اثرات محلول‌پاشی محرک‌های سالیسیلیک اسید و پرولین بر محتوای گلیکوزیدهای استویول و ترکیبات فنلی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* (Bert.)

محسن ثانی خانی*، عارفه راستگو، عزیزاله خیری و میترا اعلایی

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۲/۱۸)

چکیده

در این مطالعه به‌منظور بررسی اثر پرولین و سالیسیلیک اسید بر محتوای گلیکوزیدهای استویول و ترکیبات فنلی گیاه استویا در منطقه زنجان آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل پرولین در سه سطح (صفر، ۱، ۲ میلی‌مولار) و سالیسیلیک اسید در سه سطح (صفر، ۰/۳، ۰/٦ میلی‌مولار) بودند که به‌صورت محلول‌پاشی برگی پس از استقرار نشا در سه مرحله به فاصله ۱۰ روز انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که اثر تیمارها بر محتوای گلیکوزیدهای استویول، فنل و فلاونوئید کل معنی‌دار است. تیمار سالیسیلیک اسید بر تمام اجزای گلیکوزیدهای استویول، فنل و فلاونوئید کل تأثیر مثبت داشته و موجب افزایش آنها شد و تیمار پرولین تنها گلیکوزیدهای استویوزاید و ربادیوزاید A، فنل و فلاونوئید کل را افزایش داد. اثرات متقابل تیمارها نیز استویوزاید و ربادیوزاید A، C و فنل کل را افزایش داد. بالاترین میزان گلیکوزیدهای استویوزاید (٦۰/۳۲)، ربادیوزاید A (۲٤/۱٤) و فنل کل (۱۹/۹٤) میلی‌گرم در گرم برگ خشک در تیمار ۱ میلی‌مولار پرولین به‌همراه ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد و بیشترین میزان فلاونوئید کل (۱۰/۰۲) میلی‌گرم در گرم برگ خشک در تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید ثبت شد و کمترین مقدار استویوزاید، ربادیوزاید A، فنل و فلاونوئید کل مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج به‌دست آمده می‌توان استنباط نمود که تیمار با پرولین و سالیسیلیک اسید با تأثیر بر فرآیندهای متابولیکی در افزایش تولید گلیکوزیدهای استویول و ترکیبات فنلی استویا مؤثر بود.

کلمات کلیدی: محرک‌ها، استویوزاید، ربادیوزاید A، فنل، فلاونوئید

مقدمه

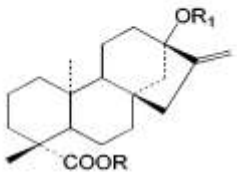
استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* (Bert.) گیاهی بوته‌ای و چند ساله که به خانواده کاسنی تعلق دارد. این گیاه بومی کشور پاراگوئه است و به‌طور عمده در منطقه آمامبای پاراگوئه یافت می‌شود. ترکیبات شیمیایی مختلفی در گیاه استویا شناسایی شده است. شناخته‌شده‌ترین و مهم‌ترین این ترکیبات گلیکوزیدهای انت کائورن شیرین مزه است که از ارزش بالایی برخوردار هستند. برگ‌های استویا حاوی گلیکوزیدهای دی‌ترپن استویول (استویوزاید و ربادیوزاید A، B، C، D، E و F، دالکوزاید A، استویول بیوزاید و ربوزوزاید) هستند. قدرت شیرین‌کنندگی این ترکیبات ۲۵۰-٤۵۰ برابر ساکارز است. دو گلیکوزید استویوزاید و ربادیوزاید A از اهمیت بیشتری برخوردارند و بیشترین تأثیر را در شیرین‌کنندگی دارند (Yadav *et al*., 2011).

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Sani@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

	R	R_1
Stevioside	β-Glc	β-Glc²–β-Glc
Steviolbioside	H	β-Glc²–β-Glc
Rebaudioside A	β-Glc	β-Glc²–β-Glc |³ β-Glc
Rebaudioside B	H	β-Glc²–β-Glc |³ β-Glc
Rebaudioside C	β-Glc	β-Glc²–α-Rha |³ β-Glc
Rebaudioside D	β-Glc²–β-Glc	β-Glc²–β-Glc |³ β-Glc
Rebaudioside E	β-Glc²–β-Glc	β-Glc²–β-Glc
Dulcoside A	β-Glc	β-Glc²–α-Rha



شکل ۱- ساختار شیمیایی مشترک گلیکوزیدهای استویول (Brandle *et al.*, 1998)

پتانسیل شیرین‌کنندگی هر یک از گلیکوزیدها به ماهیت گروه‌های R و R1 بستگی دارد، که ترکیباتی منشعب ازگلوکز و یا سایر قندهای منوساکاریدی هستند. با توجه به ساختمان مشترک گلیکوزیدهای استویا و قراردادن گروه‌های R و R1 در مکان‌های مخصوص به خود (شکل ۱) می‌توان ساختار مربوط به هر گلیکوزید را به‌دست آورد (آذرپور و همکاران، ۱۳۹۲؛ Brandle *et al.*, 1998).

این ترکیبات جذب بدن نمی‌شوند و به‌عنوان شیرین‌کننده به‌کار برده می‌شوند، در درمان چاقی، فشار خون و پیشگیری از پوسیدگی دندان مفید هستند (Pandey and Chikara, 2014). استویوزاید قادر به تحریک ترشح انسولین در پانکراس بیماران دیابتی و دیگر اختلالات متابولیسم کربوهیدراتی است و سطح گلوکز خون را بالا نمی‌برد (Kedik *et al.*, 2003) و به‌عنوان کاهنده سطوح اوریک اسید و ضدتومور به‌شمار می‌آید (Madan *et al.*, 2010). قندهای گلیکوزیله استویا را می‌توان جهت بالابردن حلالیت داروها و پوشاندن مزه تلخ آنها به‌کار برد (Lemus-mondaca *et al.*, 2012). در سال‌های اخیر گرایش مردم به استفاده از گلیکوزیدهای استویول در بیشتر کشورها افزایش داشته است. بنابراین استویا از جمله محصولات با ارزش در نظر گرفته می‌شود (Singh and Rao, 2005). علاوه بر گلیکوزیدهای استویول، خواص بالای آنتی‌اکسیدانی و میزان بالای فنل و فلاونوئید در گیاه استویا گزارش شده است (Tadhani *et al.*, 2007). فلاونوئیدها و فنل‌ها مانند دیگر ترکیبات ثانویه طبیعی به‌طور فعال باعث بیماری‌های قلبی‌عروقی و سرطان کاهش شده و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی هستند (Dragovi-Uzelac, 2010).

در کشت و پرورش استویا عوامل محیطی و زراعی تأثیر بیشتری در مقایسه با عادات رشدی گیاه استویا بر عملکرد و ترکیبات گلیکوزیدی آن دارند (آذرپور و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین عوامل مختلف دیگری از جمله استفاده از محرک‌ها بر رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه مؤثر هستند. الیستورها به‌عنوان محرک‌های دفاعی و القاکننده استرس در گیاه تعریف می‌شوند که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم با فعال‌کردن ژن‌های مرتبط با بیوسنتز ترکیبات ثانویه سبب افزایش تولید این ترکیبات می‌گردند (Neumann *et al.*, 2009). از محرک‌ها می‌توان به سالیسیلیک اسید و پرولین اشاره کرد. سالیسیلیک اسید (SA) تنظیم‌کننده رشد گیاهی از گروه فنل‌ها است و در طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی سنتز می‌شود (Hayat *et al.*, 2007). به‌عنوان یک مولکول واسطه‌ای پیام‌رسان تقریباً بر اکثر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب تغییراتی در آنها می‌شود. این تغییرات اغلب به‌صورت سازش‌هایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Metwally *et al.*, 2003). کاربرد خارجی آن دامنه وسیعی از پاسخ‌های رشدی گیاه را تنظیم می‌کند و منجر به القای بیوسنتز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

