

بررسی تأثیر ورمی کمپوست و تلکیح قارچ بر خصوصیات رشدی و میزان استویوزید گیاه *(Stevia rebaudiana Bertoni)* دارویی شیرین برگ

راضیه زارع حسینی^{۱*}، ابراهیم محمدی گل تپه^۲، سپیده کلاته جاری^۳، محمدرضا دهقانی مشکانی^۴

۱- کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲- استاد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۴- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

* آدرس مکاتبه: تهران، شهرک ژاندارمری، بلوار جانبازان، کمالو، گلدبیس یکم، پلاک ