

اثر اکسین و سیتوکینین بر پارامترهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم پراکسیداز (H_2O_2) استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) تحت تنش شوری

راضیه صارمی^۱، حشمت امید^{۱*} و عبدالامیر بستانی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۰)

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات کاربرد خارجی هورمون اکسین و سیتوکینین بر خصوصیات بیوشیمیایی استویا (رقم شیرین)، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی، در دانشگاه شاهد اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل عامل شوری NaCl در چهار سطح (بدون نمک (شوری ۲ میلی مولار)، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار) و عامل هورمونی (۱/۰ میلی گرم در لیتر اکسین (IAA) و ترکیب تیماری (۱/۵ mg/L PBA + ۰/۱ mg/L IAA)) بودند که در محیط کشت هیدروپونیک اجرا شدند. نتایج نشان داد که شوری باعث کاهش مقدار زیست توده شد. همچنین، با افزایش شوری در کنار هورمون ها، پتاسیم ابتدا روند کاهشی و سپس روند یکنواختی را نشان داد. بیشترین مقدار نشت الکترولیتی غشا، قندهای محلول و پروتئین در شوری ۱۲۰ میلی مولار همراه با IAA ۰/۱ و بیشترین مقدار سدیم اندام هوایی در ۱۲۰ میلی مولار نمک همراه با تیمار هورمونی ۱/۵ mg/L PBA + ۰/۱ mg/L IAA مشاهده شد. همچنین، پراکسید هیدروژن در ۸۰ میلی مولار NaCl به بیشترین مقدار خود رسید. تجمع پرولین با افزایش شوری روند افزایشی داشت. نتایج بیانگر آن است که کاربرد غلظت های مناسب هورمون های اکسین و سیتوکینین (به خصوص تیمار ۰/۱ mg/L IAA) در استویا می تواند در افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری مؤثر باشد و در شرایط مشابه کاربرد آن در استویا قابل استفاده است.

کلمات کلیدی: اکسین، پروتئین، پرولین، سیتوکینین، هوگلند

مقدمه

می باشد (۴۴). ساقه گیاه کرک دار و برگ ها بیضوی، دندانه دار، نیزه ای و متقابل هستند و دارای گل های سفید کوچک به اندازه ۷-۱۵ میلی متر می باشند. این گیاه یک منبع شیرین کننده طبیعی و بدون کالری است که استویوساید و ربایودیوساید A از مهم ترین آن هاست. این شیرین کننده ها ۱۰۰-۴۰۰ برابر شیرین تر

استویا، با نام علمی *Stevia rebaudiana Bertoni*، متعلق به خانواده آستراسه، یک گیاه چندساله است که به طور کلی با نام استویا شناخته می شود (۳۶). ارتفاع گیاه استویا بسته به شرایط اقلیمی، ۶۰-۸۰ سانتی متر متغیر بوده و طول عمرش ۳-۵ سال

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران

۲. گروه علوم خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: omidi@shahed.ac.ir

است و به طور کلی غلظت آن در گیاهان متحمل به شوری نسبت به گیاهان حساس به شوری بیشتر نشان داده شده است (۲۰). راه‌کارهای مختلفی برای به حداکثر رساندن رشد گیاه در شرایط شور به کار گرفته شده، که از جمله آن‌ها می‌توان به تولید ارقام متحمل به شوری، مدیریت مناسب و کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اشاره کرد (۲۰). در بین این تنظیم‌کننده‌های رشد، اکسین‌ها (۴۶) و سیتوکینین‌ها (۱۵) نقش مهمی در تنظیم رشد گیاه و پاسخ به تنش شوری در گیاهان زراعی ایفا می‌کنند. افزایش سطح IAA، همبسته با کاهش رشد گزارش شده است. بنابراین، کاهش رشد گیاه در شرایط شور می‌تواند نتیجه تغییر در تعادل هورمونی باشد. از این رو، کاربرد خارجی آن رویکردی جالب برای مقابله با شرایط تنش فراهم می‌کند (۳۷). سیتوکینین‌ها نیز نقش مهمی در مقاومت گیاه به تنش شوری دارند. به نظر می‌رسد که سیتوکینین‌ها می‌توانند تحمل به نمک را در گیاه در تعامل با دیگر هورمون‌ها، به-خصوص اکسین و ABA، افزایش دهند (۲۲). قربانی جاوید و همکاران (۱۸) گزارش دادند که کاربرد خارجی سیتوکینین بر آثار مضر شوری بر گیاهچه‌های گندم غلبه کرد.

حدود ۱۰٪ زمین‌های زراعی در جهان متأثر از شوری است و آب نیز به‌طور فزاینده‌ای در حال تبدیل شدن به یک منبع بسیار محدود در بسیاری از نقاط جهان است (۴۱). از آنجایی که جوانه‌زنی گیاه جدید دارویی استویا ضعیف و همچنین سرعت رشد گیاهچه آن در مراحل اولیه کند و بطئی است، ارزیابی آن به تنش شوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به همین دلیل، تقاضا برای استفاده از ارقام با تحمل نسبی بهتر در برابر تنش‌های محیطی غیرزنده روز به روز افزایش می‌یابد. مبتنی بر ویژگی‌های مطلوب گیاه دارویی استویا برای سلامت افراد جامعه و خاصیت شیرین‌کنندگی و آنتی‌دیابتیک آن برای مطالعه انتخاب شد. بنابراین، آزمایشی با هدف بررسی اثرات هورمون اکسین با سیتوکینین بر پارامترهای بیوشیمیایی و فعالیت هیدروژن پراکسید تحت تنش شوری انجام گرفت.

از ساکاروز و شکر هستند (۳۶). استویا به عنوان جایگزینی برای ساکاروز استفاده می‌شود و در درمان دیابت، چاقی، فشار خون و پیشگیری از پوسیدگی دندان مفید است (۳۱). این گیاه در آب‌وهوای نیمه‌گرمسیری به خوبی رشد می‌کند و نسبت هزینه به سود آن بسیار جالب توجه است و برای افراد علاقه‌مند به بازده زیاد می‌تواند مناسب باشد. با این حال، استفاده در مقیاس وسیع با توجه به عدم وجود روش‌های توصیه شده کافی، محدود است (۲۶).

فیتوهورمون‌ها پیام‌رسان‌های شیمیایی هستند که در یک قسمت از گیاه تولید شده و به سایر بخش‌ها منتقل می‌شوند؛ جایی که آن‌ها در غلظت‌های اندک، نقش مهمی در تنظیم پاسخ گیاه به تنش‌ها ایفا می‌کنند. گیاهان معمولاً در معرض فاکتورهای محیطی مانند خشکی و شوری آب و خاک زیاد قرار می‌گیرند. کاهش رشد گیاه در محیط‌های شور می‌تواند به دلیل کاهش ذخایر انرژی گیاه باشد که این امر متأثر از کاهش و اختلال فعالیت‌های زیستی و متابولیک گیاه می‌باشد (۱۸).