ترکیبات ثانویه می‌شود (Tanoory *et al.*, 2015). محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید روی بخش‌های هوایی ریحان و مرزنگوش علاوه بر افزایش رشد و عملکرد، آمین‌ها، کربوهیدرات‌ها و درصد و کیفیت اسانس را نیز افزایش داد (Gharib, 2007). استفاده از غلظت‌های مختلف تیمارهای سالیسیلیک اسید سبب افزایش درصد و عملکرد اسانس در گیاه نعنا فلفلی (Saharkhiz and godarzi, 2014) و زیره سبز (Rahimi *et al.*, 2013) گردیده است. کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید میزان فلاونوئید کل را در گیاهان بابونه، ماریتیغال، زنجبیل و گل قاصد را افزایش داده است (Pacheco *et al.*, 2013). علاوه بر آن کاربرد سالیسیلیک اسید با تغییر در ترکیبات اسانس گیاه مرزه سبب افزایش میزان تیمول و گاما – ترپینن و کاهش پاراسیمن شد (حیاتی، ۱۳۹۲).

اسیدآمینه پرولین به‌طور گسترده در گیاهان آلی و در مقادیر زیاد در پاسخ به تنش‌های محیطی در سلول‌ها و بافت‌ها تجمع می‌یابد (Ashraf and Foolad, 2007). تجمع پرولین در بسیاری از گونه‌های گیاهی در شرایط تنش خشکی، شوری بالا، نور بالا، تابش اشعه UV و تنش‌های زیستی گزارش شده است. افـزایش غلظـت پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش است (Szabados *et al.*, 2009). پرولین به‌عنوان یک ماده محلول سبب تنظیم اسمزی، کاهش هدر رفت آب از سلول، حفظ آماس سلولی، کاهش تأثیر کندکنندگی یون‌ها بر روی فعالیت آنزیم‌ها، جلوگیری از تجزیه پروتئین‌های مختلف، افزایش پایداری برخی آنزیم‌های سیتوپلاسمی و میتوکندریایی، پایداری شکل طبیعی پروتئین‌ها، مهار رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش می‌شود. درنتیجه کاربرد خارجی پرولین در شرایط تنش می‌تواند قابلیت تحمل گیاهان آلی را افزایش دهد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

با توجه به ارزش دارویی و غذایی گیاه استویا و اهمیت محرک‌ها در تولید گیاهان دارویی و سنتز متابولیت‌های ثانویه همچنین افزایش تحمل به تنش‌های مختلف (به‌خصوص زمانی که گیاه در شرایط آب و هوایی متفاوت از زیستگاه اصلی خود کشت می‌گردد)، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر محرک‌هایی مانند سالیسیلیک اسید و پرولین بر محتوای گلیکوزیدهای استویول و ترکیبات فنلی گیاه استویا در شرایط آب و هوایی استان زنجان بود.

مواد و روش‌ها

برای مطالعه اثر سالیسیلیک اسید و پرولین بر محتوای گلیکوزیدهای استویول و ترکیبات فنلی گیاه استویا آزمایشی فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل: پرولین با سه سطح (صفر، ۱، ۲ میلی‌مولار) و سالیسیلیک اسید با سه سطح (صفر، ۰/۳، ۰/٦ میلی‌مولار) بودند. کاشت نشاها در نیمه دوم اردیبهشت در مرحله ٤ تا ٦ برگی به‌صورت دستی انجام گرفت. فاصله ردیف‌ها از یکدیگر ٦۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌های روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. جهت حفظ رطوبت و کنترل علف‌های هرز در ردیف‌های کشت مالچ‌کشی پلاستیکی انجام شد. آبیاری بوته‌ها به روش قطره‌ای و دور آبیاری چهار روز صورت گرفت. تیمار سالیسیلیک اسید و پرولین به‌صورت محلول‌پاشی برگی پس از استقرار نشا در سه مرحله به فاصله ۱۰ روز انجام گرفت. برداشت بوته‌ها در نیمه دوم مرداد ماه قبل از مرحله گلدهی و از ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری سطح زمین انجام شد. پس از برداشت بوته‌ها در سایه و مجاورت هوا خشک و آسیاب گردید.

تهیه عصاره متانولی برای اندازه‌گیری گلیکوزیدهای استویول: برای تهیه عصاره، ۱۰۰ میلی‌گرم برگ خشک در ۱۰ میلی‌لیتر متانول خالص اضافه کرده و به‌مدت ۱۵ دقیقه مخلوط گردید. این فرآیند دو مرحله دیگر بعد از فیلترشدن روی پودر برگ انجام شد و عصاره‌ها با هم ترکیب شدند. سپس در مبرد (Evaporator) با حرارت ٤٥ درجه سانتی‌گراد متانول تبخیر و به باقیمانده محلول ۲۰ میلی‌لیتر n هگزان جهت چربی زدایی اضافه گردید. بعد از تبخیر حلال ۵ میلی‌لیتر محلول (شامل استونیتریل و آب‌مقطر به نسبت (۲۰:۸۰) به محلول عصاره گیاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

اضافه شد و پس از حل‌شدن از صافی(۰/٤٥ µm) عبور داده شد تا به دستگاه HPLC تزریق گردد (Erkucuk *et al*., 2009).

سنجش گلیکوزیدهای استویول توسط HPLC: ۱۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی به ستون کروماتوگرافی با مشخصات Cosmosil 5NH_2-MS به طول ۱۵ سانتی‌متر، قطر ٤/٦ میلی‌متر و قطر ذرات ۵ میکرومتر متصل به دستگاه HPLC مدل Unicam-Crystal-200 ساخت انگلستان تزریق گردید. فاز متحرک شامل محلول آب‌مقطر و استونیتریل با شرایط ایزوکراتیک است که با نسبت ۲۰ درصد از آب و۸۰ درصد استونیتریل با سرعت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه توسط پمپ از ستون عبور می‌کند. دتکتور (آشکارساز) از نوع Diod Arvay detector بوده و در طول‌موج ۲۱۰ نانومتر تنظیم شد. فشار پمپ در psi ۸۰۰ تنظیم شده و مقدار هر ماده براساس مقایسه زمان بازداری پیک خروجی آن با پیک استاندارد و سطح زیر منحنی آنها تعیین گردید. در نهایت مقدار هر گلیکوزید استویول براساس میلی‌گرم بر گرم ماده خشک گیاه محاسبه شد (Mamta *et al.*, 2010).

تهیه عصاره متانولی برای اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید کل: مقدار ۵ گرم از هر نمونه برگی خشک آسیاب شده و سپس در ٤۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به‌مدت ٤۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید و به‌دنبال آن عصاره‌ها با کاغذ صافی فیلتر شدند. حلال عصاره‌ها در دمای کمتر از ۵۰ درجه توسط دستگاه تقطیر در خلا (rotary evaporator) تبخیر گردید. عصاره‌ها برای انجام آزمایشات بعدی در دمای ٤ درجه در یخچال نگهداری شدند (Ruiz Ruiz *et al*., 2015).

روش سنجش محتوای فنل کل: محتوای فنل کل براساس روش فولین سیوکالچو انجام شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲٪)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو (۵۰٪) اضافه و نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق نگهداری شدند. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید. از غلظت‌های مختلف گالیک اسید ۵۰-۵۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. محتوای فنل کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد (Meda *et al*., 2005).

