Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
PSI
Phycological Society of Iran

The effect of putrescine and calcium nanoparticle on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes activities in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under salt stress

Seyedeh Fatemeh Ghaderi Kolayi[1], Mahyar Gerami[2], Masoud Azadbakht[3], Parastoo Majidian[4]

[1] Biology Department, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran, Email: ghaderi.fatemeh2015@gmail.com
[2] Biology Department, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran, Email: mahyar.gerami@yahoo.com
[3] Biology Department, Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran, Email: masoudazadbakht@gmail.com
[4] Crop and Horticultural Science Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran, Email: p.majidian@areeo.ac.ir

Article type:
Research article

Article history
Received: 23.10.2022
Revised: 28.01.2023
Accepted: 11.02.2023
Published:23.09.2023

Keywords
Calcium nanoparticle
Polyamine
Putrescine
Salt
Stevia plant

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of different concentrations of calcium nanoparticle and putrescine on some physiological traits of the medicinal plant, stevia, under salt stress. In this regard, the experiment was performed based on a factorial completely randomized design with three replications. The experimental treatments contained three levels of calcium nanoparticle (0, 75, and 150 ppm), two levels of putrescine (0 and 1 mM), and three levels of salt (0, 75, 150 mM). Based on analysis of variance results, the simple effect of each treatment as salt stress, calcium nanoparticle, and putrescine was significant at $P \leq 0.05$; however, their interaction effect was not significant. Results also showed that salt stress (150 mM) resulted in the reduction of chlorophyll a (0.21), chlorophyll b (0.47), and total chlorophyll (0.68 mg/g dry weight) compared to the control while, an increase in carotenoid content (0.10) was observed under 150 mM salinity. Also, the photosynthetic pigments content increased under 150 ppm calcium nanoparticle and 1 mM of putrescine. Considering antioxidant enzymes, the treatment with 150 mM salt increased catalase enzyme as 1.69 and as 5.02 g/wet weight. In addition, the effect of putrescine led to the increase of catalase and peroxidase by 2.18 and 4.46 g/wet weight of leaves, respectively. Moreover, the treatment with 150 ppm calcium nanoparticles resulted in increases in catalase and peroxidase contents by 1.87 and 4.84 g/wet weight of leaves, respectively. The most appropriate concentrations of putrescine and calcium nanoparticles were 1 mM and 150 ppm, respectively which are recommended for assessment of other physiological and biochemical properties of stevia.

Cite this article as: Ghaderi Kolayi, S.F., Gerami, M., Azadbakht, M., Majidian, P. (2023). The effect of putrescine and calcium nanoparticle on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes activities in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under salt stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 18(3): 109-124.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: 10.30495/iper.2023.1965230.1815

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

اثر پوترسین و نانوذره کلسیم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) تحت تنش شوری

سیده فاطمه قادری کولائی[۱]، مهیار گرامی[۲*]، مسعود آزاد بخت[۳]، پرستو مجیدیان[٤]

[۱] بخش زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی سنا، ساری، ایران، رایانامه: ghaderi.fatemeh2015@gmail.com

[۲] بخش زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی سنا، ساری، ایران، رایانامه: mayhar.gerami@yahoo.com

[۳] بخش زیست‌شناسی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی سنا، ساری، ایران، رایانامه: masoudazadbakht@gmail.com

[٤] بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران، رایانامه: p.majdian@areeo.ac.ir

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰۸/۰۱
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۱/۱۱/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۱/۲۲
تاریخ چاپ: ۱٤۰۲/۰۷/۰۱

واژه‌های کلیدی:
پلی‌آمین
پوترسین
شوری
گیاه استویا
نانوذره کلسیم

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانوذره کلسیم و پوترسین بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی استویا تحت شرایط تنش شوری بود. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت پذیرفت. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح نانوذره کلسیم (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام)، دو سطح پوترسین (صفر و ۱ میلی‌مولار) و سه سطح شوری (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بود. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده هر کدام از تیمارهای شوری، نانوذره کلسیم و پوترسین بر صفات مورد مطالعه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد، در حالیکه اثر متقابل این تیمارها معنی‌دار نشدند. نتایج تنش شوری نشان داد که غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری سبب کاهش کلروفیل a به میزان ۰/۲۱، کلروفیل b به میزان ۰/٤۷ و کلروفیل کل به میزان ۰/٦۸ میلی گرم بر گرم وزن خشک نمونه نسبت به شاهد شد. در حالیکه، افزایش میزان کاروتوئید به میزان ۰/۱۰ در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد. همچنین، اثر نانوذره کلسیم (۱۵۰ پی‌پی‌ام) و پوترسین (۱ میلی‌مولار) سبب افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. در ارتباط با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مقادیر آنزیم‌های کاتالاز را به میزان ۱/٦۹ و پراکسیداز را ۵/۰۲ واحد گرم در وزن تر برگ افزایش داد. به علاوه، اثر پوترسین (۱ میلی‌مولار) سبب افزایش آنزیم کاتالاز به میزان ۲/۱۸ و پراکسیداز ٤/٤٦ گرم در واحد وزن تر برگ شد. غلظت ۱۵۰ پی پی ام نانوذره کلسیم نیز سبب افزایش آنزیم کاتالاز به میزان ۱/۸۷ و پراکسیداز به میزان ٤/۸٤ گرم در واحد وزن تر برگ شد. از نتایج بدست آمده از این پژوهش میتوان نتیجه گرفت که استفاده از نانوذره کلسیم و پوترسین باعث جبران خسارت وارده به صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه استویا در شرایط تنش شوری می گردد و از الیسیتورهای مورد نظر می‌توان جهت بررسی‌های سایر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه استویا در پروژه های آتی بهره برد.

استناد: قادری کولائی؛ سیده فاطمه، گرامی، مهیار؛ آزاد بخت، مسعود؛ مجیدیان، پرستو. (۱٤۰۲). اثر پوترسین و نانوذره کلسیم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) تحت تنش شوری. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۸ (۳)، ۱۲٤-۱۰۹.

Doi: 10.30495/iper.2023.1965230.1815

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی در فراهم نمودن سلامت جامعه از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. تنوع شرایط آب و هوایی ایران و قدمت استفاده از گیاهان دارویی در فرهنگ مردم کشورمان، توجه پژوهشگران و مراکز تحقیقاتی را بیش از پیش به بهره‌برداری مناسب از این گیاهان ارزشمند به خود اختصاص داده است (Razavi et al., 2011). گیاه استویا *Stevia rebaudiana Bertoni* از خانواده کاسنی و جنس مرکبان (*Acetracea*) گیاهی علفی است (Masoumi et al., 2020). خاستگاه این گیاه کشور پاراگوئه بوده وارتفاع مناسب جهت رشد استوبا ۲۰۰ تا ۳۰۰ متر از سطح دریاست. برگ‌های این گیاه دارای گروهی از گلیکوزیدهای دی‌ترپن به نام گلیکوزیدهای استویول می‌باشند (Yadav and Guleria, 2012). گیاه استویا به دلیل دارا بودن گلیکوزیدهای استوویول دارای خاصیت شیرین‌کنندگی قابل توجهی می‌باشد (Singh and Rao, 2005).

