. × این تیمارها در برازش منحنی استفاده نشده‌اند

محققین که کاهش معنی‌داری در ارتفاع بوته را در شرایط تنش شوری گزارش کرده‌اند مطابقت داشت که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به فرانکوئیس و همکاران (۱۴) و سکیب و همکاران (۴۲) در گندم و نجفی و سرهنگ‌زاده (۴) در ذرت علوفه‌ای اشاره نمود. شوری خاک باعث کاهش رشد ساقه گیاه و در غلظت‌های زیاد نمک منجر به توقف آشکار رشد می‌شود. علت این امر کاهش پتاسیل آب موجود در ریزوسفر یا اثر اسمزی ناشی از حضور نمک در ریزوسفر است که جذب آب توسط ریشه را محدود می‌سازد (۲۵). بیشترین شیب کاهشی (۰/۱۴۱۱- واحد) در بین صفات مورفولوژیک مربوط به تعداد برگ سبز در بوته مشاهده گردید، به طوری که تعداد برگ سبز در بوته در تیمارهای بیشتر از ۲۱۰ میلی‌مولار شوری به صفر رسید (شکل ۱- ج). کاهش برخی از ویژگی‌های رشد و از جمله تعداد برگ، با افزایش شوری خاک توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (۱۲ و ۳۱).

صفات فیزیولوژیک

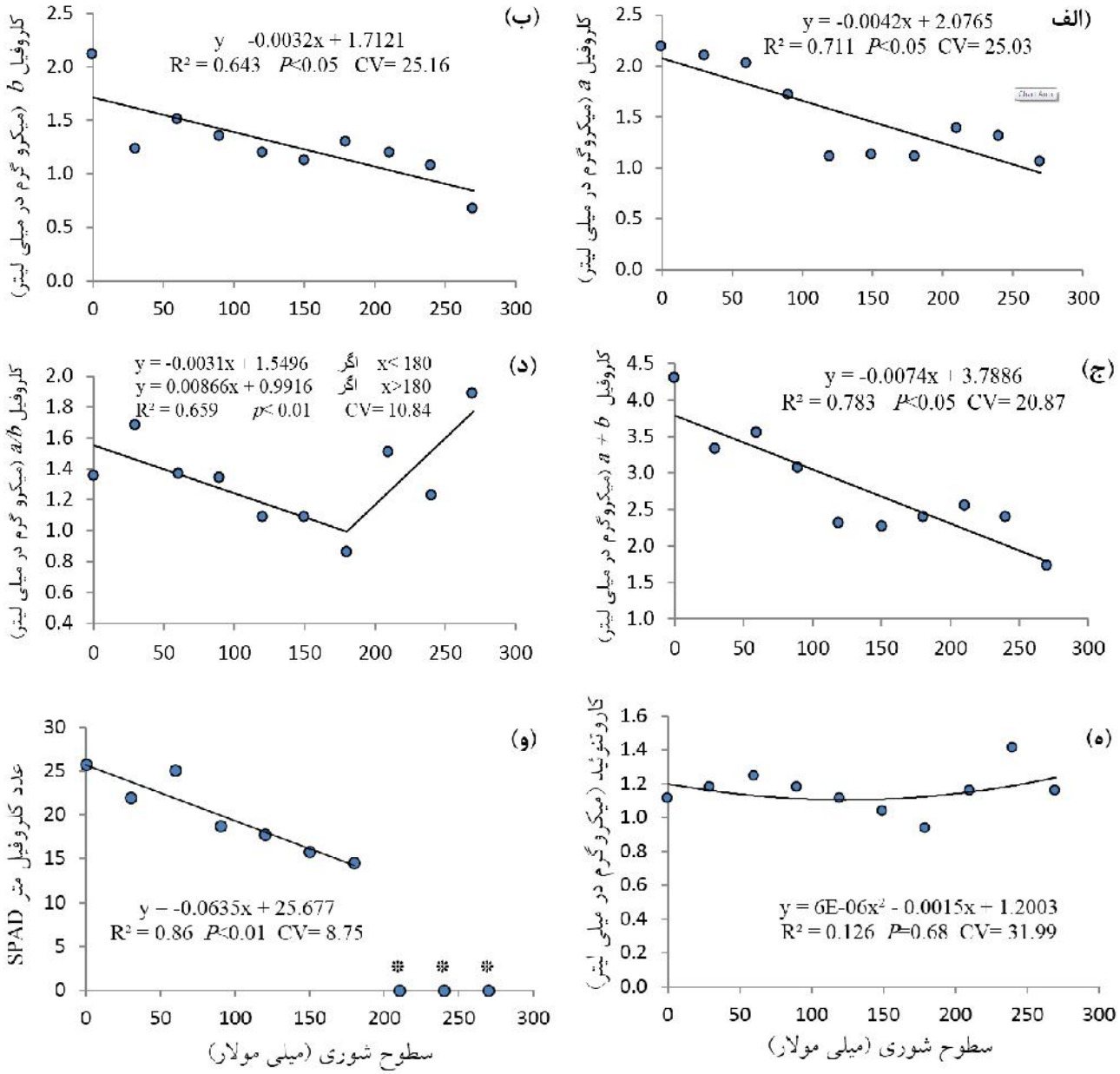
اثر شوری بر محتوای نسبی آب برگ (RWC) از یک رابطه خطی با R^2 برابر ۰/۸ تبعیت می‌کرد، به طوری که با افزایش تنش شوری، روند تغییرات محتوای نسبی آب برگ به صورت خطی کاهش (با شیب ۰/۱۴۳۸- واحد) یافت. بیشترین مقدار RWC در سطح ۶۰ میلی‌مولار شوری با حدود ۲٪ افزایش نسبت به شاهد و کمترین آن در سطح ۲۱۰ میلی‌مولار با حدود ۶۲٪ کاهش نسبت به سطح شاهد مشاهده شد (شکل ۲- الف). بر اساس پژوهش‌های انجام شده (۹ و ۲۸) میزان نسبی آب گیاه به عنوان بهترین معیار اندازه‌گیری وضعیت آبی گیاه همواره با افزایش تنش کاهش می‌یابد. در شرایط شوری، سرعت طویل شدن سلول‌ها و تورژسانس کاهش یافته، دیواره‌ی سلول‌ها سخت و ضخیم می‌گردند که این حالت به علت کاهش پتانسیل آب و جذب زیاد یون‌های سدیم و کلر و اثر آن‌ها بر فرایندهای خاص مانند سنتز دیواره می‌باشد (۱۵). نتایج حاصل از این آزمایش در رابطه با کاهش RWC در اثر افزایش تنش شوری با گزارش‌های برخی محققین (۱۱ و ۳۳) مطابقت دارد که اظهار داشتند با کاهش آب درون سلول‌های گیاهان کلزا و برنج، عمل تقسیمات سلولی متوقف شده و در پی آن منجر به کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی می‌گردد. علت کاهش RWC، کاهش جذب آب یا محدودیت در توانایی جذب آن به علت وجود شوری در محیط است که باعث به هم خوردن تعادل بین دو فرایند جذب آب و تعرق می‌شود.



