



انستیتو ملی تحقیقات در صنایع باغبانی

نشریه پژوهش های تولید گیاهی

جلد بیست و ششم، شماره سوم، ۱۳۹۸

۱-۲۰

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2019.13284.2196

اثر شدت نور در پاسخ به تنش سرما بر صفات رویشی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

مهرانوش امامیان طبرستانی^۱، اسفندیار فرهمندفر^۲، *همت‌اله پیردشتی^۳ و یاسر یعقوبیان^۴

^۱دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،

^۲استادیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،

^۳دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران،

^۴دکتری زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۳/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۰۵

چکیده

سابقه و هدف: قرار گرفتن گیاهان در معرض دمای بین صفر تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد موجب خسارت فیزیولوژیکی در آنها می‌شود. یکی از این خسارت‌ها افزایش تشکیل گونه‌های آزاد اکسیژن است که باعث اکسیداسیون و تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین و لیپیدهای غشای تیلکوئیدی می‌شود. نور نیز بر رشد، اندام‌زایی و تولیدات گیاهی شامل متابولیت‌های اولیه و ثانویه تأثیر دارد، به طوری که با افزایش شدت نور، سطح برگ، دوام سطح برگ و زیست‌توده گیاه افزایش می‌یابد اما در شدت نور کم میزان تنفس از فتوسنتز بیش‌تر است. از آنجایی که شدت نور می‌تواند در مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش سرما مؤثر باشد و استویا به‌عنوان گیاهی حساس به سرما نمی‌تواند دمای زیر نه درجه سانتی‌گراد را تحمل کند، بنابراین، هدف از انجام این پژوهش تعیین چگونگی پاسخ صفات رویشی، فیزیولوژیکی و قند محلول این گیاه به تنش سرما در شدت‌های مختلف نور بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج زمان تنش سرما (صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز) در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و سه شدت نور شامل نور معمولی، ۵۰ و ۱۰ درصد نور معمولی (به‌ترتیب ۲۴۰، ۱۲۰ و ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) بود. نشاءهای حاصل از کشت بافت گیاه استویا پس از گذراندن دوره سازگاری (به‌مدت ۴۰ روز)، در گلدان‌های پلاستیکی کشت و به‌مدت ۳۰ روز در شرایط مطلوب رشدی (دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۵ ساعت) نگهداری و سپس تیمارهای نوری و دمایی مورد نظر به آنها اعمال شد. پس از اعمال تیمارها، میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل نسبت کلروفیل *a/b* و کاروتنوئید، صفات ریخت‌شناسی و خشک‌اندام‌های رویشی گیاه اندازه‌گیری گردید. در نهایت به‌وسیله نمونه خشک برگ‌گی قند محلول گیاه اندازه‌گیری شد.

* مسئول مکاتبه: h.pirdashti@sanru.ac.ir

یافته‌ها: نتایج نشان داد با افزایش مدت زمان تنش سرما، طول ریشه، تعداد گره، سطح برگ و وزن خشک برگ، ریشه، اندام هوایی و کل به صورت مدل دوتکه‌ای و وزن خشک ساقه به صورت خطی کاهش یافت. با کاهش شدت نور از ۲۴۰ تا ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه، سطح برگ، ارتفاع بوته، وزن خشک اندام‌های رویشی و قند محلول (بین ۱۰ تا ۴۸ درصد) کاهش یافتند. به علاوه پس از ۱۶ روز تنش سرما در هر سه شدت نور مورد مطالعه، کلروفیل a (بین ۱۸ تا ۹۱ درصد)، b (بین ۱۶ تا ۷۶ درصد)، $a+b$ (بین ۱۷ تا ۸۶ درصد)، a/b (بین ۱ تا ۶۰ درصد) و کاروتنوئید (بین ۱۶ تا ۹۱ درصد) نسبت به شاهد به صورت خطی و دوتکه‌ای کاهش نشان دادند که این کاهش در شدت نور پایین بیش تر بود. قند محلول و وزن خشک کل بیش‌ترین همبستگی را به ترتیب با سطح برگ و وزن اندام هوایی داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج بیانگر حساسیت صفات رویشی، فیزیولوژیک و میزان قند محلول گیاه استویا به افزایش مدت زمان تنش سرما و کاهش شدت نور بود. به طوری که بیش‌ترین حساسیت به افزایش مدت زمان تنش سرما و کاهش شدت نور در صفات فیزیولوژیک مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: استویا، تنش سرما، شدت نور، قند محلول، کلروفیل

مقدمه

این خسارت‌ها با کاهش فتوسنتز موجب کاهش رشد گیاهان می‌گردند (۳۰). همچنین با کاهش دما علائم فنوتیپی مختلفی مانند کاهش رشد و سطح برگ، پژمردگی، کلروز (زردی برگ) و نکروز (مرگ بافت) در گیاهان مشاهده می‌شود (۵۴). به علاوه اغلب در دمای پایین نشانه‌های تنش آبی مانند پتانسیل پایین آب و آماس برگ در گیاهان حساس به سرما مشاهده می‌گردد که به عنوان تنش آبی ناشی از سرمازدگی شناخته می‌شود (۱۵). در محیط ریشه نیز با افزایش مقاومت هیدرولیکی ریشه و اختلال در غشای سیتوپلاسمی آن، منجر به کاهش رشد ریشه و اثرات ثانویه کمبود مواد غذایی و اختلال در رشد گیاه می‌شود (۳۰).

نور نیز بر رشد، اندام‌زایی و تشکیل تولیدات گیاهی شامل متابولیت‌های اولیه و ثانویه تأثیر دارد (۴۷، ۴۸)، به طوری که تجمع ماده خشک فصلی، انتگرال میزان جذب تراکم فوتون فتوسنتزی به وسیله تاج پوشش گیاه زراعی و کارایی تبدیل جریان فوتون فتوسنتزی جذب شده به ماده خشک می‌باشد (۵۵). از

گیاهان در طی دوره رشد و نمو خود با تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلفی مواجه می‌شوند. در این میان، تنش‌های ناشی از عوامل محیطی مانند نور، خشکی، دما، شوری و غیره بر رشد، نمو، عملکرد و پراکنش گیاهان تأثیر می‌گذارد (۷ و ۲۲). سرما یکی از عوامل عمده محدودکننده رشد می‌باشد که موجب کاهش عملکرد و حتی مرگ گیاهان می‌گردد (۱۷ و ۲۸). دو عامل اصلی ایجاد تنش سرما دمای پایین و روزهای کوتاه می‌باشد (۳۴) و قرار گرفتن گیاهان در معرض دمای بین صفر تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد موجب خسارت فیزیولوژیکی در آن‌ها می‌شود (۴۶). یکی از این خسارت‌ها افزایش تشکیل گونه‌های آزاد اکسیژن است که باعث اکسیداسیون و تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین و لیپیدهای غشای تیلاکوئیدی می‌شود (۲۵). در آزمایشی روی کلزا مشاهده شد که تنش سرما باعث کاهش در میزان کلروفیل a ، b و کلروفیل کل شد که به احتمال زیاد به علت خسارت ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۳۲). در نهایت

چند ساله و روز کوتاه بوده و کشت و کار آن به خاطر برگ شیرین و خواص ضددیابتی آن رو به گسترش است (۶، ۱۹ و ۴۲). شیرینی برگ‌های این گیاه به دلیل وجود مواد گلیکوزیدی با ساختار دی‌ترین در آن است که مهم‌ترین آن‌ها استویوزید و ربادیوزید می‌باشد. در این میان استویوزید از بقیه گلیکوزیدها شیرین‌تر بوده و شیرینی آن حدوداً ۳۰۰ برابر شکر است (۱۳). این ماده شیرین‌کننده فاقد کالری است و برای افرادی که از دیابت، هیپوگلیسمی، فشار خون بالا، فنیل کتون اوری، ناراحتی‌های قلبی، چاقی و عفونت‌های قارچی مزمن رنج می‌برند یک شیرین‌کننده مطلوب می‌باشد (۳۸). در نهایت از آنجایی که نور و دما از عوامل تعیین‌کننده در فرآیند تولید گیاهان است (۱۲) و استویا نیز گیاهی حساس به سرما بوده و از سرمای زیاد رنج می‌برد و دمای زیر نه درجه سانتی‌گراد را تحمل نمی‌کند (۴۹)، هدف از انجام این پژوهش تعیین چگونگی پاسخ صفات رویشی، فیزیولوژیک و قند محلول این گیاه به تنش سرما در شدت‌های مختلف نور بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در تابستان و پاییز سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه تنش‌های محیطی و گلخانه پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج زمان تنش سرما (صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز) در دمای 2 ± 6 درجه سانتی‌گراد و سه شدت نور شامل نور معمولی، ۵۰ و ۱۰ درصد نور معمولی (به ترتیب ۲۴۰، ۱۲۰ و ۲۴ میکرومول بر مترمربع در

سوی دیگر، مقدار استفاده برگ از نوری که دریافت می‌کند به شدت و کیفیت نور، فاصله برگ از منبع نور، رنگیزه‌های موجود در برگ، مدت تابش نور، سن برگ و مقدار کلروفیل آن بستگی دارد که در این میان بین شدت نور و شدت فتوسنتز یک رابطه مثبت افزایشی وجود دارد، به طوری که با افزایش شدت نور، سطح برگ، دوام سطح برگ و زیست‌توده گیاه افزایش می‌یابد (۴۴). اگرچه در شدت نور کم نیز فتوسنتز انجام می‌شود، ولی در عمل میزان تنفس از فتوسنتز بیش‌تر است (۳۱). افزون بر آن میزان کلروفیل نیز تحت تأثیر تیمارهای نوری مختلف قرار می‌گیرد. در آزمایشی روی گیاه ذرت بیش‌ترین میزان کلروفیل در شرایط شدت نور اضافی و طبیعی و کم‌ترین آن در شرایط نور کم با استفاده از سایه‌انداز حاصل شد (۱۶). بنابراین قابلیت گیاه برای ادامه زندگی بستگی به ادامه فتوسنتز در نور کم دارد و شدت‌های نور کم‌تر از آستانه خسارت موجب ایجاد آسیب در گیاه می‌شود که اثر بارز آن کاهش در مقدار مواد قندی است که به دنبال تغییرات سوخت‌وسازی گیاه رخ می‌دهد (۱۱). از طرف دیگر، شدت نور می‌تواند در مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی به ویژه تنش سرما مؤثر باشد. پژوهشگران طی آزمایشی مشاهده کردند که با کاهش شدت نور میزان خسارت ناشی از تنش سرما بر صفات رویشی سویا کاهش یافت (۲۷). اما در گزارش دیگری برهمکنش آن‌ها اثر معنی‌داری بر محتوی کلروفیل نداشت و تنها تنش سرما میزان کلروفیل a و $a+b$ را به طور معنی‌داری کاهش داد (۲۶).

گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) بومی برزیل و پاراگوئه و متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) است (۱۳). این گیاه بوته‌ای، پایا و

عدد پانچ از برگ‌های استویا تهیه و در هشت میلی‌لیتر متانول غوطه‌ور شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Analytic jena- SPEKOL 1300) قرائت و ثبت گردید. در نهایت میزان کلروفیل (Chl_a) a، (Chl_b) b، کلروفیل کل (Chl_{a+b}) نسبت کلروفیل $(Chl_{a/b})$ a/b و کاروتنوئید به ترتیب با استفاده از روابط یک تا پنج محاسبه و بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش گردید (۴۱).

ثانیه) بود. نشاءهای حاصل از کشت بافت گیاه استویا پس از گذراندن دوره سازگاری در اتاقک رشد و گلخانه (به مدت ۴۰ روز)، در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۱۳، قطر ۱۰ سانتی‌متر و گنجایش یک کیلوگرم و در خاکی با مشخصات جدول ۱ کشت و به مدت ۳۰ روز در شرایط مطلوب رشدی (دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۵ ساعت) نگهداری شدند. سپس به منظور اعمال تیمارهای آزمایشی، به اتاقک رشد (SPG 30000، شرکت نور صنعت) منتقل و تیمارهای نوری و دمایی مورد نظر به آن‌ها اعمال شد. **سنجش کلروفیل و کاروتنوئید:** پس از اعمال تیمارها و برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ، شش

$$chl_a (\mu g / ml) = 16.72A_{665.2} - 9.16A_{652.4} \quad (1)$$

$$chl_b (\mu g / ml) = 34.09A_{652.4} - 15.28A_{665.2} \quad (2)$$

$$chl_{a+b} (\mu g / ml) = chl_a + chl_b \quad (3)$$

$$chl_{a/b} (\mu g / ml) = chl_a / chl_b \quad (4)$$

$$Carotenoid (\mu g / ml) = (1000A_{470} - 1.63Chl_a - 104.96Chl_b) / 221 \quad (5)$$

سانتی‌گراد قرار داده شدند. اندازه‌گیری وزن خشک برگ، ساقه، بوته و ریشه با استفاده از ترازوی حساس ۰/۰۰۰۱ (HR-100i) انجام شد.

سنجش میزان قند محلول: میزان قند محلول نیز به روش دو بیس و همکاران (۱۹۵۶) اندازه‌گیری شد (۱۰). در این روش ۰/۰۳ گرم از نمونه خشک گیاهی کاملاً پودر شده و به ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰

اندازه‌گیری صفات رویشی: برای اندازه‌گیری صفات رویشی، ابتدا تعداد برگ شمارش و سپس طول ساقه، ریشه و ارتفاع بوته با استفاده از خط‌کش مدرج اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری قطر ساقه از کولیس دیجیتالی (مدل Guanglu) و برای اندازه‌گیری سطح برگ از نرم‌افزار Digimizer استفاده شد. سپس نمونه‌های گیاهی برای خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه

استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ و به روش کولموگروف-اسمیرنوف، آزمون نرمال شد. همچنین تجزیه واریانس و همبستگی داده‌ها به وسیله نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ انجام شد (۴۵). با توجه به تعداد متفاوت شاخه در نشاهای مورد استفاده، در برخی صفات از تجزیه کوواریانس (۵۰) استفاده گردید. میانگین‌ها در سطوح شدت نور با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. همچنین برای کمی سازی اثر تنش سرما از تجزیه رگرسیونی و برازش معادله خطی (رابطه ۶) و دوتکه‌ای (رابطه ۷) استفاده گردید (۴). برای رسم منحنی‌ها نیز از نرم افزار Excel استفاده شد.

دور در دقیقه سانتیفریوژ شدند. بعد از تبخیر کامل الکل نمونه‌ها در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ده میلی‌لیتر آب مقطر روی نمونه خشک شده اضافه گردید. سپس به ترتیب ۰/۴۷ میلی‌لیتر هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال و ۰/۵ میلی‌لیتر سولفات روی ۵ درصد به محلول فوق اضافه شد. دوباره محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوژ شد و مقدار دو میلی‌لیتر از فاز رویی آن جدا و یک میلی‌لیتر محلول فنل ۵ درصد و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به آن اضافه گردید. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد.

در نهایت داده‌های به دست آمده از این پژوهش شامل صفات رویشی، فیزیولوژیک و قند محلول با

$$y = b_1x + a \quad (6)$$

$$y = b_1x + a \quad \text{if} \quad x \leq x_0 \quad (7)$$

$$y = (b_1x_0 + a) + b_2(x - x_0) \quad \text{if} \quad x > x_0$$

دو بخش معادله و b_1 و b_2 شیب تغییرات صفات (کاهشی یا افزایشی) به ترتیب در بخش یک و دو معادله هستند.

که در آن، y مقدار پیش‌بینی شده برای صفات مورد نظر، a مقدار ثابت در سرمای صفر (بدون تنش سرما)، x مدت زمان تنش سرما، x_0 نقطه چرخش بین

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک.

Table 1. Physical and chemical characteristics of the soil.

EC (dS.m ⁻¹)	pH	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	شن	سیلت	رس	بافت خاک
		K	P	N	Sand	Silt	Clay	Soil texture
		(ppm)			(%)			
1.46	7.56	270	14.1	0.25	22.2	35.2	42.6	رسی-لومی Clay-loam

نتایج و بحث

تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات رویشی گیاه استویا: تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات رویشی استویا نشان داد که تنش سرما بر طول ریشه و وزن خشک ساقه و اندام هوایی اثر معنی‌داری ($P < 0.01$) داشت. همچنین تیمار شدت

نور بر وزن خشک ساقه و ریشه در سطح احتمال پنج درصد و وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری را نشان داد. ولی برهمکنش اثر سرما و شدت نور در هیچ‌یک از صفات معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش سرما و شدت نور بر صفات رویشی گیاه استویا.

Table 2. Analysis of variance for effect of cold stress and light intensity on vegetative traits of stevia plant.

وزن خشک Dry weight			حجم ریشه Root volume	طول ریشه Root length	قطر ساقه Stem diameter	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V
ریشه Root	اندام هوایی Shoot	ساقه Stem					
0.109*	0.765**	0.203**	1.250**	27.578 ^{ns}	0.233**	2	بلوک Block
0.059 ^{ns}	0.206**	0.071**	0.149 ^{ns}	57.212**	0.010 ^{ns}	4	تنش سرما Cold stress (C)
0.114*	0.375**	0.069*	0.026 ^{ns}	32.504 ^{ns}	0.010 ^{ns}	2	شدت نور Light intensity (L)
0.024 ^{ns}	0.067 ^{ns}	0.011 ^{ns}	0.258 ^{ns}	24.803 ^{ns}	0.011 ^{ns}	8	تنش سرما × شدت نور C×L
0.028	0.047	0.014	0.136	11.343	0.040	28	خطا Error
16.61	9.47	10.9	0.18	16.7	13.5		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. ^{ns} عدم معنی‌داری.

* and ** Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. ^{ns} Non-significant.

تجزیه کوواریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات رویشی گیاه استویا: در این آزمایش به دلیل معنی‌داری اثر عامل کواریت (تعداد شاخه) بر صفات تعداد برگ، ارتفاع بوته، تعداد گره، سطح برگ و وزن خشک برگ و کل بوته از تجزیه کوواریانس در این صفات استفاده گردید. در این بررسی مشاهده شد که اثر ساده تنش سرما بر تعداد گره و وزن خشک کل بوته ($P < 0.05$)

و سطح برگ ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. همچنین تیمار شدت نور بر ارتفاع بوته در سطح احتمال پنج درصد و سطح برگ و وزن خشک برگ و کل در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری را نشان داد. ولی تفاوت معنی‌داری در برهمکنش اثر سرما و شدت نور در صفات مذکور مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه کوواریانس (میانگین مربعات) اثر تنش سرما و شدت نور بر صفات رویشی گیاه استویا.

Table 3. Analysis of covariate for effect of cold stress and light intensity on vegetative traits of stevia plant.

وزن خشک Dry weight		سطح برگ Leaf area	تعداد گره Node number	ارتفاع بوته Plant height	تعداد برگ Leaf number	درجه آزادی df	منابع تغییر
کل total	برگ Leaf						
1.95 ^{ns}	0.29 ^{ns}	1863.03 ^{ns}	433.01 ^{ns}	32.31 ^{ns}	1490.67 ^{ns}	1	کواریت بلوک Block covariates
0.96	0.08	760.37	5.85	0.38	102.16	1	خطای بلوک Block error
0.23*	0.02 ^{ns}	132.83**	87.49*	13.42 ^{ns}	192.70 ^{ns}	4	تنش سرما Cold stress (C)
0.97**	0.15**	482.87**	59.82 ^{ns}	89.54*	67.82 ^{ns}	2	شدت نور Light intensity (L)
0.09 ^{ns}	0.02 ^{ns}	35.87 ^{ns}	38.35 ^{ns}	35.51 ^{ns}	147.78 ^{ns}	8	تنش سرما × شدت نور C×L
0.36*	0.09*	638.86**	1034.26**	110.38*	4268.76**	1	کواریت Covariates
0.08	0.02	26.44	21.79	21.23	77.18	27	خطا Error
8.8	10.8	27.7	23.4	18.2	22.8		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. ^{ns} عدم معنی داری.

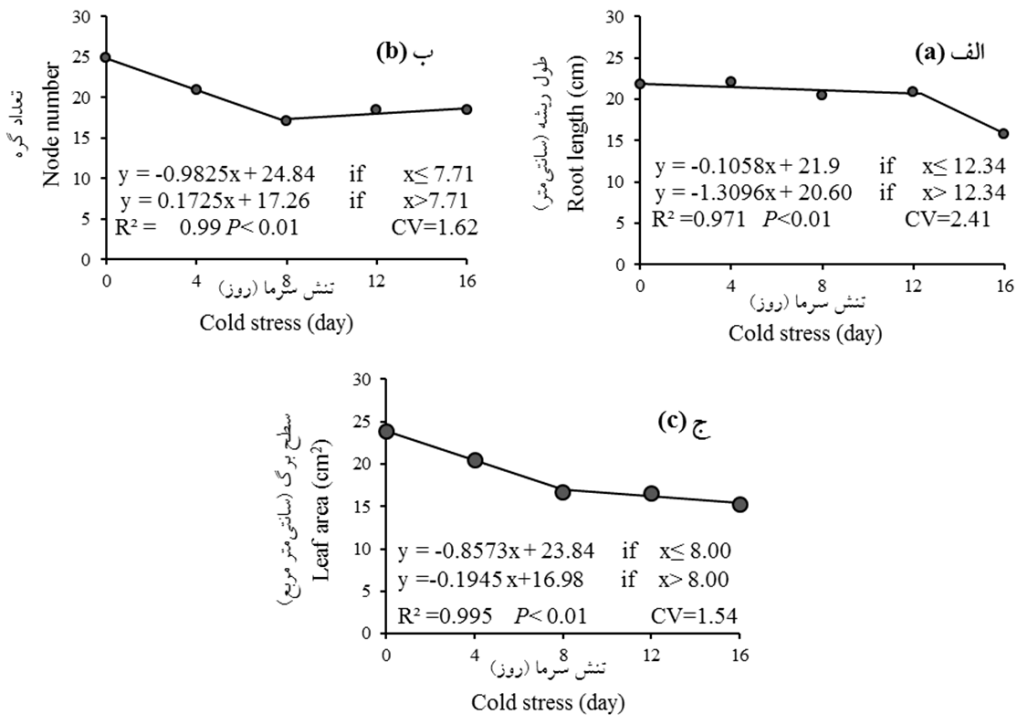
* and ** Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. ^{ns} Non-significant.

بوته‌هایی که به مدت ۱۶ روز تحت تنش سرما قرار گرفتند نسبت به بوته‌های رشد کرده در شرایط مطلوب دمایی، به میزان حدود ۲۶ درصد کاهش نشان داد (شکل ۱- B). در همین راستا کاهش رشد رویشی در گندم (۵۲)، لوبیا سبز (۲) و سویا (۲۷) در اثر سرما مشاهده شده است. قربانی و همکاران (۲۰۰۹) نیز بیان کردند که تنش سرما موجب کاهش طول اندام هوایی و ریشه در هر دو رقم مقاوم و حساس برنج گردید که این کاهش در رقم حساس بیشتر بود (۱۵). چرا که، دمای پایین منجر به کاهش فتوسنتز خالص به علت توقف جریان سیتوپلاسمی، کاهش انرژی در فتوسنتز و فراهم نبودن فسفات سرشار از انرژی در گیاهان شده و با افت دما بیش تر می‌شود که

تجزیه رگرسیونی و مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناسی: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش مدت زمان تنش سرما، طول ریشه و سطح برگ بوته روند کاهشی را نشان دادند، به طوری که به ترتیب ابتدا تا حدود روز ۱۲ و ۸ پس از تنش با شیب حدود ۰/۱۱ و ۰/۸۶ واحد کاهش یافته و سپس به ترتیب با شیب حدود ۱/۳۱ و ۰/۱۹ به روند کاهشی خود ادامه دادند. با این تفاوت که میزان حساسیت طول ریشه نسبت به تنش سرما با گذشت زمان افزایشی و سطح برگ کاهشی بود (شکل ۱- A و C). اما تعداد گره تا حدود روز هشت پس از تنش با شیب حدود ۰/۹۸ روند کاهشی و سپس با شیب حدود ۰/۱۷ افزایش داشت، با این حال در مجموع در

می‌گردد. در ریشه نیز کاهش رشد ریشه و اثراتی چون کمبود مواد غذایی و رشد گیاه ایجاد می‌شود که به دلیل تنش آبی ناشی از سرمای شدید می‌باشد (۳۰).

در نهایت موجب کاهش رشد گیاه به صورت کاهش سطح برگ، قهوه‌ای شدن محل اتصال برگ‌ها به ساقه و ایجاد نقاط نکروزی ملایم تا شدید در برگ‌ها

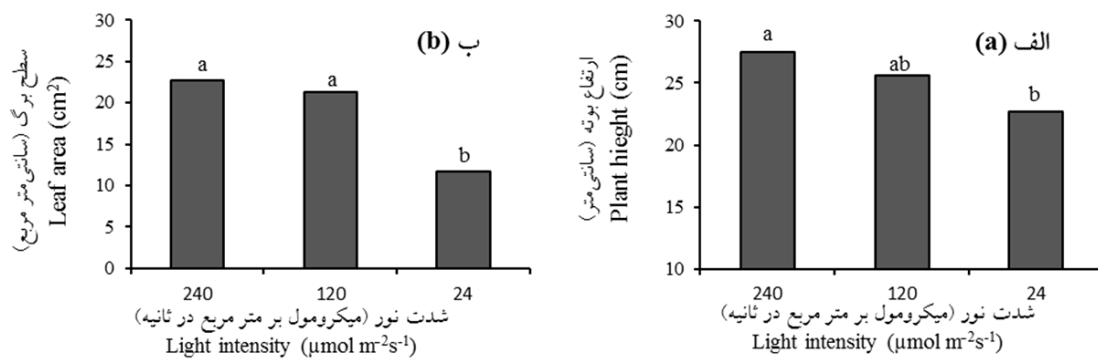


شکل ۱- روند تغییرات طول ریشه (الف)، تعداد گره (ب) و سطح برگ (ج) گیاه استویا در پاسخ به مدت زمان تنش سرما.

Fig. 1. The change trend of root length (a), node number (b) and leaf area (c) of stevia plant in response to the duration of cold stress.

که تنها در معرض نور لامپ سدیمی قرار داشتند در مقایسه با گیاهان در معرض طیف کامل نور، کوچک‌تر و کوتاه‌تر بودند (۳۵). همچنین، دیچایدهوری (۲۰۰۵) بیان کرد در سه شدت نور ۹۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۲۰۰۰ فوت کندل، میانگین ارتفاع گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) به ترتیب ۸/۶۴، ۶/۱۹ و ۲/۶۶ سانتی‌متر شد (۹). پوما و همکاران (۱۹۹۰) نیز بیان کردند که کاهش شدت نور به دلیل تأخیر در کاشت موجب کاهش تعداد گره، تعداد غلاف، تعداد شاخه‌های فرعی، ارتفاع گیاه و تعداد دانه در بوته در گیاه نخود شد (۴۰).

بررسی‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد، کاهش شدت نور موجب کاهش در ارتفاع بوته و سطح برگ گیاه شد، به طوری که با کاهش شدت نور از ۲۴۰ به ۲۴ میکرومول بر متر مربع در ثانیه ارتفاع بوته و سطح برگ به ترتیب به میزان ۱۸ و ۴۸ درصد کاهش یافت (شکل ۲- A و B). در همین زمینه، بررسی‌ها نشان داد که در مجموع عمل سایه‌دهی به هر صورت، سبب کاهش کمیت تابش فعال فتوسنتزی و کیفیت نور رسیده به سطح گیاه شده و همین امر منجر به کاهش شدت فتوسنتز و رشد و نمو گیاه به خصوص در حضور سایر تنش‌ها خواهد شد (۱۴). در پژوهشی که مانسینلی (۱۹۹۰) انجام داد، گیاهانی

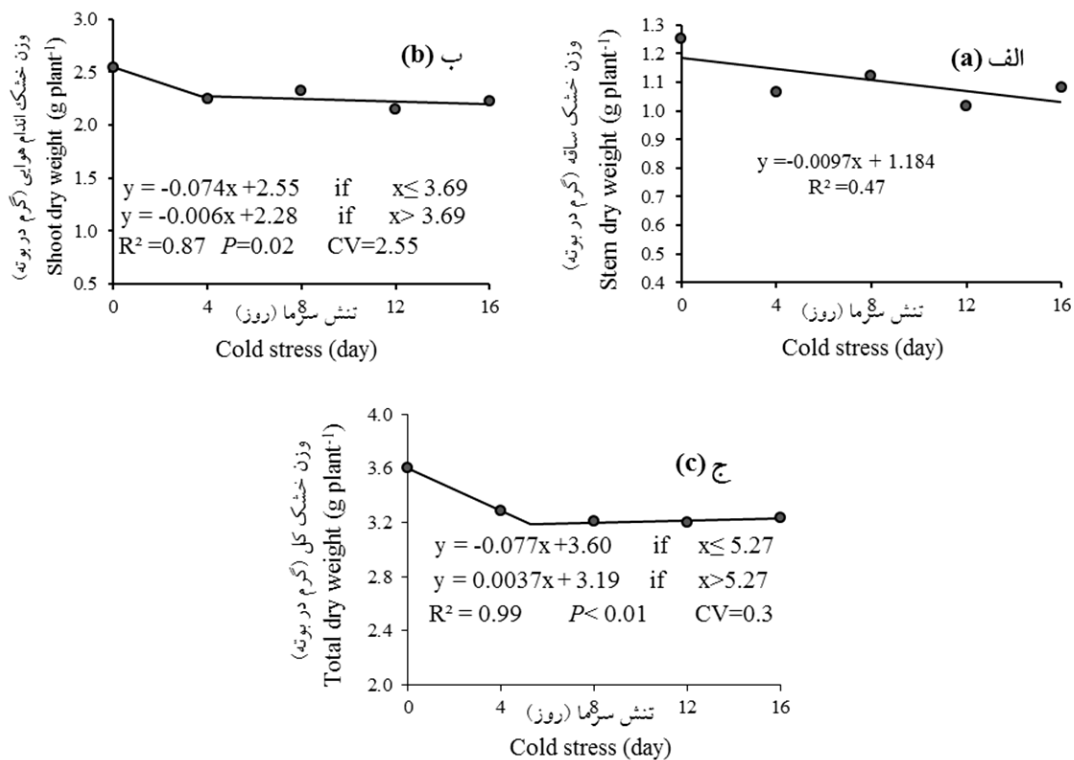


شکل ۲- اثر شدت نور بر ارتفاع بوته (الف) و سطح برگ (ب) گیاه استویا.

Fig. 2. Effect of light intensity on plant height (a) and leaf area (b) of stevia plant.

از ترکیبات مانند سیتوکینین و بسیاری از اسیدهای آمینه و برخی از ویتامین‌ها در ریشه کاهش یافته و یا با سرعت پایین‌تری به ساقه انتقال می‌یابد، که باعث کاهش رشد ساقه می‌گردد (۳۷). در همین راستا، قربانی و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که تنش سرما موجب کاهش وزن خشک ریشه، ساقه در دو رقم مورد بررسی برنج گردید (۱۵). همچنین سرما در گیاه‌چه‌های گوجه‌فرنگی موجب کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی شد (۲۴). جنابیان و همکاران (۲۰۱۵) نیز نتایج مشابهی را در دو رقم سویا مشاهده نمودند با این تفاوت که با کاهش شدت نور میزان خسارت ناشی از تنش سرما به گیاه کم‌تر شده و وزن تر و خشک برگ و وزن خشک اندام هوایی به میزان کم‌تری نسبت به نور عادی کاهش یافته است (۲۷)، در حالی‌که در آزمایش حاضر برهمکنش معنی‌داری بین سرما و نور از نظر رشد رویشی گیاه مشاهده نشد.

تجزیه رگرسیونی و مقایسه میانگین وزن اندام‌های رویشی: نتایج نشان داد روند تغییرات وزن خشک ساقه در قبال افزایش مدت زمان تنش سرما از مدل خطی و وزن خشک اندام هوایی و کل بوته از مدل دو تکه‌ای پیروی نمود. به طوری‌که با افزایش مدت زمان تنش سرما تا ۱۶ روز، وزن خشک ساقه همواره روند کاهشی داشته و در روز ۱۶ نسبت به شاهد (روز صفر) به میزان حدود ۱۴ درصد کاهش نشان داد (شکل ۳- A). وزن خشک اندام هوایی استویا نیز ابتدا تا حدود چهار روز پس از تنش با شیب حدود ۰/۰۷ و سپس با شیب ۰/۰۰۶ روند کاهشی داشت (شکل ۳- B). اما وزن خشک کل با گذشت حدود پنج روز از تنش ابتدا با شیب حدود ۰/۰۸ روند کاهشی و سپس با شیب حدود ۰/۰۰۴ افزایش داشت. اما در مجموع پس از گذشت ۱۶ روز از تنش سرما به میزان حدود ده درصد کاهش یافت (شکل ۳- C). چون در اثر سرما و کاهش سنتز ATP، سنتز بسیاری

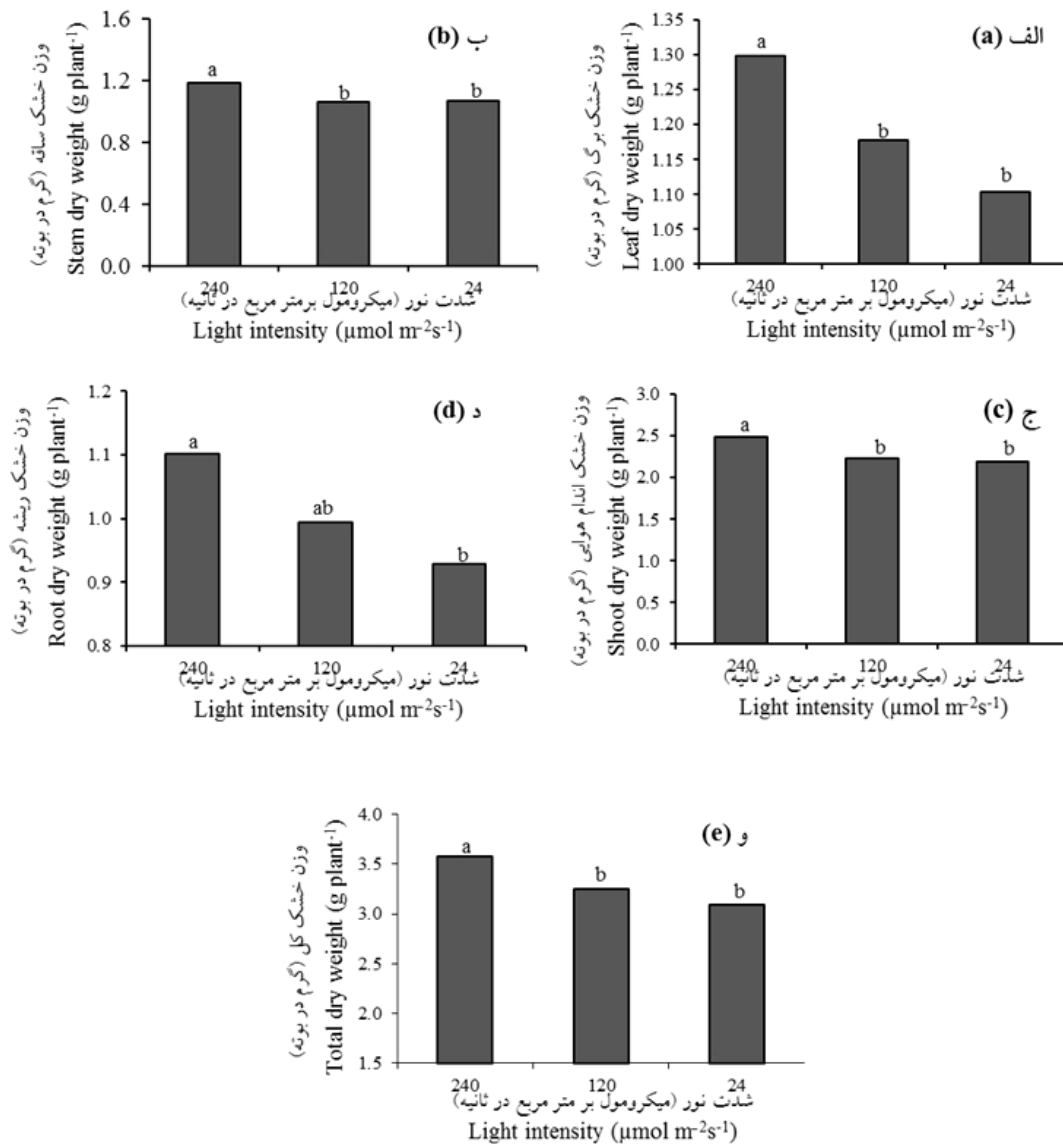


شکل ۳- روند تغییرات وزن خشک ساقه (الف)، اندام هوایی (ب) و کل بوته (ج) گیاه استویا در پاسخ به مدت زمان تنش سرما.

Fig. 3. The change trend of stem (a), shoot (b) and total (c) dry weights of stevia plant in response to the duration of cold stress.

دادند که بیش‌ترین همبستگی مربوط به صفت وزن خشک اندام هوایی به‌میزان ۰/۹۵ بود (جدول ۶). در همین زمینه حاجی‌بلند و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان دادند کاهش شدت نور موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه در کلم قرمز می‌گردد (۱۸). همچنین، در آزمایش دیگری مشاهده شد که کاهش مقدار نور قابل دسترس گیاه موجب کاهش مقدار فتوسنتز و توسعه شاخ و برگ در گیاه ترخون فرانسوی (*Artemisia dracunculus* L.) شد (۱۴). صالحی (۲۰۰۵) نیز بیان کرد پیری زودرس برگ‌ها، افت شدیدتر فتوسنتز جاری و انتقال مجدد بیش‌تر برای پر شدن دانه‌ها با کاهش شدت نور منجر به کاهش بیش‌تر وزن خشک به‌خصوص در ساقه ذرت شد (۴۳).

طبق نمودار اثر ساده شدت نور، با کاهش شدت نور وزن خشک اندام‌های رویشی استویا کاهش نشان داد، به‌طوری‌که با کاهش شدت نور از ۲۴۰ به ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه وزن خشک برگ، ساقه، اندام هوایی، ریشه و کل بوته به‌ترتیب با کاهش حدود ۱۵، ۱۰، ۱۲، ۱۶ و ۱۴ درصدی مواجه شدند. همچنین، این صفات در شدت نور ۱۲۰ نیز نسبت به ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه کاهش معنی‌داری را نشان دادند به‌طوری‌که وزن خشک برگ و کل به‌میزان حدود نه درصد و وزن خشک ساقه، اندام هوایی و ریشه به‌میزان حدود ده درصد کاهش یافتند (شکل ۴-E-A). در بین صفات مورد بررسی ارتفاع بوته، وزن خشک برگ، ساقه، اندام هوایی و ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری با وزن خشک کل نشان



شکل ۴- اثر شدت نور بر وزن خشک برگ (الف)، ساقه (ب)، اندام هوایی (ج)، ریشه (د) و کل بوته (و) گیاه استویا.
Fig. 4. Effect of light intensity on leaf (a), stem (b), shoot (c), root (d) and total (e) of stevia plant.

اثر معنی‌داری ($P < 0.01$) داشت. اثر متقابل سرما و نور نیز در میزان کلروفیل *b* در سطح احتمال پنج درصد و بر محتوی کلروفیل *a*, *a+b* و *a/b* و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیک استویا: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده نور بر محتوی کلروفیل *a*, *b*, کلروفیل کل (*a+b*), نسبت کلروفیل *a/b* کاروتنوئید و قند محلول معنی‌دار بود. همچنین، تنش سرما نیز بر تمام صفات مذکور به‌جز کاروتنوئید و قند محلول

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش سرما و شدت نور بر صفات فیزیولوژیک و قند محلول گیاه استویا.

Table 4. Analysis of variance for effect of cold stress and light intensity on physiological traits and soluble sugar of stevia plant.

قند محلول Soluble sugar	کاروتنوئید Carotenoid	محتوی کلروفیل Chlorophyll content				درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V
		a/b	a+b	b	a		
5.583 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.0009 ^{ns}	1.735 ^{ns}	0.275 ^{ns}	0.643 ^{ns}	2	بلوک Block
7.759 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.253 ^{**}	11.543 ^{**}	1.561 ^{**}	4.691 ^{**}	4	تنش سرما Cold stress (C)
27.381 ^{**}	0.510 ^{**}	2.584 ^{**}	48.457 ^{**}	3.940 ^{**}	24.842 ^{**}	2	شدت نور Light intensity (L)
6.007 ^{ns}	0.034 ^{**}	0.284 ^{**}	2.481 ^{**}	0.317 [*]	1.061 ^{**}	8	تنش سرما × شدت نور C×L
3.288	0.006	0.057	0.607	0.110	0.239	28	خطا Error
16.7	22.5	13.2	17.2	21.5	16.4		ضریب تغییرات (درصد) CV(%)

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. ^{ns} عدم معنی داری.

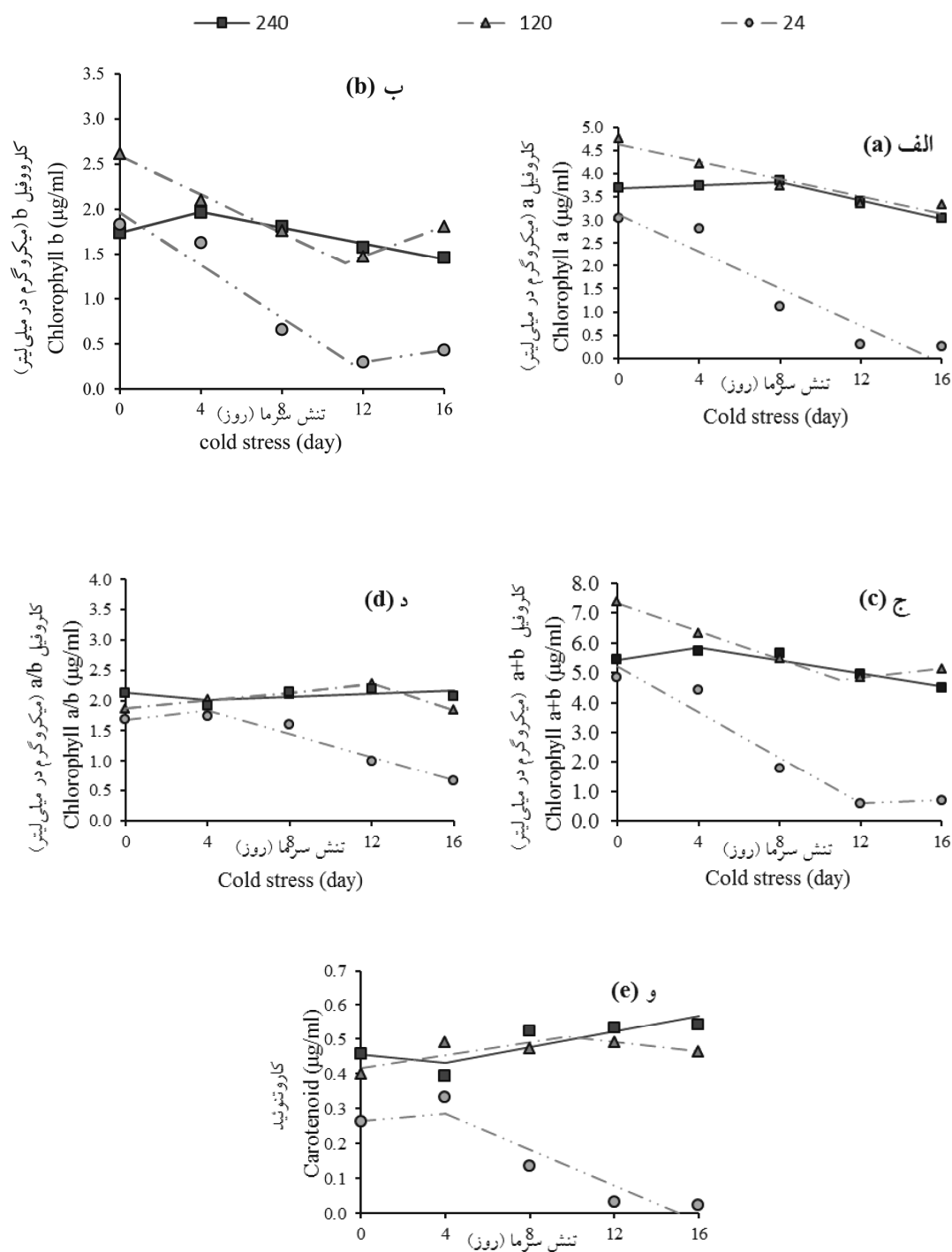
* and ** Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. ^{ns} Non-significant.