شوری یکی از اصلی‌ترین تنش‌های محیطی‌است که نقش به‌سزایی در رشد گیاهان و محصولات تولیدی آنها دارد. براساس آمارهای به دست‌آمده، شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و اثرگذارترین تنش‌های محیطی می‌باشد که بر رشد گیاهان تاثیر دارد وتاثیر منفی آن روی رشد گیاه، به دلیل پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک(تنش اسمزی)، سمیت یونی (تنش شوری) و عدم تعادل عناصر غذایی ایجاد می‌گردد (Sadat Noori et al., 2011). امروزه کارشناسان کشاورزی به بهبود کیفیت، پایداری سیستم کشت و کاهش هزینه‌های تولید با کاهش نهاده‌های مصرفی، توجه ویژه‌ای داشته‌اند. به این منظور توجه به مواد محرک رشد در کشاورزی اثبات گردیده است (Li et al., 2020).

به هر ماده یا ریزجانداری که به منظور افزایش راندمان تغذیه، تحمل به تنش غیرزیستی و یا کیفیت محصول، صرف نظر از محتوای عناصر غذایی آن، به گیاهان داده می‌شود، محرک گفته می‌شود (Singh, 2014). پلی‌آمین‌ها پلی‌کاتیون‌های با اهمیتی هستند که در مراحل گوناگون فیزیولوژی و رشدی گیاهان تاثیر دارند (Walters, 2003). پلی‌آمین‌ها در القای تقسیم سلولی، جنین‌زایی، ریخت‌زایی، نمو گل، میوه و دانه و تأخیر در پیری سلول نقش دارند (Liu et al., 2006b). نانوکودها مؤثرترین و در عین حال ساده‌ترین شیوه برای کاهش اثرات مخرب عناصر غذایی و افزایش کارایی مصرف کودها می‌باشند (Liu et al., 2006a). گزارشات مختلفی در باره‌ی نقش پلی‌آمین‌ها در کاهش اثرات تنش شوری ارائه داده شده است، برای مثال، تیمار پلی‌آمین پوترسین موجب افزایش مقاومت به شوری در گیاه نخودفرنگی (*Pisum Sativum L.*) گردیده‌است (Hussein et al., 2021). در مطالعه‌ای، Shi و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند که پوترسین اثرات فیزیولوژیکی متعددی در رشد و توسعه گیاه دارد. به طوریکه، نقش حفاظتی پوترسین را در بهبود رطوبت نسبی و عدم تعادل غذایی در خیار را در شرایط تنش شوری نشان دادند. در پژوهشی دیگر، Xiong و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه بر روی گیاه چای دریافتند که استفاده از پوترسین در شرایط تنش شوری اثرات مثبتی بر کارایی فتوسنتز داشته و توانایی گونه‌های اکسیژن فعال را کنترل می‌کند. علاوه بر پلی‌آمین‌ها، از مواد نانو عمدتاً برای برطرف کردن برخی از محدودیت‌ها و چالش‌های به وجود آمده در بخش کشاورزی مانند مدیریت علف‌های هرز، مصرف بهتر و اصولی‌تر نهاده های شیمیایی و تولید سمومی با فرمولاسیون‌های

جدید برای کنترل آفات استفاده می‌گردد (Choudhary et al., 2017).

کلسیم به عنوان یکی از اصلی‌ترین عناصر، اهمیت بالایی در کنترل تنش‌های محیطی در گیاهان دارد (Nazir et al., 2022). کلسیم ضمن تاثیر در استحکام غشاء سلولی با استفاده از انباشته شدن اسمولیت‌های سازگار موجب کاهش پتانسیل اسمزی شده و در محتوای نسبی آب تاثیرگذار می‌باشد (Ali et al., 2021). تحقیقات مختلفی بر روی تیمار نانو کود کلسیم در غلظت‌های مختلف بر روی گیاهانی نظیر ذرت (Rane et al., 2015)، کاهو (Meier et al., 2020)، زعفران (Badihi et al., 2021) و برنج (Sebastian et al., 2017) انجام شده است. نتایج تحقیقات قبلی بیانگر آن بود که اثر نانوذره کلسیم بر پایه اندازه نانوذره، شکل آن، میزان پوشش‌دهی و غلظت مورد استفاده می‌باشد. به علاوه، کلسیم نقش مهمی را در افزایش تحمل و مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی ایفاء می‌کند. با توجه به اهمیت استفاده از القاگرها (الیسیتورها) در شرایط تنش جهت افزایش تحمل گیاهان، هدف از این پژوهش بررسی اثر نانوذرات کلسیم و پوترسین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا در تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی موسسه آموزش عالی سنا در شهر ساری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح نانو ذرات کلسیم (صفر ،۷۵ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام)، دو سطح پوترسین (صفر و۱ میلی‌مولار) و سه سطح کلرید سدیم (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بودند. به‌منظور تهیه مواد گیاهی، نشاهای گیاه دارویی استویا از موسسه آموزش عالی سنا تهیه گردید. نشاها در گلدانهای (با قطر ۳۰ سانتیمتر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر) یک لیتری حاوی پیت ماس و پرلیت (نسبت ۵۰ به ۵۰) کاشته شدند.جهت تأمین نیاز غذایی نشاها از محلول هوگلند استفاده گردید. پس از ۱۰ روز از استقرار گیاه، مقدار مورد نظر از نمک برای هر تیمار به همراه محلول هوگلند به‌مدت سه هفته در سه نوبت به‌طور هفتگی به‌صورت پاساژدهی اضافه گردید. تیمارهای نانوذرات کلسیم و پلی‌آمین پوترسین به صورت محلول‌پاشی روی گیاهان در سه نوبت قبل و بعد از تنش شوری اعمال شدند. گلدان‌های حاوی استویا به گلخانه با ۱۶ ساعت روشنایی (۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ لوکس نور) و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۶۰٪ و میانگین دمایی۵ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از چهار ماه از رشد، برخی از خصوصیات فیزیولوژیک گیاه استویا به شرح ذیل مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

سنجش کلروفیل‌ها: جهت اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه استویا از روش Arnon (۱۹۴۹) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. ابتدا قطعات ۰/۵ گرمی از برگ‌های جوان هم‌سن انتخاب و پس از تکه تکه شدن توسط استون ۸۰٪ (شرکت سازنده Merck) درون هاون چینی سائیده شدند. به طوری‌که برگ له شده در دیواره هاون کشیده و به رنگ سفید تبدیل شد. سپس عصاره حاصل از برگ به کمک استون۸۰٪ به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و به‌مدت ۵ دقیقه در۱۰۰۰ دور سانترفیوژ شد. پس از برداشت حجم معینی از محلول مورد نظر در طول موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣ و ٤٨٠ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از استون ۸۰٪ به عنوان شاهد در دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. در نهایت از فرمول‌های زیر جهت انجام محاسبات آماری استفاده گردید.