تنش شوری با افزایش یون‌های سمی درون پیکر گیاه، منجر به کاهش تولید گیاه می‌گردد (۳۲). مقادیر زیاد یون‌های سمی، به‌ویژه Na^+ و Cl^- ، در سیتوزول، بازدارنده بسیاری از فرایندهای متابولیک سلولی است. تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تغییر در متابولیسم نیتروژن و کربن، ناپایداری و تخریب غشاهای سلولی، سمیت متابولیک، ممانعت از فتوسنتز و کاهش جذب مواد غذایی از عواملی هستند که به رویدادهای نامطلوب در گیاه منتهی می‌شوند (۱۹). گزارش‌های مختلف نیز حکایت از کاهش سرعت جوانه‌زنی، کاهش رشد، کاهش تولید زیست‌توده و همچنین کاهش عملکرد نهایی در اکثر گیاهان، نظیر بابونه آلمانی، در اثر تنش شوری دارند (۹). گیاهان نیز از مکانیسم‌های متفاوتی در پاسخ به تنش‌های محیطی استفاده می‌کنند که از جمله این مکانیسم‌ها تجمع مواد محلول سازگار می‌باشد. این ترکیبات عمدتاً شامل پرولین (۴۳)، گلاسیسین بتائین (۲۴) و قندها (۲۳) هستند. گزارش شده که در بسیاری از گونه‌های گیاهی، تجمع پرولین تحت تنش شوری با تحمل تنش مرتبط

جدول ۱. ترکیب غذایی محلول هوگلند

ترکیب شیمیایی	محلول پایه (Stock)	محلول هوگلند (ml/L)
Macronutrients		
2M KNO ₃	۲۰۲ g/L	۲/۵
1M Ca(NO ₃) ₂ •4H ₂ O	۲۳۶g/۰/۵L	۲/۵
Iron (Sprint 138 iron chelate)	۱۵ g/L	۱/۵
2M MgSO ₄ •7H ₂ O	۴۹۳ g/L	۱
1M NH ₄ NO ₃	۸۰ g/L	۱
Micronutrients		
H ₃ BO ₃	۲/۸۶ g/L	۱
MnCl ₂ •4H ₂ O	۱/۸۱ g/L	۱
ZnSO ₄ •7H ₂ O	۰/۲۲ g/L	۱
CuSO ₄ •5H ₂ O	۰/۰۵۱ g/L	۱
H ₃ MoO ₄ •H ₂ O or	۰/۰۹ g/L	۱
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	۰/۱۲ g/L	۱
1M KH ₂ PO ₄ (pH to 6.0)	۱۳۶ g/L	۰/۵

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی عکس‌العمل گیاه دارویی استویا به ترکیب‌های هورمونی در محیط شور و در مرحله گیاهچه، آزمایشی در محیط گلخانه دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، در سال ۱۳۹۴ انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام گردید. فاکتور شوری در چهار سطح (بدون نمک (شوری ۲ میلی‌مولار)، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و فاکتور هورمونی (IAA) ۰/۱ mg/L و ترکیب تیماری (IAA+PBA) (۰/۱+۱/۵ mg/L) بود (دو تیمار هورمونی، ترکیبات برتر آزمایش دیگری هستند) که به محلول غذایی هوگلند اضافه شدند. ظروفی با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر آماده و در هر کدام ۳ نشاء استویا قرار گرفت. محلول غذایی کامل هوگلند (جدول ۱) نیز به هر ظرف اضافه شد. جهت هوادهی محلول هیدروپونیک از پمپ آکواریوم استفاده گردید. پس از استقرار و رشد گیاهچه‌ها (مرحله ۶-۸ برگی) تیمارها به‌طور همزمان اعمال شدند. در طول دوره آزمایش (۲۱

روز) دمای گلخانه ۲۲-۲۵ درجه سلسیوس و شدت نور با ترکیبی از لامپ‌های فلورسنت و تنگستن تأمین شد. بعد از اتمام دوره آزمایش، اندازه‌گیری‌ها در بافت برگ صورت گرفت. برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها، پس از ثابت شدن وزن خشک در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در درون آون، از ترازوی دقیق استفاده شد (۱۷).

اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت

مقدار ۰/۲ گرم وزن تر برگ از هر تکرار را به دقت شسته و بعد در ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار داده شد. این ظروف به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفتند. پس از ۳ ساعت، هدایت الکتریکی آن‌ها با استفاده از EC متر مدل Cond 720 اندازه‌گیری شد. سپس، شیشه‌های محتوی نمونه‌برگی به مدت ۲ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده و برای بار دوم EC آن‌ها پس از سرد شدن اندازه‌گیری شد. درصد

در طول موج ۴۸۵ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. از محلول گلوکز با غلظت صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد. با در دست داشتن وزن خشک نمونه‌ها، مقدار قند محلول بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه‌ها محاسبه گردید (۳۹).

غلظت سدیم و پتاسیم اندام هوایی

به منظور اندازه‌گیری میزان عناصر سدیم و پتاسیم موجود در اندام هوایی، از روش هضم خشک استفاده شد. بدین صورت که ابتدا ماده خشک گیاهی توزین و درون بوته چینی قرار داده شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت درون کوره با دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند تا خاکستر سفید ایجاد گردد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک یک نرمال روی آن ریخته و روی هیتر قرار گرفت. به محض مشاهده بخار سفید رنگ، ظروف از روی هیتر برداشته، پس از عبور از کاغذ صافی، محتوای آن‌ها به حجم ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. سپس، با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر مدل XP، میزان سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری شد (۱۴).

پروتئین کل

به منظور تعیین محتوای پروتئین، ۱ گرم از نمونه برگ گیاه استویا به وسیله بافر استخراج فسفات پتاسیم ۰/۵ مولار در هاون چینی که به منظور حفظ فعالیت آنزیم‌ها روی یخ قرار داده شده بود، تا یکنواخت شدن کامل ساییده شد. سپس، نمونه‌ها ابتدا در دمای ۴- درجه سلسیوس با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس، فاز رویی جدا و درون میکروتیوپ جدید ریخته شد و مجدداً نمونه‌های تازه در دمای ۴ درجه سلسیوس و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محتوای پروتئین کل به روش برادفورد و استفاده از آلبومین گاوی به عنوان منحنی استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۳).

هدایت الکتریکی بیانگر میزان نشت الکتریکی مواد از غشاء می‌باشد که مطابق فرمول زیر محاسبه می‌گردد. در این فرمول، EC_1 و EC_2 هدایت الکتریکی محلول‌ها به ترتیب قبل و بعد از جوشیدن است (۱۶).

$$[1] \quad \%EL = (EC1/EC2) \times 100$$

پرویلین اندام هوایی

برای اندازه‌گیری پرویلین، ابتدا ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی با هاون خرد شده و ۱ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ به آن اضافه و بعد از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن شماره ۲، مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده به ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. پس از خارج کردن نمونه‌ها از حمام آب گرم و سرد شدن، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله آزمایش اضافه و به هم زده شد تا دو فاز تشکیل گردد. از فاز رنگی بالایی برای اندازه‌گیری جذب طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer- Labda 25) استفاده شد (۱۲).

