

## اثرات محلول‌پاشی پرولین و اسید سالیسیلیک بر برخی صفات رویشی گیاه استویا *Stevia rebaudiana* (Bert.)

عارفه راستگو<sup>۱</sup>، محسن ثانی‌خانی<sup>۱\*</sup>، عزیزاله خیری<sup>۱</sup>، میترا اعلایی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

\*نویسنده مسئول: [sani@znu.ac.ir](mailto:sani@znu.ac.ir)

### چکیده

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* (Bert.) گیاهی بوته‌ای، چندساله و بومی کشور پاراگوئه است که به خانواده Asteraceae تعلق دارد. در این مطالعه به منظور بررسی اثر پرولین و اسید سالیسیلیک بر صفات رویشی گیاه استویا طرحی فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل پرولین در سه سطح (۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ میکرو مولار) و اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۳۰۰، ۶۰۰ میکرو مولار) بودند. اعمال تیمارها به صورت محلول‌پاشی برگ‌پس از استقرار نشاء در سه مرحله به فاصله ۱۰ روز صورت گرفت. صفات بررسی شده شامل: ارتفاع بوته، تعداد میانگره، تعداد شاخه، تعداد برگ و وزن تر و خشک برگ در بوته بودند. نتایج نشان داد که اثر تیمارها به طور قابل توجهی در صفات بالا نسبت به شاهد تأثیرگذار بودند. بالاترین میانگین ارتفاع (۵۲cm) در سطح تیمار (۲۰۰۰ میکرومولار پرولین و ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک) مشاهده شد. بالاترین تعداد برگ در بوته (۱۰۹۷/۶۷)، وزن تر برگ در بوته (۲۳۴/۳۱gr)، وزن خشک برگ در بوته (۴۱/۱۷gr) در سطح تیمار (۱۰۰۰ میکرو مولار پرولین و ۳۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید) و بالاترین تعداد شاخه (۱۱) و تعداد میانگره (۲۳) در سطح تیمار ۶۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به دست آمد. کمترین میزان در تیمار شاهد با ارتفاع (۳۷/۳۳cm)، تعداد برگ در بوته (۶۰۸/۳۳)، وزن تر برگ در بوته (۶۳/۱۸gr) و وزن خشک برگ در بوته (۱۷/۱۵gr) مشاهده شد. در مجموع تیمار با پرولین و اسید سالیسیلیک به طور معنی‌داری در افزایش رشد و بهبود عملکرد استویا مؤثر بود. کلمات کلیدی: اسید آمینه، هورمون، محلول‌پاشی برگ، رشد رویشی، عملکرد

### مقدمه

استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* (Bert.) گیاهی بوته‌ای، چندساله و بومی کشور پاراگوئه است که به خانواده Asteraceae تعلق دارد. در برگ‌های استویا گلیکوزیدهای دی‌ترین استویول (استویوزاید و ربادیوزاید A) بدون کالری، با قدرت شیرین‌کنندگی بالا تولید می‌شوند که می‌توانند جایگزین ساکارز و دیگر شیرین‌کننده‌های مصنوعی شوند چرا که ۳۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکارز می‌باشند (Yadav et al., 2011). این ترکیبات جذب بدن نمی‌شوند و در درمان دیابت، چاقی، فشار خون و پیشگیری از پوسیدگی دندان مفید می‌باشند (Pandy et al., 2014). در سال‌های اخیر نیز گرایش به استفاده از گلیکوزیدهای استویول در بیشتر کشورها افزایش داشته است به طوری که کشورهای ایالات متحده، چین، ژاپن و کره در این زمینه پیشتاز هستند. استویا برای رشد مطلوب نیازمند شرایط گرم و مرطوب است. از جمله محدودیت‌های موجود در تولید استویا حساس بودن این گیاه به کم‌آبی، مقاومت کم به خشکی، حساسیت به سرما و شوری را می‌توان نام برد (Ramesh et al., 2006).

