دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی اثر پوترسین و اسید سالیسیلیک بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* B.) در شرایط شوری

مهیار گرامی[۱]، وحید اکبرپور[۲] و اطهر محمدیان[۳]

۱- استادیار، عضو هیات علمی موسسه آموزش عالی سنا ساری، ایران، (نویسنده مسوول: mahyar.gerami@yahoo.com)
۲- استادیار، گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، علوم باغبانی(گیاهان دارویی)، موسسه آموزش عالی سنا ساری، ایران
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۲ تاریخ پذیرش:۹۷/۷/۲۱
صفحه: ۴۰ تا ۵۴

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر پوترسین و اسید سالیسیلیک بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این آزمایش گیاهان تحت تاثیر غلظت‌های مختلف پوترسین (۰، ۰/۵و ۱ میلی‌مولار)، اسید سالیسیلیک (۰ و ۰/۵ میلی‌مولار) و شوری (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) قرار گرفتند. نتایج نشان دادکه محلول‌پاشی پوترسین در غلظت‌های مختلف سبب افزایش معنی‌دار مقادیر رنگیزه‌های کلروفیلی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز گردید ولی در مقدار مالون‌دی‌آلدئید و محتوای رطوبت نسبی برگ روند کاهشی را نشان داد. یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که شوری سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی شد. همچنین به کارگیری اسید سالیسیلیک منجر به افزایش مقادیر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گردید. نتایج اثر متقابل پوترسین و شوری نشان داد که در سطوح مختلف شوری با افزایش پوترسین رنگیزه‌های فتوسنتزی روند افزایشی معنی‌داری نداشتند ولی مقدار آنتوسیانین در سطوح مختلف شوری در غلظت یک میلی‌مولار پوترسین نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی را نشان داد. همچنین مقادیر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت که این روند افزایشی معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین، اسید سالیسیلیک و شوری حاکی از آن بود که در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری و ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش سطوح پوترسین روند افزایشی در مقدار نشت‌یونی مشاهده گردید. همچنین نتایج حاکی از آن بود که در سطوح مختلف شوری و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، با افزایش مقدار پوترسین مقدار مالون‌دی‌آلدئید روند کاهشی و مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز روند افزایشی نسبت به نمونه شاهد را نشان داد که منجر به ایجاد مقاومت این گیاه به تنش شوری گردید. پس به کارگیری هر دو غلظت پوترسین و اسید سالیسیلیک موثر و قابل توصیه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: پوترسین، اسید سالیسیلیک، شوری، استویا

مقدمه

استویا (*Stevia rebaudiana* B.) گیاهی علفی، چند ساله با ریشه‌های افشان و ساقه‌ای چوبی در قسمت تحتانی متعلق به تیره Astraceaeاست (۳۰). این گیاه به‌عنوان یک شیرین کننده طبیعی از لحاظ دارویی و اقتصادی مطرح می‌باشد (۱۹). شوری یکی از اصلی‌ترین تنش‌های محیطی تاثیرگذار بر رشد گیاهان و محصولات تولیدی آنها می‌باشد که پس از خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان می‌باشد. شوری زیاد آب در خاک باعث تغییرات فیزیولوژیک زیانبار در گیاه می شود از جمله جذب بیش از حد مواد معدنی، برهم خوردن متابولیسم فتوسنتز و تنفس می‌شود (۴۰). شوری از طریق تنش اسمزی (کاهش آب قابل دسترس گیاه)، اثر سمی یون‌ها (به خصوص اثرهای ناشی از یون سدیم و کلر)، برهم خوردن تعادل و جذب مواد مغذی ضروری منجر به صدمه به گیاه می‌شود و در نتیجه کاهش رشد اتفاق می‌افتد. افزایش شوری، وزن خشک ریشه، برگ و اندام‌هوایی را کاهش داده و متعاقب آن از طول ریشه و اندام هوایی کاسته می‌شود. به‌علاوه باعث تغییرات بیوشیمیایی و برهم خوردن اعمال حیاتی و فرایندهای رشد و گیاه را از صدمات حاصل از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند امروزه اسید سالیسیلیک می‌تواند نقش مهمی در افزایش رشد و نمو گیاهان داشته باشد (۴۶) و همچنین در مقاومت به تنش‌ها، رشد گیاه، جوانه‌زنی دانه، ساختار غشاء، جذب و انتقال یون، هدایت روزنه‌ای، مقدار کلروفیل، گلدهی و رسیدن میوه نیز تاثیر می‌گذارد (۸). این گروه از ترکیبات به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های رشدی عمل می‌کند و در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی، تعدیل اثر شوری، القاء گلدهی، رشد و نمو و سنتز اتیلن نقش دارند (۴۷). کاربرد اسید سالیسیلیک ممکن است بر فرآیندهای مختلفی در گیاهان تاثیرگذار باشد. این گونه فرایندها شامل باز و بسته شدن روزنه، جذب انتقال یون، نفوذ پذیری غشاء و سرعت فتوسنتز و رشد می‌باشد. با توجه به این که تنش شوری به عنوان یک عامل محدودکننده در رشد و نمو گیاهی است، بنابراین با توجه به ضرورت، در این پژوهش نقش پوترسین و اسیدسالیسیلیک به‌عنوان السیتور در جهت افزایش رشد و نمو و مقابله با اثرات زیانبار تنش شوری در گیاه استویا مورد بررسی قرار گرفته است. افزایش بیوسنتز پلی‌آمین‌ها می‌تواند از گیاهان در برابر شوری به وسیله حذف رادیکال‌های آزاد، تثبیت غشایی و ساختارهای سلولی، ایجاد تعادل کاتیون و آنیون، تنظیم کانال‌های یونی و افزایش میزان انرژی سلول به وسیله تحریک سنتز ATP محافظت کند (۴۸). پژوهش‌های مختلفی در ارتباط با کاربرد پلی‌آمین‌ها و نقش آنها در کاهش برخی از تنش‌ها در گیاهان فلفل، توتون

و نخود فرنگی گزارش شده است (۲۶) اسید سالیسیلیک یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید امروزه به‌عنوان یک تنظیم‌کننده شبه هورمونی محسوب می‌گردد و در مکانیسم‌های دفاعی علیه تنش‌های زیستی و محیطی نقش دارد (۵۴). این ترکیب از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جذب کلسیم و نمو در گیاهان می‌شود (۵۲). در سال‌های اخیر برای افزایش تحمل گیاهان به تنش‌ها به برخی از روش‌ها از قبیل کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد در بعضی از گزارش‌ها به روابط بین پلی‌آمین‌ها و تنش‌های محیطی اشاره کردند (۱۰). مهم‌ترین پلی‌آمین‌های آزاد شامل پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین است که از جمله ترکیبات آلی نیتروژن‌دار با وزن ملکولی کم هستند که در طیف وسیعی از فرایندهای رشد و نمو شامل تقسیم سلولی، رویان‌زایی، تاخیر پیری، پایداری غشاء، جمع‌آوری رادیکال آزاد و تحمل به تنش‌های مختلف به ویژه واکنش به تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده مانند تنش شوری و تنش آبی و در پاسخ به تنش شوری به منزله تعدیل‌کننده اثر تنش عمل می‌کنند (۲۹). کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها اثرات خود را بر رشد از طریق تقسیم و توسعه یاخته‌ای نشان می‌دهند و می‌توانند به عنوان یک منبع نیتروژن‌دار عمل کرده و از این طریق رشد و نمو را تحریک کنند (۳۴). تجمع پوترسین در اکثر گیاهان در واکنش به تنش های مختلف فقدان آب و اسموزیته شدید اتفاق می‌افتد که افزایش فعالیت آنزیم آرژنین دکربوکسیلاز مسئول تجمع این پلی‌آمین‌ها می‌باشد. بدین لحاظ این آنزیم به‌عنوان آنزیم عمومی تنش و تجمع پوترسین به‌عنوان عمده‌ترین نشانه فعالیت آنزیم آرژنین دکربوکسیلاز ناشی از تنش در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (۳۱).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه موسسه آموزش عالی سنا در سال ۹۶-۱۳۹۵ صورت پذیرفت. به‌منظور بررسی تاثیر پوترسین و اسید سالیسیلیک بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل پوترسین با غلظت‌های (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار)، فاکتور دوم شامل اسید سالیسیلیک با غلظت‌های (۰ و ۰/۵ میلی‌مولار) و فاکتور سوم شامل شوری با غلظت‌های (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بود. گیاهچه‌های ۶-۸ برگی استویا از اتاق کشت موسسه آموزش عالی سنا تهیه شده و به گلدان‌های پلاستیکی با بستر حاوی پرلیت و پیت موس انتقال داده شد. تامین نیاز تغذیه‌ای توسط محلول غذایی هوگلند صورت گرفت. بعد از گذشت یک هفته غلظت‌های مختلف پوترسین و اسید سالیسیلیک به صورت محلول‌پاشی برگی به گیاه اعمال شد. همچنین بعد از آن گذشت ۲۴ ساعت شوری به صورت آبیاری به همراه محلول غذایی هوگلند در اختیار گیاهان قرار گرفت. سپس خصوصیات فیزیولوژیکی شامل (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، مالون‌دی‌آلدئید، محتوای رطوبت نسبی برگ و نشت یونی) و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی شامل (فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و درصد مهار رادیکال آزاد) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS صورت گرفت و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel انجام شد.

سنجش کلروفیل (a،b) و کارتنوئید

اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه استویا از طریق روش آرنون (۱۹۶۷) انجام شد. پس از تهیه نمونه‌ها، جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر اندازه‌گیری و برای شاهد نیز از استون ۸۰٪ استفاده گردید. مقدار کلروفیل‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم محاسبه گردید. همچنین اندازه‌گیری کارتنوئید از روش Lichthentaler (1987) انجام شد.