قندهای محلول اندام هوایی

برای سنجش قندهای محلول، ۰/۱ گرم نمونه گیاهی خشک در درون بالون ریخته و به آن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه محتویات آن جوشانده شد. بعد از سرد شدن، عصاره با استفاده از کاغذ واتمن صاف و حجم محلول صاف شده به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد، به محلول ۲/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید باریم و ۲/۵ میلی‌لیتر سولفات روی ۵٪ اضافه و در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ rpm قرار گرفت. بعد از سانتریفیوژ، فاز بالایی از فاز پایینی جدا و در این مرحله، قند محلول به دست آمد. دوباره حجم قند محلول با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد، ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ در لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن‌ها ۲ میلی‌لیتر از قندهای محلول اضافه شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه جذب نوری آن‌ها

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات مختلف گیاه استویا تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری و منبع هورمونی

میانگین مربعات									
منابع تغییرات	درجه آزادی	زیست توده	نشت الکترولیت	پرولین	قندهای محلول	سدیم	پتاسیم	پروتئین	پراکسید هیدروژن
تکرار	۲	۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۹۲۶ ^{ns}	۵۷۰/۵۱۴ ^{ns}	۱۱/۳۳۰ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۴۰۱ ^{ns}	۴/۵۸ ^{ns}
هورمون	۱	۰/۱۷۴ ^{**}	۳۲/۲۸۰ ^{ns}	۱۲۶۳/۰۹۱*	۱۳۸۸۵/۹۸۰ ^{**}	۲/۷۷۱ ^{**}	۰/۰۰۸ ^{**}	۱/۷۹۰*	۲۹۹/۳۴ ^{**}
شوری	۳	۰/۳۴ ^{**}	۱۲۰/۴۳ ^{**}	۹۰۲/۸۴*	۱۴۹۸۷/۰۲ ^{**}	۲۶۸/۱۹ ^{**}	۰/۰۱۸ ^{**}	۲/۱۳ ^{**}	۶۱۴/۶۶ ^{**}
هورمون×شوری	۳	۰/۰۲۷ ^{**}	۱۱۹/۷۲ ^{**}	۵۴۳/۶۶ ^{ns}	۲۶۹۸/۵۸ ^{**}	۳/۱۵ ^{**}	۰/۰۱۷ ^{**}	۱/۵۴ ^{**}	۷۲۸/۶۲ ^{**}
خطا	۱۴	۰/۰۱۹	۹/۹۴	۲۲۴/۳۵	۶۰/۵۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۸	۰/۲۴۵	۴/۸۴
ضریب تغییرات (%)		۳/۱۱	۵/۷۴	۲۹/۵۸	۵/۸۶	۰/۴۴	۴/۲۶	۱۱/۶۰	۱۵/۹۴

ns و * و ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار

غلظت پراکسید هیدروژن

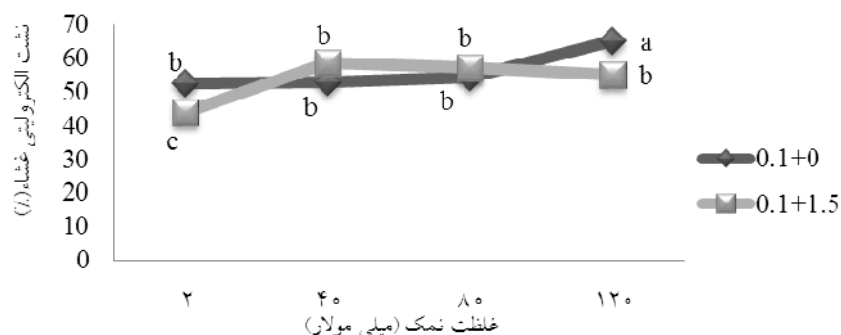
به منظور تعیین غلظت پراکسید هیدروژن، ۱ گرم از نمونه برگ گیاه استویا را به وسیله بافر استخراج (بافر فسفات پتاسیم ۰/۵ مولار با pH= ۷/۸) در هاون چینی که به منظور حفظ فعالیت آنزیمها روی یخ قرار داده شد، تا یکنواخت شدن کامل ساییده شد. سپس، نمونه‌ها ابتدا در دمای ۴- درجه سلسیوس با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس، فاز رویی را جدا کرده و درون میکروتیوپ جدید ریخته شد و مجدداً نمونه‌های تازه در دمای ۴ درجه سلسیوس و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به عصاره رویی، بافر سدیم استات ۰/۲ مولار (pH= ۴/۸)، بنزیدین و آب اکسیژنه اضافه کرده و ورتکس شد. میزان جذب در طول موج nm ۳۹۰ تعیین و محتوای پراکسید هیدروژن با استفاده از ضریب تصحیح $0.28 \mu\text{M/cm}$ محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد (۲۱).

آنالیز داده‌ها به کمک نرم‌افزار MSTAT-C و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

نتایج

بیوماس کل گیاه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان از معنی داری ($P < 0.01$) اثر شوری، هورمون و برهمکنش آن‌ها بر بیوماس کل گیاه دارد. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت NaCl از مقدار این صفت کاسته شد، به طوری که بیشترین بیوماس کل در تیمار ۲ میلی مولار NaCl و معادل ۱/۳۳ گرم به دست آمد. در اثر متقابل شوری و منبع هورمونی، بیشترین میزان عملکرد با تیمار ۰/۱ میلی گرم بر لیتر اکسین در حضور شوری ۲ و ۴ میلی مولار (۱/۷۶ گرم) به دست آمد (شکل ۱). تنش شوری از طریق کاهش سطح فتوسنتز کننده و نیز به هم زدن تعادل هورمونی در گیاه می‌تواند موجب کاهش وزن خشک گیاه شود (۳۰). پراکاش و پرتاپسنان (۳۴) گزارش دادند که NaCl باعث کاهش قابل توجهی در غلظت IAA برگ می‌شود. اما همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، کاربرد خارجی اکسین در مقابل ترکیب آن با سیتوکینین توانست آثار ناشی از تنش شوری را تا حدی خنثی کند. از این رو، کاربرد خارجی اکسین می‌تواند یک رویکرد جالب برای مقابله با شرایط تنش‌زا فراهم کند. تنش شوری عموماً صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و آناتومیک گیاه را به طور نامطلوب تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۵).