شکل ۲. روند پاسخ صفات محتوای نسبی آب برگ (الف) و نشت الکترولیت (ب) در گیاه استویا به سطوح مختلف شوری

رونـد تغییـرات نشـت الکترولیـت از مـدل دوتکـه‌ای (R^2 = ۰/۸۳) تبعیت کرد (شکل ۲- ب)، به طوری که با افزایش تنش شوری تا سطح ۵۴ میلی‌مولار، میـزان نشـت الکترولیـت کاهش یافت (با شیب ۰/۰۷۸۷- واحد). این در حالیست کـه بـا افزایش تـنش از سـطح ۵۴ تـا ۲۷۰ میلـی‌مـولار، میـزان نشـت الکترولیت به طور چشـمگیری افـزایش یافتـه و در سـطح ۲۷۰ میلی‌مولار شوری با حدود ۲۸٪ افزایش به حداکثر میـزان خـود نسبت به صفر رسید (شـکل ۲- ب). تـنش‌هـای محیطـی از طریـق ایجـاد رادیکـال‌هـای آزاد اکسـیژن در داخـل سـلول، موجب کاهش پایـداری غشـا و نشت مواد سیتوپلاسـمی از آن شـده و افـزایش نسـبت هدایت الکتریکی را به دنبـال دارد (۱). کاهش شاخص پایداری غشا در اثر شوری توسط محققین دیگر از جملـه فـاروق و اذان (۱۳) و باتاچـارجی و مـوخرجی (۷) گزارش شده است.