بسیاری از گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع پرولین را در اندام‌های خود افزایش می‌دهند. افزایش غلظت پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش می‌باشد (Szabados).

(*et al.*, 2009) اشرف و شریف (۱۹۹۸) گزارش کردند که محلول پاشی برگ‌ی پرولین موجب افزایش سطح برگ و تجمع ماده‌ی خشک در سورگوم شد. اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی است که به‌طور طبیعی در گیاهان سنتز می‌شود (Raskin, 1992). اسید سالیسیلیک تقریباً بر اکثر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب تغییراتی در آن‌ها می‌شود. این تغییرات اغلب به‌صورت سازش‌هایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Metwally *et al.*, 2003). تجمع اسید سالیسیلیک در گیاه منجر به القای مقاومت به تنش می‌شود. همچنین محلول پاشی با اسید سالیسیلیک می‌تواند تجمع پرولین در گیاه را افزایش دهد که به نوبه‌ی خود باعث القای مکانیسم مقاومت می‌شود (Ryahy *et al.*, 2011). هدف اصلی این پژوهش بررسی اثرات تیمارهای پرولین و اسید سالیسیلیک در بهبود شاخص‌های رشدی و عملکردی استویا بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا گردید. برای مطالعه اثر پرولین و اسید سالیسیلیک بر صفات رویشی گیاه استویا طرحی فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: پرولین با سه سطح (۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ میکرو مولار) و اسید سالیسیلیک با سه سطح (۰، ۳۰۰، ۶۰۰ میکرو مولار) بودند. کاشت نشاءها در مرحله‌ی ۴ تا ۶ برگی انجام گرفت. فاصله‌ی ردیف‌ها از یکدیگر ۶۰ سانتی‌متر و فاصله‌ی بوته‌ها روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. جهت حفظ رطوبت و کنترل علف‌های هرز در ردیف‌های کشت مالچ‌کشی پلاستیکی انجام شد. تیمار پرولین و اسید سالیسیلیک به‌صورت محلول پاشی برگ‌ی پس از استقرار نشاء در سه مرحله به فاصله ۱۰ روز صورت گرفت. برداشت بوته‌ها از ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری سطح زمین انجام شده و اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر صورت گرفت. صفات مورد ارزیابی شامل (ارتفاع گیاه، تعداد برگ در بوته، تعداد شاخه، تعداد میانگره، وزن تر و خشک برگ در بوته) بودند. پس از برداشت وزن تر برگ بلافاصله مورد توزین قرار گرفته و برای تعیین وزن خشک برگ‌ها در سایه خشک شده و سپس وزن شدند. ارتفاع گیاه در زمان برداشت اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمار با پرولین و اسید سالیسیلیک بر صفات مورد مطالعه به‌طور معنی‌داری تأثیرگذار بودند به‌طوری‌که صفات ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر برگ و وزن خشک برگ در اثرات ساده و متقابل تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند. در صفت تعداد میانگره و تعداد شاخه اثرات ساده تیمار با اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. در اثرات ساده تیمار پرولین بر تعداد میانگره در سطح احتمال ۵ درصد و تعداد شاخه در بوته معنی‌دار نبود.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات رویشی استویا

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد میانگره	تعداد شاخه	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ
بلوک	2	3.70 <sup>ns</sup>	0.70 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	3621 <sup>ns</sup>	146.68 <sup>ns</sup>	4.05 <sup>ns</sup>
پرولین	2	68.92 <sup>**</sup>	8.03 <sup>*</sup>	1.59 <sup>ns</sup>	69672.4 <sup>**</sup>	149.68 <sup>**</sup>	140.74 <sup>**</sup>
سالیسیلیک اسید	2	131.7 <sup>**</sup>	22.92 <sup>**</sup>	9.59 <sup>**</sup>	112795.1 <sup>**</sup>	1135.4 <sup>**</sup>	225.6 <sup>**</sup>
SA*P	4	45.42 <sup>**</sup>	6.25 <sup>*</sup>	4.14 <sup>*</sup>	239000.2 <sup>**</sup>	2557.4 <sup>**</sup>	280.77 <sup>**</sup>
خطا	16	4.82	1.62	0.92	5207.05	91.89	8.15
CV		4.8	5.95	11.15	8.04	9.21	9.8