شکل ۲. اثر متقابل غلظت‌های مختلف NaCl و ترکیب‌های هورمونی بر نشت الکترونی غشا در گیاهچه‌های استویا

اختلافی حدود ۳۲٪ مشاهده شد. همچنین، در بررسی اثر شوری بر دو رقم کلزا، افزایش غلظت نمک در محیط رشد منجر به افزایش نشت غشا گردید (۶). برخی محققین گزارش نموده‌اند که شوری موجب القای تنش اکسیداتیو ثانویه شده و با تولید سطح افزایش یافته‌ای از گونه‌های اکسیژن فعال موجب تخریب غشا و افزایش نشت الکترونیست می‌گردد (۲۹). از طرفی، قربانی جاوید و همکاران (۱۸) نیز بیان کردند که سیتوکینین به عنوان یک جذب کننده رادیکال آزاد مستقیم می‌تواند آثار مربوط به تنش شوری را کاهش دهد. در عین حال، IAA نیز در پاسخ به تنش شوری در گیاهان زراعی نقش مهمی ایفا می‌کند. چنانکه در شکل ۲ مشاهده می‌شود، تا سطح شوری ۸۰ میلی‌مولار، نشت غشا در حضور اکسین، تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما بعد از آن افزایش یافت. اکسین در حضور سیتوکینین در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار نسبت به کاربرد ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار NaCl تفاوت معنی‌داری نشان نداد و افزایش نیافت. نشت غشا به عنوان شاخصی مؤثر در تعیین درجه مقاومت به شوری و ارتباط آن با شاخص‌های رشد گیاهان توسط اشرف و علی (۱۱) مطرح شده است. با توجه به جدول ۳، نشت الکترونی غشا با غلظت پروتئین ($r = 0.52^{**}$) و میزان سدیم برگ ($r = 0.44^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد.

نتایج حاصل از این تحقیق، کاهش در وزن گیاهچه‌ها را نشان داد. سلیمی و شکاری (۳) نیز کاهش ماده خشک در بابونه آلمانی را با افزایش شوری گزارش دادند. با توجه به جدول ۳، بین بیوماس کل با مقدار سدیم برگ همبستگی منفی و معنی‌داری ($r = -0.90^{**}$) مشاهده شد. همانطور که نتایج نشان داد، دلیل این امر می‌تواند احتمالاً مربوط به کاهش مواد به دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای باشد. ولی اثر غلظت زیاد نمک به‌طور مشخص روی کارایی کربوکسیلاسیون و نقطه جبران دی‌اکسید کربن در این زمینه نباید نادیده گرفته شود (۵).

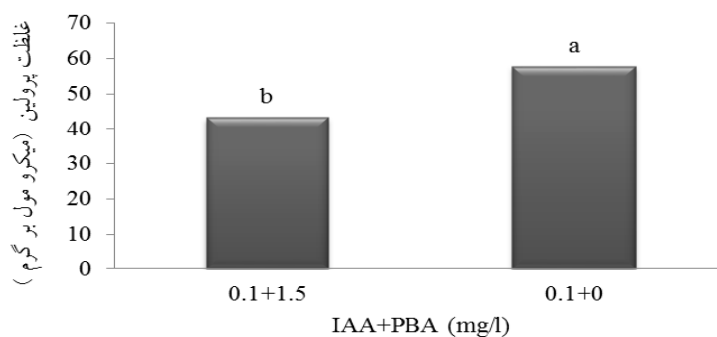
نشت الکترونیست

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به نشت الکترونیست غشاء پلاسمایی (جدول ۲) نشان می‌دهد که شوری و اثر متقابل هورمون در شوری بر این صفت از نظر آماری ($P < 0.01$) معنی‌دار می‌باشد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نمک، میزان نشت غشا افزایش یافت. این صفت از شوری ۱۲۰-۲ میلی‌مولار معادل ۱۸/۱ درصد افزایش نشان داد. در شکل ۲، تیمار شاهد (شوری ۲ میلی‌مولار) به همراه ترکیب هورمونی (IAA+PBA) (۰/۱+۱/۵mg/L)، کمترین و تیمار با ۱۲۰ میلی‌مولار نمک در کنار ۰/۱ میلی‌لیتر IAA، بیشترین نشت الکترونیست غشا را نشان دادند، به‌طوری که بین این دو سطح

جدول ۳. ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در استویا تحت تنش شوری و منابع هورمونی

۱- نشت الکترولیت غشا	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۲- پرولین	۰/۳۲ ^{ns}					
۳- پراکسید هیدروژن	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}				
۴- پروتئین	۰/۵۲ ^{**}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۴۴ [*]			
۵- قندهای محلول	۰/۳۶ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۵۲ ^{**}	۰/۱۸ ^{ns}		
۶- زیست توده	۰/۳۵ ^{ns}	۰/۴۸ [*]	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۵۱ [*]		
۷- سدیم	۰/۴۴ [*]	۰/۴۱ [*]	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۴۱ [*]	۰/۷۰ ^{**}	۰/۹۰ ^{**}
۸- پتاسیم	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}

ns و **، * به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار

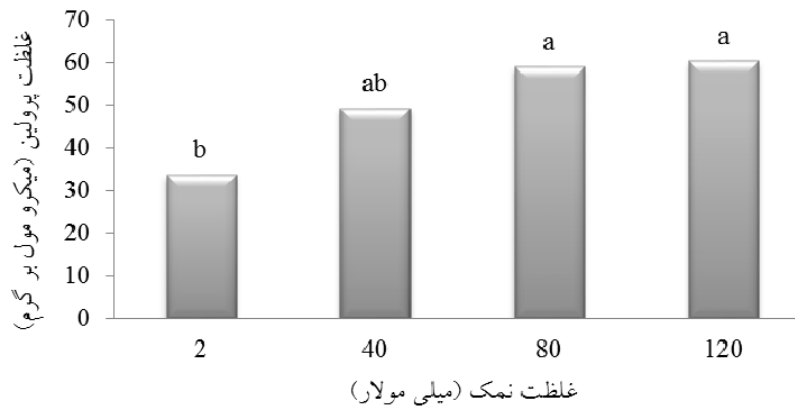


شکل ۳. اثر ترکیب‌های هورمونی بر غلظت پرولین در گیاهچه‌های استویا

پرولین

اثر شوری و هورمون، هر دو در سطح احتمال ۵٪، بر مقدار پرولین معنی دار بود (جدول ۲). با توجه به شکل ۳، ۰/۱ میلی گرم بر لیتر اکسین نسبت به ترکیب تیماری IAA + PBA (۰/۱+۱/۵ mg/L) افزایش ۲۵٪ را در محتوای پرولین برگ استویا نشان داد. در نتیجه، می‌توان این گونه بیان کرد که احتمالاً IAA ۰/۱ نسبت به تیمار آن همراه با PBA در تجمع پرولین در استویا مؤثرتر بوده و از آنجایی که تحت تنش شوری، ارقام متحمل‌تر مقادیر بیشتری از پرولین را در برگ‌های خود تجمع می‌دهند (۴) حضور اکسین می‌تواند در القای تجمع پرولین در گیاهچه‌ها نقش داشته باشد و در نتیجه موجب کاهش تأثیرات زیان‌آور ناشی از تنش بر گیاهچه‌ها شوند. برخی محققین، هورمون‌های رشد گیاه را یکی از روش‌های مقابله با