محتوای کلروفیل a (گرم بافت/میلی‌گرم) = ۱۰۰۰ × وزن تر نمونه/حجم نهایی نمونه استخراج شده × {جذب طول موج (A'_{645}) × ۲/۶۹ – جذب طول موج (A_{663}) × ۱۲/۷}

محتوای کلروفیل b (گرم بافت/میلی‌گرم) = ۱۰۰۰ × وزن تر نمونه/حجم نهایی نمونه استخراج شده × {جذب طول موج (A_{663}) × ۴/۶۸ – جذب طول موج (A_{645}) × ۲۲/۹}

محتوای کلروفیل کل (گرم بافت/میلی‌گرم) = ۱۰۰۰ × وزن تر نمونه/حجم نهایی نمونه استخراج شده × {جذب طول موج (A_{663}) × ۸/۰۲ – جذب طول موج (A_{645}) × ۲۰/۰۲}

با توجه به حجم عصاره و وزن نمونه‌ها، غلظت کلروفیل‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر[۲] قابل محاسبه است.

سنجش کاروتنوئیدها: جهت محاسبه مقدار کاروتنوئیدها، طول موج نمونه‌ها در ۴۷۰ نانومتر از رابطه زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم استفاده گردید (Lichtenthaler,1987).

محتوای کاروتنوئید = (۱۰۰ × A470 – ۱/۸ × غلظت کلروفیل a – ۸۵/۰۲ × غلظت کلروفیل b)/۱۹۸

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی

آنزیم کاتالاز (CAT): به منظور اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز از روش Susmitha و همکاران (۲۰۱۵) استفاده گردید. به طوری که ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با ۹۸۰ میکرولیتر از بافر فسفات حاوی آب اکسیژنه ۲ میلی‌مولار ترکیب گردیدند و تحولات جذب آن‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد.

آنزیم گایاکول پراکسیداز: کمپلکس واکنشی (دو میلی‌لیتر) شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (PH=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر از اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA)[۳] ۰/۱ میلی‌مولار، یک میلی‌مولار گایاکول پنج میلی‌مولار، یک میلی‌لیتر پراکسید ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج گردید. واکنش با اضافه کردن محلول آنزیمی آغاز گردید و افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی طبق میزان تتراگایاکول تشکیل شده و با استفاده از ضریب خاموشی ۱/۳۳ میلی‌مولار بر سانتی‌متر[۴] به دست آمد (Tang and Newton, 2005).

نتایج

نتایج تجزیه واریانس اثر پوترسین و نانوذره کلسیم بر مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط شوری در گیاه استویا نشان داد که اثر ساده نانوذره کلسیم و شوری بر مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح پنج درصد معنی‌دار بود، اما اثرات متقابل آنها (نانوذره کلسیم و شوری، نانوذره کلسیم و پوترسین، نانوذره کلسیم و پوترسین و شوری) معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر نانوذره کلسیم بر مقادیر رنگیزه‌های کلروفیل a ، b و کل نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره مقادیر این صفات روند افزایشی داشت که نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بود و بیشترین مقدار کلروفیل a (۰/۲۵)، b (۰/۵۲) و کل (۰/۷۷) مربوط به سطح ۷۵ پی‌پی‌ام نانوذره کلسیم بود (شکل ۱). در حالی که، میزان کاروتنوئید با افزایش نانوذره کلسیم (۱۵۰ پی‌پی‌ام) به میزان ۰/۱۰ افزایش یافت (شکل ۱). مقایسه میانگین اثر ساده شوری بر مقادیر رنگیزه های

[۱] Absorbance

[۲] mg g^{-1} F.W.

[۳] Ethylene di amine tetra acetic Acid (EDTA)

[۴] $mmol^{-1}.cm^{-1}$

فتوسنتزی گیاه استویا نشان داد که با افزایش سطح شوری، مقادیر کلروفیلی (a، b و کل) روند کاهشی داشت (شکل ۲). به‌طوری‌که، مقدار کلروفیل a (۰/۲۱)، کلروفیل b (۰/٤۷) و کلروفیل کل (۰/٦۸) در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد (شکل ۱). مقایسه میانگین اثر ساده پوترسین بر رنگیزه‌های کلروفیل گیاه استویا نشان داد که در سطح یک میلی‌مولار پوترسین مقادیر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید روند افزایشی را نسبت به نمونه شاهد نشان داد، به گونه‌ای که در سطح یک میلی مولار پوترسین مقدار کلروفیل a ۰/۲٤ میلی‌گرم بر گرم بافت تر بود که نسبت به نمونه شاهد با میزان ۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم بافت تر، افزایش نشان داد. همچنین با به کارگیری غلظت یک میلی‌مولار پوترسین، مقدار کلروفیل b از ۰/٤۷ میلی‌گرم بر بافت تر به مقدار ۰/۵۲ میلی‌گرم بر بافت تر افزایش یافت. مقدار کاروتنوئید نیز با به کارگیری غلظت یک میلی‌مولار پوترسین به میزان ۰/۰۹٤ میلی‌گرم بر گرم بافت تر نسبت به نمونه شاهد (۰/۰۹۲) افزایش نشان داد (شکل ۳).

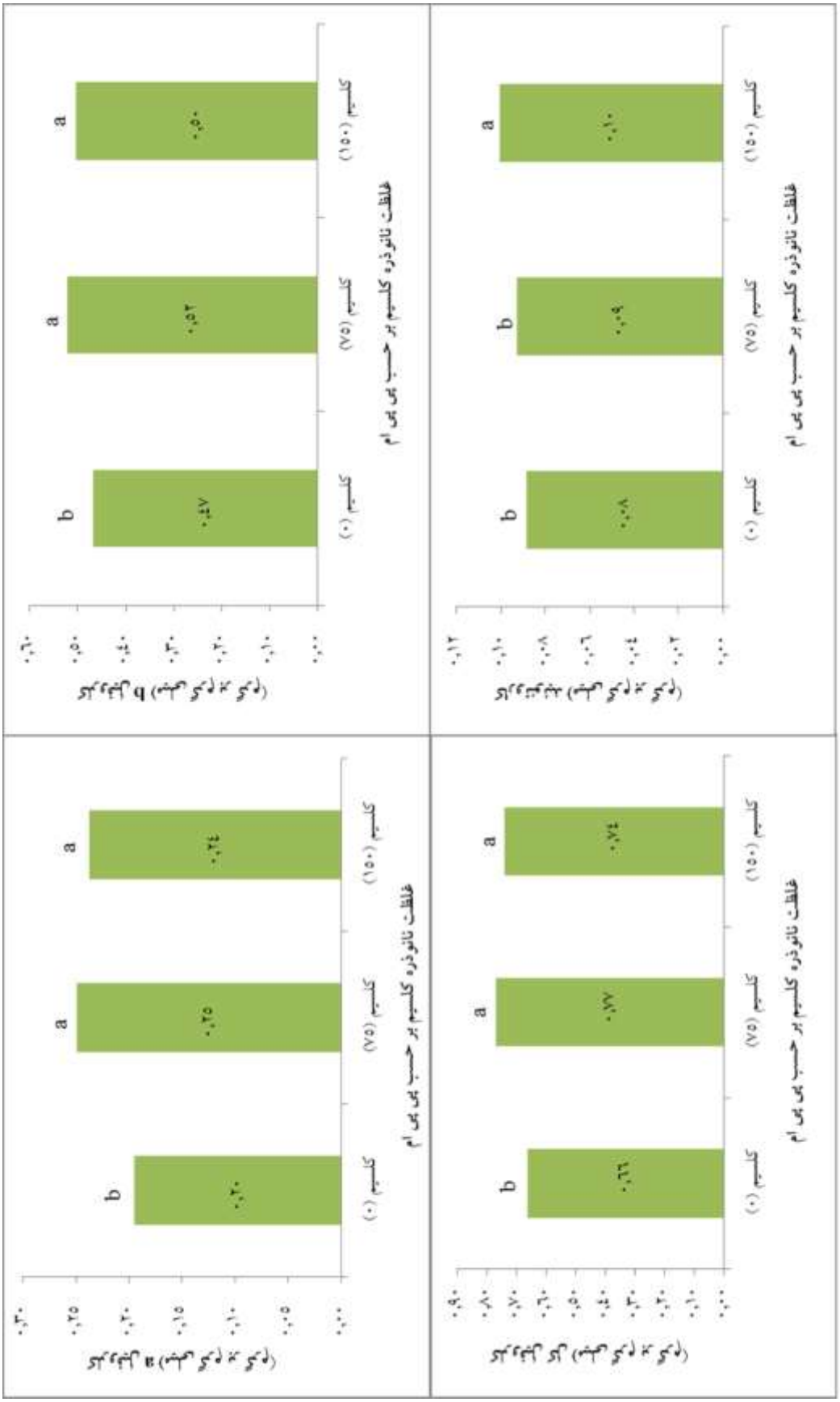
جدول ۱: تجزیه واریانس اثر ساده نانوذره‌کلسیم، پوترسین، شوری و اثر متقابل آن‌ها بر میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه استویا

صفات مورد مطالعه منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیلa (میلی‌گرم بر گرم ماده تر)	کلروفیل b(میلی‌گرم بر گرم ماده تر)	کلروفیل کل(میلی‌گرم بر گرم ماده تر)	کاروتنوئیدها(میلی‌گرم بر گرم ماده تر)
کلسیم	۲	۰۰/۱٤*	۰/۰۱۳*	۰/۰۵*	۰/۰۰۰٦*
پوترسین	۱	۰/۰۰۷*	۰/۰۳۹*	۰/۰۸*	۰/۰۰۰۰٤ns
شوری	۲	۰/۰۰٤*	۰/۰۱۲*	۰/۰۳*	۰/۰۰۱*
کلسیم × شوری	٤	۰/۰۰۰۳ns	۰/۰۰۱٤ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۰۲*
پوترسین × شوری	۲	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۰۱۷ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۰۱ns
پوترسین × کلسیم	۲	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۰۹ns	۰/۰۰۰٤ns	۰/۰۰۰۱ns
کلسیم × پوترسین × شوری	٤	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۰۰٤ns	۰/۰۰۰۷ns	۰/۰۰۰۱ns
خطا	۳٦	۰/۰۰۰٤	۰/۰۰۱	۰.۰۰۳	۰/۰۰۰۰۹
ضریب تغییرات		۹/٦۵	۸/۷۵	۷/۹۳	۱۰/٤۲

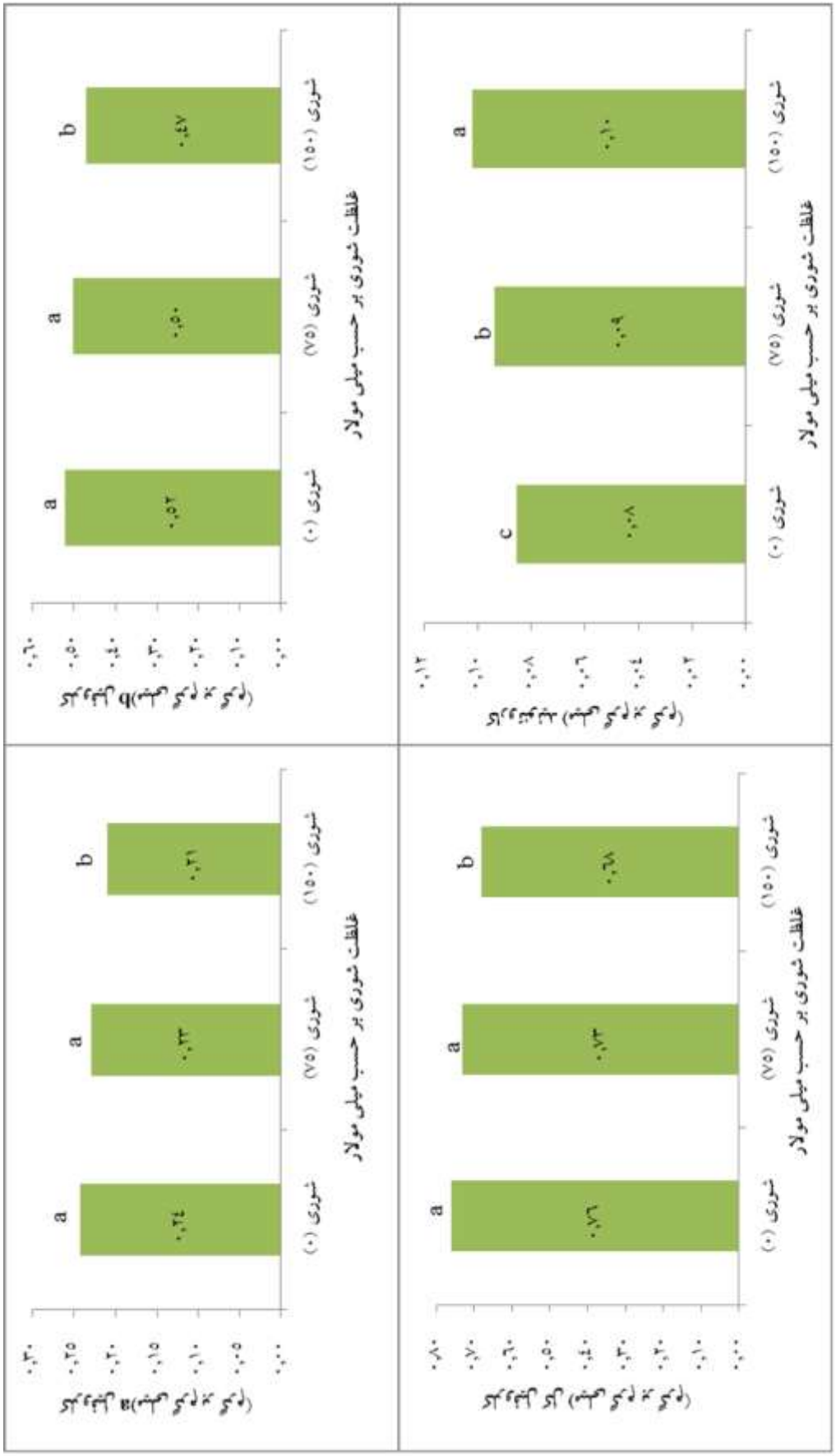
*معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns: غیر معنی‌دار

تجزیه واریانس تیمارهای مطالعه شده بر مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) حاکی از آن بود که تنها اثر ساده شوری بر این صفات در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. به علاوه، اثر ساده پوترسین تنها بر مقدار کاتالاز و اثر ساده نانوذره کلسیم نیز تنها بر آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر شوری بر مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) در گیاه استویا نشان داد که با افزایش سطوح شوری، مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی معنی‌داری داشت به گونه‌ای که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری مقادیر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به ترتیب با ۱/٦۹ واحد در گرم وزن تازه برگ و ۵/۰۲ واحد در گرم وزن تر برگ نسبت به نمونه شاهد (۰/۹۹و ۳/۱٤ واحد در گرم وزن تر برگ) روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد (شکل٤). نتایج بررسی اثر ساده پوترسین نشان داد که مقادیر آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۱ میلی‌مولار پوترسین نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت (شکل ۵). مقایسه میانگین اثر نانوذره کلسیم بر برخی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه استویا بیانگر این بود که با افزایش غلظت نانوذره‌کلسیم مقدار آنزیم پراکسیداز