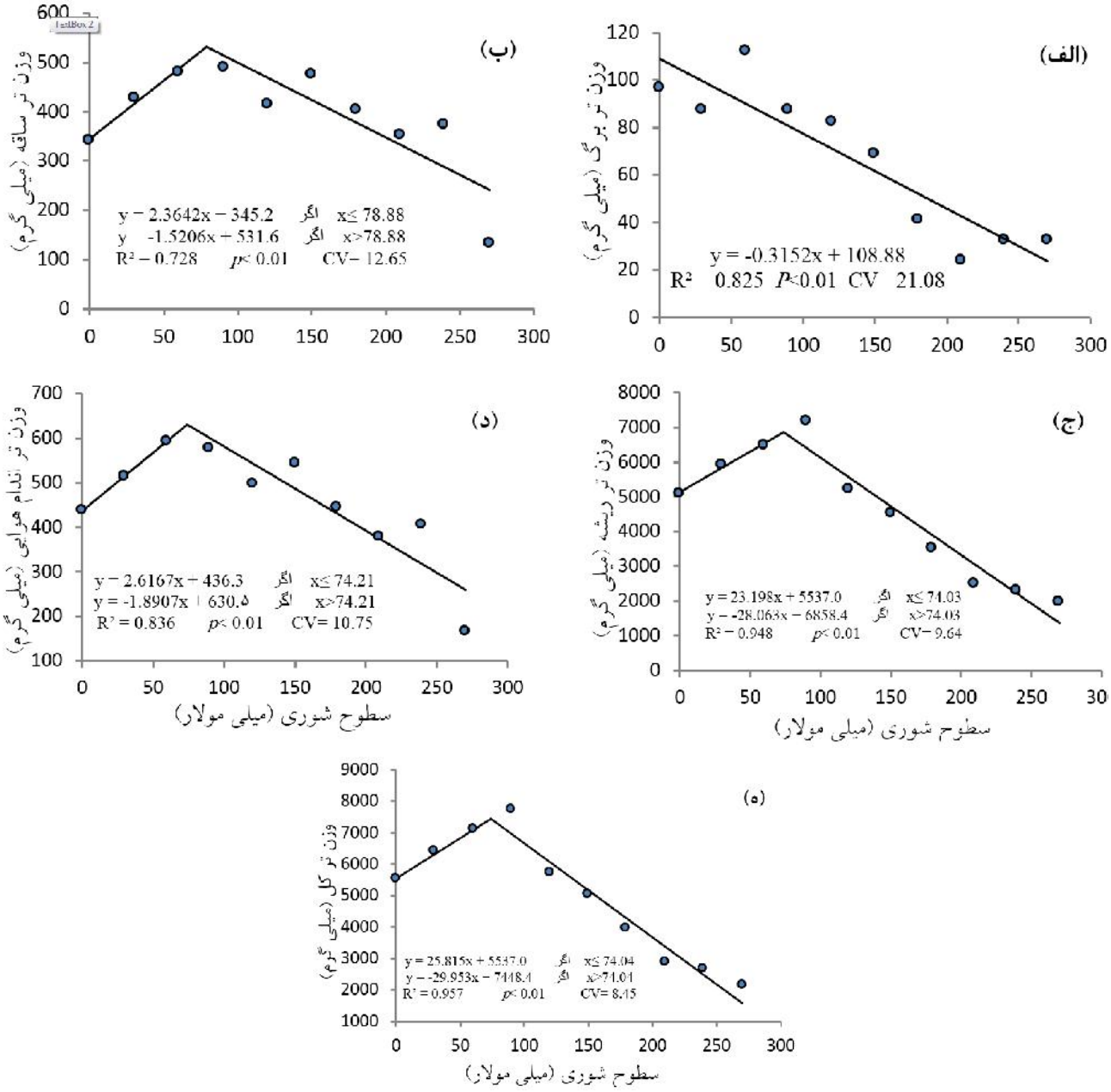
نتایج حاصل از تجزیه رگرسیونی داده‌های آزمـایش نشـان داد کـه شـوری اثـر معنـی‌داری بـر میـزان کاروتنوئیـد نداشـت (شکل ۳- ه). در حالی که رونـد تغییـرات کلروفیـل *a*، *b*، *a+b* و عدد کلروفیل‌متر در پاسخ به افزایش تنش شوری به صورت رابطـه خطی و کاهشی بود. بر اساس یافته‌ها، میزان این صفات با افـزایش سطح شوری به صورت معنی‌داری (بـه ترتیـب بـا ضـریب تبیـین ۰/۷۱، ۰/۶۴، ۰/۷۸ و ۰/۸۶) کاهش یافـت (شـکل ۳- الـف، ب و ج). بیشترین کاهش در میان رنگیزه‌های فتوسـنتزی در کلروفیـل *b* (بـا حـدود ۶۸٪ کـاهش نسـبت بـه شـاهد) و کمتـرین کـاهش در کلروفیل *a* (با حدود ۵۲٪ کاهش نسـبت بـه شـاهد) مشـاهده شـد. کاهش عدد کلروفیل‌متر نیز در اثر افزایش تنش بسیار مشـهود بـود و این میزان در سطوح ۲۱۰ تا ۲۷۰ میلـی‌مـولار شـوری بـه صـفر رسید (شکل ۳- و). از طرفی، روند پاسخ صـفت نسـبت کلروفیـل *a* به *b* به صورت دوتکه‌ای برازش شد، به‌طوری که تـنش شـوری تا سطح ۱۸۰ میلی‌مولار موجب کـاهش نسـبت کلروفیـل *a/b* (بـا شیب ۰/۰۰۳۱- واحد) شد. در حالی که با افزایش تنش شـوری