تنش‌ها معرفی کرده و بیان می‌کنند که این ترکیبات حاوی پیام‌های شیمیایی در پاسخ به عوامل محیطی هستند و شاید بتوان گفت در زمان تنش، تجمع متابولیت‌هایی نظیر پرولین و تنظیم‌کننده‌های اسمزی تحت تأثیر هورمون‌های گیاهی باشد (۲۸). کیشور و همکاران (۲۵)، نقش هورمون‌هایی نظیر آبسزیک اسید، اکسین‌ها و کینتین را مشابه تنش‌های شوری و خشکی در تجمع پرولین گزارش کردند. آن‌ها همچنین بر این نکته تأکید داشتند که فیتوهورمون‌ها و تنش، آغازگرهای مستقلی هستند که از مسیرهای حساس باعث سنتز پرولین می‌شوند. در بررسی اکبری و همکاران (۱۰) روی گیاهچه‌های گندم، تیمار IAA یا NAA تا حد زیادی اثرهای نامطلوب شوری را بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها کاهش داد. تنش شوری سبب افزایش غلظت پرولین در برگ استویا



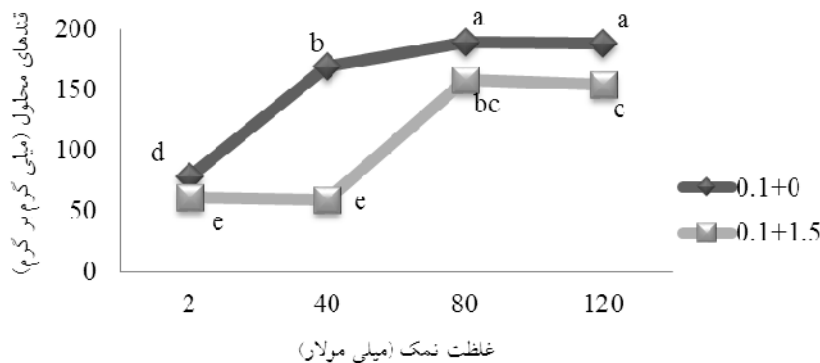
شکل ۴. اثر سطوح مختلف NaCl بر غلظت پرولین در گیاهچه‌های استویا

شوری افزایش یافت و تیمار با 1 mg/L IAA در مقابل ترکیب تیماری $1 \text{ mg/L PBA} + 1 \text{ mg/L IAA}$ افزایش بیشتری در میزان قندهای محلول را نشان داد. با توجه به شکل ۵، تیمار شوری همراه با 1 mg/L IAA مقادیر بیشتری از قندهای محلول را نشان داد، به طوری که بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار 1 mg/L IAA به همراه ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار NaCl به دست آمد که به ترتیب شامل ۱۸۹/۷۶ و ۱۸۸/۴۴ میلی‌گرم بر گرم برگ خشک و قند محلول بود. گیاهان در پاسخ به تنش های محیطی انواع مختلفی از املاح سازگار از جمله قندهای محلول را تجمع می‌دهند (۳۸). این ترکیبات یک گروه از ترکیب‌های آلی شیمیایی هستند که قطبی و محلول در آب بوده و با متابولیسم سلولی حتی در غلظت‌های زیاد دخالت نمی‌کنند. این ترکیبات محلول با حفاظت اسمزی، مهار گونه‌های فعال اکسیژن، حفظ ساختار غشا و تثبیت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها از گیاهان در برابر تنش‌ها محافظت می‌کنند (۲۰). حال اگر تجمع قندها در برگ یکی از ملاک‌های تحمل به تنش در نظر گرفته شود، هورمون‌ها، به‌خصوص اکسین، می‌تواند در این زمینه نقش مثبت ایفا کرده و بر مقاومت گیاه در شرایط تنش شوری بیفزاید. در مطالعات فرهودی (۷) روی گیاهچه‌های گندم، بیشترین مقدار قندهای محلول در بیشترین سطح تنش شوری مشاهده شد. در گیاه سیب‌زمینی، تنش شوری موجب افزایش قندهای محلول شد (۲). این صفت با

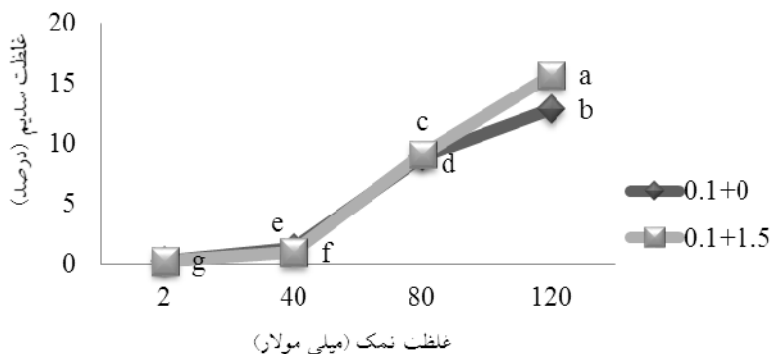
شد. در بیشترین غلظت NaCl، بیشترین غلظت پرولین (۶۰/۳۳ میکرومول بر گرم) به دست آمد. با توجه به شکل ۴، غلظت‌های ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار NaCl نسبت به شاهد به ترتیب حدود ۳۱، ۴۲ و ۴۴ درصد افزایش در غلظت پرولین را نشان دادند. همچنین، همبستگی منفی و معنی‌داری بین پرولین با زیست‌توده ($r = -0.48^*$) مشاهده شد (جدول ۳). زنگ و همکاران (۴۹) با مطالعه استویا گزارش نمودند که محتوای پرولین با افزایش غلظت NaCl افزایش ۴۲ برابری یافت. افزایش تجمع پرولین در حین تنش شوری می‌تواند به دلیل تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش صادرات آن از طریق آوند آبکشی و جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش باشد (۲۷). در شرایط تنش شوری، پرولین به عنوان یک اسمولیت عمل کرده و پتانسیل اسمزی سلول را کاهش داده و یون‌های سمی را جذب می‌کند (۴۷). همچنین، گزارش‌هایی مبنی بر افزایش اسید آمینه پرولین برای تنظیم اسمزی درون سلولی در شرایط تنش شوری در لوبیا چشم بلبلی وجود دارد (۳۳).

