

Research Paper

Effect of Sucrose Spray on some Phytochemical Characteristics of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under Field Conditions

Vahid Akbarpour¹, Hossein Aruei², Kambiz Mashayekhi³, Majid Azizi Arani⁴,
Mohammad Ali Bahmanyar⁵

1- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, (Corresponding author: v.akbarpour@sanru.ac.ir)

2- Associated Professor, Department of Horticultural Sciences and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University, Gorgan, Iran

4- Professor, Department of Horticultural Sciences and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

5- Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 29 April, 2024

Accepted: 22 September, 2024

Extended Abstract

Background: Sugars are one of the important components in the human diet, along with fats and proteins, which provide about 60-70% of their energy. Stevia is one of the most important medicinal plants with high antioxidant properties, obvious sugar characteristics, and without calories, which can replace sugars extracted from other sources. One of the features of this sweetener is that it is very useful for diabetics due to its lack of absorption in the digestive system. On the other hand, it is suitable for the diet of obese people due to its non-caloric nature. Sucrose is the transportable form of photosynthetic products, i.e. carbohydrates, in plants. Sucrose foliar spraying is important for the quick supply of compounds needed by plants.

Methods: This factorial experiment was carried out based on a randomized complete block design (RCBD) with four replications at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University from 2014 to 2015. Evaluated treatments consisted of different concentrations of a sucrose solution (0, 2.5, 5, and 10%). Thus, the mentioned material was diluted in solvents such as methanol 15%, boric acid (3 ppm), and acetic acid (1 ppm). Treatments were sprayed on plants at 10-day intervals until plants started the flowering stage. Some parameters, such as total chlorophyll, carotenoids, total phenol, total flavonoid, antioxidant activity, stevioside, and ribodioside contents were measured at the beginning of flowering.

Results: The results of the analysis of variance showed that the simple effect of the solvent type and sucrose concentration on all studied traits at the probability level of 0.01 and the interaction effect of the treatments on all traits, except for the amount of ribodioside, were significant at the probability level of 0.05 and on the amount of stevioside at the probability level of 0.01. The average data comparison results showed that the amount of total chlorophyll in 10% sucrose concentration was significantly higher than the other sucrose concentrations. There was a significant difference between different concentrations of sucrose in terms of carotenoid content so that the highest (10.72 mg/g fresh weight) and the lowest (9.56 mg/g fresh weight) levels were recorded at concentrations of 5% and 0% sucrose, respectively. The amount of carotenoid in the methanol solvent (11.99 mg/g fresh weight) was significantly higher than in the other solvents, namely boric acid, acetic acid, and distilled water (its lowest amount). The amount of flavonoid was significantly different between different concentrations of sucrose and also in different solvents. Five percent sucrose concentration (10.82 mg of quercetin per gram of dry weight) and zero percent sucrose concentration produced the lowest (9.31 mg of quercetin per gram of dry weight) flavonoids. Based on the results of the data, the highest and lowest flavonoid contents were obtained in methanol (11.51 mg quercetin per gram of dry weight), boric acid (10.74 mg quercetin per gram of dry weight), acetic acid (9.42 mg quercetin per gram of dry weight), and distilled water (8.32 mg of quercetin per gram of dry weight) solutions, respectively. The amount

of total phenol in the 5% sucrose concentration (19.54 mg of gallic acid per gram of dry weight) was significantly higher than in other concentrations. The results of comparing the average data showed a significant difference between different solvents in terms of the amount of total phenol so that the methanol solvent (23.07 mg of gallic acid per gram of dry weight) and the distilled water solvent (13.47 mg of gallic acid per gram of dry weight) contained the highest the lowest total phenol contents, respectively. The results obtained from this research showed a significant difference between different concentrations of sucrose in terms of the amount of antioxidants so that the highest (85.71%) and lowest (62.38%) amounts were found in five and zero percent concentrations, respectively. Based on variance analysis data, there was a significant difference in the amount of antioxidants in different solvents, and the highest and the lowest amounts were observed in methanol (90.59%) and distilled water (69.87%) solvents, respectively. Based on the obtained results, the methanol solvent had the highest (14.01%) and the distilled water solvent produced the lowest (11.27%) amounts of steviolide. Based on the comparison of average data, the lowest (5.77%) and the highest (13.01%) amounts of steviolide were measured at concentrations of 10% and 5% sucrose, respectively. According to the results of comparing the average concentrations of different sucrose levels on the amount of ribodiolide, the concentrations of 0% and 5% sucrose led to the lowest and the highest amounts of ribodiolide, respectively. According to the effect of the solvent, the highest and lowest amounts of ribodiolide belonged to methanol and distilled water solvents, respectively. Based on the mean comparison analysis, the most optimum amount of photosynthetic and phytochemical parameters were related to the concentration of 5% sucrose while the other concentrations were in the next orders. Moreover, the highest and the lowest optimum amounts were recorded in the methanol (15%), boric acid (3 ppm), acetic (1 ppm), and distilled water (control) solvents, respectively.

Conclusion: The studied carbon sources had a significant effect on many investigated traits. An increase in the concentration of assimilated carbohydrates as a result of sucrose application at a concentration of 5% with the methanol solvent may increase the availability of respiratory intermediates, which results in the reduction of non-photochemical energy loss. The occurrence of these biochemical phenomena caused by the consumption of intermediate substances ultimately increases the photosynthetic efficiency and improves the accumulation of photosynthetic substances, as well as the synthesis of secondary metabolites. Finally, it can be concluded that the application of sucrose with its appropriate solvent (methanol) could decrease or replace the absolute requirement for carbon source in the environment.

Keywords: Antioxidant Activity, Methanol, Stevia, Steviolide, Sucrose

How to Cite This Article: Akbarpour, V., Aruei, H., Mashayekhi, K., Azizi Arani, M., & Bahmanyar, M. A. (2024). Effect of Sucrose Spray on some Phytochemical Characteristics of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under Field Conditions. *J Crop Breed*, 16(4), 99-111. DOI: [10.61186/jcb.16.4.99](https://doi.org/10.61186/jcb.16.4.99)



مقاله پژوهشی

اثر محلول‌پاشی ساکارز بر برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه استویا در شرایط مزرعه

وحید اکبرپور^۱، حسین آرویی^۲، کامبیز مشایخی^۳، مجید عزیزی آرانی^۴ و محمدعلی بهمنیار^۵^۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،
(نویسنده مسئول: v.akbarpour@sanru.ac.ir)^۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران^۳- استاد، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران^۴- استاد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران^۵- استاد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۰