روش سنجش محتوای فلاونوئید کل: تعیین محتوای فلاونوئید براساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید انجام شد. طبق این روش ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰٪)، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ و ۱۰۰ میکرولیتر پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر از آب‌مقطر مخلوط گردیده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ٤۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت. از غلظت‌های مختلف کوئرستین ۱۲/۵-۲۵۰ میکروگرم / میلی‌لیتر برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و محتوای فلاونوئید کل برحسب معادل کوئرستین / گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Ruiz Ruiz *et al*., 2015).

داده‌های حاصل با نرم‌افزار SAS. 9.3.1 آنالیز و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار MSTAT-C و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

گلیکوزیدهای استویول: آنالیز HPLC محلول استاندارد گلیکوزیدهای استویول (شکل ۲ و ۳) و عصاره استویا (شکل ٤) جهت ارزیابی گلیکوزیدهای استویولی انجام گرفت. بررسی نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس گلیکوزیدهای استویول (جدول ۱) بیانگر تأثیرگذاربودن قابل‌توجه تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید بر اجزای گلیکوزیدهای قندی است. به‌طوری که تأثیر اثرات ساده سالیسیلیک اسید در تمامی صفات (استویوزاید، ربادیوزاید A, B, C, F و دالکوزاید A) در سطح یک درصد معنی‌دار شد. در صورتی که اثرات ساده تیمار پرولین بر گلیکوزیدهای استویول متفاوت بوده و تنها در گلیکوزیدهای استویوزاید، ربادیوزاید A در سطح یک درصد معنی‌دار بود و تأثیر آن بر دالکوزید A در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. صفات ربادیوزاید B ,C و F تحت تأثیر تیمار

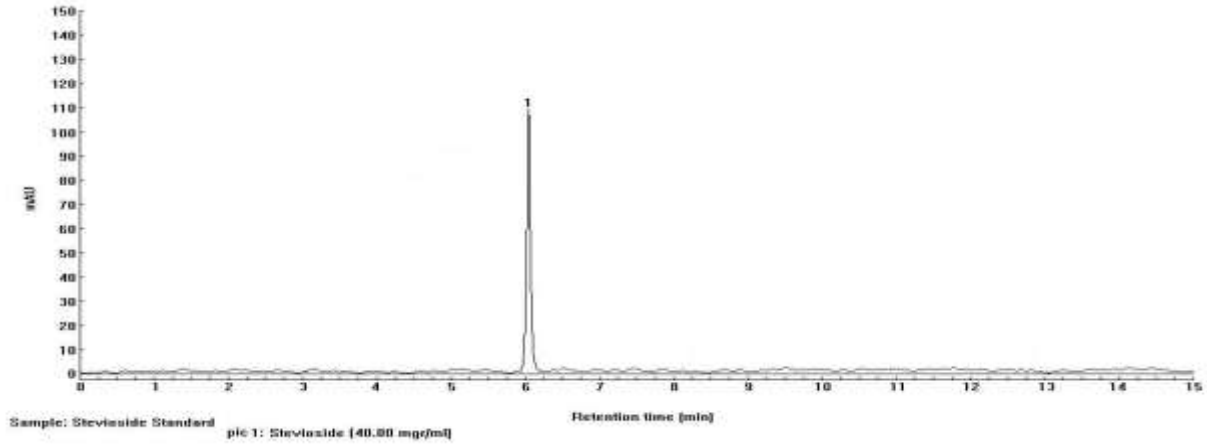
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

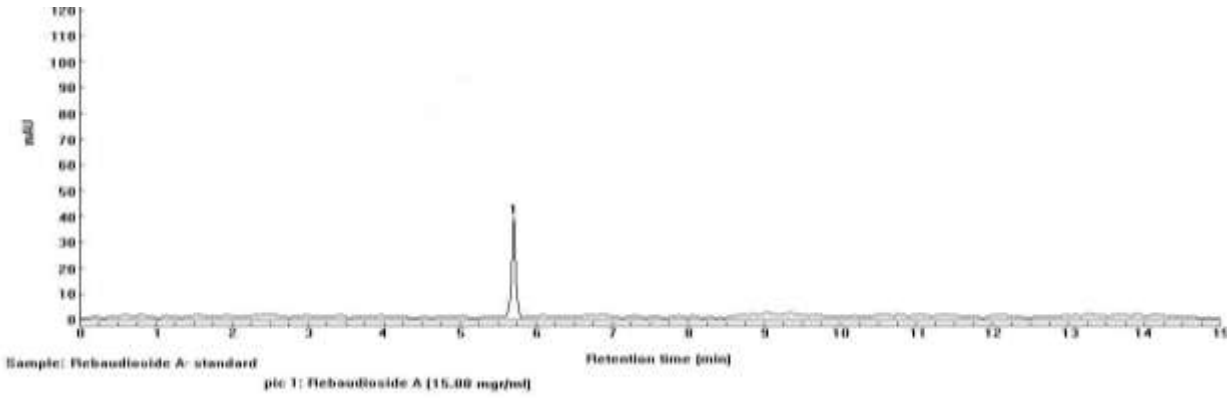
جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) گلیکوزیدهای استویول

منابع تغییرات	درجه آزادی	استویوزاید	ربادیوزاید A	ربادیوزاید B	ربادیوزاید C	ربادیوزاید F	دالکوزاید A
بلوک	۲	۱/۰۵	۰/۲۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰٤	۰/۰۰۲
پرولین	۲	٤۳/۹۸**	۲۳/٤۱**	۰/۱۷ ns	۰/۰۲۲ ns	۰/۰۱ ns	۰/۸۸*
اسید سالیسیلیک	۲	۱۱٤۳/۵۵**	۱۲٦/٤۸**	٤/۷۸**	۰/٤۳**	۰/۱۵**	۳/۳۷**
پرولین × سالیسیلیک اسید	٤	٦۷/۷۲**	۱۵/۵۸**	۰/۰٤ ns	۰/۰۷٤**	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۱ ns
خطا	۱٦	۵/۵۱	۱/۸۲	۰/۰۸۸	۰/۰۱۳	۰/۰۰۵	۰/۱۸۱
CV		۵/۲۳	۷/٤۷	۱۲/۵٤	۱۱/٦۸	۹/٤٤	۱۱/۱۰

** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، * معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ns معنی‌دار نبودن



شکل ۲- کرماتوگرام استاندارد استویوزاید



شکل ۳- کرماتوگرام استاندارد ربادیوزاید A

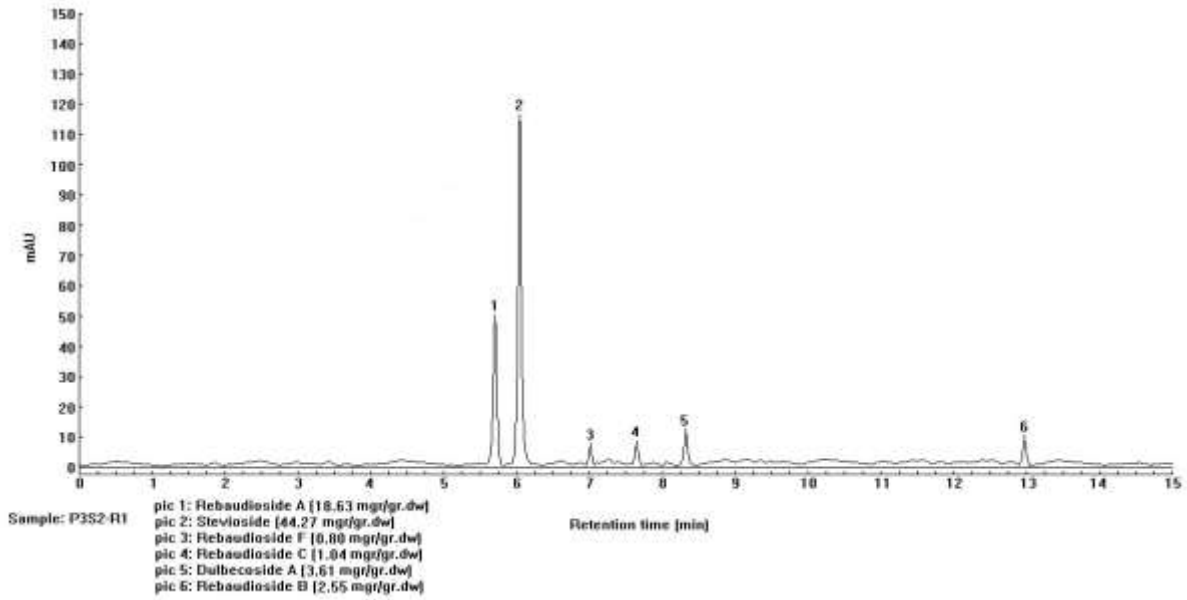
پرولین قرار نگرفته و معنی‌دار نبودند.