گرم بافت/ میلی‌گرم کلروفیل a = {12.7(A663)-2.69(A645)}*V/W*1000

گرم بافت/ میلی‌گرم کلروفیل b = {22.9(A645)-4.68(A663)}* V/W*1000

گرم بافت/ میلی‌گرم کلروفیل کل = {20.2(A645)+8.02(A663)}* V/W*1000

کارتنوئید = C(x+c) = (1000*A470_1.8*cla_85.02*clb)/198

سنجش آنتوسیانین کل

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل، مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی پس از آماده‌سازی، در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (۴۲).

$$A=A_{530}-(0.25-A_{657})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شده است).

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپید

این شاخص براساس روش (استوارت و بیلی، ۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۳ و ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسیدشدن لیپیدها از اختلاف بین طول موج‌های جذبی در ضریب خاموشی $155 mM^{-1}cm^{-1}$ بدست آمد.

$$(A_{532}) - (A_{600})*155*5$$

سنجش محتوای رطوبت نسبی برگ

برای سنجش محتوای رطوبت نسبی برگ از روش چارتولوزکی و همکاران (۱۱) استفاده شد. ابتدا برگ‌های سالم، بدون پارگی و عاری از آفات را انتخاب کرده و با دقت با ترازوی حساس توزین و برگ‌های توزین شده درون فالکون حاوی آب مقطر غوطه‌ور شدند. بعد از گذشت مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، برگ‌های اشباع شده توزین کرده و ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد درون آون خشک شدند و سپس توزین شدند و از طریق فرمول زیر محتوای رطوبت نسبی آب برگ محاسبه شد. در فرمول بالا F_W وزن تر برگ گیاه بعد از نمونه برداری، D_W وزن خشک برگ بعد از قرارگیری در آون و S_W نیز وزن اشباع برگ گیاه بعد از قرارگیری در آب مقطر است.

$$RWC = \frac{Fw-Dw}{Sw-Dw} \times 100$$

سنجش نشت یونی

جهت اندازه‌گیری میزان نشت یونی ابتدا یک برگ از هر تیمار جدا نموده سپس برگ‌ها به شش تکه مساوی تقسیم و درون فالکون با آب مقطر به حجم ۱۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در محیط تاریک قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت EC_1 خوانده شد. در مرحله دوم جهت اندازه‌گیری EC_2 نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به بن‌ماری منتقل شد و سپس EC2 خوانده شد.

$$\frac{EC1}{EC2} \times 100$$

سنجش فعالیت درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)

جهت اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد ۲ میلی‌لیتر عصاره با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH٪۰/۰۰۴ مخلوط گردید. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد (I%) هر عصاره به کمک فرمول ذیل محاسبه شد (۴۱).

$$\%I = (A_{control}-A_{sample}) / A_{control} \times 100$$

استخراج محلول آنزیمی

جهت استخراج محلول‌های آنزیمی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز ۰/۵ گرم از نمونه برگی با استفاده از هاون چینی کاملا سرد و نیتروژن مایع سابیده شدند و سپس به آن۲ میلی‌لیتر از بافرفسفات سرد (pH=7) محتوی ۰/۵EDTA میلی‌مولار، اضافه شد. هموژن‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش، به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. برای پیشگیری از اثرات مضر انجماد و ذوب متوالی نمونه‌ها، محلول آنزیمی تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شد (۴۹). آنزیم آسکوربات پراکسیداز دوام کمی در محیط خارج از سلول دارد به طوری‌که برخی از ایزوزیم‌های آن، نیمه‌ی عمر کمتر از ۲ دقیقه در محیط‌های با غلظت پائین آسکوربات دارند. به همین دلیل جهت حفظ ساختار و پایداری آن به محلول استخراج آنزیم پلی‌وینیل پیرولیدین (۵٪) و آسکوربات ۲ میلی‌مولار اضافه شد و در سایر موارد استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشابه آنزیم‌های فوق می‌باشد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش لوک (۱۹۷۴) استفاده شد.۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۹۸۰ میکرولیتر از بافر فسفات حاوی آب اکسیژنه دو میلی‌مولار مخلوط شدند و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد.

گایاکول پراکسیداز

کمپلکس واکنشی (۲ میلی‌لیتر) شامل ۱ میلی‌لیتر بافرفسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (PH=7)، ۲۵۰ میکرولیتر از ۰/۱EDTA میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۵ میلی‌مولار، ۱ میلی‌لیتر پراکسید ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شد. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی شروع شده و افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیمی بر اساس میزان تتراگایاکول تشکیل شده و با استفاده از ضریب خاموشی $1/33\ mmol^{1}.cm^{-1}$ به‌دست آمد (۶۰).

نتایج و بحث

آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که در سطوح مختلف پوترسین، اسید سالیسیلیک و شوری کلیه صفات رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین معنی‌دار بود. همچنین نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر متقابل پوترسین، اسید سالیسیلیک و شوری فقط در صفات آنتوسیانین و نشت یونی معنی‌دار بود. همچنین در سطوح مختلف اسید سالیسیلیک مقدار مالون‌دی آلدئید در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج حاکی از آن است که در سطوح مختلف شوری و پوترسین میزان محتوای رطوبت نسبی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار می‌گردد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرپوترسین، اسیدسالیسیلیک و شوری بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیک گیاه استویا

Table 1. Variance analysis of the effects putrescine, salicylic acid and salinity on some physiological characterists of stevia plant

منبع تغییرات	درجه آزادی	a کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم)	b کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گر م)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
پوترسین	۲	۰/۰۰۰۵۱*	۰/۰۰۵۳**	۰/۰۰۴۵**	۰/۰۰۰۱۶**	۰/۰۳۴۰**	۲۱۸۸/۹**	۱۹۰/۱**	۲۱۴/۳۲**
اسید سالیسیلیک	۱	۰/۰۰۱۱**	۰/۰۰۱۶*	۰/۰۰۶۴**	۰/۰۰۰۱۷**	۰/۰۱۵۶**	۱۸۸۱/۹**	۱۱/۰۸^{ns}	۷/۰۷^{ns}
شوری	۲	۰/۰۰۷۱**	۰/۰۰۱۸**	۰/۰۴۴**	۰/۰۰۰۲۵**	۰/۰۲۳۲**	۲۷۸۲/۵**	۶۳۸/۴**	۱۰۶۷/۸**
پوترسین×اسیدسالیسیلیک	۲	۰/۰۰۳۹**	۰/۰۲۱**	۰/۰۴۵**	۰/۰۰۰۲۰**	۰/۰۱۰۴**	۱۷۴/۱*	۲۵۵/۲**	۳۰۱/۶**
پوترسین×شوری	۴	۰/۰۰۰۳۲*	۰/۰۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۱۲^{ns}	۰/۰۰۰۰۴*	۰/۰۰۸۸**	۱۰/۳^{ns}	۵/۲۳^{ns}	۱۳۲/۸**
شوری× اسیدسالیسیلیک	۲	۰/۰۰۰۳۴^{ns}	۰/۰۰۲۵*	۰/۰۰۳۹**	۰/۰۰۰۰۹۷**	۰/۰۰۷۹**	۲۳۶/۲**	۱۶۳/۷**	۱۵۴/۲**
پوترسین×اسید سالیسیلیک×شوری	۴	۰/۰۰۰۲۴^{ns}	۰/۰۰۰۸۹^{ns}	۰/۰۰۰۹۵^{ns}	۰/۰۰۰۰۳۳^{ns}	۰/۰۰۷۹**	۲۸۶/۴**	۱۲/۱^{ns}	۱۳۹/۹**
ضریب تغییرات		۴/۹۹	۳/۷۷	۲/۶۹	۵/۵۲	۷/۷۶	۱۵/۱	۵/۴۲	۵/۴۲

**: معنی‌دار در سطح ۱ درصد، *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns: غیرمعنی‌دار

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پوترسین، اسید سالیسیلیک و شوری بربرخی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا
Table 2. Variance analysis of the effects putrescine, salicylic acid and salinity on some antioxidant characterists of stevia plant

منبع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز (u/gr plant)	پراکسیداز (u/gr plant)	مهار رادیکال آزاد (Mmol/gr/fw)
پوترسین	۲	۰/۰۳۸**	۱۰۴/۰۵**	۴۷۷/۹۶**
اسید سالیسیلیک	۱	۰/۰۷۸**	۱۳۲/۸۸**	۱۶/۶۴^{ns}
شوری	۲	۰/۱۱۲**	۵۴/۵۷**	۴۹۵/۱۲**
پوترسین×اسیدسالیسیلیک	۲	۰/۲۳۵**	۴۷/۲۴**	۴/۹۴ ^{ns}
پوترسین×شوری	۴	۰/۰۰۳۱^{ns}	۳/۶۸**	۱۶/۶۱^{ns}
شوری× اسیدسالیسیلیک	۲	۰/۰۰۴۲^{ns}	۱/۷۲^{ns}	۵/۲۰^{ns}
پوترسین×اسید سالیسیلیک×شوری	۴	۰/۰۰۳^{ns}	۵/۴۰**	۶/۷۰^{ns}
ضریب تغییرات		۱۱/۶۳	۸/۸۰	۵/۴۸

**: معنی‌دار در سطح ۱ درصد، *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns: غیرمعنی‌دار

مقایسه میانگین اثر پوترسین نشان داد که مقادیر کلروفیل a و کلروفیل کل در سطوح مختلف پوترسین نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد. همچنین با افزایش سطوح پوترسین مقدار کارتنوئید افزایش یافت. نتایج حاکی از آن بود که در غلظت یک میلی‌مولار پوترسین مقدار آنتوسیانین نسبت به نمونه شاهد روند صعودی را نشان داد از طرفی مقدار کلروفیل b نسبت به نمونه شاهد روند کاهشی را نشان داد. در سطوح مختلف پوترسین مقادیر پراکسیداسیون لیپید (مالون‌دی‌آلدئید) و محتوای‌رطوبت نسبی برگ کاهش یافت (جدول ۳).