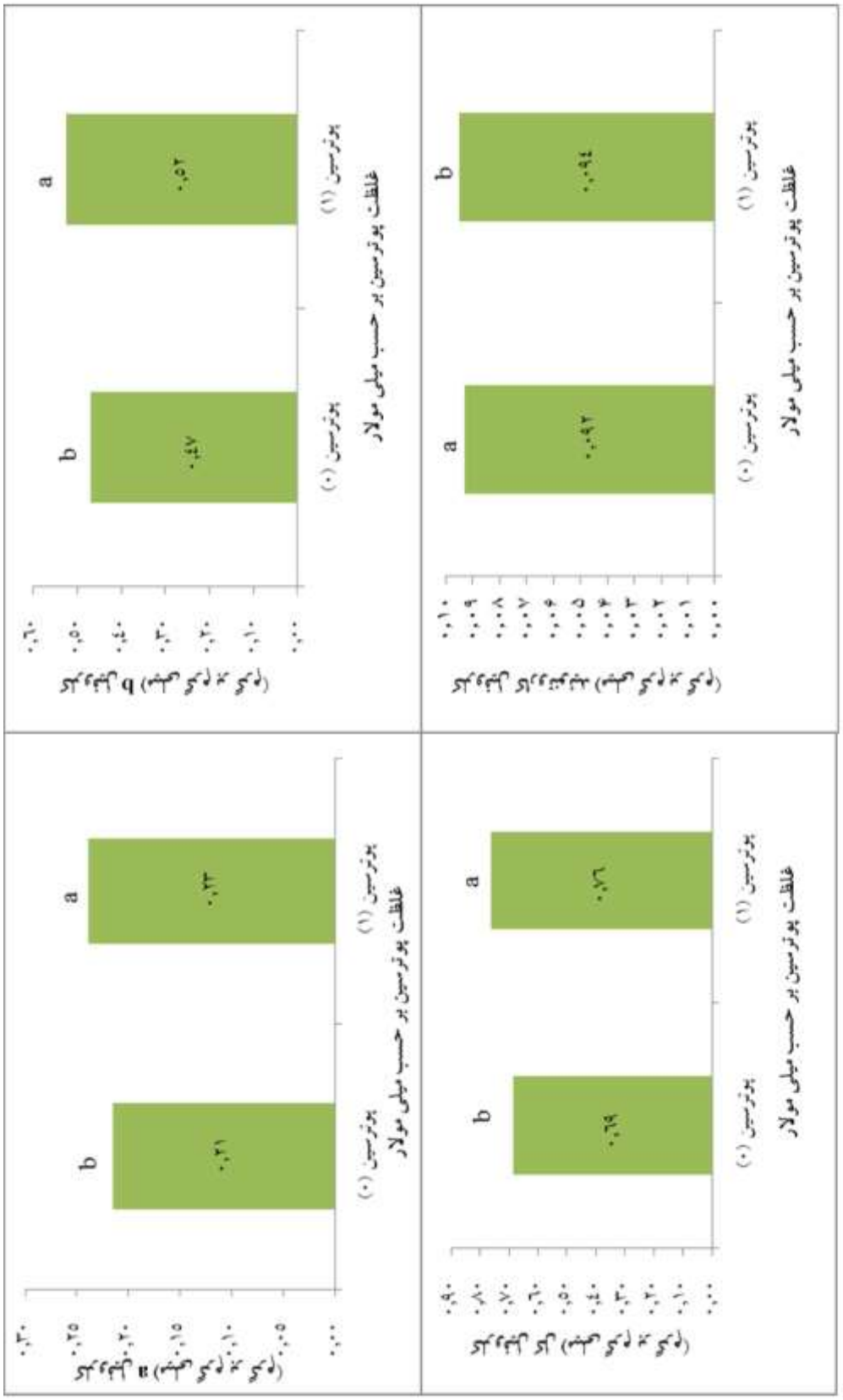
روند افزایشی داشت و میزان آنزیم کاتالاز نیز در غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام نانوذره کلسیم افزایش نشان داد (شکل ٦).



شکل ۱: اثر ساده غلظت‌های مختلف نانوذره کلسیم بر میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید) گیاه استویا. حروف نامشابه در هر تیمار بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.



شکل ۲: اثر ساده غلظت‌های مختلف شوری بر میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید) گیاه استویا. حروف نامشابه در هر تیمار بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد

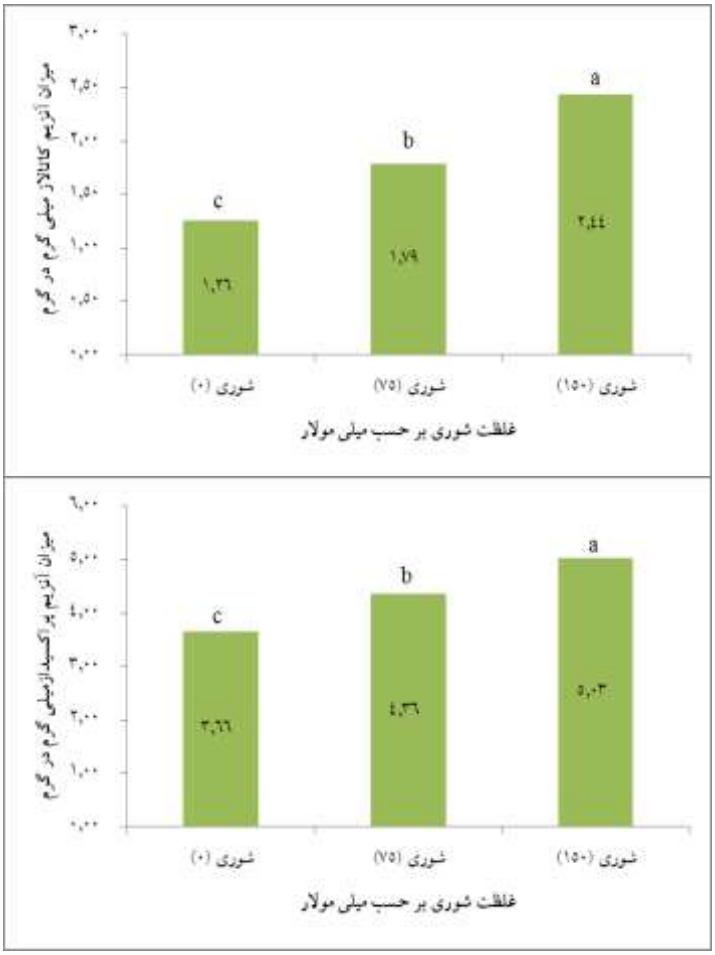


شکل ۳. اثر ساده غلظت‌های مختلف پوترسین بر میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a ، b ، کل و کارتنوئید) گیاه استویا. حروف نامشابه در هر تیمار بیانگر اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد می‌باشد.