همچنین اثرات متقابل تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید در سطح ۱ درصد بر اجزای استویوزاید و ربادیوزاید A و در سطح پنج درصد بر ربادیوزاید C مؤثر بود.

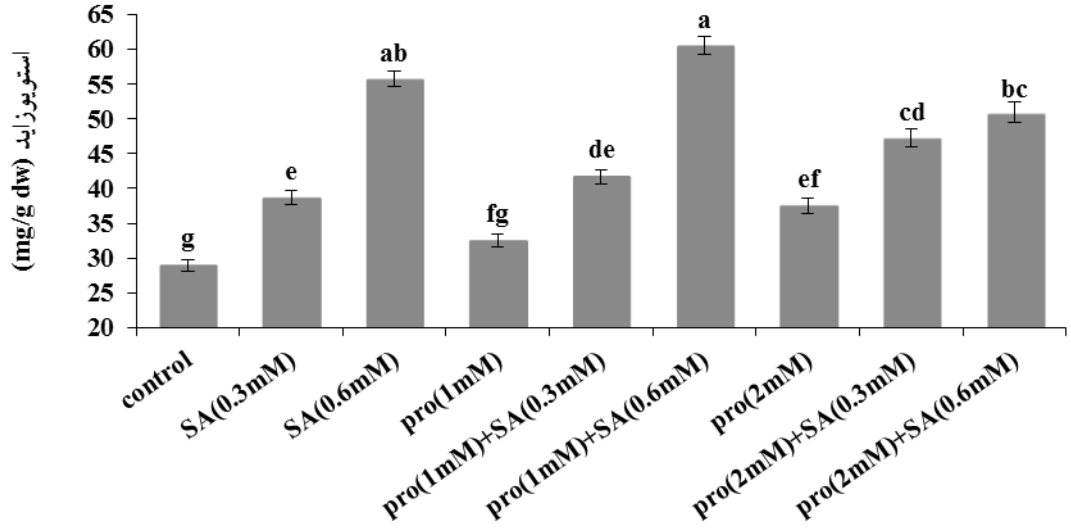
نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین (شکل ۵) نشان‌دهنده تأثیر قابل ملاحظه تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید بر محتوای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]



شکل ٤- کرماتوگرام گلیکوزیدهای استویول حاصل از تزریق عصاره استویا به ستون HPLC

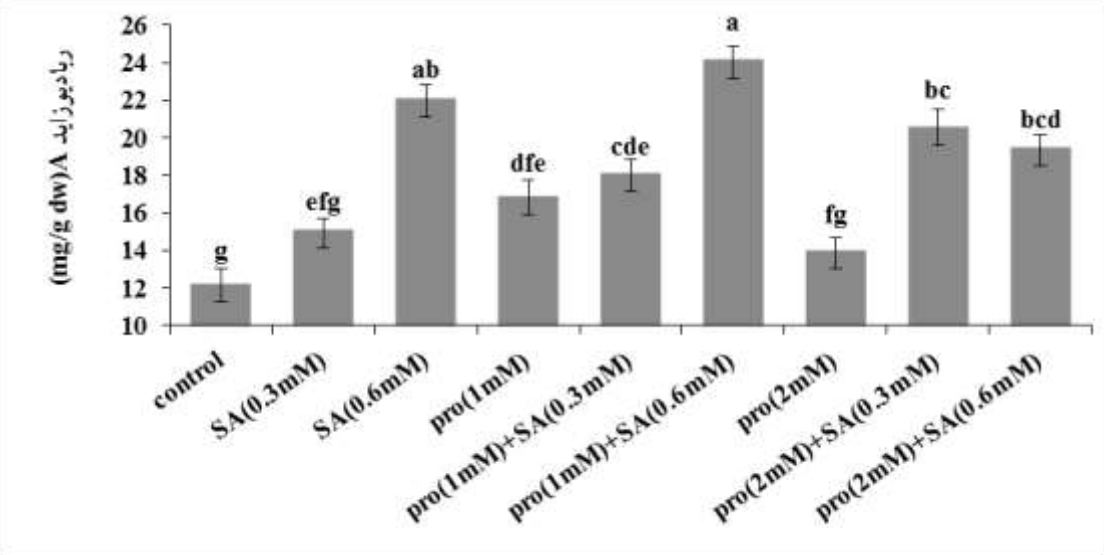


شکل ٥- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار سالیسیلیک اسید و پرولین بر میزان استویوزاید گیاه استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.

گلیکوزید استویوزاید است. تمامی سطوح تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان می‌دهد. بیشترین میزان استویوزاید با ٦۰/۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در تیمار اثرات متقابل ۱ میلی‌مولار پرولین به‌همراه ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌دست آمده است و تیمار ۰/٦ میلی‌مولار با ٥٥/٦٥ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در رده دوم قرار گرفته است.

مقایسه میانگین (شکل ٦) نشان‌دهنده تأثیر قابل ملاحظه تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید بر محتوای گلیکوزید ربادیوزاید A است. تمامی سطوح نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است. افزایش غلظت تیمار پرولین به ۲ میلی‌مولار تأثیر منفی در روند افزایش میزان ربادیوزاید A نشان می‌دهد، که تحت تأثیر اثرات متقابل با سطوح تیمار سالیسیلیک اسید بهبود یافته است. بیشترین میزان ربادیوزاید A با ۲٤/۱٤ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ در تیمار اثرات متقابل ۱ میلی‌مولار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]



شکل ٦- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار سالیسیلیک اسید و پرولین بر میزان ربادیوزاید A گیاه استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.

پرولین به‌همراه ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌دست آمده است و تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید با ۲۲/۰۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ در رده بعدی قرار گرفته است.