مقایسه میانگین اثر پوترسین بر مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که مقادیر آنزیم کاتالاز و پراکسیداز با افزایش سطوح پوترسین روند صعودی معنی‌داری را نشان داد .

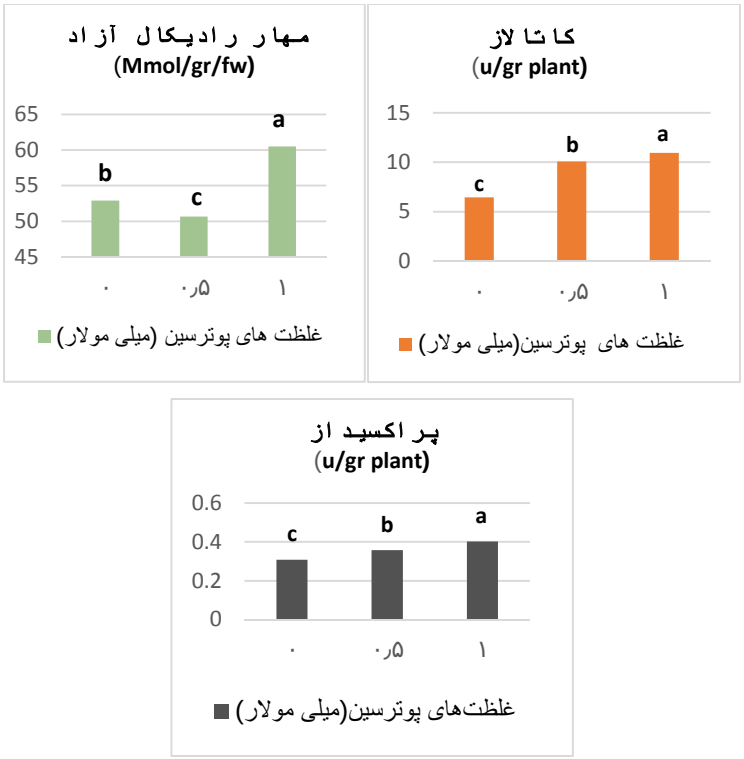
همچنین در سطح یک میلی‌مولار پوترسین درصد مهار رادیکال آزاد نسبت به نمونه شاهد روند صعودی معنی‌داری را نشان داد (شکل ۱).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک نسبت به نمونه شاهد روند کاهشی را نشان داد. از طرفی در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مقادیر کارتنوئید و آنتوسیانین روند افزایشی را نشان دادند (جدول ۴). همچنین مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حاکی از آن بود که مقادیر درصد مهار رادیکال آزاد، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک روند افزایشی را نسبت به نمونه شاهد نشان داد (شکل ۲).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پوترسین بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی در گیاه استویا
Table 3. Means comparison of the effects putrescine on some physiological characterists of stevia plant

پوترسین (میلی مولار)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیلb (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل(میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم)	مالون‌دی‌آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
۰	۰/۲۱۴^{b}	۰/۶۲۵^{b}	۰/۸۴۷^{b}	۰/۰۶۳^{b}	۰/۱۳۶^{b}	۵۴/۵۷۵^{a}	۷۵/۳۵۳^{a}	۴۶/۴۶۷^{b}
۰/۵	۰/۲۲۵^{a}	۰/۶۵۰^{a}	۰/۸۷۵^{a}	۰/۰۶۶^{a}	۰/۱۲۵^{c}	۳۳/۰۴۶^{c}	۷۱/۰۳۴^{b}	۴۱/۸۵۴^{C}
۱	۰/۲۲۱^{ab}	۰/۶۱۸^{b}	۰/۸۴۸^{b}	۰/۰۶۹^{a}	۰/۲۰۵^{a}	۳۹/۶۶۳^{b}	۶۸/۹۸۵ ^{b}	۴۸/۵۹۴^{a}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات پوترسین بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه استویا

Figure 1. Means comparison of the effects putrescine on some antioxidant characterists of stevia plant

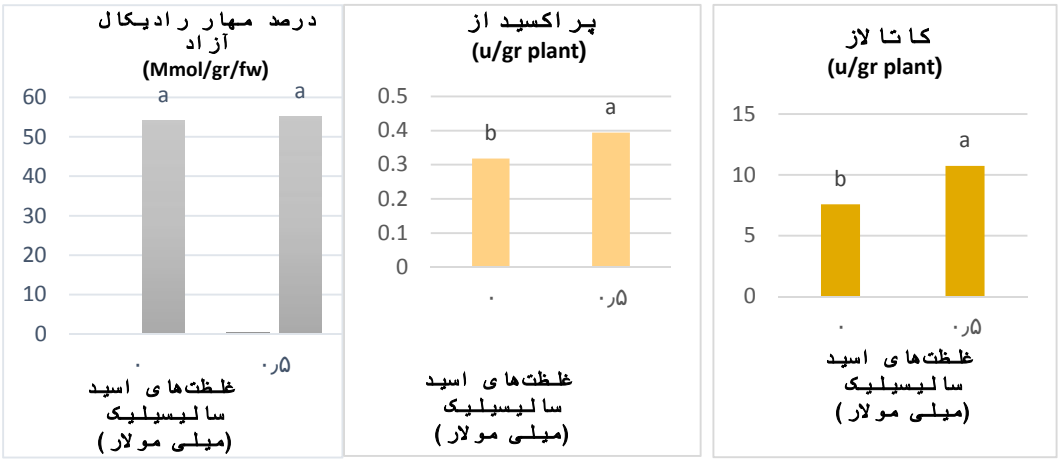
در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا

Table 4. Means comparison of the effects salicylic acid on some physiological characterists of stevia plant

اسید سالیسیلیک (میلی مولار)	کلروفیلa (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیلb (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم)	مالون‌دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
۰	۰/۲۲۵^{a}	۰/۶۳۶^{a}	۰/۸۶۸^{a}	۰/۰۶۴^{b}	۰/۱۳۸^{b}	۳۶/۵۲۴^{b}	۷۲/۲۴۴^{a}	۴۵/۹۹۷^{a}
۰/۵	۰/۲۱۵^{b}	۰/۶۲۵^{b}	۰/۸۴۶^{b}	۰/۰۶۸^{a}	۰/۱۷۲^{a}	۴۸/۳۳۱^{a}	۷۱/۳۳۷^{a}	۴۵/۲۷۳^{a}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه استویا

Figure 2. Means comparison of the effects salicylic acid on some antioxidant characterists of stevia plant

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین اثر شوری نشان داد که مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با افزایش سطوح شوری، روند کاهشی معنی‌داری را نشان داد. به علاوه با افزایش سطوح شوری میزان کارتنوئید و آنتوسیانین افزایش یافت. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش غلظت شوری میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی روند صعودی معنی‌داری را نشان داد. همچنین با افزایش سطوح شوری میزان محتوای رطوبت نسبی برگ نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت (جدول ۵).

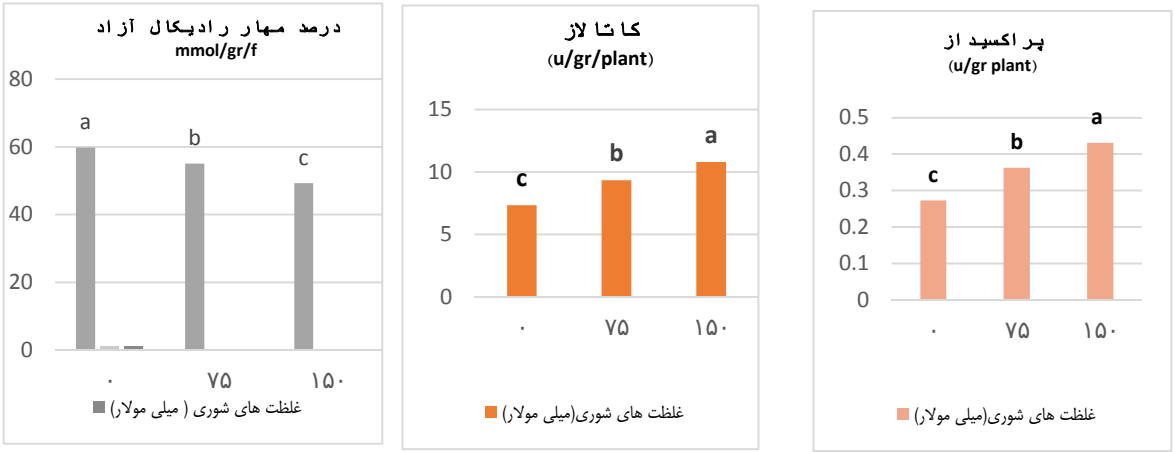
نتایج حاکی از آن بود که با افزایش شوری میزان کاتالاز و پراکسیداز روند صعودی معنی‌داری را نشان دادند. همچنین میزان درصد مهار رادیکال آزاد با افزایش شوری روند کاهشی را نشان داد (نمودار ۳).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر شوری بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا

Table 5. Means comparison of the effects salinity on some physiological characterists of stevia plant

شوری (میلی مولار)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیلb (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
۰	۰/۲۴۰^{a}	۰/۶۶۶ ^{a}	۰/۹۰۹^{a}	۰/۰۶۳^{b}	۰/۱۲۰^{c}	۳۱/۹۶۱^{c}	۷۸/۱۱۷^{a}	۳۷/۹۰۲^{c}
۷۵	۰/۲۲۱^{b}	۰/۶۲۵^{b}	۰/۸۵۱^{b}	۰/۰۶۶^{a}	۰/۱۵۵^{b}	۳۹/۱۵۲^{b}	۷۰/۹۶۳^{b}	۴۵/۶۹۸^{b}
۱۵۰	۰/۲۰۰^{c}	۰/۶۰۲^{c}	۰/۸۱۰^{c}	۰/۰۷۰^{a}	۰/۱۹۱^{a}	۵۶/۱۷۱^{a}	۵۶/۲۹۲^{c}	۵۳/۳۰۶^{a}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات شوری بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه استویا

Figure 3. Means comparison of the effects salinity on some antioxidant characterists of stevia plant

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و اسیدسالیسیلیک بر محتوای رنگریزه‌های فتوسنتزی نشان دادکه در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش سطوح پوترسین روند مطلوبی در مقادیر کلروفیلی مشاهده نشد. در غلظت یک میلی‌مولار پوترسین و ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مقدار آنتوسیانین نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی معنی‌داری داشت. بررسی‌ها نشان داد که در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و سطوح ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار پوترسین میزان پراکسیداسیون لیپید نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. همچنین اثر برهمکنشی پوترسین و اسید سالیسیلیک نشان داد که در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش پوترسین میزان نشت یونی افزایش یافت از طرفی مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ با افزایش سطوح پوترسین و در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک کاهش یافت (جدول ۶).

مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و اسید سالیسیلیک نشان داد که در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش سطوح پوترسین میزان آنزیم کاتالاز نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد. همچنین در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و در سطوح مختلف پوترسین مقدار آنزیم پراکسیداز نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱ میلی‌مولار پوترسین مقدار درصد مهار رادیکال آزاد نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد (جدول ۷).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و اسید سالیسیلیک بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا

Table 6. Means comparison of the intermediate effects putrescine and salicylic acid on some physiological characterists of stevia plant

اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار)	پوترسین (میلی‌مولار)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
	۰	۰/۲۰۵^{c}	۰/۶۰۴^{b}	۰/۸۱۴^{c}	۰/۰۵۸^{b}	۰/۱۳۱^{cd}	۴۹/۳۷۶^{b}	۷۱/۵۰۲^{bc}	۵۱/۱۰۷^{a}
۰	۰/۵	۰/۲۲۸^{b}	۰/۶۴۳^{a}	۰/۸۷۶^{b}	۰/۰۶۶^{a}	۰/۱۲۴^{d}	۲۹/۸۴۱^{d}	۷۳/۱۰۰^{bc}	۳۸/۳۲۷^{e}
	۱	۰/۲۴۱^{a}	۰/۶۶۲^{a}	۰/۹۱۳^{a}	۰/۰۷۰^{a}	۰/۱۶۰^{b}	۳۰/۳۵۷^{cd}	۷۲/۱۲۹^{bc}	۴۸/۵۵۹^{b}
	۰	۰/۲۲۴^{b}	۰/۶۴۵^{a}	۰/۸۸۰^{b}	۰/۰۶۹^{a}	۰/۱۴۱^{c}	۵۹/۷۷۴^{a}	۷۹/۲۷۳^{a}	۴۱/۸۲۷^{d}
۰/۵	۰/۵	۰/۲۲۲^{b}	۰/۶۵۷^{a}	۰/۸۷۵^{b}	۰/۰۶۷^{a}	۰/۱۲۶^{d}	۳۶/۲۵۱^{c}	۶۸/۹۶۸^{cd}	۴۵/۳۶۳^{c}
	۱	۰/۲۰۱^{c}	۰/۵۷۳^{c}	۰/۷۸۲^{d}	۰/۰۶۹^{a}	۰/۲۵۰^{a}	۴۸/۹۶۹^{b}	۶۵/۸۴۱^{d}	۴۸/۶۳۰^{b}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و اسید سالیسیلیک بر برخی از خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاه استویا

Table 7. Means comparison of the intermediate effects putrescine and salicylic acid on some antioxidant characterists of stevia plant

اسید سالیسیلیک (میلی مولار)	پوترسین (میلی مولار)	کاتالاز (u/gr plant)	پراکسیداز (u/gr plant)	درصد مهار رادیکال آزاد (Mmol/gr/fw)
	۰	۰/۳۰۹^{c}	۶/۶۱۶^{cd}	۵۲/۴۱۰^{b}
۰	۰/۵	۰/۳۱۶^{c}	۷/۰۸۱^{c}	۵۰/۵۹۴^{b}
	۱	۰/۳۲۹^{c}	۹/۰۷۴^{b}	۵۹/۳۹۲^{a}
	۰	۰/۳۱۰^{c}	۶/۲۴۲^{d}	۵۳/۴۳۹^{b}
۰/۵	۰/۵	۰/۳۹۸^{b}	۱۳/۰۹۴^{a}	۵۰/۷۰۰^{b}
	۱	۰/۴۷۴^{a}	۱۲/۸۴۷^{a}	۶۱/۵۸۹^{a}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد

مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و شوری بر محتوای رنگریزه‌های فتوسنتزی نشان داد که در سطوح مختلف شوری (۱۵۰و ۷۵ میلی‌مولار) با افزایش سطوح پوترسین اثر معنی‌داری در صفات کلروفیل a، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید مشاهده نشد، ولی مقدار آنتوسیانین در سطوح مختلف شوری و در غلظت ۱ میلی‌مولار پوترسین نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. همچنین در سطوح مختلف شوری (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و در سطوح مختلف پوترسین روند کاهشی در مقدار مالون‌دی‌آلدئید مشاهده گردید. از طرفی مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و شوری نشان دادکه در سطح ۱۵۰ میلی مولارشوری و سطوح مختلف پوترسین مقدار نشت یونی نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. به‌علاوه در سطوح مختلف شوری با افزایش پوترسین مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ نسبت به نمونه شاهد روند کاهشی را نشان داد (جدول ۸).

مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و شوری بر برخی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانی نشان داد که در سطوح مختلف شوری (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) با افزایش سطوح پوترسین مقادیر آنزیم کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت که این روند افزایشی، معنی‌دار بود از طرفی در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری و ۱ میلی‌مولار پوترسین درصد مهار رادیکال آزاد نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت (جدول ۹).

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و شوری بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا

Table 8. Means comparison of the intermediate effects putrescine and salinity on some physiological characterists of stevia plant

شوری (میلی‌مولار)	پوترسین (میلی‌مولار)	کلروفیلa (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیلb (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
۰	۰	۰/۲۲^{b}	۰/۶۵^{bc}	۰/۸۹^{b}	۰/۰۶^{c}	۰/۱۱^{f}	۴۳^{cd}	۸۰/۷۴^{a}	۳۴/۹۸^{e}
	۰/۵	۰/۲۵^{a}	۰/۶۸^{a}	۰/۹۲^{a}	۰/۰۶^{b}	۰/۱۱^{f}	۲۲/۰۹^{f}	۷۷/۴۰^{ab}	۳۹/۵۷^{d}
	۱	۰/۲۴^{a}	۰/۶۷^{ab}	۰/۹۲^{a}	۰/۰۷^{b}	۰/۱۳^{de}	۳۰/۸۰^{e}	۷۶/۲۲^{ab}	۳۹/۱۶^{d}
۷۵	۰	۰/۲۲^{b}	۰/۶۳^{cd}	۰/۸۵^{cd}	۰/۰۶^{b}	۰/۱۵^{cd}	۵۱/۳۸^{b}	۷۴/۹۸^{b}	۴۶/۴۰^{bc}
	۰/۵	۰/۲۳^{b}	۰/۶۵^{bc}	۰/۸۸^{bc}	۰/۰۶^{bc}	۰/۱۳^{e}	۳۰/۰۷	۶۹/۷۱^{c}	۴۱/۴۴^{d}
	۱	۰/۲۲^{b}	۰/۶۰^{de}	۰/۸۳^{d}	۰/۰۷^{a}	۰/۱۹^{b}	۳۶/۰۱^{de}	۶۸/۱۹ ^{c}	۴۹/۲۶^{bc}
۱۵۰	۰	۰/۲۰^{c}	۰/۶۰^{e}	۰/۸۰^{e}	۰/۰۷^{b}	۰/۱۵^{c}	۶۹/۳۵^{a}	۷۰/۳۴^{c}	۵۸/۰۲^{a}
	۰/۵	۰/۲۰^{c}	۰/۶۲^{cd}	۰/۸۳^{d}	۰/۰۷^{a}	۰/۱۳^{de}	۴۶/۹۹^{bc}	۶۵/۹۹^{cd}	۴۴/۵۳^{c}
	۱	۰/۲۰^{c}	۰/۵۹^{e}	۰/۸۰^{e}	۰/۰۷^{a}	۰/۲۹^{a}	۵۲/۱۸^{b}	۶۲/۵۵^{d}	۵۷/۳۷^{a}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و شوری بر برخی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا

Table 9. Means comparison of the intermediate effects putrescine and salicylic acid on some antioxidant characterists of stevia plant

شوری (میلی‌مولار)	پوترسین (میلی‌مولار)	کاتالاز (u/gr plant)	پراکسیداز (u/gr plant)	مهار رادیکال آزاد (Mmol/gr/fw)
۰	۰	۰/۲۴^{f}	۴/۲۲^{f}	۵۸/۱۱^{bc}
	۰/۵	۰/۲۷^{ef}	۸/۲۳^{d}	۵۷/۵۴^{c}
	۱	۰/۳۱^{de}	۹/۵۵^{bc}	۶۳/۶۲^{a}
۷۵	۰	۰/۳۰^{e}	۶/۰۵^{e}	۵۳/۱۳^{de}
	۰/۵	۰/۳۶^{cd}	۱۰/۴۲^{b}	۵۰/۴۲^{ef}
	۱	۰/۴۴^{ab}	۱۱/۵۶^{a}	۶۱/۵۲^{ab}
۱۵۰	۰	۰/۳۹^{bc}	۹/۰۲^{cd}	۴۷/۵۳^{f}
	۰/۵	۰/۴۵^{a}	۱۱/۶۱^{a}	۴۳/۹۸^{g}
	۱	۰/۴۶^{a}	۱۱/۷۷^{a}	۵۶/۳۳^{cd}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد

مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و شوری نشان داد که در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش شوری میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل روند کاهشی را نشان داد ولی مقادیر کارتنوئید و آنتوسیانین افزایش داشت. بررسی‌ها نشان داد که در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش سطوح شوری مقادیر (مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی) افزایش یافت. از طرفی مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ روند کاهشی را نشان داد (جدول ۱۰).