صفحه: ۹۹ تا ۱۱۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: قندها یکی از اجزای مهم در جیره غذایی انسان‌ها در کنار چربی‌ها و پروتئین‌ها، به‌شمار می‌روند، به‌طوری‌که حدود ۷۰-۶۰ درصد انرژی خود را ابتدا از آن‌ها تأمین می‌کنند. گیاه استویا یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی با خواص بالای آنتی‌اکسیدانی، با خصوصیات قندی بارز و بدون کالری می‌تواند جایگزین قندهای استخراج‌شده از دیگر منابع شود. از ویژگی‌های این شیرین‌کننده اینست که به‌دلیل عدم جذب در سیستم گوارشی برای استفاده افراد دیابتی بسیار مفید است. از طرفی به‌دلیل کالری‌زا نبودن، مناسب رژیم غذایی افراد چاق می‌باشد. شکل قابل انتقال محصولات فتوسنتزی یعنی کربوهیدرات‌ها در گیاهان ساکارز است. محلول‌پاشی ساکارز برای تأمین سریع ترکیبات موردنیاز گیاهان بااهمیت است. این پژوهش به‌منظور بررسی امکان تأثیر ساکارز در غلظت‌های متفاوت به‌عنوان منبع احتمالی کربنی جایگزین، روی برخی از ویژگی‌های فتوسنتزی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی استویا انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل برپایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال زراعی ۱۳۹۳-۹۴ انجام شد. تیمارهای موردبررسی شامل سطوح مختلف ساکارز با غلظت‌های صفر، ۵، ۲/۵ و ۱۰ درصد انتخاب شدند. لذا ماده مذکور در حلال‌های متانول ۱۵ درصد، اسید بریک سه در هزار و اسید استیک یک در هزار حل شدند. تیمارها به فواصل هر ۱۰ روز یک‌بار تا قبل از مرحله به گل رفتن بر روی گیاه محلول‌پاشی شدند. با شروع گل‌دهی برخی خصوصیات گیاه نظیر کلروفیل کل، کاروتنوئید، فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان استویوزاید و ریودیوزاید اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر ساده نوع حلال و غلظت ساکارز بر تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال ۰/۰۱ و اثر متقابل تیمارها بر تمامی صفات به‌جز مقدار ریودیوزاید در سطح احتمال ۰/۰۵ و بر مقدار استویوزاید در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل کل در غلظت ۱۰ درصد ساکارز به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌های ساکارز می‌باشد. بین غلظت‌های مختلف ساکارز از نظر میزان کاروتنوئید اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که بیشترین (۱۰/۷۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۹/۵۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) میزان آن به‌ترتیب در غلظت‌های پنج و صفر درصد ساکارز ثبت شد. مقدار کاروتنوئید در حلال متانول (۱۱/۹۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر حلال‌ها به‌ترتیب اسید بریک، اسید استیک و آب مقطر (کمترین میزان آن) بود. میزان فلاونوئید بین غلظت‌های مختلف ساکارز و همچنین در حلال‌های متفاوت به‌طور معنی‌داری اختلاف وجود داشت. غلظت پنج درصد ساکارز بیشترین (معادل ۱۰/۸۲ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) و غلظت صفر درصد ساکارز کمترین (معادل ۹/۳۲ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) مقدار فلاونوئید را به‌خود اختصاص دادند. براساس نتایج داده‌ها، به‌ترتیب در حلال‌های متانول (معادل ۱۱/۵۱ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)، اسید بریک (معادل ۱۰/۷۴ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)، اسید استیک (۹/۴۲ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) و آب مقطر (۸/۳۲ میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید به‌دست آمد. میزان فنل کل در غلظت پنج درصد ساکارز (۱۹/۵۴ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین حلال‌های مختلف از نظر مقدار فنل کل اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که حلال متانول بیشترین (۲۳/۰۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و حلال آب مقطر کمترین (۱۳/۴۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) میزان فنل کل را به‌خود اختصاص دادند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که بین غلظت‌های مختلف ساکارز از نظر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که بیشترین (۸۵/۷۱ درصد) و کمترین (۶۲/۳۸ درصد) میزان آن به‌ترتیب در غلظت‌های پنج و صفر درصد ساکارز ثبت شد. براساس داده‌های تجزیه واریانس، مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در حلال‌های مختلف به‌طور معنی‌داری تفاوت وجود داشت، بیشترین مقدار آن در حلال متانول (۹۰/۵۹ درصد) و کمترین میزان آن در حلال آب مقطر (۶۹/۸۷ درصد) مشاهده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، حلال متانول دارای بیشترین (۱۴/۰۱ درصد) میزان استویوزاید و حلال آب مقطر دارای کمترین (۱۱/۲۷ درصد) میزان بودند. همچنین بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، غلظت ۱۰ درصد ساکارز کمترین (۵/۷۷ درصد) میزان استویوزاید و غلظت پنج درصد ساکارز بیشترین (۱۳/۰۱ درصد) میزان آن را به‌خود اختصاص دادند. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ساکارز بر روی میزان ریودیوزاید، غلظت صفر درصد ساکارز دارای کمترین و غلظت پنج درصد ساکارز دارای بیشترین میزان ریودیوزاید می‌باشند. همچنین با توجه به اثر حلال، بیشترین و کمترین میزان ریودیوزاید به‌ترتیب مربوط به حلال‌های متانول و آب مقطر می‌باشد. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، مطلوب‌ترین میزان صفات فتوسنتزی و فیتوشیمیایی محاسبه‌شده مربوط به غلظت پنج درصد ساکارز بود و سایر غلظت‌ها در رده‌های بعدی قرار گرفتند. همچنین، بیشترین و کمترین میزان ویژگی‌های مطلوب موردبررسی به‌ترتیب در حلال‌های متانول ۱۵ درصد، اسید بریک سه در هزار، اسید استیک یک در هزار و آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: ساکارز مورد مطالعه بر بسیاری از صفات موردبررسی به‌طور معنی‌داری اثر داشته است. افزایش غلظت کربوهیدرات‌های آسمیلات جذب شده در نتیجه کاربرد ساکارز با غلظت پنج درصد با حلال متانول ممکن است باعث افزایش قابلیت دسترسی به مواد حد واسطه تنفسی را فراهم آورد، که در نتیجه آن کاهش هدررفت انرژی غیرفتوشیمیایی اتفاق می‌افتد. بروز این پدیده‌های بیوشیمیایی ناشی از مصرف مواد حدواسطه، در نهایت کارایی فتوسنتزی را افزایش داده و تجمع مواد فتوسنتزی و همچنین سنتز متابولیت‌های ثانویه را بهبود می‌بخشد. در نهایت می‌توان عنوان نمود که استفاده از ساکارز همراه با حلال مناسب آن (متانول) می‌تواند نیاز مطلق به منبع کربنی موجود در هوا را کاهش داده یا جایگزین آن گردد.

واژه‌های کلیدی: استویا، استویوزاید، ساکارز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، متانول

مقدمه

قندها یکی از اجزای ضروری در جیره غذایی انسان‌ها در کنار چربی‌ها و پروتئین‌ها، به‌شمار می‌روند، به‌طوری‌که حدود ۶۰-۷۰ درصد انرژی خود را ابتدا از آن‌ها تأمین می‌کنند. در سال‌های اخیر، گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) از تیره کاسنی (Asteraceae) با خصوصیات قندی بارز و بدون کالری موردتوجه قرار گرفته است که می‌تواند جایگزین قند استخراج شده از نیشکر و چغندر قند شود (Nematian, 2011). استویا برای اولین بار در پاراگوئه شناسایی و پس از بررسی‌های فیتوشیمیایی و تأیید وجود گلیکوزیدهای استویول که همگی دارای خاصیت شیرین‌کنندگی هستند مورد بررسی‌های بعدی قرار گرفت (Ahmad et al., 2011). برهمکنش کیتوزان و تنش شوری سبب بهبود صفات مورفولوژیکی در گیاه استویا شد (Alipour et al., 2020). کاربرد توام پوترسین و اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های مختلف تنش شوری، به‌ترتیب سبب افزایش مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و پراکسیداز در گیاه استویا شد (Gerami et al., 2019). از ویژگی‌های این شیرین‌کننده اینست که به‌دلیل عدم جذب در سیستم گوارشی برای استفاده افراد دیابتی بسیار مفید است (Puri et al., 2011). از طرفی به‌دلیل کالری‌زا نبودن، مناسب رژیم غذایی افراد چاق می‌باشد. علاوه بر قندهای مفید، این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که به‌دلیل خواص بالای آنتی‌اکسیدانی و میزان زیاد فنل و فلاونوئید، ارزش غذایی آن بیشتر نمود می‌یابد (Tadhani et al., 2007; Shukla et al., 2009). به‌طور کلی عناصر غذایی در افزایش کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی از اهمیت قابل‌توجهی برخوردار است (Majnoun-Hosseini & Davazdah-Emami, 2007). با توجه به اینکه حدود ۹۴ درصد وزن خشک گیاهان ناشی از آسیمیلاسیون دی‌اکسیدکربن از طریق فتوسنتز است، بنابراین افزایش تثبیت دی‌اکسید کربن طی فتوسنتز در گیاهان می‌تواند به‌عنوان یکی از راهکارهای مناسب به‌منظور افزایش عملکرد موردتوجه قرار گیرد (Rahimian et al., 1998). کربوهیدرات‌ها نقش حیاتی در زندگی گیاهان ایفا می‌کنند. اینها پیش‌ماده‌ای برای تنفس بوده و فعالیت‌هایی در مسیرهای سنتز بسیاری از ترکیبات انجام داده و مولکول‌های درشت را مهار می‌کنند. علاوه بر این، کربوهیدرات‌ها ممکن است فرایندهای نموی درون سلولی را نیز کنترل نمایند (Gibson, 2000; Mashayekhi & Atashi, 2012). از این‌رو استفاده از منابع کربنی نظیر ساکارز که بتواند جایگزین گازکربنیک جذب شده توسط اندام‌های سبز باشد برای کمک به تغذیه گیاه و همچنین افزایش کارایی فتوسنتز در جهت نیل به اهداف خاص فیزیولوژیکی دیگر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. ساکارز نمایانگر فرم انتقالی اصلی کربوهیدرات‌های آسیمیلات شده از طریق فتوسنتز می‌باشد (Yonekura et al., 2013). از طرف دیگر، قندها در غلظت‌های بالا به‌طور مستقیم به‌دلیل ترکیب هورمون‌ها با پروتئین و قندها به‌عنوان عوامل محافظتی ایفای نقش می‌کنند و همچنین در غلظت‌های کم به‌عنوان پیش‌ماده یا سیگنال‌هایی برای تغییر تنش القایی به‌کار می‌روند (Uemura &