قندهای محلول

تجزیه واریانس صفات مربوط به استویا، معنی‌داری ($P < 0.01$) هورمون، شوری و اثر متقابل آن‌ها را بر قندهای محلول نشان می‌دهد (جدول ۲). میزان قندهای محلول با افزایش تنش



شکل ۵. اثر متقابل سطوح مختلف NaCl و ترکیب‌های هورمونی بر قندهای محلول در گیاهچه‌های استویا



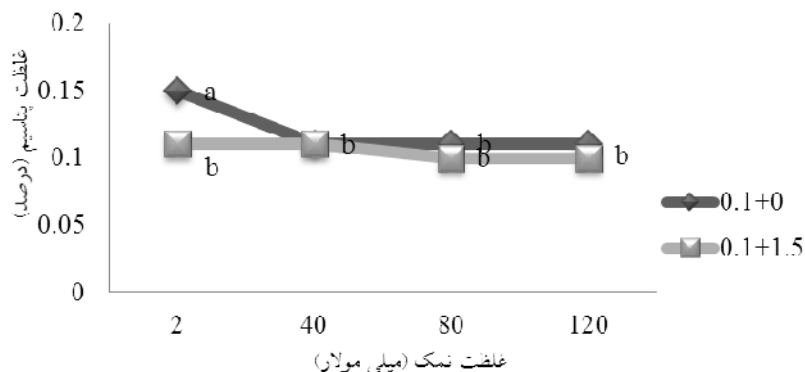
شکل ۶. اثر متقابل غلظت‌های مختلف NaCl و ترکیب‌های هورمونی بر درصد سدیم در گیاهچه‌های استویا

شیموز و هایاشی (۴۰) و نورانی آزاد و حاجی‌باقری (۸) روی گیاه شوید (کشت درون گلدان و آبیاری به‌وسیله محلول غذایی هوگلند) مبنی بر افزایش یون‌های سدیم و کاهش پتاسیم، همراه با افزایش شوری، مطابقت دارد. تجمع یون‌های سدیم در گیاه سبب افزایش فشار اسمزی شده و گیاه از این طریق می‌تواند با کاهش پتانسیل اسمزی محیط ریشه مقابله کند. اما در مقابل، افزایش شوری و یون‌های سدیم در محیط از جذب یون پتاسیم ممانعت به‌عمل آورده و به دنبال آن گیاه با کمبود این عنصر ضروری برای رشد مواجه می‌شود. از طرفی، در یک محیط شور که غلظت سدیم زیاد است، گیاهان مقادیر زیادی از یون سدیم را به‌جای پتاسیم و کلسیم جذب

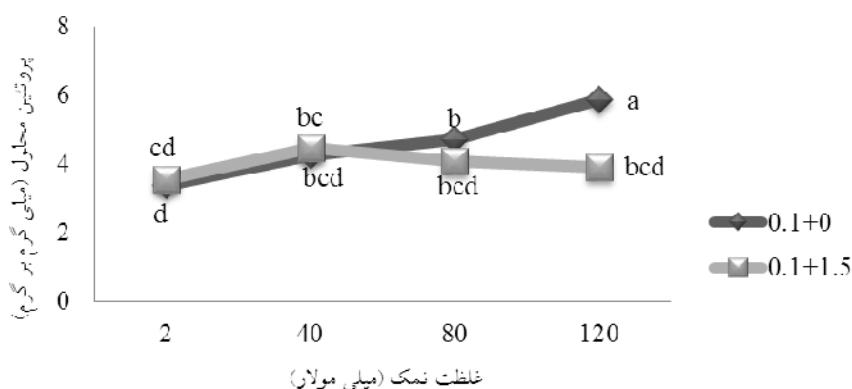
بیوماس کل ($r = -0.51^*$) و سدیم برگ ($r = 0.70^{**}$) همبستگی نشان داد (جدول ۳).

سدیم و پتاسیم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر هورمون، شوری و اثر متقابل آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار ($P < 0.01$) است. با افزایش غلظت نمک، سدیم برگ نیز افزایش معنی‌داری نشان داد. افزایش غلظت NaCl در کنار ترکیب‌های هورمونی افزایش در سدیم برگ و کاهش پتاسیم برگ‌ها را در بر داشت که نشان می‌دهد شوری باعث افزایش معنی‌دار یون‌های سدیم در اندام هوایی استویا می‌شود (شکل‌های ۶ و ۷). این نتایج با یافته‌های



شکل ۷. اثر متقابل غلظت‌های مختلف NaCl و ترکیب‌های هورمونی بر درصد پتاسیم در گیاهچه‌های استویا



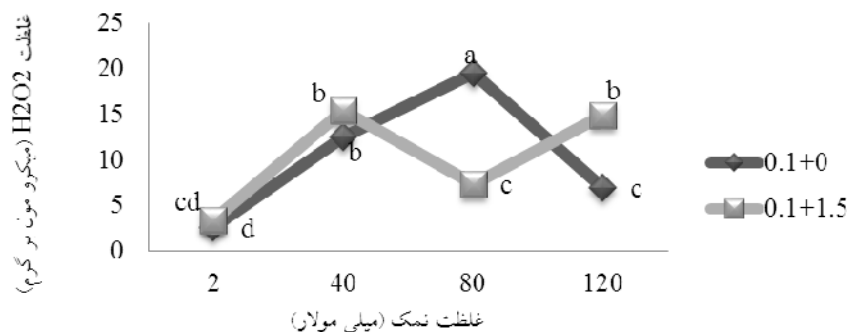
شکل ۸. اثر متقابل غلظت‌های مختلف NaCl و ترکیب‌های هورمونی بر غلظت پرولین محلول در گیاهچه‌های استویا

اکسین بیشترین غلظت پروتئین (۵/۸۸ میلی‌گرم بر گرم) و عدم تیمار NaCl به همراه دو ترکیب هورمونی که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد، کمترین مقدار (۳/۳۹ و ۳/۵۶) را نشان داد. سیپول و همکاران (۴۲) گزارش نمودند که تیمار گیاهچه‌های شبدر (*Medicago citrina* L.) به مدت ۳۰ روز با غلظت‌های NaCl میزان پروتئین‌های محلول گیاه را در مقایسه با شاهد افزایش داد. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد IAA با تأثیر بیشتر بر آنزیم‌های مسیر سنتزی و یا تجزیه پروتئین‌ها، در افزایش میزان پروتئین‌ها دخالت داشته باشد. جدول ۳ همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین این صفت با قندهای محلول ($r=0/52^{**}$) و سدیم برگ ($r=0/41^*$) نشان می‌دهد.

می‌کنند که این امر منجر به کمبود این عناصر و نهایتاً کاهش رشد می‌شود (۴۸). با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد گیاه استویا قادر به تسهیم و جذب مقادیر سدیم نسبتاً زیادی می‌باشد.