بررسی به ترتیب حدود ۱۶، ۳۱ و ۷۶ درصد نسبت به شاهد به صورت دوتکه‌ای کاهش یافتند (جدول ۵ و شکل ۵- B). کلروفیل $a+b$ نیز در شدت نور ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه تا روز چهارم پس از تنش ابتدا با شیب ۰/۱۰۷ افزایش و سپس با شیب ۰/۱۰۸ کاهش یافت. اما در شدت نور ۱۲۰ و ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه ابتدا به ترتیب ۱۱ و ۱۲ روز پس از تنش با شیب ۰/۲۳۵ و ۰/۳۸۶ کاهش و سپس با شیب ۰/۰۷۶ و ۰/۰۲۵ افزایش یافت (جدول ۵ و شکل ۵- C). در درجه حرارت‌های پایین، انرژی نورانی جذب شده به وسیله رنگیزه‌ها نمی‌تواند در واکنش‌های فتوسنتزی به کار گرفته شود. این انرژی نورانی جذب شده باعث واکنش‌های اکسیداسیون نوری می‌شود که موجب از دست رفتن رنگیزه‌ها، لیپیدها و اسیدهای چرب به خصوص در غشای تیلاکوئیدی می‌گردد (۳۶) که به نوبه خود باعث

تجزیه رگسیونی اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیک گیاه استویا: بر اساس یافته‌های آزمایش حاضر، با افزایش مدت زمان تنش سرما روند تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی در سه شدت نور مورد بررسی در آزمایش به صورت معادله خطی و دوتکه‌ای بود (جدول ۵ و شکل ۵). با افزایش مدت زمان تنش سرما روند تغییرات محتوای کلروفیل a در شدت نور ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه به صورت دوتکه‌ای بود که با گذشت حدود هشت روز از تنش سرما ابتدا با شیب ۰/۰۱۵ افزایش و سپس با شیب ۰/۰۹۷ کاهش یافت. اما در شدت نور ۱۲۰ و ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه در مدت ۱۶ روز تنش سرما نسبت به شاهد به صورت خطی و به ترتیب حدود ۳۰ و ۹۱ درصد کاهش یافت (جدول ۵ و شکل ۵- A). همچنین با گذشت ۱۶ روز از تنش سرما محتوای کلروفیل b در سه شدت نور مورد

شدت نور ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. ولی در شدت نور ۱۲۰ و ۲۴ میکرومول به‌طور معنی‌داری ابتدا افزایش و سپس کاهش یافتند (جدول ۵ و شکل D و E). اما به‌طور کلی پس از ۱۶ روز تنش سرما در هر سه شدت نور مذکور کلروفیل a/b به‌ترتیب حدود ۱، ۲ و ۶۰ درصد (جدول ۵ و شکل E - ۵) و کاروتنوئید حدود ۱۹، ۱۶ و ۹۱ درصد (جدول ۵ و شکل E - ۵) نسبت به شاهد کاهش نشان دادند. در بین این صفات کلروفیل a و $a+b$ با ضریب $0/52$ همبستگی مثبت معنی‌داری با وزن خشک کل داشتند (جدول ۴). این نتیجه می‌تواند به این علت باشد که در شدت نور ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه ابتدا گیاه از تنش آسیبی ندیده که این روند باعث افزایش کلروفیل‌ها و کاهش کاروتنوئید گردید اما در ادامه با افزایش مدت زمان تنش سرما میزان کلروفیل‌ها کاهش و کاروتنوئید افزایش نشان داد. اما با کاهش شدت نور مقاومت به تنش سرما کاهش و میزان کاروتنوئید نیز روند کاهشی داشت. در همین زمینه، کافی و مهدوی دامغانی (۲۰۰۷) بیان کردند که مقاومت به سرما گاهی با افزایش سطح رنگیزه‌های کم‌اهمیت‌تری مانند کاروتنوئید صورت می‌گیرد (۲۹). این رنگیزه‌ها در دمای پایین اکسید شده و سبب کاهش تلفات کلروفیل a و b می‌شود که ممکن است از خسارت سرما جلوگیری کند. علی‌سلطانی و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی سازگاری دو رقم گندم به سرما دریافتند که میزان کلروفیل a در رقم زمستانه، پس از دو هفته سازگاری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد اما در رقم بهاره افزایش یافت. این در حالی است که افزایش کاروتنوئید در هر دو رقم گندم مشاهده شد (۱).

کاهش فعالیت فتوسنتزی و در نتیجه رشد گیاه خواهد شد (۳۹). چون میزان کلروفیل همبستگی مثبتی با سرعت فتوسنتز دارد با افزایش میزان آن زیست‌توده و عملکرد دانه در گیاهان زراعی افزایش می‌یابد (۳ و ۵۳). اما گزارش شده است که تنش سرما موجب کاهش میزان کلروفیل a و b در گیاهان می‌شود (۲۱). در همین زمینه بانو و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند کلروفیل a ، به‌عنوان بازتابی از کارایی فتوسنتزی هر گیاه، تغییرات زیادی در تنش‌ها از خود نشان می‌دهد و می‌تواند بهترین پارامتر برای تشخیص مقاومت به دمای پایین باشد (۵). به‌طوری‌که در آزمایشی مشاهده شد تنش سرما با اختلال در ساخت کلروفیل، کندی رشد گیاه ذرت را به دنبال داشت (۲۳). در آزمایش حاضر نیز همبستگی مثبت معنی‌داری بین وزن خشک کل بوته و کلروفیل a و $a+b$ مشاهده شد (جدول ۶). در همین راستا مشاهده شد تنش سرما موجب کاهش کلروفیل a در برنج (۲۰)، کلروفیل کل در نارنگی پیچ به‌علت کاهش در میزان کلروفیل b (۵۱) و کلروفیل a و b در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) (۳۳) گردید. بررسی‌های علی‌زاده فروتن (۲۰۱۳) نیز کاهش میزان کلروفیل a ، b و کل را با افزایش مدت زمان تنش سرما در گیاه لوبیا سبز نشان داد (۲). همچنین جنابیان و همکاران (۲۰۱۴) در آزمایشی مشابه در گیاه سویا مشاهده کردند که برهمکنش تنش سرما و نور تأثیر معنی‌داری بر محتوی کلروفیل نداشت هر چند تنش سرما میزان کلروفیل a و $a+b$ را به‌طور معنی‌داری کاهش داد (۲۶). حاجی‌بلند و همکاران (۲۰۱۰) نیز بیان کردند که افزایش شدت نور موجب افزایش در کلروفیل a ، b ، کل و کاروتنوئید در کلم قرمز می‌گردد (۱۸). به‌علاوه نسبت کلروفیل a/b و کاروتنوئید در



شکل ۵- اثر شدت نور بر روند تغییرات محتوای کلروفیل a (A)، b (B)، a+b (C)، نسبت کلروفیل a بر b (D) و کاروتنوئید (E) برگ گیاه استویا در پاسخ به مدت زمان تنش سرما.

Fig. 5. The effect of light intensity on the change trend of chlorophyll a (a), b (b), a+b, chlorophyll a/b ratio and carotenoid of stevia leaf in response to the duration of cold stress.

جدول ۵- برآورد مقادیر پارامترهای مربوط به معادلات برازش داده شده (خطی و دوتکه‌ای) بر صفات فیزیولوژیک نسبت به مدت زمان تنش سرما در شدت‌های نوری متفاوت.

Table 5. Estimation the value of fitted equation (linear and segmented) parameters on physiological traits to the duration of cold stress in different light intensities.

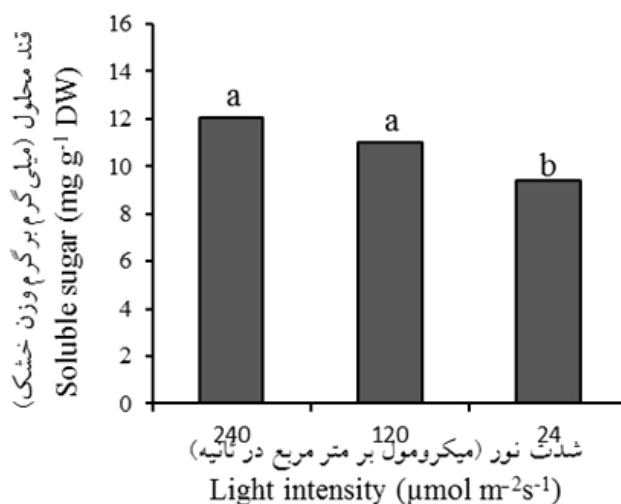
Sig	CV	RMSE	R ²	x ₀ ± SE	b ₂ ± SE	b ₁ ± SE	a ± SE	شدت نور Light intensity ($\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
کلروفیل a Chlorophyll a								
<0.0001	0.817	0.028	0.994	8 ± 1.200	-0.097 ± 0.009	0.015 ± 0.019	3.689 ± 0.056	240
0.007	4.682	0.181	0.934			-0.093 ± 0.014	4.624 ± 0.140	120
0.014	32.271	0.484	0.902			-0.201 ± 0.038	3.108 ± 0.375	24
کلروفیل b Chlorophyll b								
<0.0001	1.585	0.027	0.985	4.000 ± 0.00	-0.044 ± 0.003	0.057 ± 0.010	1.741 ± 0.033	240
<0.0001	2.216	0.043	0.992	11.120 ± 0.731	0.084 ± 0.026	-0.107 ± 0.013	2.591 ± 0.068	120
0.004	18.150	0.176	0.951	11.450 ± 3.197	0.033 ± 0.110	-0.146 ± 0.055	1.961 ± 0.285	24
کلروفیل a+b Chlorophyll a+b								
0.009	3.094	0.162	0.919	4.000 ± 0.00	-0.108 ± 0.023	0.107 ± 0.067	5.436 ± 0.207	240
<0.0001	0.951	0.055	0.997	10.996 ± 0.577	0.076 ± 0.034	-0.235 ± 0.017	7.340 ± 0.087	120
0.004	20.741	0.513	0.950	11.987 ± 4.041	0.025 ± 0.322	-0.386 ± 0.161	5.236 ± 0.832	24
کلروفیل a/b Chlorophyll a/b								
0.298	2.771	0.057	0.343	4.000 ± 0.00	0.013 ± 0.013	-0.029 ± 0.039	2.122 ± 0.121	240
<0.0001	0.886	0.017	0.992	12.139 ± 0.00	-0.111 ± 0.007	0.033 ± 0.002	1.869 ± 0.018	120
0.003	7.918	0.106	0.961	4.000 ± 0.00	-0.096 ± 0.014	0.036 ± 0.043	1.685 ± 0.132	24
کاروتنوئید Carotenoid								
0.068	6.702	0.032	0.723	4.000 ± 0.00	0.011 ± 0.005	-0.006 ± 0.015	0.456 ± 0.047	240
0.090	4.409	0.020	0.669	9.770 ± 5.462	-0.006 ± 0.015	0.009 ± 0.007	0.417 ± 0.039	120
0.017	32.25	0.051	0.884	4.000 ± 0.00	-0.025 ± 0.007	0.005 ± 0.021	0.265 ± 0.066	24