Stepoukus, 2003; Mashayekhi & Atashi, 2012).

توجه به اینکه شدت فتوسنتز اصلی‌ترین مشخصه رشد و عملکرد در گیاهان می‌باشد، لذا توانایی حفظ آن برای حصول به حداکثر عملکرد ضروری می‌باشد (Ashraf & Harris, 2004). تغذیه ساکارز به‌همراه نمک‌های معدنی نسبت به شاهد تأثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک اندام هوایی و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه تربچه داشته است (Salehi Malek Abadi et al., 2021). استفاده از نسبت‌های تلفیقی ساکارز و اسید آسکوربیک در بهبود صفات کمی و کیفی کدو پوست کاغذی از جمله محتوای پروتئین و درصد روغن بذر مؤثر واقع شده است (Fadaei et al., 2023). بخشی از کربن گیاه صرف تنفس نوری می‌شود بنابراین با استفاده از محلول پاشی متانول می‌توان میزان تنفس نوری را به حداقل رسانده و از این طریق به عملکرد گیاه افزود. پژوهش‌های صورت گرفته حاکی از اینست که مصرف محلول ۵۰-۱۰ درصدی متانول سبب افزایش رشد، عملکرد و بهبود فتوسنتز گوجه‌فرنگی و گندم گردید و دلیل این امر به نقش و اثر متانول در بهبود تثبیت گازکربنیک نسبت داده شد (Yue-jin et al., 2008). بر نیز یکی از عناصر ضروری برای گیاه بوده و فراهمی آن در خاک و آب آبیاری به‌عنوان یک عامل تعیین‌کننده در میزان تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌گردد (Tanaka & Fujiwara, 2008). این عنصر می‌تواند نقش احتمالی اتصال و انتقال قندها به‌صورت سیس دی‌آل با ساکارز در گیاه را برعهده داشته باشد (Guo et al., 2011) که می‌تواند سریع‌تر از قند ساده از غشای تراوای سلول عبور کند. نتایج پژوهش مشایخی و آتشی (Mashayekhi & Atashi, 2012) نشان داد محلول پاشی اسیدبریک+ ساکارز سبب افزایش خصوصیات بیوشیمیایی، میزان قندها و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه توت‌فرنگی شد. غلظت بهینه عنصر بر، سبب بهبود فعالیت غشا پلاسمایی می‌شود و کاهش آن همراه با کاهش پتانسیل فعالیت پمپ پروتونی ATPase⁺ H⁻ می‌شود (Goldbach & Wimmer, 2007). نتایج برخی پژوهش‌ها مشخص نموده است که اسیداستیک نیز در ساختمان غشای سلول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. جذب آب و مواد مغذی در گیاهان را افزایش می‌دهد و باعث بهبود فتوسنتز می‌شود و از این طریق در رشد اندام‌های گیاه مؤثر می‌باشد (Gussin & Lynch, 1982). محلول پاشی اسید استیک باعث افزایش عملکرد در گیاه انگور رقم پیکامی شد (Pozezhe et al., 2009). استیک اسید یا سرکه تقطیری از جمله ترکیبات فنلی در گیاهان است که به‌عنوان یک ترکیب شبه‌هورمون، نقش مؤثری در تنظیم رشد و نمو گیاهان دارد (Sharma, 2019). اسید استیک نقش مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند جوانه‌زنی بذر، مهار تولید اتیلن گیاه، بسته شدن روزنه، افزایش فتوسنتز و محتوی کلروفیل ایفا می‌کند (Ratti et al., 2019; Popova et al., 2013).

تاکنون بررسی ویژگی‌های فتوسنتزی و فیتوشیمیایی استویا در کشور، پژوهشی صورت نگرفته است. از طرف دیگر کاربرد ساکارز به‌عنوان منبع احتمالی کربن همراه با حلال‌هایی نظیر متانول، اسید بریک و اسیداستیک می‌تواند تأمین‌کننده‌ی سریع

برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی موردنظر استفاده گردید (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008).

برای اندازه‌گیری فنل کل از روش مک‌دونالد و همکاران (McDonald *et al.*, 2001)، محتوای فلاونوئیدی و میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد از روش ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzadeh *et al.*, 2010) استفاده شد، به‌طوری که به‌مقدار و غلظت مشخصی از عصاره متانولی، DPPH اضافه شد. با توجه به اینکه استویزاید و ریبودیوزاید از بین سایر گلیکوزیدهای گیاه استویا بیشترین فراوانی را دارند، لذا میزان این ترکیبات قندی در برگ گیاهان مورد تیمار، ارزیابی گردید. به‌منظور اندازه‌گیری این ترکیبات از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۱ (ساخت شرکت واترز) استفاده شد. نمونه‌ها با سرعت جریان یک میلی‌متر بر دقیقه اندازه‌گیری شدند. فاز متحرک آن‌را متانول HPLC (۶۸ میلی‌لیتر) و آب دیونیزه (۳۲ میلی‌لیتر) تشکیل داد. زمان ظهور پیک‌ها در دو الی پنج دقیقه (استویزاید ۳:۱" و ریبودیوزاید ۳:۱" دقیقه) بود. به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها، از ۱۰۰ میلی گرم پودر برگ خشک گیاه، عصاره تهیه شد و برای اندازه‌گیری استویزاید و ریبودیوزاید از روش بوانو و همکاران (Bovano *et al.*, 1988) استفاده گردید. این تحقیق در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار شامل پنج مشاهده) انجام شد. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری JAMP (نسخه ۸) و مدل‌های خطی عمومی (GLM) مورد تجزیه واریانس قرار گرفت، و تحلیل آماری و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون Tukey در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر مقدار کلروفیل کل (مجموع کلروفیل a و b)

نتایج تجزیه واریانس حاکی از اینست که اثر ساده نوع حلال و غلظت ساکارز بر تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال ۰/۰۱ و اثر متقابل تیمارها بر تمامی صفات به‌جز مقدار ریبودیوزاید در سطح احتمال ۰/۰۵ و بر مقدار استویزاید در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل کل در غلظت ۱۰ درصد ساکارز به‌طوری معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌های ساکارز می‌باشد. همچنین کمترین کلروفیل کل در حلال متانول و بیشترین میزان آن در حلال آب مقطر تعیین شد (شکل ۱). افزایش میزان کلروفیل در غلظت زیاد ساکارز، شاید به دلیل نیاز شدید به انرژی به‌منظور ذخیره مازاد کربوهیدرات یا تبدیل آن به نشاسته باشد که این تبدیل فرآیندی انرژی‌خواه است. ساکارز برون‌زا در پژوهش‌های پیشین مورد استفاده قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به اثر مثبت آن بر تشکیل گلچه‌های کلم بروکلی و بهبود ارزش تغذیه‌ای آن اشاره داشت (Nishikawa *et al.*, 2005; Rolland *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2011).