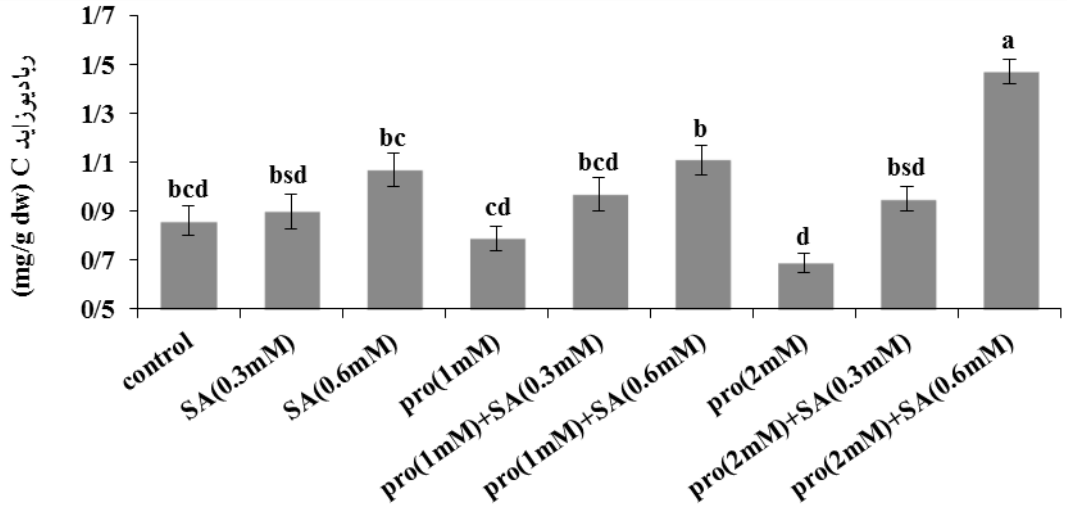
مقایسه میانگین داده‌های به‌دست آمده از آنالیز استویا (شکل ۷) بیانگر آن است که تیمار با سالیسیلیک اسید و پرولین موجب تغییر در میزان ربادیوزاید C شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید میزان ربادیوزاید C افزایش یافته است. اما تیمار پرولین تأثیر منفی بر میزان ربادیوزاید C داشته است. به‌طوری که با افزایش غلظت پرولین روند کاهشی نشان داده و پایین‌تر از سطح تیمار شاهد قرار گرفته است. در مقابل اثرات متقابل پرولین و سالیسیلیک اسید موجب افزایش میزان ربادیوزاید C در مقایسه با اثرات ساده شده است و بالاترین میزان ربادیوزاید C در تیمار اثرات متقابل ۲ میلی‌مولار پرولین به‌همراه ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. به نظر می‌رسد که اثرات متقابل سالیسیلیک اسید با پرولین تأثیرات منفی پرولین بر ربادیوزاید C را تعدیل می‌کند.

مقایسه میانگین (شکل ۸) تیمار سالیسیلیک اسید بیانگر تأثیر مثبت بر میزان دالکوزاید A است. کاربرد سالیسیلیک اسید موجب افزایش دالکوزاید A نسبت به تیمار شاهد شده است. بالاترین میزان دالکوزاید A در تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده گردید. اما بر خلاف تیمار سالیسیلیک اسید، تیمار پرولین تأثیر منفی بر محتوای دالکوزاید A داشته است. و با افزایش سطوح تیمار پرولین دالکوزاید A روند کاهشی نشان داد و میانگین هر دو سطح تیمار پرولین پایین‌تر از تیمار شاهد قرار گرفت.

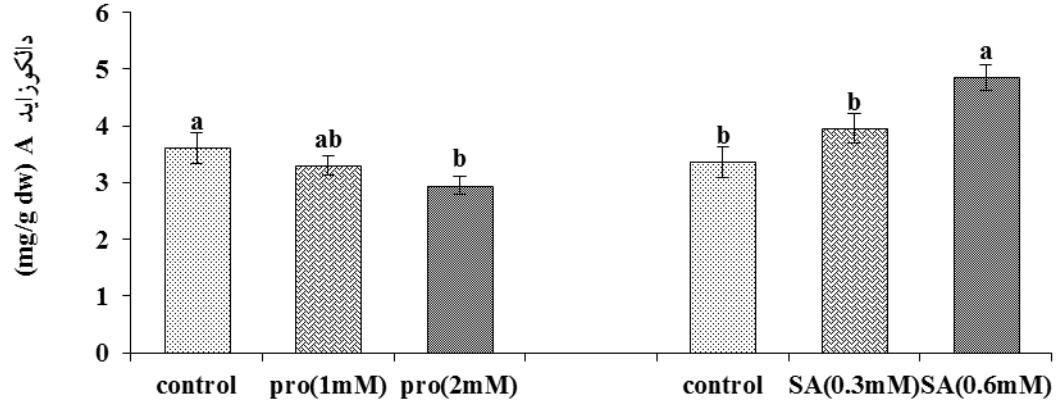
بر پایه نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۹) تیمار هر دو سطح سالیسیلیک اسید موجب تغییر محتوای ربادیوزاید B و F در گیاه شده است. غلظت هر دو گلیکوزید نسبت به شرایط عدم‌تیمار (شاهد) افزایش داشته است. بالاترین میانگین ربادیوزاید B (۳/۱٤) و ربادیوزاید F (۰/۹۱) میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ در تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد.

گلیکوزیدها ترکیباتی اغلب درشت مولکول و دارای گروه-های مختلفی هستند. این ترکیبات همگی دارای یک یا چند قند روی اسکلت مرکزی هستند. این اسکلت مرکزی یک گروه چربی دوست است که روی آن یک یا چند قند مونوساکارید قرار می‌گیرد. اسکلت اصلی گلیکوزیدهای استویا که گلوکز روی آن متصل می‌شود مولکول استویول است که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار سالیسیلیک اسید و پرولین بر میزان ربادیوزاید C گیاه استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.



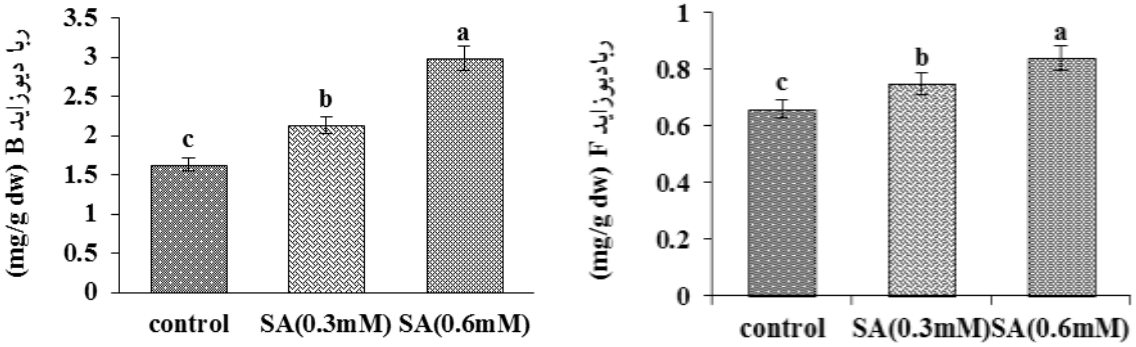
شکل ۸- مقایسه میانگین اثرات ساده تیمار سالیسیلیک اسید و پرولین بر محتوای دالکوزاید A استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.

شبیه اسکلت انت-کائورن برای سنتز جیبرلین است. بنابراین ساخت اسکلت اصلی از مسیر ترپنوئیدها صورت می‌گیرد. مسیر بیوسنتز گلیکوزیدهای استویول در این گیاه با مسیر سنتز جیبرلین تا تشکیل کائورنیک اسید مشترک است (Gupta *et al.*, 2016a). دو آنزیم سرنوشت کائورنیک اسید را به سوی سنتز جیبرلین‌ها یا به سوی تولید گلیکوزیدها پیش می‌برند. کائورنیک اسید اکسیداز (KAO) با هیدروکسیله‌کردن در موقعیت کربن ۷، اسکلت کائورنی را به سمت مسیر بیوسنتز جیبرلین‌ها و کائورنیک اسید ۱۳- هیدروکسیلاز با هیدروکسیله کردن در موقعیت ۱۳، اسکلت کائورنی را به سمت تولید استویول می‌برد. در ادامه با اتصال چند قند گلیکوزیدهای استویول تولید خواهند شد از آنجایی که علت ساخت چنین مولکول پر هزینه‌ای در گیاه استویا روشن نیست؛ این احتمال می‌رود که شاید این ترکیب‌ها نقش دفاعی در شرایط تنش داشته باشند (مرادی پینوندی و همکاران، ۱۳۹۳).

عوامل مختلفی از جمله کاربرد محرک‌ها موجب تحریک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]



شکل ۹- مقایسه میانگین اثرات ساده سالیسیلیک اسید بر محتوای ربادیوزاید B و F استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.

بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و انباشت آنها می‌شوند، مطالعات گذشته نشان می‌دهد که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید از طریق افزایش بیان بسیاری از ژن‌های دفاعی، تشکیل متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Pacheco *et al.*, 2013). نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار با سالیسیلیک اسید و پرولین بر روند افزایش محتوای گلیکوزیدهای استویول تأثیرگذار بوده است. تیمار سالیسیلیک اسید نسبت به تیمار پرولین مؤثرتر بوده و نتایج بهتری را در افزایش این ترکیبات نشان داد. بیشترین افزایش در محتوای گلیکوزیدهای استویوزاید و ربادیوزاید A مشاهده شد. تحقیقات نشان داده است که غلظت استویوزاید می‌تواند ۶۰-۷۰ درصد کل گلیکوزیدهای استویول باشد. بنابراین استویوزاید به‌دلیل بالابودن میزان آن تأثیر مهمی در شیرین‌بودن گیاه استویا دارد. (Yadav *et al.*, 2011). همچنین در بین انواع گلیکوزیدهای استویول ربادیوزاید A در کیفیت گلیکوزیدهای استویولی و مزه کلی آنها (Sharma *et al.*, 2009) و استویوزاید به‌دلیل کمیت بیشتر نقش مهمی دارد بنابراین افزایش نسبت ربادیوزاید A به استویوزاید می‌تواند کیفیت کلی قند استویا را افزایش دهد (Yadav *et al.*, 2011).

نتایج این پژوهش با نتایج برخی تحقیقات انجام‌شده مطابقت دارد. هاشم‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) گزارش کردند که کاربرد ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید موجب افزایش محتوای گلیکوزیدهای استویول در شرایط درون شیشه‌ای استویا شده است. در تحقیقی دیگر پیش‌تیمار گیاه استویا با ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تحت تنش سرمایی موجب افزایش محتوای گلیکوزیدهای استویول شده است (Soufi *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای بر روی کالوس استویا افزودن ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید به محیط‌کشت MS موجب افزایش میزان ربادیوزاید A شده است (Golkar *et al.*, 2018). نتایج بررسی اثر محرک‌های مختلف بر سنتز گلیکوزیدهای استویول در بافت کالوس استویا نشان داد که با کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد درصد استویوزاید افزایش یافت و بیشترین میزان افزایش ربادیوزاید A در تیمار ۱۰ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد (Mejia-Espejel *et al.*, 2018). در گیاهان دیگر کاربرد ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید موجب افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله گلیسریزین در ریشه‌های مویی شیرین‌بیان در شرایط کشت درون شیشه‌ای گردیده (شیرازی و همکاران، ۱۳۹۳) و به‌طور قابل توجهی محتوا و درصد اسانس بومادران (*Achillea millefolium* L.) را نسبت به عدم‌تیمار افزایش داده است (Gorni and Pacheco, 2016). در نعنا فلفلی (Saharkhiz and godarzi, 2014) کاربرد ۰/۱۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید درصد و محتوای اسانس را بهبود بخشید همچنین در تحقیقی دیگر تیمار پرولین میزان گلیکوزیدهای استویول (استویوزاید و ربادیوزاید A) را در شرایط کشت درون شیشه‌ای افزایش داد (Gupta *et al.*, 2016b).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فنل و فلاونوئید کل گیاه استویا *Stevia rebaudiana* (Bert.)

منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل کل	فلاونوئید کل
بلوک	۲	۰/۱۰	۰/۰۳
پرولین	۲	۰/۲۵**	۲/۸۶**
اسید سالیسیلیک	۲	۰/۶۱۹**	۱۰/۸۶**
پرولین × سالیسیلیک اسید	٤	۰/۱۶۵*	۰/٤٤^{ns}
خطا	۱٦	۰/۰۳۹	۰/۳۷
CV		٤/۲۹	۵/۳٦

** معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، * معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ns معنی‌دار نبودن

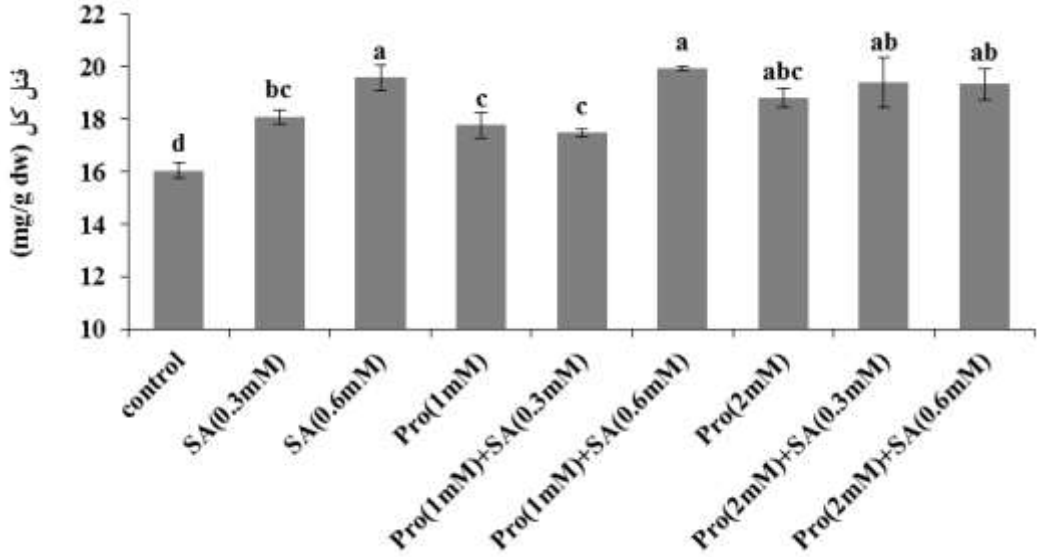
محلول پاشی پرولین در شرایط تنش خشکی میزان قابل توجهی درصد و عملکرد اسانس را در گیاهان ریحان و بابونه افزایش داد (Gamal El-Din, 2005).

محتوای فنل کل: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر اثرات ساده تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید بر افزایش معنی‌دار میزان ترکیبات فنلی در سطح ۱ درصد است. همچنین اثرات متقابل تیمارها به‌طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد میزان فنل کل را تحت تأثیر قرار داد. بالاترین میزان فنل با ۱۹/۹٤ میلی‌گرم در گرم وزن خشک در تیمار سطح پرولین ۱ میلی‌مولار به‌همراه ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد که با تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید با ۱۹/۵۹ میلی‌گرم در گرم اختلاف چندانی نداشت و در یک سطح قرار گرفت. سایر سطوح اثرات متقابل نیز موجب افزایش میزان فنل کل در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۱۰). پرولین نقش اساسی در سنتز ترکیبات فنلی در شرایط تنش دارد که خواص آنتی‌اکسیدانی آن را نشان می‌دهد. گزارش شده است که پرولین محرک بیوسنتز فنل‌ها در مسیر شیکیمات با فعال‌سازی آنزیم فنیل پروپانوئید (PAL) است. در این راستا در تحقیقی بر روی گیاه کاکله (*Cakile maritima*) مشاهده گردید که کاربرد خارجی پرولین موجب افزایش محتوای ترکیبات فنلی شد (Messedi *et al.*, 2016). در مطالعات دیگر تیمار با سالیسیلیک اسید موجب افزایش ترکیبات فنلی در کشت درون شیشه‌ای شیرین‌بیان (شبانی و احسان‌پور، ۱۳۸۸) و همیشه‌بهار (قاسمی پیر بلوطی و همکاران، ۱۳۹۱) شده است. همچنین کاربرد ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید در گیاه جینسنگ موجب افزایش ترکیبات فنلی (٦۲٪) و فلاونوئیدها (۸۸٪) در مقایسه با شاهد شد (Ali *et al.*, 2007) که با نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر مطابقت دارد.