از سطح ۱۸۰ تـا سـطح ۲۵۰ میلـی‌مـولار، بـا شـیب ۰/۰۰۸۶ واحـد افزایش یافـت (شـکل ۳- د). گـزارش‌هـای متعـددی حکایـت از کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش شوری دارد که از جمله آن‌هـا می‌توان به گزارش‌هایی روی باقلا (۱۹) و گندم (۳۴) اشاره نمـود. کویرو (۲۱) نیز گزارش نمود که با افزایش شوری تا غلظـت ۴۰۰ میلی‌مولار، میزان منیزیم در برگ گیاه چغندر قند کـاهش مـی‌یابـد. با توجه به اینکه منیزیم یک عنصر ضروری برای ساخت کلروفیـل اسـت، ایـن موضـوع مـی‌توانـد کـاهش کلروفیـل را توجیـه کنـد. راجکـان و همکـاران (۳۹) بیـان داشـتند کـه تـنش شـوری در محدوده‌ی کم می‌تواند باعـث افـزایش کلروفیـل در واحـد سـطح برگ گردد و علت این امر را مکانیسم‌های تحمل به تـنش از قبیـل کاهش سطح برگ و افزایش ضخامت برگ دانسـتند. ماسـوجیدک و همکاران (۲۹) افزایش کم مقدار کلروفیل در اثر تـنش ملایـم را به افزایش وزن مخصوص برگ نسبت دادند. اما با افزایش بـیش از حد شوری و آثار سوء آن بر ساختار کلروفیل و در نتیجـه تخریـب کلروپلاست، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد (۱۰).