جدول۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و شوری بربرخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه استویا

Table 10. Means comparison of the intermediate effects salicylic acid and salinity on some physiological characterists of stevia plant

اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار)	شوری (میلی‌مولار)	کلروفیلa (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیلb (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	محتوای رطوبت نسبی برگ (درصد)	نشت یونی (درصد)
۰	۰	۰/۲۴۱^{a}	۰/۶۵۹^{a}	۰/۹۰۶^{a}	۰/۰۵۹^{c}	۰/۱۲۱^{d}	۲۹/۶۶۰^{c}	۷۵/۳۹۱^{b}	۳۵/۴۴۲^{e}
	۷۵	۰/۲۲۴^{b}	۰/۶۳۱^{b}	۰/۸۶۰^{b}	۰/۰۶۳^{b}	۰/۱۴۳^{c}	۳۳/۲۸۹^{c}	۷۱/۷۷۳^{bc}	۴۵/۸۵۹^{c}
	۱۵۰	۰/۲۰۹^{c}	۰/۶۱۹^{b}	۰/۸۳۷^{c}	۰/۰۷۱^{a}	۰/۱۵۱^{c}	۴۶/۶۲۴^{b}	۶۹/۵۶۷^{c}	۵۶/۶۹۱ ^{a}
۰/۵	۰	۰/۲۳۸^{a}	۰/۶۷۲^{a}	۰/۹۱۱^{a}	۰/۰۶۷^{a}	۰/۱۱۸^{d}	۳۴/۲۶۱^{c}	۸۰/۸۴۲^{a}	۴۰/۳۶۱^{d}
	۷۵	۰/۲۱۸^{bc}	۰/۶۱۹^{b}	۰/۸۴۳^{bc}	۰/۰۶۸^{a}	۰/۱۶۷^{b}	۴۵/۰۱۶ ^{b}	۷۰/۱۵۳^{c}	۴۵/۵۳۸ ^{c}
	۱۵۰	۰/۱۹۰^{d}	۰/۵۸۵^{c}	۰/۷۸۳ ^{d}	۰/۰۷۰^{a}	۰/۲۳۱^{a}	۶۵/۷۱۸^{a}	۶۳/۰۱۷^{d}	۴۹/۹۲۱^{b}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک نشان داد که در سطح ۷۵و۱۵۰ میلی‌مولار شوری با افزایش اسید سالیسیلیک مقادیر کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت ولی در سطح ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش شوری میزان درصد مهار رادیکال آزاد روند کاهشی معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل پوترسین، اسید سالیسیلیک و شوری بر برخی از خصوصیات آنتی‌اکسیدانی حاکی از آن بود که در سطح ۷۵ میلی‌مولار شوری و ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با افزایش سطوح پوترسین روند افزایشی در مقدار نشت‌یونی مشاهده گردید. همچنین در سطوح مختلف شوری و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار با افزایش مقدار پوترسین مقدار مالون‌دی‌آلدئید روند کاهشی را نشان داد. از طرفی در سطوح مختلف شوری و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار مقدار پراکسیداز در سطوح مختلف پوترسین روند افزایشی نسبت به نمونه شاهد را نشان داد (جدول ۱۲).

جدول ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و شوری بر برخی از خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاه استویا

Table 11. Means comparison of the intermediate effects salicylic acid and salinity on some antioxidant characterists of stevia plant

اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار)	شوری (میلی‌مولار)	کاتالاز (u/gr/plant)	پراکسیداز (u/gr/plant)	مهار رادیکال آزاد (Mmol/gr/fw)
	۰	۰/۲۴۷^{d}	۶/۱۱۰ ^{e}	۵۹/۰۷۲^{a}
۰	۷۵	۰/۳۰۸ ^{c}	۷/۵۲۱^{d}	۵۵/۰۵۸^{b}
	۱۵۰	۰/۳۹۹^{b}	۹/۱۴۰^{c}	۴۸/۲۶۷^{c}
	۰	۰/۳۰۰^{c}	۸/۵۵۷^{c}	۶۰/۴۴۱^{a}
۰/۵	۷۵	۰/۴۱۹^{b}	۱۱/۱۶۴^{b}	۵۴/۹۸۷^{b}
	۱۵۰	۰/۴۶۳^{a}	۱۲/۴۶۲^{a}	۵۰/۳۰۰^{c}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

جدول ۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین، اسید سالیسیلیک و شوری بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و آنتی اکسیدانی گیاه استویا

Table 12. Means comparison of the intermediate effects putrescine and salicylic acid on some physiological characterists of stevia plant

شوری (میلی‌مولار)	اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار)	پوترسین (میلی‌مولار)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تر)	نشت یونی (درصد)	پراکسیداز (u/gr plant)
۰		۰	۳۹/۸۷^{de}	۳۸/۶۴^{gh}	۴/۷۰^{jk}
۷۵	۰/۵	۰/۵	۲۴/۵۴^{f}	۴۳/۸۸^{df}	۹/۷۷^{d}
۱۵۰		۱	۳۸/۴۶^{de}	۳۸/۵۶^{gh}	۱۱/۱۹^{c}
۰		۰	۵۲/۱۸^{bc}	۴۲/۰۳^{f}	۵/۰۶^{ij}
۷۵	۰/۵	۰/۵	۳۵/۶۴^{e}	۴۴/۳۸^{df}	۱۴/۰۴^{b}
۱۵۰		۱	۴۷/۲۲^{cd}	۵۰/۲۰^{c}	۱۳/۸۵^{b}
۰		۰	۸۷/۳۶^{a}	۴۴/۸۱^{df}	۸/۴۲^{ef}
۷۵	۰/۵	۰/۵	۴۸/۵۶^{cd}	۴۷/۸۳^{ce}	۱۵/۴۶^{a}
۱۵۰		۱	۶۱/۲۲^{b}	۵۷/۱۲^{b}	۱۳/۵۰^{b}

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

تنش شوری رشد و نمو گیاه را کاهش می‌دهد. به‌دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک در اثر تنش شوری، جذب آب کاهش و در نتیجه روزنه‌ها بسته شده و میزان تنفس و فتوسنتز کاهش می‌یابد. این موضوع یکی از دلایل کاهش رشد گیاه است (۹). شوری منجر به تغییراتی در فراساختار کلروپلاست می‌گردد. از سویی کاهش محتوای کلروفیلی برگ‌ها در غلظت‌های زیاد نمک ممکن است به علت تخریب غشاء و صدمه به زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها مربوط باشد که این وقایع به دلیل تجمع یون‌ها، بی‌ثباتی و سست شدن اتصال پروتئین به رنگیزه، به علت افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز صورت گیرد (۳۵). نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش محتوای کلروفیل شد ولی مقادیر کاروتنوئید و آنتوسیانین افزایش یافت. این پژوهش با نتایج پریدا و داس (۴۵) مطابقت دارد. آنها گزارش دادند که شوری سبب کاهش مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل گردید. همچنین تنش شوری منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء گردیدکه این مهم از طریق سنجش MDA به دست آمدکه نشان‌دهنده اثر رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده ناشی از تنش می‌باشد. باندلیگو و همکاران (۵) گزارش مشابهی در این خصوص ارائه دادند. علاوه بر آن ساریام و همکاران (۵۰) بیان داشتند مقدار مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش شوری در سه رقم گندم افزایش یافت.

نتایج حاصل از داده‌های این پژوهش نشان داد تنش شوری سبب افزایش درصد مهار رادیکال آزاد گردید. سیدسل