پروتئین کل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر هورمون ($P<0/05$)، شوری و اثر متقابل آن‌ها از نظر آماری ($P<0/01$) معنی‌دار است. هورمون اکسین به تنهایی در مقابل ترکیب آن با سیتوکینین توانست میزان پروتئین بیشتری را نشان دهد. از طرفی، با افزایش غلظت شوری، بر مقدار این صفت، تفاوتی جز در شوری ۲ میلی‌مولار مشاهده نشد. همانطور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود، بیشترین غلظت NaCl به همراه ۰/۱



شکل ۹. اثر متقابل غلظت‌های مختلف NaCl و ترکیب‌های هورمونی بر غلظت پراکسید هیدروژن در گیاهچه‌های استویا

پراکسید هیدروژن

نتایج تجزیه واریانس نشان از معنی‌داری اثر هورمون، شوری و اثر متقابل آن‌ها بر این صفت دارد (جدول ۲). با توجه به شکل ۹، بعد از گذشت سه هفته، میزان هیدروژن پراکسید از سطح ۰/۱ اکسین بدون NaCl تا ۰/۱ اکسین به همراه ۸۰ میلی‌مولار NaCl افزایش ۸۶ درصدی نشان داد و پس از آن کاهش یافت. یکی از آثار تنش شوری، تنش اکسیداتیو است که منجر به تولید ROS مانند یون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن شده و گیاهان در مقابل، دو روش دفاعی (آنزیمی و غیر آنزیمی) از خود نشان می‌دهند. در روش آنزیمی، سوپراکسید دسموتاز اولین سیستم دفاعی آنزیمی است که یون‌های سوپراکسید را به هیدروژن پراکسید و آب تبدیل می‌کند و بعد از آن کاتالاز تولید شده می‌تواند پراکسید هیدروژن را تجزیه کند (۴۵ و ۴۶). با توجه به شکل ۹، شاید دلیل افزایش پراکسید هیدروژن مربوط به افزایش تولید سوپراکسید دسموتاز در گیاه باشد و به دنبال آن فعالیت کاتالاز می‌تواند به حذف پراکسید هیدروژن منجر شود. در شکل ۹ نیز کاهش در مقدار پراکسید هیدروژن بعد از شوری ۸۰ میلی‌مولار در کنار ۰/۱ اکسین کاملاً واضح است. زنگ و همکاران (۴۹) بیان کردند که با افزایش غلظت NaCl بعد از ۴ هفته افزایش ۲-۴ برابری کاتالاز در استویا مشاهده شد. با توجه به جدول ۳، همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = 0.44^*$) بین

غلظت پراکسید هیدروژن و قندهای محلول مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش مؤید آن است که بیشترین غلظت NaCl (۱۲۰ میلی‌مولار) به همراه IAA و PBA IAA+ PBA وزن خشک گیاه را نسبت به شاهد (شوری ۲ میلی‌مولار همراه با هورمون‌ها) به ترتیب ۱۸/۷ و ۳۶/۸ درصد کاهش داد. بنابراین، به نظر می‌رسد کاربرد اکسین با این غلظت برای کاهش آثار سوء تنش شوری بر عملکرد گیاهچه‌های استویا نسبت به ترکیب آن با این غلظت سیتوکینین مؤثرتر باشد. از طرفی، افزایش غلظت NaCl در کنار هورمون اکسین محتوای قندهای محلول و پروتئین را در برگ‌های استویا نسبت به ترکیب هورمونی دیگر بیشتر افزایش داد. پروتئین نیز در بیشترین غلظت NaCl، نسبت به شوری ۲ میلی‌مولار، ۴۴٪ افزایش یافت. با توجه به اینکه تجمع و سنتز ترکیبات سازگار اسمززا و محافظ اسمزی یکی از راه‌های مقابله با تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری است، در نتیجه، کاربرد خارجی اکسین به‌کار رفته در آزمایش با غلظت‌های مطرح شده می‌تواند تا حدی تعادل هورمونی از بین رفته به وسیله شوری را جبران کرده و در مقاومت گیاه به شرایط شوری مفید باشد. از طرفی، از شوری ۱۲۰-۴۰ میلی‌مولار تغییرات معنی‌داری در محتوای پتاسیم برگ استویا مشاهده نشد

تنش شوری از خود نشان می‌دهد و قادر به تسهیم و جذب مقادیر سدیم نسبتاً زیادی می‌باشد. که با توجه به نقش مهم این عنصر در سنتز پروتئین، خود می‌تواند دلیلی بر افزایش پروتئین باشد. به‌طور کلی، به‌نظر می‌رسد که استویا یکی از گیاهان دارویی است که تحمل نسبی در برابر

منابع مورد استفاده

۱. احمدی موسوی، ع. ا.، خ. منوچهری کلانتری و م. ترک‌زاده. ۱۳۸۴. اثر نوعی براسینواستروئید (24-epibrassinolide) بر مقدار تجمع مالون دآلدئید، پرولین، قند و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) تحت تنش کم‌آبی. مجله زیست‌شناسی ایران ۱۸(۴): ۲۹۵-۳۰۶.
۲. دانشمند، ف. ۱۳۹۳. تأثیر آسکوربیک اسید در کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در سیب‌زمینی. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۷(۳): ۴۱۷-۴۲۶.
۳. سلیمی، ف. و ف. شکاری. ۱۳۹۱. تأثیر متیل جاسمونات و تنش شوری روی برخی خصوصیات ریخت‌شناسی و عملکرد گل در بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilia L.*). مجله زیست‌شناسی گیاهی ۴(۱۱): ۲۷-۳۸.
۴. شعاع، م. و ح. ر. میری. ۱۳۹۱. کاهش اثرات سوء تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک گندم از طریق کاربرد اسید سالیسیلیک. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۱(۵): ۷۱-۸۸.
۵. علیایی، ف.، ب. بانی‌نسب و س. قبادی. ۱۳۹۴. اثر تنش شوری بر برخی شاخص‌های تبادلات گازی برگ در چهار رقم زیتون. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۴(۱۲): ۵۱-۵۹.
۶. عمواقایی، ر.، ه. قربان‌نژاد نی‌ریزی و ا. مستأجران. ۱۳۹۳. بررسی اثر شوری بر رشد گیاهچه، میزان کلروفیل، محتوای نسبی و پایداری غشا در دو رقم کلزا. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۷(۲): ۲۵۶-۲۶۸.
۷. فرهودی، ر. ۱۳۹۲. بررسی اثر تنش شوری بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک رقم گندم در مرحله رشد رویشی. فصل‌نامه فیزیولوژی گیاهان زراعی ۵(۲۰): ۷۱-۸۶.
۸. نورانی آزاد، ح. و م. ر. حاجی‌باقری. ۱۳۸۷. تأثیر تنش شوری بر روی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه شوید (*Anethum graveolens L.*). نشریه بوم‌شناسی گیاهان زراعی ۴(۱۲): ۹۳-۱۰۰.
9. Afzali, S.F., M.A. Hajabbasi., H. Shariatmadari, K. Razmjoo and A.H. Khoshgoftarmanesh. 2006. Comparative adverse effects of PEG-or NaCl-induced osmotic stress on germination and early seedling growth of a potential medicinal plant *Matricaria Chamomilla*. *Pak. J. Bot.* 38(5): 1709-1714.
10. Akbari, G., S.A. Sanavy and S. Yousefzadeh. 2007. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum L.*). *J. Biol. Sci.* 10(15): 2557-2561.
11. Ashraf, M. and Q. Ali. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determination of salt tolerance in canola (*Brassica napus L.*). *J. Environ. Exp. Bot.* 63(1): 266-273.
12. Bates, L.S., R.P. Waldren and D. Teari. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *J. Plant Soil* 39(1): 205-207.
13. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *J. Biochem.* 72(1-2): 248-254.
14. Chapman, H.D. and P.F. Pratt. 1961. *Methods of Analysis for Soil, Plant and Water*. University of California, Division of Agric. Sci., 309 p.
15. Davies, P.J. 2004. *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Springer.
16. Dionisio-Sese, M.L. and S. Tobita. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *J. Plant Sci.*