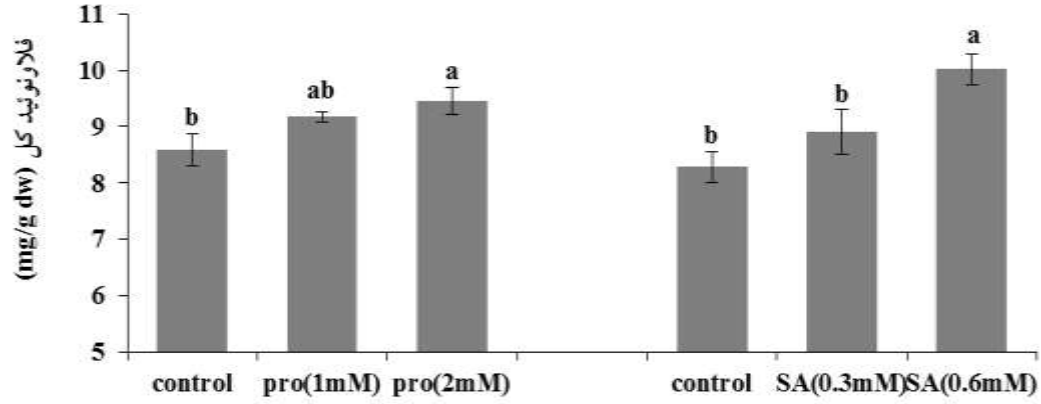
محتوای فلاونوئید کل: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر تأثیر معنی‌دار اثرات ساده تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید بر میزان فلاونوئید کل استویا در سطح ۱ درصد بود. با افزایش غلظت تیمارها میزان فلاونوئید کل در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت. بالاترین میزان فلاونوئید کل با ۱۰/۰۲ میلی‌گرم در گرم در تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و ۹/٤٦ میلی‌گرم در گرم در تیمار ۲ میلی‌مولار پرولین به‌دست آمد (شکل ۱۱). گیاهان برای مقابله با تنش‌ها از سازوکارهای مختلفی مانند افزایش متابولیت‌های ثانویه شامل فلاونوئید استفاده می‌کنند. این ترکیبات نقش آنتی‌اکسیدانی دارند و جاروب‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن هستند (Ali *et al.*, 2006). سالیسیلیک اسید به‌عنوان مولکول پیام‌رسان کلیدی در فعال‌سازی پاسخ‌های اختصاصی دفاعی گیاه شناخته می‌شود. پاسخ‌های دفاعی گیاه منجر به کاهش تولید مواد اولیه و بیوسنتز و تجمع انواع ترکیبات ثانویه گیاهی از جمله فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی می‌گردد (Neumann *et al.*, 2009). در مطالعه حاضر تیمار سالیسیلیک اسید بیشترین تأثیر را در افزایش فلاونوئید نشان داد. مطالعات دیگر نیز افزایش محتوای فلاونوئید را در تیمار با سالیسیلیک اسید گزارش کردند. در تحقیقی مشاهده گردید که سالیسیلیک اسید به‌طور

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]



شکل ۱۰- اثر متقابل پرولین و سالیسیلیک اسید بر سطح فنل در گیاه استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثرات ساده تیمار پرولین و سالیسیلیک اسید بر محتوای فلاونوئید کل استویا. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است.

قابل توجه سبب افزایش میزان فلاونوئید کل در کشت درون شیشه‌ای شیرین‌بیان گردید (شبانی و احسان‌پور، ۱۳۸۸). در گیاه همیشه‌بهار کاربرد غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید موجب افزایش محتوای فلاونوئید کل شد (Pacheco *et al.*, 2013). همچنین محلول‌پاشی پرولین موجب افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecom* L.) در شرایط آبیاری کامل و تنش کم‌آبی شد (Abd-Elhamid *et al.*, 2016).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثرات مطلوب کاربرد تیمار سالیسیلیک اسید و پرولین بر اجزای گلیکوزیدهای استویول و ترکیبات فنلی گیاه استویا است. تیمار سالیسیلیک اسید بر تمامی اجزای گلیکوزیدهای استویول اندازه‌گیری شده و محتوای فنل و فلاونوئید کل تأثیر مثبت داشته و موجب افزایش قابل ملاحظه مقدار آنها شد. تیمار پرولین تنها در میزان استویوزاید، ربادیوزاید A، فنل و فلاونوئید کل افزایش نشان داد و سطح ربادیوزاید C و دالکوزاید A با تیمار پرولین کاهش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

یافت. تیمار سالیسیلیک اسید در مقایسه با تیمار پرولین نتایج بهتر و مؤثرتری در افزایش گلیکوزیدهای استویول، فنل و فلاونوئید نشان داد. اثرات متقابل تیمارها نیز تأثیر مثبت در افزایش دو گلیکوزید مهم استویوزاید و ربادیوزاید A، C و همچنین فنل داشت. تیمار ۰/٦ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌همراه ۱ میلی‌مولار پرولین بیشترین مقدار گلیکوزیدهای استویول و فنل کل را نشان داد. درنتیجه استفاده از این سطوح تیمارها برای افزایش عملکرد متابولیت‌های ثانویه در گیاه استویا قابل توصیه است.

منابع

آذرپور، ا.، معتمد، م. ک. و بزرگی، ح. ر. (۱۳۹۲) زراعت و ترویج استویا .چاپ اول، ناشر دانشگاه آزاد واحد لاهیجان.

حیاتی، پ. و روشن، و. (۱۳۹۲) بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر پارامترهای رشدی و کمیت و کیفیت اسانس گیاه مرزه. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۹: ۸۱۷-۸۰۸.

شبانی، ل. و احسان‌پور، ع. ا. (۱۳۸۸) القا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در کشت در شیشه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) با استفاده از متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک. نشریه زیست‌شناسی ایران ۲۲: ۷۰۳-٦۹۱.

شیرازی، ز.، پیری، خ.، میرزایی اصل، ا.، حسنلو،ط. و قیاسوند، ط. (۱۳۹۳) اثر محرک‌های سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر میزان تولید ماده مؤثره گلیسریزین و ایزولیکویریتیجین در ریشه‌های مویین شیرین‌بیان. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۷: ٤٤۹-٤٤۰.

-قاسمی پیربلوطی، ع.، موسوی هریس، س. ع.، تیرگیر، ف. و بهزاد، ح. (۱۳۹۱) اثر اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در عصاره گل همیشه‌بهار. نشریه داروهای گیاهی ۳: ۱۸۰-۱۷۵.

کافی، م.، زند، آ.، کامکار، ب.، مهدوی دامغانی، ع.، عباسی، ف. و شریفی، ح. (۱۳۸۸) فیزیولوژی گیاهی ۱. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد.

مرادی پینوندی، ک.، شریفی، م. و بهمنش، م. (۱۳۹۳) تأثیر متیل ژاسمونات بر میزان استویوزید و ربادیوزید A و بیان ژن کائورنوئیک اسید ۳۱ هیدروکسیلاز در گیاه استویا در شیشه. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ٦: ۱۱۰-۹۹.

هاشم‌زاده، ه. و محبعلی‌پور، ن. (۱۳۹۳) اثر متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر محتوای استویوزاید استویا در شرایط درون شیشه‌ای. اولین کنگره بین‌المللی و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران.

Ali, M. B., Khatun, S., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2006) Enhancement of phenylpropanoid enzymes and lignin in Phalaenopsis orchid and their influence on plant acclimatization at different levels of photosynthetic photon flux. Plant Growth Regulator 49: 137-146.

Ali, M. B., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2007) Methyl jasmonat and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolic in (*Panax ginseng*) Bioreactor root suspension culture. Journal Molecules 12: 607-621.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.