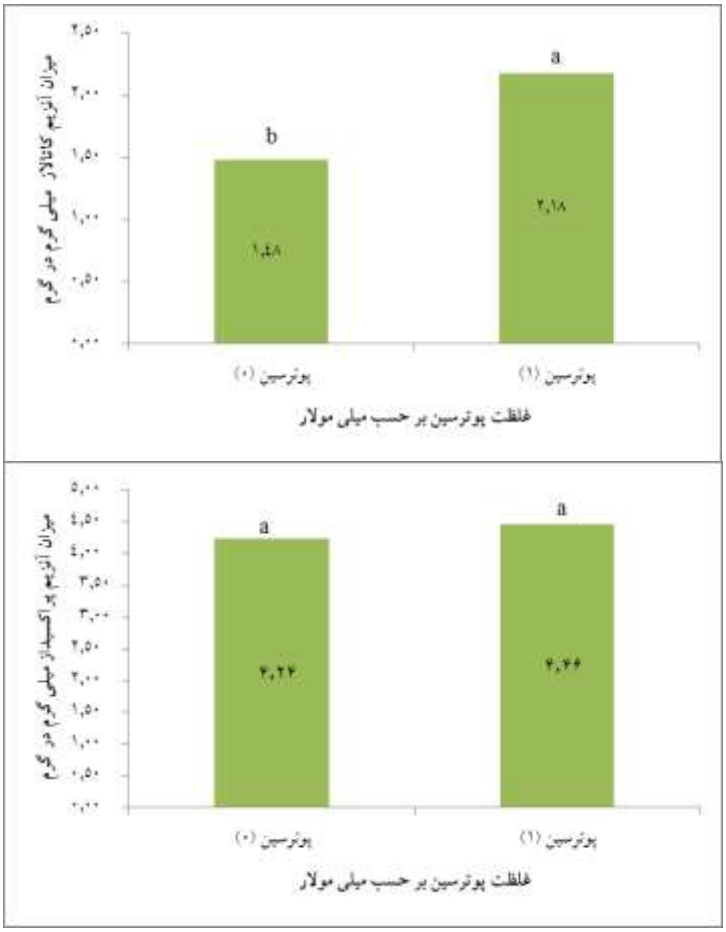
جدول ۲: تجزیه واریانس اثرات نانوذره‌کلسیم، پوترسین، شوری و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه استویا.

صفات مورد مطالعه منبع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز (واحد در گرم وزن تازه برگ)	پراکسیداز (واحد در گرم وزن تازه برگ)
نانوذره کلسیم	۲	۰/۰۲^{ns}	۳/۸۹*
پوترسین	۱	٦/٦٥*	۰/٦٤^{ns}
شوری	۲	٦/۲٦*	۸/۵۲*
کلسیم × شوری	٤	۰/۱۷^{ns}	۰/۳٦^{ns}
پوترسین × شوری	۲	۱/۳٦^{ns}	۰/۰۱^{ns}
پوترسین × نانوذره کلسیم	۲	۰/٦٥*	۰/۳۸^{ns}
نانوذره کلسیم × پوترسین × شوری	٤	۰/۳٦*	۰/۷۲^{ns}
خطا	۳٦	۰/۱۱	۰/٤۲
ضریب تغییرات	-	۱۸/٤٤	۱۵/۲

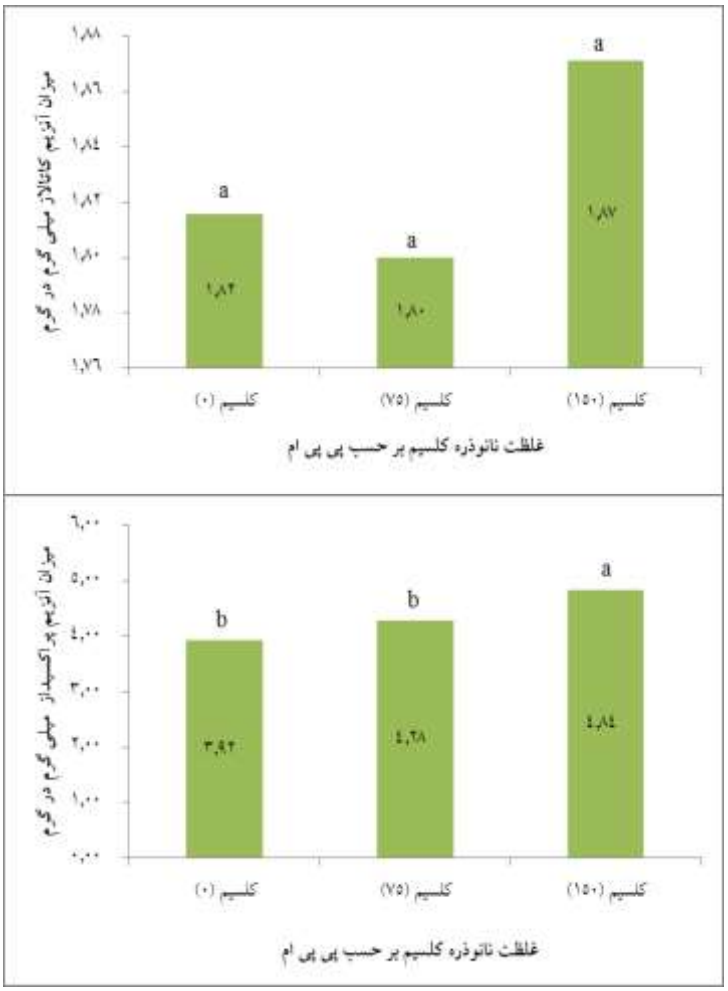
*:معنی‌دار در سطح پنج درصد و ^{ns}: غیر معنی‌دار



شکل ٤: اثر ساده غلظت‌های مختلف شوری بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی(کاتالاز و پراکسیداز) گیاه استویا. حروف نامشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها در سطح یک درصد می‌باشد.



شکل ۵: اثر ساده غلظت‌های مختلف پوترسین بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی(کاتالاز و پراکسیداز) گیاه استویا.
حروف نامشابه در هر تیمار بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد



شکل ٦: اثر ساده غلظت‌های مختلف نانوذره‌کلسیم بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی(کاتالاز و پراکسیداز) گیاه استویا. حروف نامشابه در هر تیمار بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشد.

بحث

در این مطالعه، اثر ساده شوری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی معنی‌دار بود و با افزایش غلظت‌های تیمارهای مورد استفاده میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، b و کل کاهش و محتوای کاروتنوئید افزایش یافت. اما اثر دوگانه و سه گانه تیمارها بر روی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی معنی‌دار نبود. همچنین، براساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، اثر نانوذره کلسیم و پوترسین بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی روند افزایشی نشان داد. در مطالعه‌ای، Nooriakendi و همکاران (۲۰۱٦) اظهار داشتند که شوری موجب کاهش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در گیاه استویا گردیده است. به گونه‌ای که کمترین مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل مربوط به غلظت ۲۷۰ میلی‌مولار شوری بود. اما میزان کارتنوئید با افزایش غلظت شوری روند افزایشی داشت که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت به گونه‌ای که با افزایش غلظت‌های شوری مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل روند کاهشی نشان داد. در حالی که، میزان کاروتنوئید با افزایش غلظت شوری روند افزایشی را نشان داد.