شکل ۳. روند پاسخ صفات محتوای کلروفیل *a* (الف)، کلروفیل *b* (ب)، *a+b* (ج) ، *a/b* (د)، کاروتنوئید (ه) و عدد کلروفیل‌متر (و) در گیاه استویا به سطوح مختلف شوری. * این تیمارها در برازش منحنی استفاده نشده‌اند

صفات رویشی

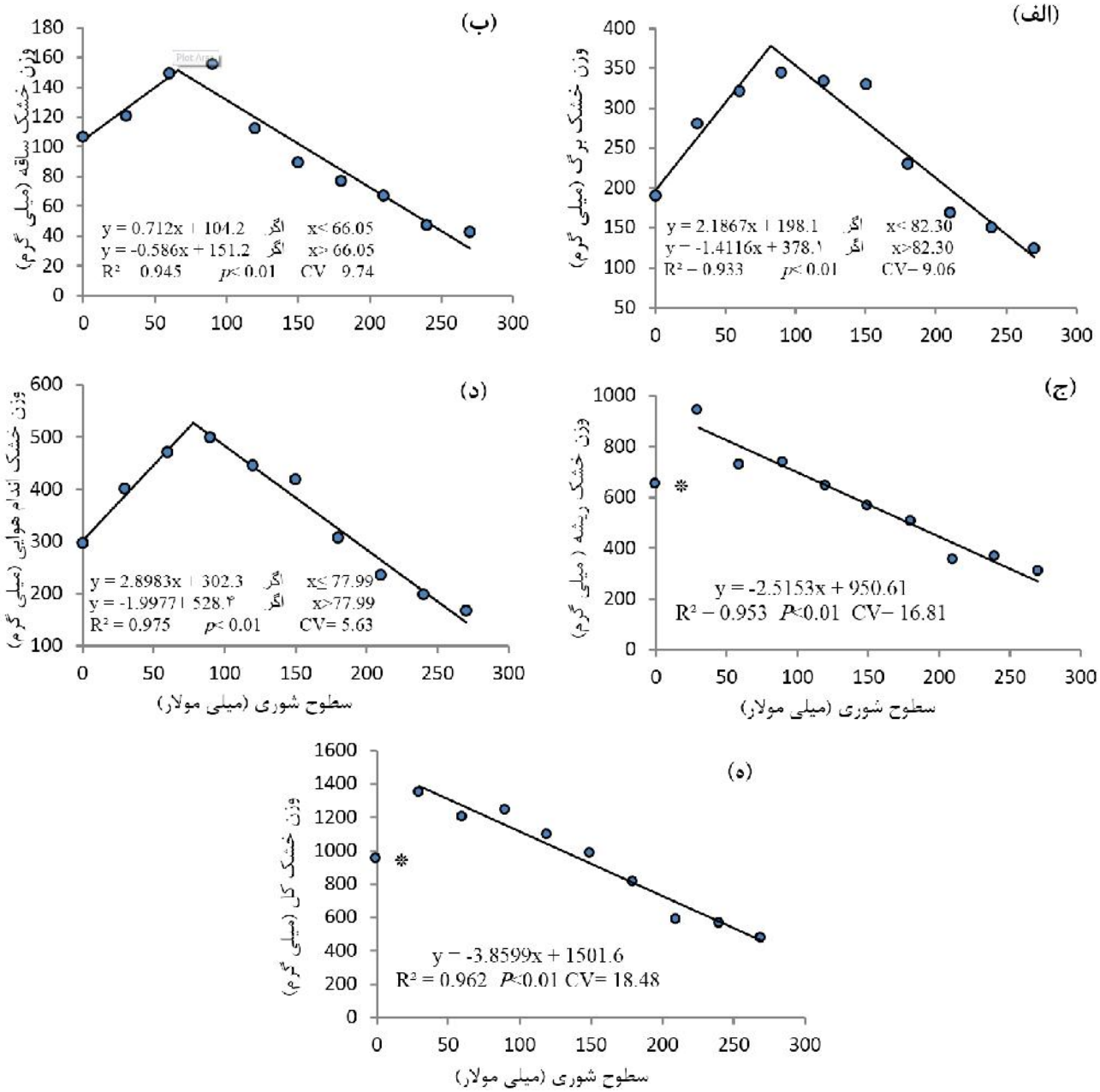
بر اساس یافته‌ها، وزن تر برگ استویا در مواجهه با افزایش تنش شوری به صورت خطی (R^2= ۰/۸۲) و به طور معنی‌داری (با شیب ۰/۳۱۵۲- واحد) کاهش یافت (شکل ۴- الف). کمترین میزان وزن تر برگ در سطح ۲۱۰ میلی‌مولار شوری با حدود ۷۶٪ کاهش نسبت به شاهد مشاهده گردید. اما واکنش صفات وزن تر ساقه، ریشه، اندام هوایی و وزن تر کل به صورت معادله دوتکه‌ای بیان شد (شکل ۴- ب تا ۴- ه)، به طوری که میزان صفات وزن تر ساقه، ریشه، اندام هوایی و وزن تر کل به ترتیب تا سطح ۷۸/۸۸، ۷۴/۰، ۷۴/۲۱ و ۷۴/۰۴ میلی‌مولار (به ترتیب



شکل ۴. روند پاسخ صفات وزن تر برگ (الف)، ساقه (ب)، ریشه (ج)، اندام هوایی (د) و وزن تر کل بوته (ه) در گیاه استویا به سطوح مختلف شوری

با شیب ۲/۳۶، ۲۳/۱۹، ۲/۶۱ و ۲۵/۸۱ واحد) افزایش یافت. ولی با افزایش بیشتر شوری، میزان این صفات (به ترتیب با شیب ۱/۵۲- ، ۲۸/۰۶- ، ۱/۸۹- و ۲۹/۹۵- واحد) روند کاهشی نشان داد. نجفی و سرهنگ زاده (۴) در بررسی اثر شوری بر رشد گیاه ذرت علوفه‌ای بیان کردند با افزایش سطح شوری، وزن تر ریشه ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت.