عناصر غذایی موردنیاز گیاهان عالی باشد (Jaswant *et al.*, 1994). لذا در این پژوهش سعی بر آن بود که برخی صفات فتوسنتزی و فیتوشیمیایی برگ گیاه دارویی استویا در سطوح مختلف ساکارز با حلال‌های متفاوت شامل متانول، اسید بربیک و اسید استیک مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

قبل از انجام عملیات آماده‌سازی و اجرای نقشه آزمایش به‌منظور تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک، چندین نمونه از خاک زمین موردنظر از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری تهیه گردید. نتایج تجزیه خاک محل اجرای پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است.

به‌منظور بررسی برخی صفات فتوسنتزی و فیتوشیمیایی گیاه استویا، پس از تهیه کرت‌های موردنظر در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، نشاهای گیاه استویا کشت گردیدند. با استقرار نشاهای گیاه (گیاهان همه یکنواخت، کلون و در یک سن بوده‌اند)، محلول‌پاشی طی شش مرحله تا قبل از به گل رفتن گیاه توسط تیمارهای موردنظر صورت گرفت. تیمار مورد بررسی شامل سطوح مختلف ساکارز با غلظت‌های ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد بودند که در حلال‌های متانول ۱۵ درصد (M)، اسید بربیک سه در هزار (B)، اسیداستیک یک در هزار (A) و آب مقطر (C) حل شدند. در پایان فصل رشد (اواخر شهریورماه)، تعداد پنج بوته از هر کرت به‌صورت تصادفی و با حذف اثر حاشیه انتخاب و به‌منظور اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی زیر به آزمایشگاه منتقل شدند. برای سنجش محتوای کلروفیل برگ (مجموع کلروفیل a و b) و کاروتنوئید از روش پورا و همکاران (Porra *et al.*, 2011) استفاده گردید. نمونه‌های تهیه شده با هشت میلی‌لیتر متانول، به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد و سپس عصاره‌های متانولی هر نمونه در سه طول موج ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Mapada، مدل 1800-uv، ساخت کشور کره) قرائت شد و بر اساس فرمول‌های موجود، میزان کلروفیل (فرمول ۱) و کاروتنوئید (فرمول ۲) محاسبه شد.

$$\text{فرمول ۱)} \quad \text{کلروفیل کل} = \frac{16.72 \times A_{665.2} - (9.16 \times A_{652.4})}{(34.09 \times A_{652.4}) - (15.28 \times A_{665.2})} + b$$

$$\text{فرمول ۲)} \quad \text{کاروتنوئید} = \frac{104.96 \times (1.63 \times a - (1000 \times A_{370}))}{221 \times (\text{کلروفیل b})}$$

به‌منظور اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی نظیر فنل کل، ترکیبات فلاونوئیدی و میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد، میزان ۵/۵ گرم از هر نمونه پودر خشک برگ‌های گیاه استویا با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (نسبت یک به ۱۰) در فالتکون‌های دربسته همگن شدند. مواد همگن شده به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد و سپس به‌مدت پنج دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از قسمت فوقانی عصاره،

برگ که مجموع کلروفیل a و b می باشد در زمان و مکان های مختلف تغییر می کند و به تغییرات نوع گیاه، شرایط محیطی، عناصر غذایی، دسترسی به آب و فنولوژی گیاه واکنش نشان می دهد (Yamori et al., 2011; Houborga et al., 2015). در پژوهش حاضر نیز هرچه ساکارز در حلال دارای انرژی کمتری بوده، محتوای کلروفیل برگ افزایش یافته است.

علاوه بر این، نقش ساکارز در پدیده های رشد و نمو گیاه نظیر جوانه زنی بذر، رشد دانهال، تمایزیابی ریشه و برگ، تشکیل جوانه گل، رسیدگی میوه، تشکیل جنین و پیری به اثبات رسیده است (Sheen, 2001). رنگیزه های کلروفیلی تابش فعال فتوسنتزی^۱ را جذب نموده و بدین صورت عنصر حیاتی در فرآیند فتوسنتز را تشکیل می دهند. محتوای کلروفیل

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

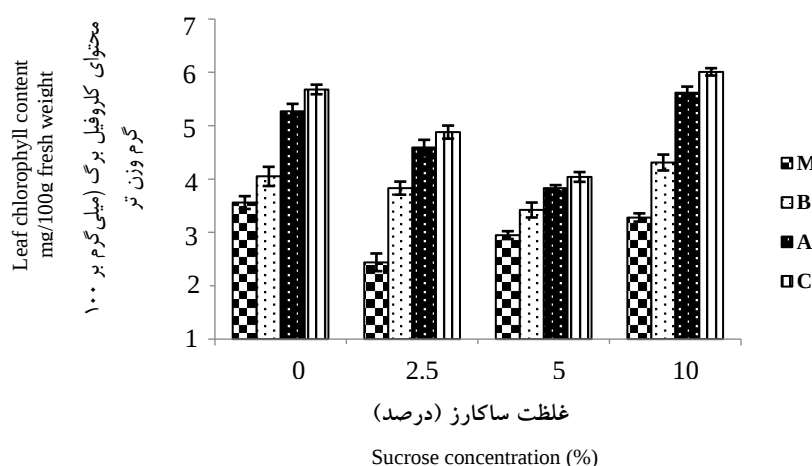
Table 1. Some physical and chemical properties of the soil

عمق نمونه برداری	اسیدیته گل اشباع	هدایت الکتریکی (EC _e)	کربن آلی Organic carbon	ماسه Sand	شن Sand	رس Clay	بافت خاک Soil texture
(cm)	(pH)	(mmho/cm)	(%)				
0-30	7.24	0.86	1.7	38	40	22	لومی Lumi

جدول ۲. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه استویا تیمار شده با ساکارز

Table 2. The mean square result from variance analysis of some phytochemical characteristics of stevia plant treated with sucrose

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی Df	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids	فلاونوئید Flavonoid	فنل کل Total phenol	آنتی اکسیدان Antioxidant	استویوزاید Steviozide	ریبودیوزاید rebaudioside
بلوک Block	3	0.002 ^{ns}	0.078 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.102 ^{ns}	0.928 ^{ns}	0.081 ^{ns}	0.093 ^{ns}
حلال Solvent	3	20.413 ^{**}	33.720 ^{**}	35.791 ^{**}	60.673 ^{**}	298.981 ^{**}	64.852 ^{**}	63.015 ^{**}
غلظت منبع کربنی Carbon source concentration	3	17.033 ^{**}	73.340 ^{**}	71.090 ^{**}	81.243 ^{**}	249.872 ^{**}	98.633 ^{**}	47.413 ^{**}
حلال×غلظت منبع کربنی Carbon source concentration*	9	0.794 [*]	4.690 [*]	6.026 [*]	6.140 [*]	65.720 [*]	8.986 ^{**}	1.026 ^{ns}
خطا Error	64	0.115	0.905	1.015	1.678	8.143	1.181	1.948

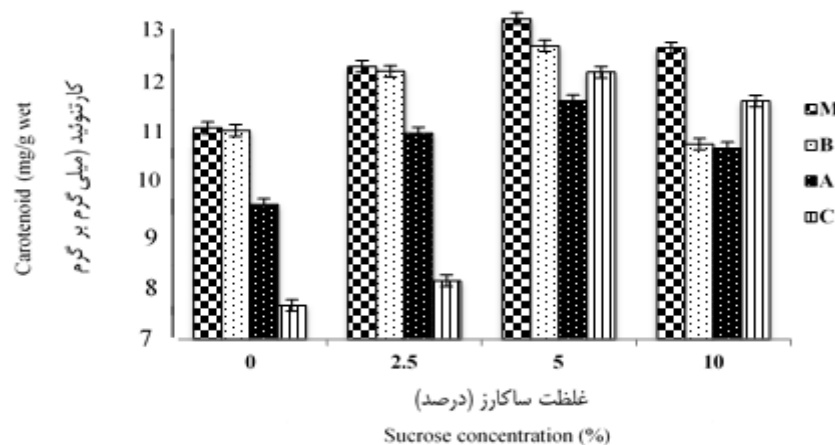


شکل ۱- اثر غلظت های مختلف ساکارز و حلال های متفاوت بر کلروفیل کل
Figure 1. Effect of different concentrations of sucrose and different solvents on total chlorophyll
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

میزان آن) بود (شکل ۲). کاروتنوئیدها رنگیزه‌های جاذب انرژی نورانی هستند که فوتون‌ها را در طی زنجیره انتقال الکترون به مولکول‌های حدواسط و در نهایت به محل مصرف منتقل می‌نمایند. لذا هر عاملی که افزایش این رنگدانه‌ها را سبب شود می‌تواند در افزایش کارایی فتوسنتز مؤثر باشد. قندها در نهایت یکی از ترکیباتی هستند که میزان کاروتنوئیدها را افزایش می‌دهند، به‌طوری که در مورد هویج نیز گزارش شده است (Mashayekhi & Atashi, 2012). در اینجا نیز می‌توان اظهار داشت که مواد حدواسط تنفس باعث افزایش کاروتنوئیدها می‌گردند.