فیسکا و همکاران (۵۶) بیان داشتند که افزایش تنش شوری سبب افزایش فعالیت درصد مهار رادیکال آزاد در گیاه کلم گردید (۵۶) که با یافته‌های این پژوهش مطابقت داشت. تنش‌شوری منجر به تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که در غلظت‌های بالا برای سلول زیان آور هستند. این ترکیبات باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلول می‌شوند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز باعث حذف و غیرفعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (۷). براساس‌تحقیقات پژوهشگران، تنش شوری سبب تبدیل رادیکال سوپراکسید (O_2) به پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در درون سلول شده، این امر مانع فعالیت چرخه کلوین و در نهایت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از اثرات سوء تشکیل پراکسید هیدروژن به فرایند قندسازی در کلروپلاست جلوگیری می‌کنند (۵۵). بنابراین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش شوری در گیاه استویا نقش حفاظتی این آنزیم تحت تنش شوری را بیان می‌کند. نتایج این تحقیق با پژوهش حبیب‌الهی و همکاران (۲۱) مطابقت دارد. آنها گزارش دادند تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه برنج گردید. همچنین مومنی و همکاران (۳۹) بیان داشتند تنش شوری سبب افزایش آنزیم پراکسیداز در گیاه ذرت گردید که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. در تنش شوری، میزان آنتی اکسیدان‌ها افزایش‌یافته و آنزیم‌های مهارکننده ROSها در جهت کاهش اثرات سمی افزایش پیدا می‌کند. غلظت این بیوملکول‌ها پس از مواجه گیاه با تنش به سرعت افزایش یافته و هزینه‌های پاسخ به تنش را در گیاه تعدیل می‌کند (۲۳). علت کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ را کاهش جذب آب از ریشه‌ها در شرایط خشک دانستند (۱۴). به علاوه کاهش در محتوای نسبی آب در گیاهان تحت تنش‌هایی نظیر شوری، ممکن است به‌دلیل از دست رفتن فشار تورگر (تورژنسانس) که در نتیجه محدود شدن دسترسی آب برای سلول است باشد (۲۵). الخلال و همکاران (۱۵) گزارش دادند تنش شوری سبب کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ در گیاه ذرت گردیده است. همچنین در این پژوهش تنش شوری سبب افزایش نشت یونی در گیاه استویا گردید که با یافته‌های بیات و همکاران (۶) مطابقت دارد. آنها گزارش دادند تنش شوری سبب افزایش نشت یونی در گیاه همیشه بهار گردید. اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک تنظیم‌کننده شبه هورمونی و مولکول سیگنال داخلی محسوب می‌شود که اساسا در مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان دخالت می‌نماید. گیاهان در واکنش به تنش‌های زنده و غیرزنده محیطی، پروتئین‌هایی تولید می‌کنند و القاء و تحریک اینچنین پروتئین‌ها توسط فیتوهورمون‌هایی نظیر اسید سالیسیلیک ایجاد می‌شود (۴۳). تاثیر اسید سالیسیلیک بر روی میزان کلروفیل در تمام گیاهان یکسان نیست، حتی گمان می‌رود در واریته‌های یک گونه یا رقم آن نیز تاثیر اسید سالیسیلیک بر روی میزان کلروفیل یکسان نباشد (۳۷). به علاوه در رابطه با چگونگی اثر مثبت یا منفی اسید سالیسیلیک روی بیوسنتز و یا مقدارکلروفیل گزارش دقیقی وجود ندارد ولی به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک یک اثر بهبود دهندگی روی کاهش میزان کلروفیل در گیاه استویا داشته باشد. مهاریکار و همکاران (۳۸) گزارش دادند که میزان کلروفیل با کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه گندم کاهش پیدا کرد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. با توجه به اینکه کاروتنوئید به‌عنوان رنگیزه‌های کمکی با مرکز واکنش در فتوسنتز ایفای نقش می‌کند و همچنین از طریق چرخه گزانتوفیل باعث حفاظت نوری از کلروفیل می‌شود (۲۲)، از اینرو به نظر می‌رسد که یکی از مکانیسم‌های احتمالی تاثیر بهبوددهندگی اسید سالیسیلیک در رشد گیاهان از طریق اثر برروی افزایش روند تولید ترکیبات کاروتنوئیدی در گیاه استویا بوده باشد. در این رابطه گزارش شده است که اسید سالیسیلیک باعث بیان هشت ژن از ترکیبات کاروتنوئیدی می‌شود (۱۷). بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش ترکیبات کاروتنوئیدی در گیاه استویا باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش می‌شود. به طوری‌که مهاریکار و همکاران (۳۸) گزارش دادند کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش میزان کاروتنوئید در گیاه گندم گردید. از این رو به نظر می‌رسد که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان ترکیبات کاروتنوئیدی در گیاهان می‌شود. آنتوسیانین‌ها به عنوان یک گروه از فلاونوئیدهای محلول در آب هستند که در یک نقطه پایانی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها در سیتوپلاسم ساخته شده‌اند و به شکل فعال و یا جداگانه به داخل یاخته‌ها با پمپ گلوتاتیون وارد می‌شوند. به علاوه آنتوسیانین‌ها می‌توانند در هماهنگی با ملکول‌های حفاظتی در یاخته‌های گیاهی عمل خود را انجام دهند و برای جبران نقص در غلظت ملکول‌ها در طی دوره تنش وارد عمل شوند. البته تئوری‌هایی وجود دارند که بیانگر آن است، آنتوسیانین‌ها در مکان‌های ویژه‌ای درون برگ‌ها برای کارایی بهینه گیاه وارد عمل می‌شوند. انباشتگی آنتوسیانین‌ها با محرک‌های محیطی گوناگون مانند UV، دمای پایین، حمله عوامل بیماری‌زا و چندین تنظیم‌کننده رشد مانند سیتوکنین، جیبرلین، اتیلن و اسید سالیسیلیک القاء می‌شود (۱). طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق اسیدسالیسیلیک سبب افزایش مقدار آنتوسیانین در گیاه استویا گردید. اکینونمی (۱) گزارش داد اسیدسالیسیلیک سبب افزایش مقدار آنتوسیانین در گیاه جعفری و لوبیای چشم بلبلی گردید. به کارگیری اسیدسالیسیلیک سبب افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید گردید. یوسفی‌زادی و همکاران (۶۵) در گیاه کتان سفید (*Linum album*) گزارش مشابهی در این خصوص ارائه داد.

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک سبب افزایش درصد مهار رادیکال آزاد گردید. در خصوص افزایش درصد مهار رادیکال آزاد جیسون و توماس (۱۸) بیان داشتند اسید سالیسیلیک با اثر بر روی H_2O_2 توان آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و از گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو حفاظت می‌کند. محرابی و شبرنگی (۵۳) بیان داشتند اسید سالیسیلیک سبب افزایش درصد مهار رادیکال آزاد در گیاه نعنا فلفلی گردید. نتایج این

پژوهش نشان داد اسید سالیسیلیک سبب افزایش مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) در گیاه استویا گردید. در این راستا حبیبی (۲۰) گزارش نمود که استفاده از اسیدسالیسیلیک سبب افزایش مقدار آنزیم کاتالاز در گیاه جو گردید. به علاوه شکیرووا و همکاران (۵۴) گزارش دادند اسید سالیسیلیک سبب افزایش مقدار پراکسیداز در گیاه ذرت گردید. نتایج این پژوهش نشان داد به کارگیری اسید سالیسیلیک سبب کاهش مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ و نشت‌یونی در گیاه استویا گردید.

بیات و همکاران (۶) در گیاه همیشه بهار و سعید (۵۹) در گیاه خردل اظهار داشتند به کارگیری اسید سالیسیلیک سبب کاهش نشت یونی گردید. پلی‌آمین‌ها هیدروکربن‌هایی با وزن ملکولی‌کم هستند که به‌دلیل خاصیت پلی‌کاتیونی می‌توانند با اتصال به ماکرومولکول‌های آنیونی شامل، فسفولیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها باعث ثبات بیولوژی غشا و ساختار سلول‌ها شوند (۲). پلی‌آمین‌های آلفاتیک مانند پوترسین، باعث کاهش تخریب کلروفیل شده و منجر به دریافت بیشتر نور برای بهبود فتوسنتز می‌شوند. نتایج حاصل از داده‌ها نشان داد به کارگیری پوترسین سبب افزایش محتوای کلروفیل و کارتنویید در گیاه استویا گردید. همچنین کاربرد پوترسین سبب افزایش مقدار کلروفیل a و کلروفیلb در گیاه برنج گردید (۱۲). که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد به علاوه مهروس و همکاران (۳۴) بیان داشتند به کارگیری پوترسین سبب افزایش مقدار کاروتنوئید در گیاه داوودی شده است که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. افزایش محتوای کلروفیلی بعد از کاربرد پوترسین به دلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آنهاست که از تخریب ساختار غشاء کلروپلاست جلوگیری می‌کند (۱۳). نتایج حاصل از داده‌ها نشان داد کاربرد پوترسین سبب کاهش مقدار مالون دی آلدئید گردید. همچنین خورشیدی و همکاران (۲۷) بیان داشتند استفاده از محرک پوترسین سبب کاهش مقدار مالون دی آلدئید در گیاه بادرنجبویه گردید که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. ساز و کار تاثیر پلی‌آمین‌ها بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تاکنون بررسی نشد ولی احتمال می رود پلی‌آمین‌ها به‌عنوان ملکول‌های علامتی زنجیره‌ای از واکنش‌های دفاعی را راه اندازی نمایند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از نتایج آن می‌باشد (۶۱). با توجه به یافته‌های این پژوهش کاربرد پلی‌آمین پوترسین سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز گردید. امرایی‌تبار و همکاران (۳) در بادام و هلو گزارش دادند به کارگیری پوترسین سبب افزایش مقدار آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گردیده است. پلی‌آمین‌ها با حفاظت از غشاء و کاهش نشت یونی موجب افزایش تحمل گیاهان به تنش می‌شوند. در نتیجه می‌توانند از طریق اتصال به ماکروملکول های آنیونی از جمله فسفولیپیدهای غشاء و پلی ساکاریدهای پکتینی باعث پایداری غشاء و کاهش نشت یونی شوند (۵۹). طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش کاربرد پلی‌آمین پوترسین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سبب کاهش نشت یونی گردید. در این راستا امرایی تبار و همکاران (۳) گزارش دادند اعمال کردن پوترسین سبب کاهش نشت یونی در گیاهان بادام و هلو گردید که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد .نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد به کارگیری پوترسین در سطح یک میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار در مقدار آنتوسیانین نسبت به نمونه شاهد گردید. در این راستا سیرویی‌نژاد و همکاران ۲۰۱۳ گزارش دادند میوه‌های تیمار شده با دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار پوترسین سبب افزایش مقدار آنتوسیانین گردید. طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش پوترسین سبب افزایش مقدار درصد مهار رادیکال آزاد در گیاه استویا گردید. ورما و میشرا (۳۶) بیان داشتند که پوترسین قادر است با کم کردن میزان پروکسید هیدروژن نقش آنتی اکسیدانی داشته باشد. همچنین پوترسین می‌تواند با خنثی کردن ROS از آسیب احتمالی آن بر سلول، جلوگیری کرده و باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه گردد (۵۱). نتایج اثر بر همکنشی پوترسین و شوری بر رنگریزه‌های فتوسنتزی گیاه استویا نشان داد که در سطوح مختلف شوری با افزودن پوترسین مقادیر رنگریزه‌های فتوسنتزی بهبود یافت. کاربرد پوترسین توانست اثر بازدارندگی شوری را بهبود ببخشد. اونال و همکاران (۶۲) مشاهداتی را ارائه دادند که پلی‌آمین‌ها نقش محافظت از کلروفیل و پروتئین را برعهده داشته و با کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها سبب ثبات در غشاء می‌شوند (۶۲). در این راستا کوهن و همکاران (۱۳) گزارش دادند، پوترسین توانست اثرات ناشی از تنش شوری را کاهش دهد و سبب افزایش میزان رنگریزه‌های فتوسنتزی گردد. نتایج به دست آمده از داده‌ها نشان داد که در سطوح مختلف شوری با افزایش سطوح پوترسین روند کاهشی در مقدار مالون‌دی‌آلدئید مشاهده شد. همچنین خورشیدی و همکاران (۲۷) بیان داشتند پوترسین توانست اثرات ناشی از تنش شوری را کاهش دهد و سبب کاهش مقدار مالون دی آلدئید در گیاه بادرنجبویه گردد.