Abd Elhamid, E. M., Sada, M. S. and Tawfik, M. M. (2016) Physiological response of Fenugreek plant to the application of proline under different water regimes. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 7: 580-594.

Brandle, J. E., Starratt, A. N. and Gijzen, M. (1998) Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties. Canadian Journal Plant Science 78: 527-536.

Dragovi-Uzelac, V., Savi, Z., Brala, A., Levaj, B., BursaKovaevi, D. and Bisko, A. (2010) Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the northwest Croatia. Food Technology and Biotechnology 48: 214-221.

Erkucuk, A., Akgun, I. H. and Yesil-celiktas, O. (2009) Supercritical CO_2 extraction of glycosides from stevia rebadiana leaves: Identification and composition. Journal Supercritical Fluids 51: 29-35.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. (2007) Salicylic Acid: A Plant Hormone, Biosynthesis Metabolism and Physiological Role in Plants. Springer.

Gamal EL-Din, K. M. and Abd EL-Wahed, M. S. A. (2005) Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. International Journal of Agriculture and Biology 7: 376-380.

Gharib, F. A. (2007) Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of *Basiland marjoram*. International Journal of Agriculture and Biology l4: 85-92.

Gorni, P. H. and Pacheco, A. C. (2016) Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. African Journal of Biotechnology 15: 657-665.

Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S., Tripathi, P. and Rai, G. (2016a) Stevioside and rebaudioside A – predominant *ent*-kaurene diterpene glycosides of therapeutic potential. A review. Czech Journal of Food Sciences 34: 281-299.

Gupta, P., sharma, S. and Saxena, S. (2016b) Effect of abiotic stress on growth parameters and steviol glycoside content in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) raised in vitro. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 3: 160-167.

Golkar, P., Moradi, M. and Garousi, G. A. (2018) Elicitation of Stevia glycosides using salicylic acid and silver nanoparticles under callus culture. Journal Sugar Tech 1-9.

Kedik, S. A., Fedorov, S. V., Yanul, N. A., Prokhorova, L. V., Smirnova, E. V. and Panov, A. V. (2003) Chromatographic determination of stevioside in raw plant material. Pharmaceutical Chemistry Journal 37: 529-532.

Lemus-Mondaca, R., Vaga-Galvez, A., Zura-Bravo, L. and Ah-Hen, K. (2012) *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. Food Chemistry 132: 1121-1132.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology 132: 273-281.

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and praline contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry* 91: 571-577.

Madan, S., Ahmad, S., Singh, G. N., Kohli, K., Kumar, Y., Singh, R. and Garg, M. (2010) *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. A review. Indian Journal of Natural Products and Resources 1: 267-287.

Mamta, P. R., Vijaylata, P., Gulati, A., Singh, B. and Bhanwra, R. K. (2010) Stimulatory effect of phosphate-solubilizing bacteria on plant growth, stevioside and rebaudiosid-A content of *Stevia rebaudiana* Bertony. Applied Soil Ecology 46: 222-229.

Messedi, D., Farhani, F., Ben-Hamid, K., Trablsi, N., Ksouri, R., Ather, H. U. R. and Abdelly, C. (2016) Highlighting the mechanisms by which proline can confer tolerance to salt stress in *Cakile maritima*. Pakistan Jurnal Botany 48: 417-427.

Mejia-Espejel, L., Robledo-Paz, A., Lozoya-Gloria, E., Pena-Valdivia, C. B. and Carrillo-Salazar, J. A. (2018) Elicitors on steviosides production in *Stevia rebaudiana* Bertoni calli. Scientia Horticulturae 242: 95-102.

Neumann, K. H., Kumar, A. and Imani, J. (2009) Plant cell and tissue culture. A tool in biotechnology. Springer, Verlag Berlin Heidelberg.

Pacheco, A. C., Silva Cabral, C. D., Silva Fermino, E. S. D. and Aleman, C. C. (2013) Salicylic acid-induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. Journal of Medicinal Plant Research 7: 3158-3163.

Pandey, M. and Chikara, S. K. (2014) In vitro regeneration and effect of abiotic stress on physiological and biochemical content of *Stevia Rebaudiana* (Bertoni). Journal of Plant Science Research 1: 113.

Rahimi, A. R., Rokhzadi, A., Amini, Sh. and Karami, E. (2013) Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on growth and secondary metabolites in *Cuminum cyminum* L. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 3: 140-149.

Ruiz Ruiz, J. C., Moguel Ordonez, Y. B., Basto, A. M. and Segura Campos, M, R. (2015) Antioxidant capacity of leaf extracts from two *Stevia rebaudiana* Bertoni varieties adapted to cultivation in Mexico. Nutricion Hospitalaria 31: 1163-1170.

Singh, S. D. and Rao, G. P. (2005) Stevia: The herbal sugar of the 21st century. Sugar Technology 7: 17-24.

Szabados, L. and Savoure, A. (2009) Proline: A multifunctional amino acid. Trends in Plant Science 15: 82-97.

Sharma, M., Thakral, N. K. and Thakral, S. (2009) Chemistry and in vivo profile of ent-kaurene glycosides of *Stevia rebaudiana* bertoni. An overview. Natural Product Radiance 8: 181-189.

Saharkhiz, M. J. and Goudarzi, T. (2014) Foliar application of salicylic acid changes essential oil content and chemical compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plant 17: 435-440.

Soufi, S., D'Urso, G., Pizza, C., Rezgui, S., Bettaieb, T. and Montoro, P. (2016) Steviol glycosides targeted analysis in leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) from plants cultivated under chilling stress conditions. Food Chemistry 190: 572-580.

Tadhani, M. B., Patel, V. H. and Subhash, R. (2007) In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. Journal of Food Composition and Analysis 20: 323-329.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

Tanoory, A., Ghasemnezhad, A. and Alizadeh, M. (2015) In vitro estimation of antioxidant compounds of artichoke (*Cynara scolymus* L.) as affected by methyl jasmonate and salicylic acid. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 7: 991-996.

Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D. and Ahuja, P. S. (2011) A review on the improvement of Stevia. *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Canadian Journal Plant Science 91: 1-27.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]

Effect of foliar stimulative salicylic acid and proline on steviol glycosides and phenolic contents of *Stevia rebaudiana* (Bert.)

Mohsen Sanikhani*, Arefeh Rastgoo, Azizollah Kheiry and Mitra Aelaei

Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
(Received: 19/11/2018, Accepted: 08/05/2019)

Abstract

To study the effect of foliar application of proline and salicylic acid on steviol glycosides and phenolic of Stevia, an experiment was conducted based on a completely randomized block design in a factorial arrangement with three replications in the University of Zanjan. Foliar application of proline in three levels (0, 1, 2 mM) as well as salicylic acid (0, 0.3, 0.6 mM) were applied after establishment of transplants in the field three times with 10 days intervals. Results showed that salicylic acid and proline applications significantly influenced steviol glycosides, phenol and flavonoid. The treatment with salicylic acid had positive effects on all steviol glycosides, phenol and flavonoid, but proline only enhanced contents of glycosides stevioside, rebaudioside A, phenol and flavonoid. The highest average steviol glycosides stevioside (60.32 mg/g dw), rebaudioside A (24.14 mg/g dw) and total phenol (19.94 mg/g dw) were recorded in 1 mM proline in combination with 0.6 mM salicylic acid. The highest average flavonoid (10.02 mg/g dw) in 0.6 mM salicylic acid, and lowest average steviol glycosides and phenolic contents were observed in the control. Collectively, the results showed that application of proline and salicylic acid significantly improved production of active substances in *Stevia rebaudiana*.

Key words: Elicitors, Stevioside, Rebaudioside A, Flavonoid, Phenol

Corresponding author, Email: sani@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.36.10.3]