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر مقدار کاروتنوئیدها

داده‌های به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که، بین غلظت‌های مختلف ساکارز از نظر میزان کاروتنوئید اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری که بیشترین (۱۰/۷۲) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۹/۵۶) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) میزان آن به‌ترتیب در غلظت‌های پنج و صفر درصد ساکارز ثبت شد (شکل ۲). مقدار کاروتنوئید در حلال متانول (۱۱/۹۹) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر حلال‌ها به‌ترتیب اسید بریک، اسید استیک و آب مقطر (کمترین

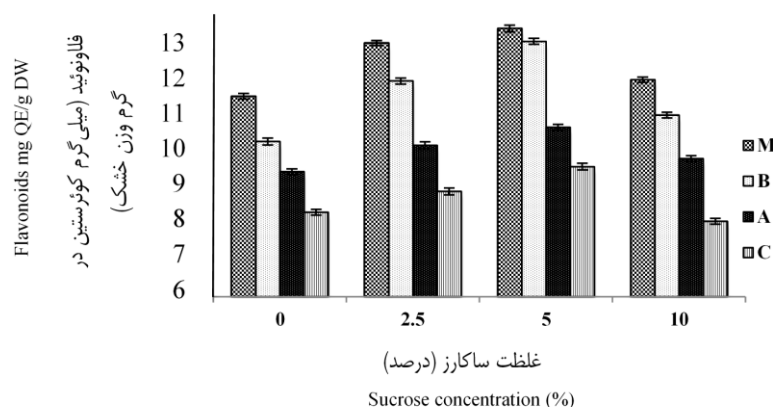


شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر کاروتنوئید
Figure 2. Effect of different concentrations of sucrose and different solvents on carotenoids
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

گیاهان به اثبات رسیده است (You-jin et al., 2008). با توجه به اینکه ۲۵ درصد از کربن گیاه صرف تنفس نوری می‌شود با استفاده از محلول‌پاشی متانول می‌توان میزان تنفس نوری را به حداقل رساند (Ramberg et al., 2002) و از این طریق به عملکرد گیاه افزود (Nonomura & Benson, 1992). برخی دیگر از محققان گزارش دادند که اعمال تیمار متانول سبب تنظیم مسیر بیوسنتز فلاونوئید در گیاه آرابیدوپسیس گردید. نتایج یافته‌های پژوهشی حاکی از آنست که ساکارز در تمامی گیاهان عالی نقش اندکی متفاوت ایفا می‌نماید اما نقش آن در تخصیص کربن آسیمیلاتی ضروری می‌باشد (Downie et al., 2004). پژوهشگران اظهار داشتند که ساکارز فرم قابل انتقال محصولات فتوسنتزی یعنی کربوهیدرات‌ها می‌باشد (Smith & Zinc, 1951). پژوهش‌ها حاکی از اینست که ساکارز تأثیر مثبتی بر عملکرد گیاه دارد، بنابراین محلول‌پاشی با منابع کربنی همراه با عناصر غذایی جهت تأمین سریع عناصر غذایی موردنیاز گیاهان، از اهمیت خاصی برخوردار است (Mashayekhi & Atashi, 2012).

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر مقدار فلاونوئید

میزان فلاونوئید بین غلظت‌های مختلف ساکارز و همچنین در حلال‌های متفاوت به‌طور معنی‌داری اختلاف وجود دارد. غلظت پنج‌درصد ساکارز بیشترین (معادل ۱۰/۸۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) و غلظت صفر درصد ساکارز کمترین (معادل ۹/۳۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) مقدار فلاونوئید را به‌خود اختصاص دادند (شکل ۳). براساس نتایج داده‌ها، به‌ترتیب در حلال‌های متانول (۱۱/۵۱) میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)، اسید بریک (۱۰/۷۴) میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)، اسید استیک (۹/۴۲) میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) و آب مقطر (۸/۳۲) میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید به‌دست آمد (شکل ۳). مطالعه‌ی مسیر کربن در فتوسنتز حاکی از متابولیسم سریع متانول همانند دی‌اکسید کربن می‌باشد (Calvin & Benson, 1949). همچنین اثرات بسیار مثبت یکی از این ترکیبات آلی نظیر متانول بر فتوسنتز

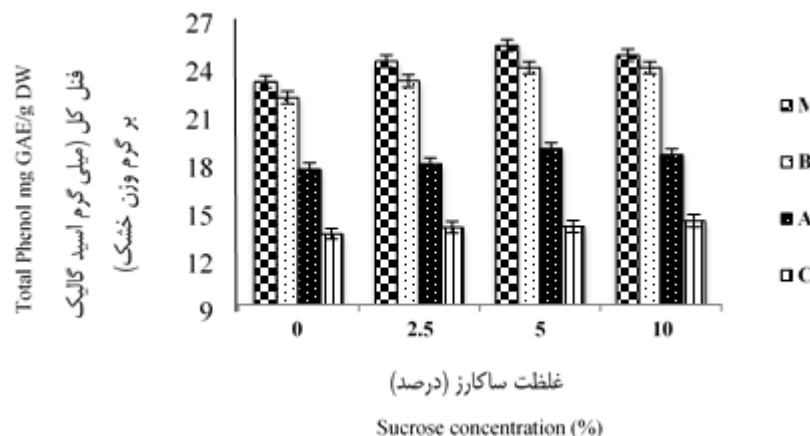


شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر فلاونوئید
Figure 3. Effect of different concentrations of sucrose and different solvents on flavonoid
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

نقش می‌کنند و همچنین در غلظت‌های کم به‌عنوان پیش‌ماده یا سیگنال‌هایی برای تغییر تنش القایی به‌کار می‌روند (Uemura & Stepoukus, 2003). بنابراین، ساکارز برون‌زا در پژوهش‌های پیشین مورد استفاده قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به اثر مثبت آن بر تشکیل گلچه‌های کلم بروکلی و بهبود ارزش تغذیه‌ای آن اشاره داشت (Nishikawa et al., 2005; Rolland et al., 2006; Guo et al., 2011). همچنین غلظت‌های مختلف ساکارز بر میزان متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط سلول‌های کشت شده گیاه *Prunella vulgaris* L. در شرایط درون شیشه‌ای مثبت بوده و بیشترین میزان زیست‌توده، فنل‌ها، فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های ۲۰ تا ۲۵ گرم در لیتر ساکارز به‌دست آمده است. غلظت‌های بالاتر سبب پاسخ منفی و قهوه‌ای شدن نمونه‌ها گردید (Fazal et al., 2015). این نتایج مطابق یافته‌های به‌دست آمده بر روی گیاه *Withania somnifera* L. بود (Hmood & Salim, 2017). همچنین متانول نیز با تأثیر در به تعویق انداختن پیری برگ‌ها سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌گردد (Ramirez et al., 2006). بنابراین انتظار می‌رود کاربرد برگی متانول، با افزایش دوام و میزان سطح فتوسنتزکننده، کارایی فتوسنتز را بهبود بخشیده و سبب افزایش قابل ملاحظه‌ای در رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاه را سبب شود.