\*\*معنی دار در سطح ۰,۰۱ \* معنی دار در سطح ۰,۰۵ ns بی معنی بودن

نتایج مقایسات میانگین نشان داد بیشترین میانگین ارتفاع (۵۲ cm) در تیمار ۲۰۰۰ میکرو مولار پرولین همراه با ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کمترین ارتفاع (۳۷/۳۳ cm) مربوط به تیمار شاهد بود. ارتفاع بوته در سایر تیمارها نیز به طور معنی داری بیشتر از شاهد مشاهده گردید. بالاترین تعداد میانگره (۲۳) و شاخساره (۱۱) در تیمار سطح ۶۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک اسید بود. استفاده از بالاترین سطوح هر یک از تیمارهای پرولین (۲۰۰۰ میکرومولار) و یا اسید سالیسیلیک (۶۰۰ میکرو مولار) منجر به افزایش معنی دار تعداد میانگره و تعداد شاخه در مقایسه با شاهد گردید. مطابق با نتایج تحقیق حاضر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک باعث افزایش تعداد شاخساره و طول شاخساره استویا در شرایط درون شیشه‌ای شده است (Hashemzadeh and Mohebalipour, 2013).

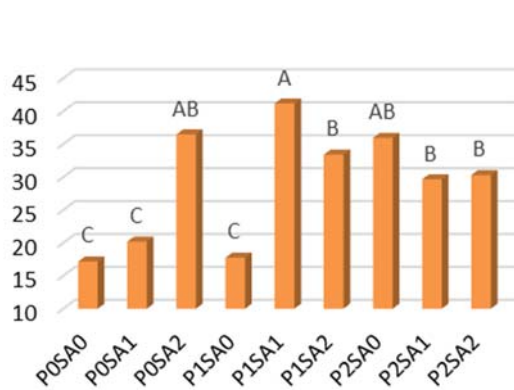
جدول ۲- مقایسات میانگین صفات مورد ارزیابی

تیمارها ( $\mu\text{M}$ )	ارتفاع بوته (cm)	تعداد میانگره	تعداد شاخه	تعداد برگ	وزن تر برگ در بوته (gr)	وزن خشک برگ در بوته (gr)
P <sub>0</sub> SA <sub>0</sub> (0,0)	37.33c	18b	7d	608.33c	63.18d	17.15c
P <sub>0</sub> SA <sub>1</sub> (0,300)	44.66ab	21a	7.33cd	687.33c	75.16d	20.18c
P <sub>0</sub> SA <sub>2</sub> (0,600)	49.33ab	23a	11a	1097.67ab	136.45a	36.47ab
P <sub>1</sub> SA <sub>0</sub> (1000,0)	38c	18.33b	7.33cd	622.66c	74.15d	17.75c
P <sub>1</sub> SA <sub>1</sub> (1000,300)	48.66ab	22.66a	8.33bcd	1262.67a	141.83a	41.17a
P <sub>1</sub> SA <sub>2</sub> (1000,600)	46.33ab	22a	9.33b	1008.33b	124.33ab	33.4b
P <sub>2</sub> SA <sub>0</sub> (2000,0)	48.33ab	22.34a	9bc	1073.67b	110.17bc	35.94ab
P <sub>2</sub> SA <sub>1</sub> (2000,300)	52a	22.33a	9.33b	950.33b	111.66bc	29.65b
P <sub>2</sub> SA <sub>2</sub> (2000,600)	46.33ab	22.66a	9bc	765.33c	99.06c	30.3b