در مطالعه دیگر، میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطوح مختلف تنش شوری به محلول‌پاشی ملاتونین پاسخ متفاوتی نشان دادند، ولی

در مجموع کاهش مقدار این صفت با افزایش تنش شوری معنی‌دار بود (Normohammadi et al., 2021). کاهش رشد رویشی در اثر تیمار شوری می‌تواند به دلیل کاهش سطح فتوسنتز و همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل a و b، جذب خالص دی اکسید کربن هدایت روزنه‌ای و بسته شدن روزنه‌ها در اثر تنش شوری باشد (Netondo et al., 2004). عامل محتمل دیگری که سبب کاهش فتوسنتز می‌گردد اثر بازدارنده تنش شوری بر روی فرآیند جذب و انتقال مواد فتوسنتزی می‌باشد(Demiral, 2005). برخی از محققین عقیده دارند که کاهش غلظت کلروفیل برگ‌ها در اثر تنش شوری می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم تجزیه‌کننده کلروفیلاز باشد (Rao et al., 1981). به طور کلی، رنگیزه‌های کلروفیل نقش مهمی در فتوسنتز دارند و معیار موثری در کنترل فعالیت فتوسنتزی محسوب می‌شوند. از این رو، با ارزیابی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری می‌توان اثر تنش شوری در بر فعالیت فتوسنتزی را تخمین زد (Taibi et al., 2016).

در پژوهش حاضر مقایسه میانگین اثر شوری بر مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی(کاتالاز و پراکسیداز) در گیاه استویا نشان داد که با افزایش سطوح شوری، مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی روند افزایشی معنی‌داری داشت، به گونه‌ای که در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری مقادیر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌ترتیب با ۲/٤٤ واحد در گرم وزن تازه برگ و ۵/۰۳ واحد در گرم وزن تر برگ نسبت به نمونه شاهد (۱/۹۹ و ۳/٦٦ واحد در گرم وزن تر برگ) روند افزایشی معنی‌داری را نشان داد. در تحقیقی مشابه، Gerami و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که با افزایش غلظت‌های شوری میزان کاتالاز و پراکسیداز در گیاه استویا افزایش معنی‌داری داشت. در پژوهشی مشابه دیگر، Dehghani و Mostajeran (۲۰۱۰) بیان کردند که با افزایش غلظت‌های شوری میزان آنزیم کاتالاز در گیاه زنجبیل افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشته است که با یافته‌های به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. به علاوه، نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه استویا تحت تنش شوری از گیاه در برابر تنش شوری محافظت می‌کند (Dehestani Ardakani et al., 2022).

گیاهان برای مقابله با شوری از استراتژی‌های مختلفی شامل تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله تغییرات اسمزی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، حذف یون‌های سمی و سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه بهره می‌برند (Wang et al., 2017). استراتژی‌های سازگاری که می‌توانند به طور همزمان یا جداگانه رخ دهند، وابسته به‌طول دوره و شدت تنش محیطی می‌باشند که با تنش محیطی طی فرآیندهای تکاملی مبارزه می‌کنند (Mishra et al., 2013). گیاهان در شرایط تنش شوری مجموعه‌ای از گونه‌های اکسیژن فعال را تولید می‌کنند که این مولکول‌ها فرآیندهای طبیعی سلول را از طریق پراکسیداسیون لیپید یا تخریب اکسیداتیو تحت تاثیر قرار می‌دهند و در نهایت منجر به عدم تعادل یون‌ها و ایجاد اختلال در سیستم دفاعی می‌گردند (Pang and Wang, 2008). در این راستا، گیاهان از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز استفاده می‌کنند تا میزان خسارت گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش دهند (Islam et al., 2020). گیاهان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH که یک سیستم دفاعی محسوب می‌شود، جهت مقابله با تنش اکسیدانی از مواد آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Zeng et al., 2013).

علاوه بر سیستم دفاعی گیاه جهت مقابله با تنش شوری، استفاده از القاگرها به عنوان محرک‌های رشد جهت کاهش اثرات مخرب تنش‌های محیطی و افزایش کارایی مصرف کودها و بالا بردن راندمان تولید مدنظر می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از نانوذره کلسیم و پوترسین اثرات سوء تنش شوری را به حداقل رساند، به طوریکه صفات فیزیولوژیکی گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد دارای وضعیت مطلوبتری بودند. برای مثال، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثر استفاده از نانوذره کلسیم با غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام و پوترسین با غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. به علاوه، غلظت ۱۵۰ پی‌پی‌ام از نانوذره کلسیم منجر به افزایش آنزیم کاتالاز و پراکسیداز به ترتیب به میزان ۱/۸۷ و ٤/٨٤ گرم در واحد وزن تر برگ شد. در ارتباط با پوترسین نیز نتایج مشابهی به دست آمد به طوریکه غلظت ۱ میلی‌مولار از پوترسین، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز را به ترتیب به میزان ۲/۱۸ و ٤/٤٦ گرم در واحد وزن تر برگ افزایش داد. در مطالعه مشابه، تنش شوری و ملاتونین به طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ استویا گردید (Normohammadi et al., 2021). در آزمایشی دیگر، اثر کیتوزان بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز تحت شرایط تنش شوری مشاهده شد (Gerami et al., 2020).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج این مطالعه و مطالعات پیشین استویا گیاهی حساس به تنش شوری می‌باشد. به طوریکه با افزایش سطوح تنش شوری، کاهش قابل توجهی در رنگیزه‌های فتوسنتزی آن دیده می‌شود. استفاده از نانوذره کلسیم و پوترسین باعث بهبود این صفات در شرایط تنش شوری شد. افزایش میزان نانوذره کلسیم و پوترسین سبب جبران خسارت وارده به گیاه شد، به طوریکه ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه از قبیل محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشید. بنابراین می‌توان اظهار داشت که مصرف نانوذره کلسیم و پوترسین می‌تواند در شرایط تنش شوری باعث افزایش صفات فیزیولوژیکی در گیاه استویا شود.

References

Ali, S., Mehmood, A. and Khan, N. (2021). Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation. Journal of Nanomaterials. 2021: 1-17.

Arnon, D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology. 24:1–15.

Badihi, L., Gerami, M., Akbarinodeh, D., Shokrzadeh, M. and Ramezani, M. (2021). Physio-chemical responses of exogenous calcium nanoparticle and putrescine polyamine in Saffron (*Crocus sativus* L.). Physiology and Molecular Biology of Plants. 27(1): 119-133.

Choudhary, R.C., Kumaraswamy, R.V., Kumari, S., Sharma, S.S., Pal, A., Raliya, R., Biswas, P. and Saharan, V. (2017). Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). Scientific Reports. 7(1): 1-11.

Dehestani-Ardakani, M., Ghatei, P., Momenpour, A., Gholamnezhad, J. Fakharipour, Z. (2022). Effect of salicylic acid foliar application on flowering and growth characteristics of lantana (*Lantana camara* Linn.) under salinity stress. 16(64): 1-23

Dehghani, I. and Mostajeran, A. (2010). The effect of salt stress on vegetative growth and antioxidant enzyme activity in *Zingiber officinale* Roscoe. Medicinal Plant Journal. 1: 1-8

Demiral, M.A. (2005). Comparative response of two olive (*Olea europaea* L.) cultivars to salinity. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 29(4): 267-274.