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر میزان فنل کل

با توجه به شکل ۴، میزان فنل کل در غلظت پنج درصد ساکارز (۱۹/۵۴ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که، بین حلال‌های مختلف از نظر مقدار فنل کل اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری‌که حلال متانول بیشترین (۲۳/۰۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و حلال آب مقطر کمترین (۱۳/۴۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) میزان فنل کل را به‌خود اختصاص دادند (شکل ۴). در مورد غلظت‌های مختلف ساکارز نیز تمام تیمارها کم و بیش باعث افزایش ترکیب فنل کل می‌گردند. کربوهیدرات‌ها نقش حیاتی در زندگی گیاهان ایفا می‌کنند. این‌ها پیش‌ماده‌ای برای تنفس بوده و فعالیت‌هایی در مسیرهای سنتز بسیاری از ترکیبات انجام داده و مولکول‌های درشت را بلوکه می‌کنند. علاوه بر این، کربوهیدرات‌ها ممکن است فرایندهای نمو درون سلولی را نیز کنترل نمایند (Gibson, 2000; Smeekens, 2000). ساکارز نمایانگر فرم انتقالی اصلی کربوهیدرات‌های آسیمیلات شده از طریق فتوسنتز می‌باشد (Younekura et al., 2013). از طرف دیگر، قندها در غلظت‌های بالا به‌طور مستقیم به‌عنوان عوامل محافظتی ایفای

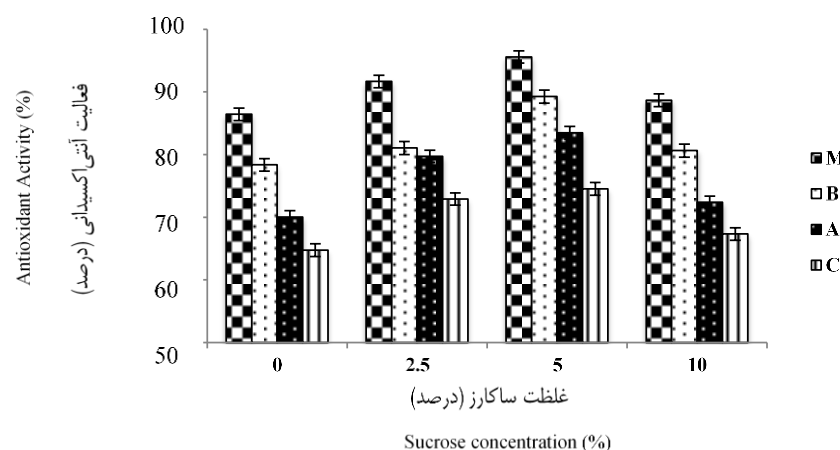


شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر فنل کل
Figure 4. Effect of different concentrations of sucrose and different solvents on total phenol
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

۵۵ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرزه ناشی از وجود ترکیبات فنلی است و می‌توان اثبات کرد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فقط به ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها محدود نمی‌شود بلکه وجود متابولیت‌های ثانویه دیگر مانند اسانس‌ها، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها و فلاونوئیدها تا ۴۵ درصد از فعالیت آنتی‌اکسیدانی را سبب می‌شوند. نتایج مشابهی نیز توسط جوانمردی و همکاران (Javanmardi *et al.*, 2003) به‌دست آمد. بنابراین با توجه به نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، انتظار می‌رود که تیمارهایی که بیشترین میزان فنل، فلاونوئید و گلیکوزیدهای مانند استویوزاید و ریבודیوزاید را نشان دادند، دارای بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز باشند. همچنین بر اساس پژوهشی که صورت پذیرفت، افزایش ساکارز به‌میزان پنج تا هفت درصد توانست سبب افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در کشت درون شیشه‌ای گیاه *Artemisia absinthium* L. گردد (Ali *et al.*, 2016).

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که، بین غلظت‌های مختلف ساکارز از نظر میزان آنتی‌اکسیدان اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری‌که بیشترین (۸۵/۷۱ درصد) و کمترین (۶۲/۳۸ درصد) مقدار آن به‌ترتیب در غلظت‌های پنج و صفر درصد ساکارز ثبت شد (شکل ۵). براساس داده‌های تجزیه واریانس، مقدار آنتی‌اکسیدان در حلال‌های مختلف به‌طور معنی‌داری تفاوت وجود داشت. بیشترین مقدار آن در حلال متانول (۹۰/۵۹ درصد) و کمترین میزان آن در حلال آب مقطر (۶۹/۸۷ درصد) مشاهده شد (شکل ۵). در بررسی‌های علی‌زاده و همکاران (Alizadeh *et al.*, 2010) در گیاه مرزه، مشخص گردید که همبستگی مثبتی بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه وجود دارد. این نتایج نشان داد که



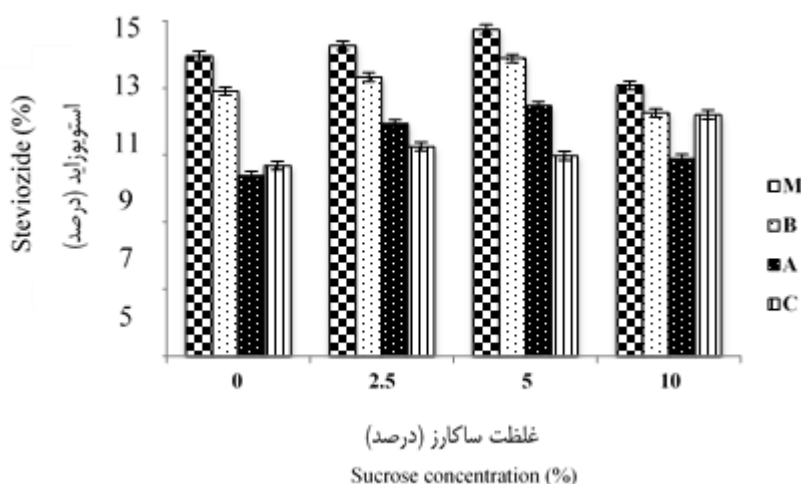
شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی
Figure 5. Effect of different concentrations of sucrose and different solvents on antioxidant activity
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت

بر مقدار استویوزاید

براساس نتایج به دست آمده، حلال متانول دارای بیشترین (۱۴/۰۱ درصد) میزان استویوزاید و حلال آب مقطر دارای کمترین (۱۱/۲۷ درصد) میزان بودند. همچنین بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، غلظت ۱۰ درصد ساکارز کمترین (۵/۷۷ درصد) میزان استویوزاید و غلظت پنج درصد ساکارز بیشترین (۱۳/۰۱ درصد) میزان آن را به خود اختصاص دادند (شکل ۶). با توجه به اینکه استویوزاید از متابولیت‌های ثانویه این گیاه است با افزایش

قندهای درونی گیاه و افزایش کارایی فتوسنتز، میزان آن نیز افزایش می‌یابد. این نتایج را می‌توان به افزایش فشار اسمزی و حالت فیدبک نسبت داد. استویول گلیکوزیدهای این گیاه ترکیبات دی‌ترپنوئیدی هستند که مسیرهای بیوسنتز آن‌ها تا چهار مرحله با اسید جیبرلیک مشترک می‌باشند (Brandle & Telmer, 2007). همچنین آن‌ها گزارش کردند که بیوسنتز ترپنوئیدها به متابولیسم اولیه، فتوسنتز و مسیرهای اکسیداتیو برای تأمین کربن و انرژی بستگی دارد. منابع کربنی ساکارز و زغال فعال با بهبود فتوسنتز، جذب عناصر غذایی و رشد گیاه قادر به افزایش متابولیت‌های اولیه می‌باشند.