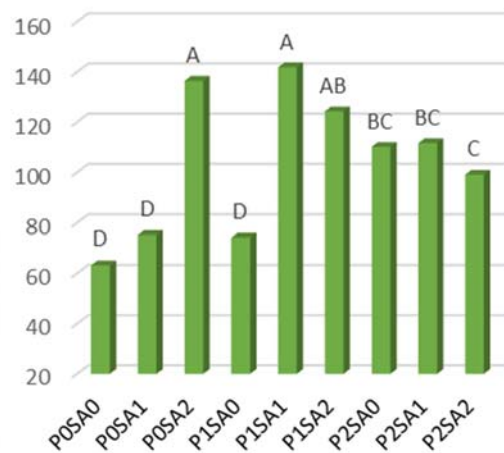
P= proline, SA= Salicylic acid

(میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند)

بیشترین تعداد برگ (۱۲۶۲/۶۷) در تیمار ۱۰۰۰ میکرو مولار پرولین و ۳۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و کمترین تعداد برگ (۶۰۸/۳۳) در تیمار شاهد مشاهده شد. در این راستا و در تحقیقی دیگر (Gasemi and Gasemi, 2015) گزارش کردند که محلول پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش تعداد برگ در گیاه زنیان شد که می‌تواند به بهبود عملکرد زنیان منجر شود. همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت محلول پاشی برگی در گیاه ذرت باعث افزایش سطح برگ و تعداد برگ شده است (Khodary, 2004).



نمودار ۲- مقایسه میانگین وزن خشک برگ در بوته (گرم)



نمودار ۱- مقایسه میانگین وزن تر برگ در بوته (گرم)

نمودار مقایسه میانگین نشان دهنده بالاترین میزان وزن تر برگ  $gr(141/83)$  در تیمار سطح  $1000$  میکرو مولار پرولین و  $300$  میکرومولار سالیسیلیک اسید به دست آمد. همچنین اثرات متقابل اسید سالیسیلیک با پرولین موجب بهبود معنی‌دار وزن تر برگ در مقایسه با شاهد گردید.

بالاترین میزان وزن خشک برگ  $gr(41/17)$  در تیمار  $1000$  میکروگرم پرولین و  $300$  میکروگرم اسید سالیسیلیک و کمترین وزن خشک برگ  $gr(17/15)$  نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. باین حال بین تیمارهای  $600$  میکرو مولار اسید سالیسیلیک و پرولین  $2000$  میکرومولار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین بالاترین سطح هر یک از تیمارهای پرولین و یا اسید سالیسیلیک در اثرات متقابل موجب بهبود میزان وزن خشک برگ در مقایسه با شاهد گردید. ریاحی و همکاران گزارش کردند که کاربرد پرولین و اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی و شرایط نرمال موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع ساقه و تعداد برگ در گیاه سورگوم شد (Ryahi *et al.*, 2011) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

نتایج تجزیه واریانس و مقایسات میانگین تیمارها نشان دهنده اثرات مطلوب تیمار پرولین و اسید سالیسیلیک بر صفات رویشی گیاه استویا می‌باشد که در افزایش عملکرد گیاه مؤثر می‌باشد. از نظر صفات رشدی بهترین نتیجه در تیمار  $600$  میکرومولار اسید سالیسیلیک به دست آمد به طوری که بیشترین تعداد شاخه و میانگرمه در این تیمار مشاهده شد. از نظر عملکرد محصول اثرات متقابل  $1000$  میکرومولار پرولین با  $300$  میکرومولار اسید سالیسیلیک منجر به بیشترین عملکرد پیکره رویشی شد که میزان عملکرد وزن خشک برگ در این تیمار به میزان  $2.4$  برابر افزایش را نسبت به شاهد نشان داد و در نتیجه استفاده از این تیمار برای افزایش میزان محصول قابل توصیه است.