a: عرض از مبدأ در سطح بدون تنش (شاهد). b₂ و b₁: شیب تغییرات مؤلفه به ترتیب در مرحله ۱ و ۲. x₀: نقطه چرخش بین دو مرحله. R²: ضریب تبیین. RMSE: جذر میانگین مربعات خطا. CV: ضریب تغییرات. Sig: معنی داری مدل. SE: خطای استاندارد.

a: constant value in the non-stress levels (control condition). b₁ and b₂: slope of traits change in phase 1 and 2, respectively. x₀: turning point between the two phases. R²: coefficient of determination. RMSE: root mean square error. CV: coefficient of variation. Sig: significance of model. SE: standard error.

کاهش یافت. باتوجه به این که شدت‌های مختلف نور به دلیل اثری که بر سنتز فرآورده‌های قندی می‌گذارند، رشد و تحمل به تنش را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهند (۸)، بنابراین، قابلیت گیاه برای ادامه زندگی بستگی به ادامه فتوسنتز در نور کم دارد. چون از نظر تئوری فتوسنتز در شدت نور کم نیز انجام می‌شود اما در عمل تنفس نسبت به فتوسنتز بیش‌تر است و در شدت‌های نور کم‌تر از آستانه خسارت موجب ایجاد آسیب در گیاه می‌شود که اثر بارز آن کاهش در مقدار مواد قندی به دنبال تغییرات متابولیکی است (۱۱ و ۳۱). در این شرایط سرعت افزایش سطح برگ کم‌تر از سرعت زوال آن‌ها است و مقدار مواد ذخیره کربوهیدرات گیاه به نسبت سطح برگ کاهش ولی مقدار کربوهیدرات مورد نیاز برای رشد گیاه افزایش می‌یابد (۱۶).

مقایسه میانگین اثر شدت نور بر میزان قند محلول استویا: مقایسه میانگین اثر شدت نور بر میزان قند محلول گیاه استویا (شکل ۶) نشان داد که با کاهش شدت نور، میزان قند محلول کاهش نشان داد به طوری که در شدت نور ۱۲۰ و ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه، میزان قند محلول نسبت به شدت نور ۲۴۰ به ترتیب حدود ۹ و ۲۲ درصد کاهش یافت، هر چند این کاهش در شدت نور ۱۲۰ از نظر آماری معنی‌دار نبود. از بین صفات مورد بررسی، سطح برگ و وزن خشک ساقه همبستگی مثبت معنی‌داری با میزان قند محلول نشان دادند که از بین این دو صفت نیز بیش‌ترین همبستگی مربوط به سطح برگ گیاه به میزان ۰/۶۶ بود (جدول ۶). میزان قند محلول از همبستگی مثبتی با سطح برگ و وزن خشک ساقه برخوردار بوده و با کاهش شدت نور از ۲۴۰ به ۲۴ میکرومول بر مترمربع در ثانیه میزان این صفت نیز



شکل ۶- اثر شدت نور بر میزان قند محلول در برگ استویا.

Fig. 6. Effect of light intensity on soluble sugar content in stevia plant leaf.

جدول ۶- همبستگی بین قند محلول و وزن خشک کل با برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک گیاه استویا تحت تنش سرما و شدت نور (n=۱۵).

Table 6. Correlation coefficients between soluble sugar and total dry weight with some vegetative and physiological traits of stevia plant under cold stress and light intensity (n=15).

وزن خشک کل Total dry weight	قند محلول Soluble sugar	متغیر Variable
0.63*	0.06	ارتفاع بوته Plant height
0.51	0.66**	سطح برگ Leaf area
0.90**	0.33	وزن خشک برگ Leaf dry weight
0.83**	0.57*	وزن خشک ساقه Stem dry weight
0.95**	0.48	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
0.84**	0.28	وزن خشک ریشه Root dry weight
0.52*	0.45	کلروفیل a Chlorophyll a
0.52*	0.46	کلروفیل a+b Chlorophyll a+b

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

* and ** Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

نشد. از طرفی افزایش مدت زمان تنش سرما باعث تخریب کلروفیل برگ شده و اثرات آن با کاهش شدت نور افزایش یافت که بیانگر حساسیت بیش تر رنگیزه های فتوسنتزی نسبت به تنش سرما در شدت نور پایین می باشد. به علاوه در بین صفات مورد مطالعه نیز سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی به ترتیب بیش ترین همبستگی را با قند محلول و وزن خشک کل داشتند. به طور کلی در بین صفات مورد بررسی در این آزمایش، صفات فیزیولوژیک در گیاه استویا حساسیت بالایی را نسبت به افزایش مدت زمان تنش سرما و کاهش شدت نور از خود نشان

نتیجه گیری کلی

در مجموع، نتایج بیانگر حساسیت صفات رویشی، فیزیولوژیک و میزان قند محلول به تنش سرما و شدت نور بود. به طوری که با افزایش مدت زمان تنش سرما و کاهش شدت نور این صفات روند کاهشی داشتند. بیش ترین حساسیت در صفات رویشی نسبت به تنش سرما در روزهای اولیه تنش و در صفات سطح برگ و طول ریشه و نسبت به کاهش شدت نور در صفات سطح برگ، ارتفاع بوته و همچنین قندهای محلول مشاهده شد. با این حال برهمکنش معنی داری بین سرما و شدت نور مشاهده

سیاسگزاری

بدین وسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری
طبرستان به‌خاطر حمایت‌های مالی جهت انجام این
پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

دادند. به‌علاوه از آن‌جایی که نور و دما به‌ترتیب اولین
و دومین عامل مهم در رشد گیاهان بوده و با تأثیری
که بر رشد رویشی و قند این گیاه گذاشته، پیشنهاد
می‌شود این عوامل در سطح مزرعه بر روی استویا
بررسی گردد.

منابع

1. Alisoltani, A., Alizadeh, H., Mahfoozi, S. and Khayalparast, F. 2012. The effect of short and long terms cold acclimation on biochemical characteristics of spring and winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Iran. J. Crop Sci. 14: 1. 108-120. (In Persian)
2. Alizadeh Frutan, M. 2013. The effect of paklobutrazol and mycorrhiza like fungi (*Piriformospora indica*) inoculation to enhance cold stress tolerance in green bean (*Phaseolus vulgaris* L.). M.Sc. Thesis, Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources Univ. Sari, Iran, 163p. (In Persian)
3. Avenson, T.J., Cruz, J.A., Kanazawa, A. and Kramer D.M. 2005. Regulating the proton budget of higher plant photosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102: 27. 9709-9713.
4. Bakhshandeh, E., Soltani, A., Zeinali, E. and Kallate-Arabi, M. 2012. Prediction of plant height by allometric relationships in field-grown wheat. Cereal Res. Commun. 40: 3. 487-496.
5. Bano, S., Aslam, M., Saleem, M., Basra, S.M.A. and Aziz, K. 2015. Evaluation of maize accessions under low temperature stress at early growth stages. J. Anim. Plant Sci. 25: 2. 392-400.
6. Brandle, J.E. and Rosa, N. 1992. Heritability for yield, leaf-stem ratio and stevioside content estimated from a landrace cultivar of *Stevia rebaudiana*. Can. J. Plant Sci. 72: 4. 1263-1266.
7. Browse, J. and Xin, Z. 2001. Temperature sensing and cold acclimation. Curr. Opin. Plant Biol. 4: 3. 241-246.
8. Cakmak, I. and Römhald, V. 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. Plant Soil. 193: 1. 71-83.
9. Debchaudhury, S. 2005. Sunless sunflower: how the intensity of artificial light affect the growth of sunflower plants. California State Science Fair.
10. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28: 3. 350-356.
11. Forghani, A., Khodabandeh, N., Habibi, D. and Bankehsaz, A. 2010. Reaction of chlorophylls a and b, proline and yield of corn (cv. SC 704) to light stress and different density levels. J. Crop Prod. Res. 2: 1. 29-37. (In Persian)
12. Fuhrer, J. 2003. Agroecosystem responses to combinations of elevated CO₂, ozone and global climate change. Agric. Ecosyst. Environ. 97: 1-3. 1-20.
13. Geuns, M.C.J. 2003. Molecules of interest stevioside. Phytochemistry. 64: 913-921.
14. Ghoily Kylanah, M., Tabatabaie, S.J. and Bolandnazar, S. 2013. Effects of light intensity and NaCl salinity on yield and uptake of some elements in French tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). Water Soil Sci. 24: 2. 147-159. (In Persian)
15. Ghorbani, A., Zarinkamar, F. and Fallah, A. 2009. The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of two rice varieties in seedling stage. J. Crop Breed. 1: 3. 50-66. (In Persian)
16. Goldani, M. and Nasiri Mahallati, M. 2011. Effect of light quality and quantity on some morphological and physiological traits of maize cultivars. J. Agroecol. 3: 2. 172-180. (In Persian)