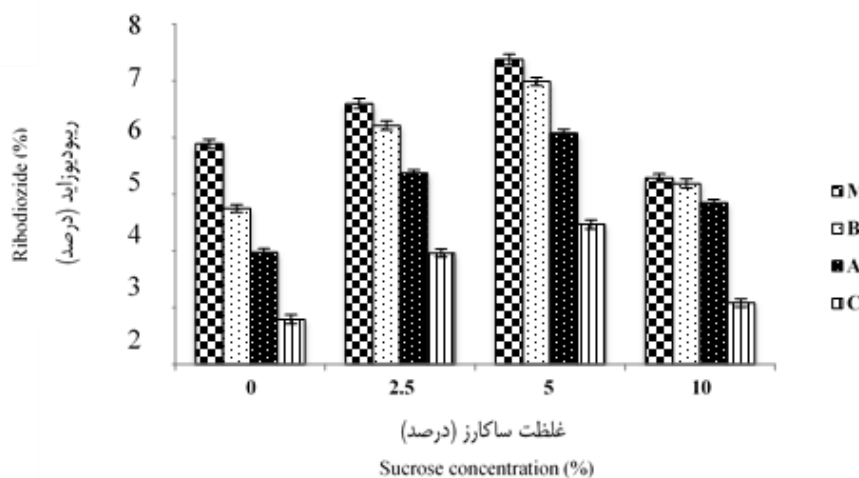
شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر استویوزاید
Figure 6. The effect of different concentrations of sucrose and different solvents on stevioside
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

تأثیر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های

متفاوت بر مقدار ریبودیوزاید

با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ساکارز بر روی میزان ریبودیوزاید، غلظت صفر درصد

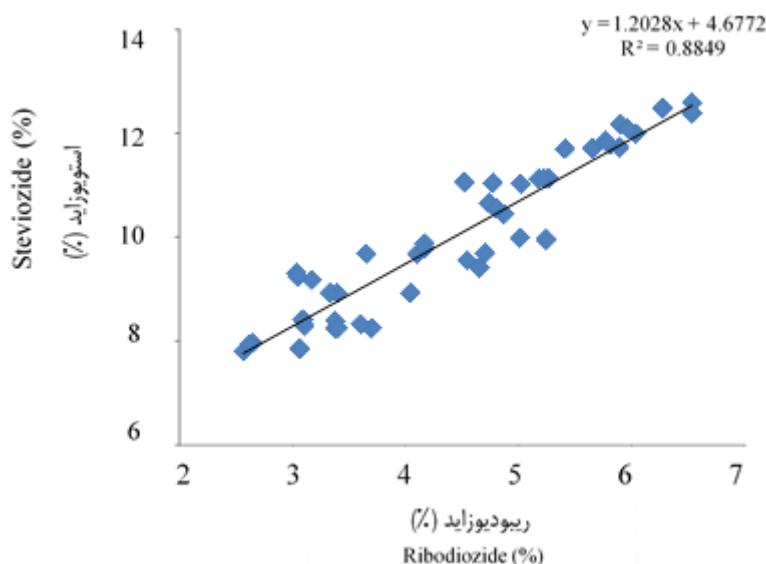
ساکارز دارای کمترین و غلظت پنج درصد ساکارز دارای بیشترین میزان ریبودیوزاید می‌باشند. همچنین با توجه به اثر حلال، بیشترین و کمترین میزان ریبودیوزاید به ترتیب مربوط به حلال‌های متانول و آب مقطر می‌باشد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و حلال‌های متفاوت بر ریبودیوزاید
Figure 7. Effect of different concentrations of sucrose and different solvents on rebaudioside
The bar symbol (I) on the graph indicates the standard error of the mean (SEM)

روزنه‌ای و کاهش جذب کربن و متابولیسم نسبت داده شده است (Cornic & Massacci, 1996). بنابراین احتمال می‌رود که با اعمال منابع کربنی که سبب افزایش جذب کربن توسط گیاه و در نتیجه بهبود خصوصیات رشدی گیاه می‌شود، توانایی فتوشیمیایی گیاه نیز افزایش یافته و عملکرد نهایی نیز تحت تأثیر قرار گیرد (Akbarpour et al., 2016).

شکل ۸ نشان می‌دهد که بین میزان ریبودیوزاید و استویوزاید همبستگی مثبت و معنی‌داری ($R^2=0.88$) وجود دارد. این بدان معناست که سنتز استویوزاید و ریبودیوزاید باهم مرتبط می‌باشند و با افزایش یکی از متابولیت‌های ثانویه گیاه استویا، متابولیت دیگر نیز افزایش می‌یابد. با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته، کاهش فتوسنتز گیاهان در نتیجه اعمال تنش‌های محیطی به برخی عوامل نظیر کاهش هدایت



شکل ۸- ارتباط بین میزان ریبودیوزاید و استویوزاید
Figure 8. Correlation between the amount of rebaudioside and stevioside

بررسی بر روی گیاه استویا، عملکرد اقتصادی این گیاه دارویی با ارزش نیز افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که ترکیب حلال و منبع کربنی توانان در بهبود صفات مورد مطالعه نقش داشته‌اند.

پیشنهادهات

با توجه به اینکه افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن توسط منابع کربنی می‌تواند مسیر تنفس نوری را تغییر دهد و همچنین تورژسانس بافت را افزایش دهد، پیشنهاد می‌گردد اثر آن در شرایط تنش خشکی یا نور زیاد حتی در گلخانه‌ها نیز مورد بررسی قرار گیرد. زیرا یافته‌های پژوهشی حاکی از اینست که افزایش دما می‌تواند افزایش تنفس نوری را به‌دنبال داشته باشد. از طرف دیگر، با توجه به شرایط اقلیمی متنوع کشور ایران، پیشنهاد می‌گردد در سایر مناطق سازگار برای کشت استویا نیز از منابع کربنی استفاده و نتایج مورد بررسی قرار گیرند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که منابع کربنی مورد مطالعه بر بسیاری از صفات مورد بررسی به‌طور معنی‌داری اثر داشته است. افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن جذب شده در نتیجه کاربرد منابع مختلف کربنی اعم از ساکارز (پنج درصد) و متانول ممکن است باعث افزایش قابلیت دسترسی به مواد حدواسط تنفسی را فراهم آورد، که در نتیجه آن کاهش هدررفت انرژی غیرفتوشیمیایی اتفاق می‌افتد و منجر به سنتز آدنین نیکوتین‌امید دی‌نوکلوئید فسفات مؤثر (NADPH) و همچنین سنتز آدنوزین تری‌فسفات (ATP) گردد. بروز این پدیده‌های بیوشیمیایی ناشی از مصرف مواد حدواسط در نهایت کارایی فتوسنتزی را افزایش داده و در نتیجه تجمع مواد فتوسنتزی و همچنین سنتز متابولیت‌های ثانویه را بهبود می‌بخشد. از طرف دیگر، با توجه به اثر مثبت منابع کربنی مورد استفاده در این

References

- Ahmad, N., Fazal, H., Zamir, R., Khalil, S. A., & Abbasi, B. H. (2011). Callogenesis and shoot organogenesis from flowers of *Stevia rebaudiana*. *Sugar Technology*, 13, 174-177.
- Akbarpour, V., Aruei, H., Mashaieki, K., Azizi-Arani, M., & Bahmanyar, M. A. (2016). Investigation the response of some photosynthetic attributes of *Stevia (Stevia rebaudiana Berton)* to different active coal concentrations with several solvents. *Journal of Plant Production Research*, 23(2), 23-49. [In Persian]
- Ali, M., Abbasi, B. H., Ahmad, N., Ali, S. S., & Ali, G. S., (2016), Sucrose-enhanced biosynthesis of medicinally important antioxidant secondary metabolites in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(12), 1945-1954.