## منابع

- Ghasemi, s. and Ghasemi-Golezani, k. 2015. Assessment of number leaves and chlorophyll Carum copticom in response to abscisic acid and salicylic acid. International Conference on Sustainable Development, Strategies and challenges with a Focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism. Tabriz, Iran (in Persian).
- Hashemzadeh, H. and Mohebbali-Pour, N. 2013. Effect of time and different concentrations of salicylic acid on number of branches and height branch conditions in vitro stevia plant. The New Issue of the National Conference on Agriculture, Islamic Azad University of Saveh, Iran (in Persian).
- Khodary, S. F. A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. International Journal of Agriculture and Biology, 6: 5-8.
- Metwally, A., Finkemeier, I. Georgi, M. and Dietz, k. J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology. 132(1):273-81

- Pandey, M. and Chikara, S. K. 2014.** *In vitro* Regeneration and Effect of Abiotic Stress on Physiological and Biochemical Content of *Stevia Rebaudiana Bertoni*. Journal of Plant Science Research. 1(3): 113.
- Raskin, I .1992.** Role of salicylic acid in plants. Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43: 439-463.
- Ramesh, K., singh,V. and Megeji, N. W. 2006.** Cultivation of *Stevia rebaudiana* (BERT), a comprehensive review. Advances in Agronomy. 89: 137-177.
- Ryahy,N. Farahbakhsh, H. and Pasandy Pour, A. 2011.** Effect of foliar external application of proline, glycine betaine, salicylic acid, ascorbic acid mitigate the effects of drought on plant sorghum, Eleventh Seminar on Irrigation and evaporation reduction. Shahid Bahonar University of Kerman, Iran (in Persian).
- Szabados, L. and Savoure, A. 2009.** Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science .15(2):82-97.
- Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D. and Ahuja, P. S. 2011.** A review on the improvement of *Stevia. Stevia rebaudiana* (Bertoni). Can. Journal Plant Science; 91: 1-27.



## Effect Of Foliar Application Of Proline And Salicylic Acid On Growth Characteristics Of *Stevia Rebaudiana* (BERT.)

Arefeh Rastgoo<sup>1</sup>, Mohsen Sanikhani\*<sup>1</sup>, Azizollah Kheiri <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

\*Corresponding Author: [sani@znu.ac.ir](mailto:sani@znu.ac.ir)

### Abstract

*Stevia rebaudiana* (Bert.) is an herbaceous perennial plant of the Asteraceae family, native to Paraguay. To study the effect of foliar application of proline and salicylic acid on growth traits of *Stevia*, a factorial experiment based on a completely randomized design was conducted with three replications in the University of Zanjan. Three levels of proline (0, 1000, 2000  $\mu$ M) and salicylic acid (0, 300, 600  $\mu$ M) were applied three times after establishment of transplants in the field with 10 days intervals. Factors including plant height, number of branches, number of nodes, number of leaves, leaf fresh and dry weight/plant were studied. Results showed that salicylic acid and proline applications significantly influenced on above mentioned traits. The highest average plant height (52 cm) was recorded in 2000  $\mu$ M proline in combination with 300  $\mu$ M salicylic acid. The highest number of leaves (1097.67), leaf fresh weight/plant (234.31 gr) and dry weight/plant (41, 17 gr) was recorded in 1000  $\mu$ M proline in combination with 300  $\mu$ M salicylic acid and highest number of branches and number of nodes were recorded in 600  $\mu$ M salicylic acid. The lowest plant height (37.33 cm), number of leaves (608.33), leaf fresh weight (63.18 gr) and dry weight (17.15 gr) obtained in control treatment. Collectively the results showed that application of proline and salicylic acid significantly improved vegetative growth and production of *Stevia rebaudiana*.

**Key words:** Amino acid, Hormone, Foliar application, Vegetative growth, Yield