پاسخ صفات وزن خشک برگ، ساقه و اندام هوایی به افزایش تنش شوری از نوع دوتکه‌ای (شکل ۵- الف، ب و د) و صفات وزن خشک ریشه و کل از رابطه‌ی درجه اول (شکل ۴- ج و ۴- ه) تبعیت کرد. با افزایش تنش شوری، وزن خشک



شکل ۵. روند پاسخ صفات وزن خشک برگ (الف)، ساقه (ب)، ریشه (ج)، اندام هوایی (د) و وزن خشک کل بوته (ه) در گیاه استویا به سطوح مختلف شوری

ریشه و کل بوته به طور معنی‌دار و به ترتیب با شیب ۲/۵۱- و ۳/۸۵- واحد کاهش پیدا کرد، به طوری که کمترین میزان این صفات در سطح ۲۷۰ میلی‌مولار شوری (به ترتیب با ۶۷/۱۰ و ۶۴/۵ درصد کاهش نسبت به سطح ۳۰ میلی‌مولار) مشاهده گردید. شیب تغییرات وزن خشک برگ، ساقه و اندام هوایی به ترتیب از سطوح صفر تا ۱۸۰، ۶۶ و ۷۷ میلی‌مولار شوری به صورت افزایشی (به ترتیب با شیب ۰/۰۰۳، ۰/۷۱۲ و ۲/۹۰ واحد) بود. ولی با افزایش تنش شوری از سطوح مذکور تا ۲۷۰ میلی‌مولار، میزان این صفات (به ترتیب با ۰/۰۰۸۶- ، ۰/۵۸۶۱- و ۱/۹۹۷۷- واحد) به طور قابل‌توجهی کاهش پیدا کرد.

کاهش وزن تر و خشک گیاه و ریشه در اثر شوری در مطالعات متعددی از جمله در اسفناج (۱۷) و توت‌فرنگی (۱۸) نیز گزارش شده است. از طرفی، کوربان و همکاران (۲۳) نیز گزارش کردند که در سطوح کم شوری، وزن خشک نوعی از حبوبات افزایش می‌یابد؛ ولی در سطوح بیشتر، کاهش می‌یابد. در مطالعه دیگری، خان و همکاران (۲۰) گزارش کردند که گیاه گندم در تیمار با سطوح شوری زیاد با کاهش وزن تر و خشک ریشه روبرو گردید. ولی در تیمار با سطوح شوری کم از رشد بیشتری نسبت به شاهد برخوردار بود.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این آزمایش بیانگر پاسخ متفاوت صفات مختلف گیاه استویا به سطوح تنش شوری بود. بعضی از صفات از جمله قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد برگ سبز در بوته، RWC، کلروفیل *a* و *b*، عدد کلروفیل‌متر، وزن تر برگ، وزن خشک ریشه و کل از معادله‌ی خطی تبعیت کرده و با افزایش غلظت NaCl با شیب ثابتی کاهش یافت. در حالی که عکس‌العمل صفاتی چون نشت الکترولیت، نسبت کلروفیل *a* به *b*، وزن تر ساقه، ریشه، اندام هوایی، وزن تر کل و وزن خشک برگ، ساقه، اندام هوایی به صورت معادله‌ی دوتکه‌ای بوده و با افزایش شوری ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان دادند. در بین صفات مورد بررسی، حساس‌ترین صفت نسبت به تنش شوری صفت تعداد برگ سبز در بوته و عدد کلروفیل متر بودند که ۱۰۰٪ نسبت به شاهد کاهش نشان دادند. همچنین، قطر ساقه با حدود ۲۲٪ کاهش نسبت به شاهد، کمترین تأثیرپذیری را نسبت به تنش شوری نشان داد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، به ویژه دبیرخانه طرح کلان ملی دانش و فناوری استفاده از آب دریا و آب‌های شور برای استفاده در کشاورزی، شرب و صنعت در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شده، که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. آذری، آ. مدرس ثانوی، س. ع. م. عسکری، ح. قناتی، ف. ناجی ا. م. و ب. علیزاده. ۱۳۹۱. اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brassica napus* and *B. rapa*). مجله علوم زراعی ایران ۱۴(۲): ۱۳۵-۱۲۱.

۲. ثابت تیموری، م. خزاعی، ح. ر. نظامی، ا. و م. نصیری محلاتی. ۱۳۸٦. تأثیر سطوح مختلف شوری بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.). پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی. ۷(۴): ۱۱۹-۱۰۹.

۳. میر محمدی میبدی، س.ع.م. و ب. قره یاضی. ۱۳۸۱ . جنبه‌های فیزیولوژیک و به‌نژادی تنش شوری گیاهان. انتشارات مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان.