اثر برهم‌کنشی پوترسین و شوری بر روی میزان نشت یونی و محتوای رطوبت نسبی نشان داد که در سطوح مختلف شوری با افزایش سطوح پوترسین مقدار نشت‌یونی نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. اثر بر همکنشی پوترسین و شوری نشان داد که در سطوح مختلف پوترسین با افزایش شوری مقادیر آنزیم کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت. نتایج به دست آمده در این پژوهش با برخی مطالعات بر روی گیاهان سیب و خردل که نقش دفاعی پلی‌آمین‌ها را در القاء و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزودن پوترسین برون زاد گزارش کردند مطابقت دارد (۶۴). اخیرا نقش پلی آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زیستی از جمله شوری مورد توجه قرار گرفته است و گزارش شده پلی‌آمین‌ها به عنوان غیر فعال‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن عمل می‌کنند. ماهیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات احتمالا مربوط به مهار آنزیم NADPH اکسیداز و ممانعت از تجمع رادیکال‌های سوپر اکسید می‌باشد همچنین تجمع پوترسین تحت تنش شوری بیشتر می‌تواند مربوط به فعالیت آنزیم ADC (Arginine Decarboxylase) باشد (۳۶). در نتیجه این آنزیم، آنزیم عمومی تنش و تجمع پوترسین به‌عنوان

عمده‌ترین نشانه فعالیت ADC ناشی از تنش در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (۳۱). بنابراین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش شوری در گیاه استویا نقش حفاظتی این آنزیم‌ها را تحت تنش شوری بیان می‌کند. اثر برهمکنشی پوترسین و اسید سالیسیلیک بر روی کلیه رنگریزه‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b و کارتنوئید نسبت به نمونه شاهد مربوط به غلظت ۰/۵ میلی‌مولار پوترسین و ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک می‌باشد ولی مقدار آنتوسیانین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱ میلی‌مولار پوترسین نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی را نشان داد. همچنین نتایج حاصل از داده‌های اثر برهمکنشی پوترسین و اسید سالیسیلیک نشان داد که مقدار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به نمونه شاهد روند افزایشی را طی کرد. به‌علاوه اثر برهم‌کنشی پوترسین و اسید سالیسیلیک بر محتوای رطوبت نسبی برگ روند کاهشی نسبت به نمونه شاهد را نشان داد. از طرفی مقدار نشت یونی در سطوح مختلف پوترسین و اسید سالیسیلیک افزایش یافت. همچنین نتایج حاصل از داده‌های این پژوهش نشان داد، اثر برهمکنشی پوترسین و اسید سالیسیلیک بر روی آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و درصد مهار رادیکال آزاد سبب افزایش میزان این آنزیم‌ها نسبت به نمونه شاهد گردید. نتایج حاصل از آزمایشات این پژوهش نشان داد که کاربرد خارجی پوترسین و اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گردید و همچنین سبب ایجاد مقاومت این گیاه به تنش شوری شده است.

اثر متقابل اسید سالیسیلیک و شوری سبب کاهش مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید. به علاوه اثر متقابل اسید سالیسیلیک و شوری محتوای رطوبت نسبی برگ و نشت یونی را افزایش داد. از طرفی اثر متقابل اسید سالیسیلیک و شوری سبب افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید گردید که نشان‌دهنده تاثیر تنش شوری بر گیاه و فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی بوده است. طی بررسی‌های انجام شده در این پژوهش تنش شوری و اسید سالیسیلیک سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید. از طرفی اثر برهمکنش اسید سالیسیلیک و شوری نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد. همچنین گزارش‌های متنوعی مبنی بر نقش اسید سالیسیلیک بر کاهش اثرات ناشی از تنش شوری وجود دارد، اسید سالیسیلیک با اثر بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز اثرات ناشی از تنش شوری و خشکی را کاهش می‌دهد.

با توجه به یافته‌های این پژوهش، افزایش شوری به طور معنی‌داری سبب کاهش شاخص‌های فیزیولوژیک گردید. از طرفی با کاربرد محرک‌های رشد نظیر پوترسین و اسید سالیسیلیک بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی در این پژوهش مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف پوترسین و اسید سالیسیلیک می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش شوری بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی استویا را کاهش دهد. طبق نتایج حاصله از این پژوهش کاربرد خارجی پوترسین و اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گردید که سبب ایجاد مقاومت این گیاه به تنش شوری گردید. بر اساس نتایج حاصل، هر دو غلظت پوترسین و اسید سالیسیلیک مورد استفاده در این پژوهش موثر و قابل توصیه می‌باشند. این تحقیق نقش مثبت کاربرد پوترسین و اسید سالیسیلیک بر بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی استویا در شرایط تنش شوری را تائید می‌نماید.

منابع

1. Akinwunmi, O. 2001. The Plant Defense Activator Acibenzolar-S-Methyl Primes Cowpea (*Vigna unguiculata* Walp) Seedlings for Rapid Induction of Resistance, Physiology. Molecular Plant Pathology, 58: 199-208.
2. Alcázar, R., F. Marco, J.C. Cuevas, M. Patrón, A. Ferrando, P. Carrasco, A.F. Tiburcio and T. Altabella. 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. Biotechnol. Lett, 28: 1867-1876.
3. Amraee Tabar, S., A. Ershdi and T. Robati. 2016. The effect of putrescine and spermine on drought tolerance of almond and peach. Journal of Crops Improvement, 18: 203-218 (In Persian).
4. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris. Plant physiology, 24: 1-15.
5. Bandeoglu, E., F. Egidogan, M. Yucel and H. Avnioktem. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. Plant Growth Regulation, 42: 69-77.
6. Bayat, S. and A. Sepehri. 2012. Paclobutrazol and salicylic application ameliorates the negative effect of water stress on growth and yield of maize plants. Jurnal of research in Agric ultural Science, 8(2): 127-139.
7. Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, 14: 93-107.
8. Belkhadi, A., H. Hediji, Z. Abbe, I. Nouairi, Z. Barhoumi, W. Chaibi and W. Djebali. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in linum usitatisium L., Ecotoxicology and Enviromental safety, 73(5): 104-110.
9. Ben-Asher, J., I. Tsuyuki, B.A. Bravdo and M. Sagih. 2006. Irrigation of grape vines with saline water: Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. Agric. Water Manage, 83: 13-21.
10. Bouchereau, A., A. Aziz, F. Larher and J. Martin-Tanguy. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. Plant Sciences, 140: 103-125.

11. Chartzoulakis, K., A. Patakas, G. Kofidis, A. Bosabalidis and A. Nastou. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gasexchange, water relation and growth of two avocado cultivars. Scientia Hortoculturae, 95: 39-50.
12. Chattopadayay, M.K., B.S. Tiwari, G. Chattopadhayay, A. Bose, D.N. Sengupta and B. Ghosh. 2002. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (Oryza sativa) plants. Physiol. Plant, 116: 192-199.
13. Cohen, A.S., R.B. Popovic and S. Zalik. 2004. Effects of polyamines on chlorophyll and protein content, photochemical activity and chloroplast ultrastructure of barley leaf discs during senescence, Plant Physiology, 64: 717-720.
14. Colom, M.R. and C. Vazzana. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought resistant and drought- sensitive weeping lovegrass plants, Environmental and Experimental Botany, 49: 135-144.
15. El-Khallal, S.M., T. Hathout, A. Ashour and A.A. Kerrit. 2009. Brassinolide and salicylic acid induced growth, biocheimical activities and productivity of maize plants grown under salt stress. Journal of Agriculture and Biological Science, 5: 380- 390
16. Eraslan, F., A. Inal, D.J. Pilbeam and A. Gunes. 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (Spinacia oleracea L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation, 55: 207-219.
17. Gao, Z.F., M. Sag and S.H. Lips. 1998. Carbohydrate metabolism in leaves andassimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicum sculentum* L.) as affected by salinity. Plant Science, 135: 149-159.
18. Ganesan, V. and G. Thomas. 2001. Salicylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H2O2 accumulation and oxidative stress. Plant Science, 160: 1095-1106.
19. Goyal, R., K. Samsher and S.K. Goyal. 2010. Stevia (Stevia rebaudiana) a bio-sweetener: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 61(1): 1-10.
20. Habibi, G. 2012. Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. Acta Biologica Szegediensis, 56: 1. 57-63.
21. Habibollahi, N., M. Mahdiyeh and M.R. Amirjani. 2012. Effect of salt stress on growth, proline, antioxidant enzyme activity and photosystem II efficiency in salt-sensitive and-tolerant rice cultivars. Journal of Plant Biology, 13: 85-96 (In Persian with English Abstract).
22. Hadi, MR. 2012. Plant Metabolism (Vol. 1). Shiraz, Iran: Islamic Azad University, Branch Fars Press.1: 251-262.
23. Ibal, M. and M. Ashraf. 2007. seed preconditioning modulates grow ionic relations and photosynthetic capacity in adult plants of hexaploid wheat under salt stress.journal plant Nutrition, 30(3): 381-396.
24. Kasukabe, Y., L.H. K. Nada, S. Misawa, I. Ihara and S. Tachibana. 2004. Over expression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up- the expression of various stress-regulated gens in Arabidopsis thaliana.plant cell physiol, 45: 712-722.
25. Karimi, G., M. Ghorbanli, H. Heidari, R.A. Khavarinejad and M.H. Assareh. 2005. The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in Kochia prostrate Biologia Plantarum 49: 301-304.
26. Kamiab, F., A.R. Talaie, M. Khezri and A. Javanshah.2013. Exogenous application of free polyamines enhances salt olerance of pistachio (*Pistacia Vera* L.) seedlings. Plant Growth Regulators, 72: 257-268.
27. Khorshidi, M. and F. hamedi. 2014. Effects of putrecine on lemon balm under salt stress, 9: 601-609.
28. Kumar, R. and H. Sharmas. 2012. Effect of light and temperature on seed germination of important medicinaland aromatic plants in north wesrern Himalayas. International Journal of Medicinal and Aromatic. Plants, 2(3): 468-475.
29. Kusano, T., T. Berberich, C. Tateda and Y. Takahashi. 2008. Polyamines: essential factors for growth and survival. Planta, 228: 367-381.
30. Lemus-Mondaca, R., A. Vega-Galvez, L. Zura-Bravo and K. Ah-Hen .2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. Food chem, 132: 1121-1132
31. Liu, J.H., K. Nada, C. Honda, H. Kitashiba, X.P. Wen, X.M. Pang and T. Moriguchi. 2006. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: Importance of arginine decarboxylase pathway in response. Journal of Exprimental Botany, 57: 2589-2599.
32. Lichtenthaler, H. 1987. Cholorophyllas and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods of Enzymology, 148: 350-382.
33. Luck, H. 1974. In: Methods in Enzymatic Analysis. Academic press.New York, 885 pp.
34. Mahros, K.M., E.M. Badawy, M.H. Mahgoub, A.M. Habib and I.M. El-Sayed. 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. American Journal of Plant Science, 7: 399-408
35. Mane, A.V., B.A. Karadge and J.S. Samant. 2010. Salinity induced changes in photosynthetic pigments and polyphenols of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2(3): 338-347.
36. Martin-Tanguy, J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). Plant Growth Regulation, 34: 135-148.
37. Memarpour, M. and M.R. Hadi. 2012. Effect of nitric oxide on drought tolerance in potato cultivars Paper presented at: First National Conference on Sustainable Agricultural Development and Healthy Environment, 8 March; Hamedan, Iran, 3: 457-461.
38. Moharekar, S.T., S.D. Lokhande, T. Hara, R. Tanaka and A. Tanaka. 2003. Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of wheat and moong seedlings. Photosynthetica, 41: 315-317.