- اثر محلول‌پاشی ساکارز بر برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه استویا در شرایط مزرعه ۱۱۰
- Alizadeh, A., Khoshkhui, M., Javidnia, K., Firuzi, O. R., Tafazoli, E., & Khalighi, A. (2010). Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(1), 33-40.
- Ashraf, M., & Harris, P. J. C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166, 3-16.
- Bovanova, L., Brandsteterova, E., & Baxa, S. (1988). HPLC determination of stevioside in plant material and food samples. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 207, 352-355.
- Brandle, J. E., and Telmer, P. G. (2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68, 1855-1863.
- Calvin, M., & Benson, A. A. (1949). The path of carbon in photosynthesis: IV. The identity and sequence of the interme-diates in sucrose synthesis. *Science*, 109, 140-142.
- Cornic, C., & Massacci, A. (1996). Leaf Photosynthesis under Drought Stress in Photosynthesis and Environment. (pp. 347-366). Kluwer Academy Publish.
- Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, Ph., Coleman, J., Parrya, M., & Haslam, R. (2004). Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Phytochemistry*, 65, 2305-2316.
- Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr, S. J., Hamidinia, A., & Jafari, M. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacologyonline*, 1, 7-14.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., & Bekhradnia, A. R. (2008). Iron chelating activity screening, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 32, 43-49.
- Fadaei, M., Akbarpour, V., Mousavizadeh, S.J., & Ghasemi, K. (2023). Evaluation of the effect of ascorbic acid and sucrose foliar application on some quantitative and qualitative characteristics of Cucurbita pepo var. Styriaca. *Journal of Horticultural Science*, 37(1), 89-104. [In Persian]
- Fazal, H., Abbasi, B. H., Ahmad, N., Ali, M., & Ali, S. (2015). Sucrose induced osmotic stress and photoperiod regimes enhanced the biomass and production of antioxidant secondary metabolites in shake-flask suspension cultures of *Prunella vulgaris* L. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 124, 573-581.
- Gerami, M., Akbarpour, V., & Mohammadian, A., (2019). The effect of putrescine and salicylic acid on physiological characteristics and antioxidant in *Stevia rebaudiana* B. under salinity stress. *Journal of Crop Breeding*, 11(29), 40-54. [In Persian]
- Gibson, S. I. (2000). Plant sugar-response pathways: part of a complex regulatory web. *Plant Physiology*, 124, 1532-1539.
- Goldbach, H. E., & Wimmer, M. A. (2007). Boron in plants and animals: is there a role beyond cell-wall structure? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170(1), 39-48.
- Guo, R. F., Yuan, G. F., & Wang, Q. M. (2011). Effect of sucrose and mannitol on the accumulation of health-promoting compounds and the activity of metabolic enzymes in broccoli sprouts. *Scientia Horticulture*, 128, 159-165.
- Gussin, E. J., & Lynch, J. M. (1982). Effect of local concentrations of acetic acid around barley roots on seedling growth. *New Phytology*, 92, 345-34.
- Hmood, A., & Salim, H. A. (2017). Effect of different concentrations of sucrose on Alkaloids and Steroids production in vitro from *Withania somnifera* L. Dunal (Ashwagandha). *Emergent Life Science Research*, 3(2), 23-36.
- Houborga, R., McCabe, M. F., Cescatti, A., & Gitelson, A. A. (2015). Leaf chlorophyll constraint on model simulated gross primary productivity in agricultural systems. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 43, 160-176.
- Jaswant, S., Sharma, K. K., Mann, S. S., Singh, R., & Grewal, G. P. S. (1994). Effect of different chemicals on yield and fruit quality of «LeConte» pear. *Acta Horticulture*, 367, 210-212.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., & Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83, 547-550.
- Majidian, P., Gerami, M., Ghorbanpour, A., & Alipour, Z. (2020). Study of some morphological responses of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) to chitosan elicitor under salt stress. *Journal of Crop Breeding*, 12(33), 150-161. [In Persian]
- Majnoun-Hosseini, N., & Davazdah-Emami, S. (2007). *Farming and Production of Some Medicinal Plants and Spices*. Tehran, Iran, University of Tehran Press. [In Persian]
- Mashayekhi, K., & Atashi, S. (2012). Effect of foliar application of boron and sucrose on biochemical parameters of Camarosa strawberry. *Journal of Plant Production*, 19(4), 157-172. [In Persian]
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73, 73-84.
- Nematian, A. (2011). Stevia herbal gold. *Agricultural and Sustainable Development*, 36, 15-19. [In Persian]
- Nishikawa, N., Kato, M., Hyodo, H., Ikoma, Y., Sugiura, M., & Yano, M. (2005). Effect of sucrose on ascorbate level and expression of genes involved in the ascorbate biosynthesis and recycling pathway in harvested broccoli florets. *Experimental Botany*, 56, 65-72.
- Nonomura, A. M., & Benson, A. A. (1992). The path of carbon in photosynthesis: methanol and light. *Research in Photosynthesis*, 3, 911-914.

- Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V., & Stoinova, Z. H. (2003). Salicylic acid-and methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 29(3-4), 133-152.
- Porra, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynthesis Research*, 73, 149-156.
- Puri, M., Sharma, D., & Tiwari, A. K. (2011). Downstream processing of stevioside and its potential applications. *Biotechnology Advances*, 29, 781-791.
- Rahimian, H., Kouchaki, A., & Zand, A. (1998). *Evolution, Adaptability and Yield of Crops*. Tehran, Iran, Agricultural Education Press. [In Persian]
- Ramberg, H. A., Bradley, J. S. C., Olson, J. S. C., Nishio, J. N., Markwell, J., & Osterman, J. C. (2002). The role of methanol in promoting plant growth: An update. *Review of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 1, 113-126.
- Ramirez, I., Dorta, F., Espinoza, V., Jimenez, E., Mercado, A., & A-Cortes, H. (2006). Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of *Arabidopsis*, tobacco and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25, 30-44.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H. N., & Gautam, S. P. (2001). Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. *motia* by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiological Research*, 156(2), 145-149.
- Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., & Sheen, J. (2006). Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annual Review of Plant Physiology*, 57, 675-709.
- Salehi Malek Abadi, R., Nezam Doust Darestani, D., & Ghasemi, K. (2021). The effect of foliar spray of sucrose and certain mineral nutrients on carbohydrates partitioning in radish (*Rhaphanus sativus* var. *sativus*). *Horticultural Plants Nutrition*, 4(1), 79-96. [In Persian]
- Sheen, J. (2001). Signal transduction in *Arabidopsis* and *Maize* mesophyll protoplasts. *Plant Physiology*, 127, 1466-1475.
- Shukla, S., Mehta, A., & Bajpai, V. K. (2009). In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2338-2343.
- Sharma, A. K. (2019). Hand book biofertilizers for sustainable agriculture, Green Indian publication, page 407.
- Smeeckens, G. S. M. (2000). Sugar-induced signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 49-81.
- Smith, K. M., & Zinc, M. (1951). Methuen's monographs on biological subjects. *Third Edition*, 221, 150-153.
- Tadhani, M. B., Patel, V. H., & Subash, R. (2007). In vitro antioxidant actives of *Stevia rebaudiana* and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 323-329.
- Tanaka, M., & Fujiwara, T. (2008). Physiological roles and transport mechanisms of boron: perspectives from plants. *European Journal of Physiology*, 456, 671-677.
- Uemura, M., & Steponkus, P. L. (2003). Modification of the intracellular sugar content alters the incidence of freeze-induced membrane lesions of protoplasts isolated from *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant, Cell and Environment*, 26, 1083-1096.
- Yamori, W., Nagai, T., & Makino, A. (2011). The rate limiting step for CO₂ assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C₃ crop species. *Plant, Cell and Environment*, 34, 764-777.
- Yonekura, M., Aoki, N., Hirose, T., Onai, K., Ishiura, M., Okamura, M., Ohsugi, R., & Ohto, C. (2013). The promoter activities of sucrose phosphate synthase genes in rice, OsSPS1 and OsSPS11, are controlled by light and circadian clock, but not by sucrose. *Frontiers in Plant Science*, 4, 31-36.
- Yue-jin, Z., Yue-qin, Y., Shan-shan, L., & Xian-feng, Y. (2008). Effect of methanol on photosynthesis and chlorophyll fluorescence of flag leaves of winter wheat. *Agricultural Sciences in China*, 714, 432-437.