۴. نجفی، ن. و ا. سرهنگ‌زاده. ۱۳۹۱. اثر شوری کلرید سدیم و غرقاب شدن خاک بر ویژگی‌های رشد ذرت علوفه‌ای در شرایط گلخانه، مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. ۳(۱۰): ۱۴-۱.

۵. یارنیا، م. حیدری شریف آباد، ح. هاشمی دزفولی، س.ا. رحمیزاده خوبی، ف. و ا. قلاوند. ۱۳۸۰. ارزیابی تحمل به شوری لاین‌های یونجه (*Medicago sativa* L.)، مجله علوم زراعی ایران. ۳(۲): ۲۶-۱۲.

6. Abid, M.A., A. Qayyum, A. Dasti and R. Abdulwajid. 2001. Effect of salinity and SAR of irrigation water on yield,

physiological growth parameters of Maize (*Zea mays* L.) and properties of the soil. J. Res. (Sci.) 12(1): 26-33.
7. Battacharjee, S. and A.K. Mukherjee. 1996. Ethylene evolution and membrane lipid peroxidation as indicators of salt injury in leaf tissues of *Amaranthus* seedlings. Ind. J. Exp. Biol. 34: 279-281.
8. Cardello, H.M.A.B., M.A.A.P. da Silva and M.H. Damasio. 1999. Measurement of the relative sweetnees of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. Plant Food Human Nutr. 54(2): 119-130.
9. Chaves, M.M., J.S. Pereira, J. Maroco, M.L. Rodrigues, C.P.P. Ricardo, M.L. Osorio, I. Carvalho, T. Faria and C. Pinheiro. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. Ann. Bot. 89: 907-916.
10. Cramer, G.R. 2002. Response of abscisic acid mutant of Arabidopsis to salinity. Funct. Plant Biol. 29(5): 561-567.
11. Diego, A.M., M.R.C. Gulotta, A. Martinez and M.A. Oliva. 2004. The effect of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine in *Prosopis alba*. Braz. J. Plant Physiol. 16(1): 39-46.
12. El-Hendawy, S.E., H. Yuncai, G.M. Yakoutb, A.M. Awad, S.E. Hafiz and U. Schmidhalter. 2005. Evaluating salt tolerance of wheat genotypes using multiple parameters. Eur. J. Agron. 22: 243-253.
13. Farooq, S. and F. Azam. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. J. Plant Physiol. 163: 629-637.
14. Francois, L.E., E.W. Mass, T.J. Donovan and V.L. Youngs. 1986. Effect of salinity on grain yield and quality, vegetative growth and germination of semi-dwarf and durum wheat. Agron. J. 78: 1053-1060.
15. Fricke, W. and W.S. Peter. 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. Plant Physiol. 129(1): 374-388.
16. Grieve, C.M., L.E. Francois and E.V. Maas. 1994. Salinity affects the timing of phasic development in spring wheat. Crop Sci. 34: 1544-1549.
17. Kaya, C., D. Higges and H. Kirnak. 2001. The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. J. Plant Physiol. 27(3-4): 47-59.
18. Kaya, C., D. Higgs, K. Saltali and O. Gezeral, 2002. Response of strawberry grown at high salinity and alkalinity to supplementary potassium. J. Plant Nutr. 25(7): 1415-1427.
19. Kaymakanova, M., N. Stoeva and T. Mincheva .2008. Salinity and its effects on the physiological response of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Cent. Eur. Agric. 9(4): 749-756.
20. Khan, M.J., H. Rashid and R. Ali. 1999. Inter-varietal variability in wheat grown under saline conditions. Pak. J. Biol. Sci. 2: 693-696.
21. Koyro, H.W. 2000. Effect of high NaCl-salinity on plant growth, leaf morphology and ion composition in leaf tissues of *Beta vulgaris* ssp. Maritima. J. Appl. Bot. 74: 67-73.
22. Kumar, V., V. Shiram, N. Jawali and M.G. Shitole. 2007. Differential response of Indica rice genotypes to NaCl stress in relation to physiological and biochemical parameters. Arch. Agron. Soil Sci. 48: 339-344.
23. Kurban, H., H. Saneoka, K. Nehira, R. Adilla, G.S. Premachandra and K. Fujita. 1999. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* (Bieb.). Soil Sci. Plant Nutr. 45: 851-862.
24. Lailerd, N., V. Saengirisuwan, J.A. Sloniger, C. Toskulkao and E.J. Henriksen. 2004. Effect of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. Metabolism 53(1):101-107.
25. Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses: Water, Radiation, Salt and other Stresses. Academic Press, New York, pp. 1-278.
26. Maas, E.V. and G.J. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance- current assessment. ASCE, J. Irrig. Drain. Div. 103: 115-134.
27. Madan, S., A. Sayeed, G.N. Singh, K. Kohli, R. Singh, Y. Kumar and M. Garg. 2010. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-A Review. Indian J. Nat. Prod. Resour. 1(3): 267-287.
28. Mahmood, S., S. Iram and H. Athar. 2003. Intra-specific variability in sesame (*Sesamum indicum* L.) for various quantitative and qualitative attributes under differential salt regimes. J. Res. Sci. 14(2): 177-186.
29 Masojidek, J., S. Trivedi, L. Halshaw, A. Alexiou and D.O. Hall. 1991. The synergistic effect of drought and light stress in sorghum and pearl millet. Plant Physiol. 96(1): 198-207.
30. Mishra, P.K., R. Singh, U. Kumar and V. Prakash. (2010). *Stevia rebaudiana*- A magical sweetener. Global J. Biotech. Biochem. 5(1): 62-74.
31. Mohammad, M., R. Shibli, M. Ajouni and L. Nimri. 1998. Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. J. Plant Nutr. 21: 1667-1680.
32. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell Environ. 25: 239-250.
33. Nasir Khan, M., M.H. Siddiqui, F. Mohammad, M. Mansoor, A. Khan and M. Naeem. 2007. Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis, proline accumulation and yield in linseed genotypes. World J. Agric. Sci. 5: 685-695.
34. Nazarbeygi, E., H. Lari Yazdi, R. Naseri and R. Soleimani. 2011. The effects of different levels of salinity on