39. Momeni, N., M.J. Arvin, G.R. Khagoei nejad, F. Daneshmand and B. Keramat. 2012. The effect of sodiumchloride and salicylic acid on antioxidant defense system in maize (*Zea mays* L.). Iranian Journal of Plant Biology, 14: 23-34.
40. Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review Plant Biology, 59: 651-681.
41. Miliauskas, G., P.R. Venskutonis and T.A. Van Beek. 2004. Screening of 520 radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts, Food Chem, 85: 231-237.
42. Mita, T.H., M. Dermer and J. Knight. 1997. Reversed facial images and the mere-exposure hypothesis. J. Pers.Soc. psycho, 35,597-60110.1037/0022-3514.35.8.597.
43. Noreen, S. and M. Ashraf. 2008. Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) byexogenous application of Gasmonic acid: growth and photosynthesis. Pakistan Journal Botany, 40: 1657-1663.
44. OAkinwunmi, O. 2001. The Plant Defense Activator Acibenzolar-S-Methyl Primes Cowpea [*Vigna unguiculata* Walp] Seedlings for Rapid Induction of Resistance, Physiol. Molecular Plant Pathology, 58: 199-208.
45. Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicol. Enrivon.saf, 60: 324-349.
46. Popova, L.A., V. Nanieva, V. Hristova, K. christov, K. Georgieva, V. Alexieva and Zh. Stoinova, 2003. Salicylic acid and methyl Jasmonate induced protection on photo synthesis to parquet oxidative stress Bulgarian Journal of plant phyiology.special Issue, 133-182.
47. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. Annu.rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol, 43: 439-463.
48. Rothe, G., A. Hachiya, Y. Yamada, T. Hashimoto and B. Drager. 2003. Alkaloides in plants and root cultures of *Atropa belladonna* over expressing putrescine N-methyltransferase. Journal of Exprimental Botany. 54(390): 2065-2070.
49. Sairam, R.K., K.V. Roa and G.G. Srivastava. 2002. Differential response of wheat, genotypes to long term salinity stress in relation oxidative stress. Antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant science, 163: 1037-1049.
50. Sairam, R.K., P.S. Deshmukh and D.C. Saxena. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. Biologia plantarum, 41(3): 387-394.
51. Schindler, C., P. Reith and H.K. Lichtenthaler. 1994. Differential level of carotenoid and decrease of zea-xanthine cycle performance during leaf development in green and an aurea variety of tobacco. Journal of Plant Physiology, 143: 500-7.
52. Seiler, N. and F. Raul. 2005. Polyamines and apoptosis. J. Cell. Mol. Med, 9: 623-642.
53. Shabrangi, A. and L. Mehrabi. 2014. Evaluation of Antioxidant Activity and Secondary Metabolites of *Mentha piperita*L. Under Effect of Acetylsalicylic Acid and Methyl Jasmonate. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 8(3): 337-340.
54. Shakirova, F.M. and M.W. bezrukora. 1997. Induction of wheat resistance against environmental - salinization by salicylic acid biology bulletin, 24:109-112.
55. Shen, B., R.G. Jensen and H.J. Bohnert. 1997. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. Plant Physiology, 115: 527-532.
56. Sidsel Fiskaa, H., I. Grethe, A. Borge, A. Knut and B. Gunnar. 2009. Effect of cold storage and harvest data on bioactive compound in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala). Potharvest Biology and Technology, 51: 36-42.
57. Siroee nezhad, B.M. Mortazavi, N. Moallemi and S. Eshghi. 2013. The Effect of Postharvest Application of Putrescine and UV-C Irradiation on Strawberry (Fragaria×ananasa CV Selva) Fruit Quality. Plant products Agricultural scientific journal, 36(1): 117-127.
58. Stewart, .R.C. and J.D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. Plant physiology, 65: 245-248.
59. Syeed, S., N.A. Anjum, R. Nazar, N. Iqbal, A. Masood and N.A. Khan. 2008. Salicylic acid-mediated changes photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. Acta Physiologia Plantarum, 7-14.
60. Tang, W. and J.R. Newton. 2005. Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing thactivities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regul, 46: 31-43.
61. Tomi, I., P.N. Moschou, K.A. Paschalids, B. Bouamama, A.B. Salem-Fnayu, A. Ghirbel W.A. Mliki and K.A. Roubelakis Angelakis. 2010. Abscisic acid signals reorieatiation of polyamine metabolism to orchestrate stress responses via the polyamine exodus pathway in grapevine journal of plant physiology, 167: 519-525.
62. Unal, D., I. Tuney and A. Sukatar. 2007. The role of external polyamines on photosynthetic responses, lipid peroxidation, protein and chlorophyll a content under the UV-A (352 nm) stress in *Physica semipinnata*. J. Photochem. Phytobiol, 90: 64-68.
63. Verma, S. and S.N. Mishra. 2005. Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea*by inducing antioxidative defense system. Journal of Plant Physiology, 162: 669-677.
64. Zhao, H. and H. Yang. 2008. Exogenous polyamines alleviate the lipid peroxidation induced by cadmium chloride stress in Malus Hupehensis rehd. Scientia Horticulturae, 116: 442-447.
65. Yousefzadi, M., M. Sharifi, M. Behmanesh and E. Moyano. 2010. Salicylic acid improves podophyllotoxin production in cell cultures of *Linum album* by increasing the expression of genes related with its biosynthesis. Biotechnol Lett, 32(11): 1739-1743.

The Effect of Putrescine and Salicylic Acid on Physiological Characteristics and Antioxidant in *Stevia Rebaudiana B.* Under Salinity Stress

Mahyar Gerami[1], Vahid Akbarpour[2] and Athar Mohammadian[3]

1- Assistant Professor, Faculty member of Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran
(Corresponding author: mahyar.gerami@yahoo.com)
2- Assistant Professor, Department of Horticulture, Sari of Agricultural Sciences and Natural Resources Unuversity
3- M.Sc. Gratuated of Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran
Received: February 21, 2018 Accepted: October 13, 2018

Abstract

In order to investigate the effect of putrescin and salicylic acid on some physiological and antioxidant properties of stevia under salinity stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. In this experiment, samples were exposed to different concentrations of putrescine (0, 0.5 and 1 mM), salicylic acid (0 and 0.5 mM) and salinity (0, 75 and 150 mM of NaCl). The results showed that putrescine solubilization at different concentrations caused a significant increase in chlorophyll spray values and antioxidant enzymes of catalase and peroxidase, while the amount of malondialdehyde and relative humidity content were decreased. This research showed that salinity reduced the photosynthetic pigmentation and increased antioxidant enzyme activity. Also, the use of salicylic acid resulted in an increase in the amounts of catalase and peroxidase enzymes. Based on the results of interaction between putrescine and salinity, the photosynthetic pigments and anthocyanin contents were increased by increasing putrescine at different levels of salinity compared to the control sample. Also, the catalase and peroxidase enzymes have significantly increased. With respect to mean interaction effect of putrescine, salicylic acid and salinity, an increase in leakage levels was observed with increasing levels of putrescine levels at 75 mM level of salinity and 0.5 mM level of salicylic acid. In salinity level and salicylic acid concentration of 0.5 mM, the amount of malondialdehyde decreased with decreasing amount of putrescine, and the amount of peroxidase enzyme increased as compared to the control sample that caused resistance of this plant to salinity stress. Therefore, the application of both concentrations of putrescine and salicylic acid would be effective and recommendable.

Keywords: Putrescine, Salicylic acid, Salt, Stevia plant