Farsarayi, S., Moghadam, M. and Mehdizadeh, L. (2022). The effect of salsilic acid on some physiological traits and essence production. Journal of Plant Environmental Physiology. 17(65): 54-65.

Gerami, M., Majidian, P., Ghorbanpour, A. and Alipour, Z. (2020). *Stevia rebaudiana* Bertoni responses to salt stress and chitosan elicitor. Physiology and Molecular Biology of Plants. 26(5): 965-974.

Hossain, A., Skalicky, M., Brestic, M., Maitra, S., Ashraful Alam, M., Syed, M.A., Hossain, J., Sarkar, S., Saha, S., Bhadra, P., Shankar, T., Bhatt, R., Chaki, A.L., Sabagh, A.L. and Islam, T. (2021). Consequences and mitigation strategies of abiotic stresses in wheat (*Triticum aestivum* L.) under the changing climate. Agronomy. 11(2): 241.

Islam, M.J., Kim, J.W., Begum, M.K., Sohel, M.A.T. and Lim, Y.S. (2020). Physiological and biochemical changes in sugar beet seedlings to confer stress adaptability under drought condition. Plants. 9:1-27.

Li, K., Xing, R., Liu, S. and Li, P. (2020). Chitin and chitosan fragments responsible for plant elicitor and growth stimulator. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 68(44): 12203-12211.

Lichtenthaler, H. (1987). Cholorophyllas and carotenoids:pigments of photosynthetic biomembranes. Journal of Methods of Enzymology. 148: 350-382.

Liu, X., Feng, Z., Zhang, S., Zhang, J., Xiao, Q. and Wang, Y. (2006a). Preparation and testing of cementing nano subnano composites of slower controlled release of fertilizers. Scientia Agricultura Sinica. 39:1598-1604.

Liu, J., Yu, B.J. and Liu, Y.L. (2006b). Effects of spermidine and sperimine levels on salt tolerance associated with tonoplast H+ ATPase and H+-PPase activities in barley roots. Plant Growth Regulators. 49(119): 1-9.

Masoumi, S.J., Ranjbar, S. and Keshavarz, V. (2020). The effectiveness of stevia in diabetes mellitus: A review. International Journal of Nutrition Sciences. 5(2): 45-49.

Meier, S., Moore, F., Morales, A., González, M. E., Seguel, A., Meriño-Gergichevich, C. and Mejías, J. (2020). Synthesis of calcium borate nanoparticles and its use as a potential foliar fertilizer in lettuce (*Lactuca sativa*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). Plant physiology and biochemistry. 151: 673-680.

Mishra, P.,Bhoomika, K. and Dubey, R.S. (2013). Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Protoplasma. 250: 3–19

Netondo, G.W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004). Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop science. 44(3): 806-811.

Nazir, M.M., Li, Q., Noman, M., Ulhassan, Z., Ali, S., Ahmed, T. and Zhang, G. (2022). Calcium Oxide Nanoparticles Have the Role of Alleviating Arsenic Toxicity of Barley. Frontiers in plant science. 13: 843795-843795.

Noriakendi, Z., Pirdashti, H., Yaghobian, Y. and Ghasemi Omaran, V. (2016). Evaluation of the changes of antioxidant enzymes and photosynthetic pigemets of medicinal plant of stevia by interaction with *Piriformospora indica* fungus under salt stress. Agricultural Crops. 18: 639-653.

Normohammadi, Z., Ismailpour, B., Azarmi, R., Shiekhalipour, M., Chamani, E. and Shahbazi Yajlo, R. (2021). Effect of melatonin tretment on growth and physiologycal and biochemical characteristics *of Stevia rebaudiana* berton under salt stress conditions. Journal of Vegetables Sciences. 5(1): 1-15.

Pang, C.H. Wang, B.S. (2008). Oxidative stress and salt tolerance in plants. Progress in botany. 231-245.

Rane, M., Bawskar, M., Rathod, D., Nagaonkar, D. and Rai, M. (2015). Influence of calcium phosphate nanoparticles, *Piriformospora indica* and *Glomus mosseae* on growth of *Zea mays*. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology. 6(4): 045014.

Rao, S. R., Sainis, J. K. and Sane, P.V. (1981). Inhibition of chlorophyll biosynthesis by α′, α′-dipyridyl during greening of groundnut leaves. Phytochemistry. 20(12): 2683-2686.

Razavi, S.M., Zarrini, G., Molavi, G. and Ghasemi, G. (2011). Bioactivity of *Malva sylvestris* L., a medicinal plant from Iran. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 14(6): 574.

Sadat Noori, S.A., Ferdosizadeh, L., Izadi-Darbandi, A., Mortazavian, S.M.M. and Saghafi, S. (2011). Effects of salinity and laser radiation on proline accumulation in seeds of spring wheat. Journal of Plant Physiology Breeding. 1(2): 11-20.

Sebastian, A., Nangia, A. and Prasad, M. N.V. (2017). Carbon-bound iron oxide nanoparticles prevent calcium-induced iron deficiency in Oryza sativa L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 65(3): 557-564.

Shi, K., Huang, Y.Y., Xia, X.J., Zhang, Y.L., Zhou, Y.H. and Yu, J.Q. (2008). Protective role of putrescine against salt stress is partially related to the improvement of water relation and nutritional imbalance in cucumber. Journal of Plant Nutrition. 31(10): 1820-1831.

Singh, S. (2014). A review on possible elicitor molecules of cyanobacteria: their role in improving plant growth and providing tolerance against biotic or abiotic stress. Journal of Applied Microbiology. 117(5): 1221-1244.

Singh, S.D. and Rao, G.P. (2005). *Stevia*: the herbal sugar of 21st century. Sugar Technology. 7(1): 17.

Susmitha, S., Gowri, R.S., Meenambigai, P., Ramitha, R. and Vijayaraghavan, R. (2015). Physiochemical properties of purified Catalase enzyme from Azolla. International Journal of Current Microbiology Applied Science. 4(8): 836-844.

Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L.A., Ennajah, A , Belkhodja, M. and Mulet, J.M. (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defense systems in *Phaseolus vulgaris* L. South African Journal of Botany. 105: 306–312

Tang, W. and Newton, R.J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regulation. 46(1): 31-43.

Walters, D. R. (2003). Polyamines and plant disease. Phytochemistry. 64(1): 97-107.

Wang, Y., Stevanato, P., Yu, L., Zhao, H., Sun, X., Sun, F., Li, J., Geng, G. (2017). The physiological and metabolic changes in sugar beet seedlings under different levels of salt stress. Journal of Plant Resources. 130: 1079–1093

Xiong, F., Liao, J., Ma, Y., Wang, Y., Fang, W. and Zhu, X. (2018). The protective effect of exogenous putrescine in the response of tea plants (*Camellia sinensis*) to salt stress. HortScience. 53(11): 1640-1646.

Yadav, S.K. and Guleria, P. (2012). Steviol glycosides from Stevia: biosynthesis pathway review and their application in foods and medicine. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 52(11): 988-998.

Zeng, J., Chen, A., Li, D., Yi, B. and Wu, W. (2013). Effects of salt stress on the growth, physiological responses, and glycoside contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 61(24): 5720-5726.