proline and a-, b- chlorophylls in canola. Am-Euras. J. Agric. Environ. Sci. 10(1): 70-74.
35. Omami, E.N., P.S. Hammes and P.J. Robbertse. 2006. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. New Zealand J. Crop Hort. Sci. 34: 11-22.
36. Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotox. Environ. Safe. 60: 324-349.
37. Plaout, Z. and E. Federman. 1991. Acclimation of CO_2 assimilation in cotton leaves to water stress and salinity. Plant Physiol. 97: 515.-522
38. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. Photosynth. Res. 73(1): 149-156.
39. Rajcan, I., L.M. Dwyer and M. Tollenaar. 1999. Note on relationship between leaf soluble carbohydrate and chlorophyll concentration in maize during leaf senescence. Field Crops Res. 63(1): 13-17.
40. Rathore, Sh., N. Singh and S.K. Singh. 2014. Influence of NaCl on biochemical parameters of two cultivars of *Stevia rebaudiana* regenerated in vitro. J. Stress Physiol. Biochem. 10(2): 287-296.
41. Rawson, H.M. 1986. Gas exchange and growth in wheat and barley grown in salt. Aust. J. Plant Physiol. 13: 475-489.
42. Saqib, M., J. Akhtar R.H. Qureshi. 2004. Pot study on wheat growth in saline and waterlogged compacted soil. I. Grain yield and yield components. Soil Till. Res. 77: 169-177.
43. Schonfeld, M.A., R.C. Johnson, B. Carver and D.W. Morhinweg. 1988. Water relation in winter wheat as drought resistance indicator. Crop Sci. 28: 526-531.
44. Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel and C.X. Zhao. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. Comptes Rendus Biol. 331: 215-225.
45. Soltani Hoveyzeh, M., S.A.M. Mirmohammadi Meybodi and A. Arzani. 2006. Effect of salinity on growth of eight commercial and promising sugarcane cultivars. J. Agric. Sci. Nat. Res. 13(3): 59-68.
46. Teutonica, R.A., J.P. Palta and T.C. Osborn. 1993. In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Sci. 33: 103-107.
47. Viera Santos, C. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Sci. Hort. 103(1): 93-99.
48. Volkmar, K.M., H. Hu and H. Stephun. 1997. Physiological responses of plants to salinity: A review. Can. J. Plant Sci. 78: 19-27.
49. Zeng, J., A. Chen, D. Li, B. Yi and W. Wu. 2013. Effects of salt stress on the growth, physiological responses, and glycoside contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. J. Agric. Food Chem. 61(24): 5720-5726.
50. Zhani, K., M. Ben Fredj, F. Mani and C. Hannachi. 2012. Impact of salt stress (NaCl) on growth, chlorophyll content and fluorescence of Tunisian cultivars of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). J. Stress Physiol. Biochem. 8(4): 236-252.