- 135(1): 1-9.
17. Earanna, N. 2007. Response of *Stevia rebaudiana* to biofertilizers. Karnataka J. Agric. Sci. 20(3): 616-617.
 18. Ghorbani Javid, M., A. Sorooshzadeh, F. Moradi, S.A.M. Modarres Sanavy and I. Allahdadi. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. J. Crop Sci. 5(6): 726-734.
 19. Hasegawa, P.M., R.A. Bressan, J. K. Zhu and H.J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Ann. Rev. Plant Biol. 51(1): 463-499.
 20. Hayat, S., Q. Hayat, M.N. Alyemeni, A.S. Wani, J. Pichtel and A. Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments: A review. J. Plant Signal. Behavior 7(11): 1456-1466.
 21. Hung, S.H., C.W. Yu and C.H. Lin. 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. J. Bot. Bull. Acad. Sinica 46(1): 1-10.
 22. Iqbal, M., M. Ashraf and A. Jamil. 2006. Seed enhancement with cytokinins: Changes in growth and grain yield in salt stressed wheat plants. J. Plant Growth Regul. 50(1): 29-39.
 23. Kerepesi, I. and G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. J. Crop Sci. 40(2): 482-487.
 24. Khan, M.A., I.A. Ungar and A.M. Showalter. 2000. Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte haloxylon recurvum. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 31(18): 2763-2774.
 25. Kishor, P.K., S. Sangam, R.N. Amrutha, P.S. Laxmi, K.R. Naidu, K.R.S.S. Rao and N. Sreenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Curr. Sci. 88(3): 424-438.
 26. Kumuda, C.N. 2006. Influence of plant growth regulators and nitrogen on regulation of flowering in stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). MSc. Thesis, Dept. of Crop Physiol., College of Agric., Univ. of Agric. Sci., Dharwad.
 27. Lutts, S.J., M. Kint and J. Bouharmont. 1996. Effect of various salts and mannitol on ion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice callus cultures. J. Plant Physiol. 149(1): 186-195.
 28. Mckersie, B.D. and Y.Y. Leshem. 1994. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. Klumer Academic Publishers, The Netherlands.
 29. Mukherjee, A.K. and S. Bhattacharjee. 2002. Salt stress-induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in the three rice cultivars during early germination. J. Seed Sci. Technol. 30: 279-286.
 30. Munns, R. 1988. Causes of varied differences in salt tolerance. J. Plant Physiol. 42: 960-989.
 31. Pandey, M. and S.K. Chikara. 2014. In vitro regeneration and effect of abiotic stress on physiology and biochemical content of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. J. Plant Sci Res. 1(3): 113.
 32. Parida, A.K., A.B. Das and P. Mohanty. 2004. Investigations on the antioxidative defence responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: Differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes. J. Plant Growth Regul. 42(3): 213-226.
 33. Patel, P.R., S.S. Kajal, V.R. Patel, V.J. Patel and S.M. Khristi. 2010. Impact of salt stress on nutrient uptake and growth of cowpea. J. Plant Physiol. 22(1): 43-48.
 34. Prakash, L. and G. Prathapasanen. 1990. NaCl and gibberellic acid induced changes in the content of auxin, the activity of cellulose and pectin lyase during leaf growth in rice (*Oryza sativa*). J. Bot. 65(3): 251-257.
 35. Qasim, M., M. Ashraf, M.A. Jamil, M.Y. Ashraf, S.U. Rehman and E.S. Rha. 2003. Water relations and gas exchange properties in some elite canola (*Brassica napus* L.) lines under salt stress. J. Appl. Biol. 142(3): 307-316.
 36. Raina, R., S.K. Bhandari, R. Chand and Y. Sharma. 2013. Strategies to improve poor seed germination in *Stevia rebaudiana*, a low calorie sweetener. J. Med. Plants Res. 7(24): 1793-1799.
 37. Ribaut, J.M. and P.E. Pilet. 1994. Water stress and indole-3yl-acetic acid content of maize roots. J. Planta. 193(4): 502-507.
 38. Serraj, R. and T.R. Sinclair. 2002. Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? J. Plant Cell Environ. 25(2): 333-341.
 39. Sheligl, H.Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta J. 41: 47-51.
 40. Shimose, N. and N. Hayashi. 1983. Salt tolerance of parsley, welsh onion, radish and cabbage. Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Okayama University, Japan, 62: 25-30.
 41. Shongwe, N.P. and P.K. Wahome. 2014. Effects of salinity stress on vegetative growth of chrysanthemum (*Dendranthema glandiflora* Kitam.). UNISWA J. Agric. Sci. Technol. 15(1).
 42. Sibole, J.V., C. Cabot, C. Poschenreder and J. Barcelo. 2003. Efficient leaf ion partitioning, an overriding condition for abscisic acid-controlled stomatal and leaf growth responses to NaCl salinization in two legumes. J. Exp. Bot. 54(390): 2111-2119.
 43. Tahir, M.A., T. Aziz, M. Farooq and G. Sarwar. 2012. Silicon induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt stressed wheat genotypes. Arch. Agron. Soil Sci. 58(3): 247-256.

44. Uddin, M.S., M.S.H. Chowdhury, M.M. Mahfuzul Haque Khan, M.B. Uddin, R. Ahmed and M.D. Azizul Baten. 2006. In vitro propagation of *stevia rebaudiana* Bertoni in Bangladesh. J. Biotech. 5(13): 1238-1240.
45. Wang, H.M., X.R. Xiao, M.Y. Yang, Z.L. Gao, J. Zang, X.M. Fu and Y.H. Chen. 2014. Effects of salt stress on antioxidant defense system in the root of *Kandelia candel*. J. Bot. Stud. 55: 57-63.
46. Wang, Y., S. Mopper and K.H. Hasentein. 2001. Effects of salinity on endogenous ABA, IAA, JA, and SA in *Iris hexagona*. J. Chem. Ecol. 27(2): 327-342.
47. Woodward, A.J. and I.J. Bennett. 2005. The effect of salt stress and abscisic acid on proline production, chlorophyll content and growth of in vitro propagated shoots of *Eucalyptus camaldulensis*. J. Plant Cell, Tissue Organ Culture 82(2): 189-200.
48. Yassen, B.Y. and J.A. Jurgees. 1998. The response of sugar beet leaf growth and its ionic composition to sodium chloride. J. Agric. Water Res. 7(1): 47-59.
49. Zeng, J., A. Chen, D. Li, B. Yi and W. Wu. 2013. Effects of salt stress on the growth, physiological responses, and glycoside contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. J. Agric. Food Chem. 61(24): 5720-5726.