17. Graham, D. and Patterson, B.D. 1982. Response of plant low, non-freezing temperatures: proteins, metabolism and acclimation. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 347-372.
18. Hajiboland, R., Pasbani, B. and Amirazad, H. 2010. Effect of low Zn supply on growth, leaf pigments and photosynthesis in red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) plants grown under different light conditions. *Iran. J. Biol.* 1: 1. 25-36. (In Persian)
19. Handro, W. and Ferreira, C.M. 1989. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertonii: Production of natural sweeteners. *Biotechnol. Agric. For.* 7: 468-487.
20. Hasibi, P. 2007. Physiological study of cold stress effect in seedling stage of rice genotypes. Ph.D. Thesis, Univ. of Agriculture and Natural Resources of Ramin, Ahwaz, Iran. 145p. (In Persian)
21. Hassani, Z., Pirdashti, H., Yaghoobian, Y. and Nouri, M.Z. 2013. Comparative effects of cold air and cold water stress on chlorophyll parameters in rice (*Oryza sativa* L.). *Intl. J. Farm. Alli. Sci.* 2: 21. 918-921.
22. Horváth, E., Szalai, G. and Janda, T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *J. Plant Growth Regul.* 26: 3. 290-300.
23. Ilker, R., Breidenbach, R.W. and Lyons, J.M. 1979. Sequence of ultrastructural changes in tomato cotyledons during short periods of chilling. P 97-114. In: J.M. Lyons, D. Graham and J.K. Rais (eds), *Low temperature stress in crop plants: The role of membrane.* Academic Press, New York.
24. Jafari, S.R., Manuchehri Kalantari, Kh. and Turkzadeh, M. 2006. The evaluation of paclobutrazol effects on increase cold hardiness in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* L.). *Iran. J. Biol.* 19: 3. 290-298. (In Persian)
25. Jahanbakhsh Godehkahriz, S., Karimzadeh, Gh., Rastgar, F., Mahfoozi, S. and Hosseini Salekdeh, Gh. 2009. Influence of vernalization on some physiological characteristics and cold tolerance in two susceptible and tolerant cultivars of bread wheat. *Elec. J. Crop Prod.* 2: 3. 85-106. (In Persian)
26. Jenabian, M., Pirdashti, H. and Yaghoobian, Y. 2014. The combined effect of cold and light intensity stress on some morphological and physiological parameters in two soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Int. J. Biosci.* 5: 3. 189-197.
27. Jenabian, M., Pirdashti, H. and Yaghoobian, Y. 2015. The response of soybean growth parameters to different light intensities under cold stress conditions. *J. Bio. Env. Sci.* 6: 2. 99-106.
28. Jun-Jie, G., Tao, L.I. and Xian-Chang, Y.U. 2009. Gene expression and activities of SOD in cucumber seedlings were related with concentrations of Mn^{2+} , Cu^{2+} , or Zn^{2+} under low temperature stress. *Agric. Sci. China.* 8: 6. 678-684.
29. Kafi, M. and Mahdavi Damghani, A. 2007. Mechanisms of environmental stress resistance in plants. Mashhad Univ. Press, 467p. (In Persian)
30. Kafi, M., Borzouei, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masumi, A. and Nabati, J. 2009. Environmental stress physiology in plants. Mashhad Jihad-e-Daneshgahi Publication, 502p. (In Persian)
31. Kafi, M., Lahootee, M., Zand, E., Shareefee, H.R. and Goldani, M. 2000. Plant Physiology. Mashhad Jihad-e-Daneshgahi Publication, Pp: 289-300. (In Persian)
32. Keshavarz, H., Modares Sanavi, S.A.M., Zarinkamar, F., Dolatabadian, A., Panahi, M. and Sadat Asilan, K. 2011. Effect of foliar application of salicylic acid on some biochemical characteristics of two canola cultivars under cold stress. *Iran. J. Crop Sci.* 42: 4. 723-734. (In Persian)
33. Khorshidi, M. and Abavisani, A. 2013. Effect of putrescine on dragonhead under low temperature. *Int. J. Agric. Crop Sci.* 5: 20. 2454-2458.
34. Lianopoulou, V., Bosabalidis, A.M., Patakas A., Lazari, D. and Panteris, E. 2014. Effects of chilling stress on leaf morphology, anatomy, ultrastructure, gas exchange, and essential oils in the seasonally dimorphic plant *Teucrium polium* (Lamiaceae). *Acta Physiol. Plant.* 36: 2271-2281.

35. Mancinelli, L. 1990. Interaction between light quality and light quantity in the photoregulation of anthocyanin production. *Plant Physiol.* 92: 4. 1191-1195.
36. McCue, P., Zheng, Z., Pinkham, J.L. and Shetty, K. 2000. A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. *Process Biochem.* 35: 6. 603-613.
37. Mirmohammadi Maibodi, A.M. and Tarkesh Esfahani, S. 2004. Physiological and breeding aspects of cold and freezing stress in crops. Isfahan Jihad Daneshgahi Publication, 336p. (In Persian)
38. Mishra, P.K., Singh, R., Kumar, U. and Prakash, V. 2010. *Stevia rebaudiana* - A magical sweetener. *Glob. J. Biotechnol. Biochem.* 5: 1. 62-74.
39. Paeizi, M. and Shariati, M. 2012. Effect of cold stress on PSII efficiency of *Dunaliella* using chlorophyll a fluorescence kinetics. *J. Cell Tissue.* 2: 4. 395-405. (In Persian)
40. Poma, I., Sarno, R., Noto, F. and Zora, D. 1990. Effects of sowing date on yield and quality characteristics of chickpea. *Inf. Agrar.* 46: 40. 53-55.
41. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynth. Res.* 73: 1. 149-156.
42. Sadeak, S.M.I., Bonik, J., Zaman, A.U., Azam, F.M.S., Chowdhury, M.H. and Rahmatullah, M. 2009. Effect of auxins for morphogenic response on varied explants of *Stevia rebaudiana* Bertoni, an alternative sweetener plant. *Am.-Eurasian J. Sustain. Agric.* 3: 4. 749-754.
43. Salehi, B. 2005. Effect of row spacing and plant density on grain yield and yield components in maize (cv. SC 704) in Mianeh. *Iranian J. Crop Sci.* 6: 4. 383-393. (In Persian)
44. Sarmadnia, G.H. and Koocheki, A. 1990. *Crop Physiology*. Mashhad Jihad-e-Daneshgahi Publication, 467p. (In Persian)
45. SAS Institute. 2004. SAS/STAT user's guide. SAS Institute, Cary.
46. Seppanen, M.M. 2000. Characterize of freezing tolerance in *Solanum commersonii* (dun.) with special reference of the relationship between and oxidative stress. Univ. of Helsinki, Finland, 55p.
47. Shohael, A.M., Ali, M.B., Yu, K.W., Hahn, E.J., Islam, R. and Paek, K.Y. 2006. Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites and induction of antioxidant enzymes in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos in bioreactor. *Process Biochem.* 41: 5. 1179-1185.
48. Singh, S. 2005. Effect of low-light stress at various growth phases on yield and yield components of two rice cultivar. *Crop Manag. Physiol.* 37: 76-92.
49. Singh, S.D. and Rao, G.P. 2005. *Stevia*: the herbal sugar of 21st Century. *Sugar Tech.* 7: 1. 17-24.
50. Soltani, A. 2007. Application and using of SAS program in statistical analysis. Mshhad Jihad-Daneshgahi Publication, 182p. (In Persian)
51. Tajvar, Y., Fotouhi Ghazvini, R., Hamidoghli, Y. and Hassan Sajedi, R. 2011. Physiological and biochemical responses of Page mandarin on citrange rootstock to low temperature stress. *J. Plant Biol.* 3: 9. 1-12. (In Persian)
52. Tobeh, A. and Jamaati-e-Somarin, S.H. 2012. Low temperature stress effect on wheat cultivars germination. *Afr. J. Microbiol. Res.* 6: 1265-1269.
53. Wang, F.H., Wang, G.X., Lix, Y., Huvang, J.L. and Zheng, J.K. 2008. Heredity, physiology and mapping of chlorophyll content gene in rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Physiol.* 165: 3. 324-330.
54. Yadav, S.K. 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. *Agron. Sustain. Dev.* 30: 3. 515-527.
55. Zamani, G. and Koocheki, A. 1995. The effect of planting pattern and density on light interception, yield and yield components of maize cultivar. *Agric. Sci. Technol. J.* 2: 2. 17-30. (In Persian)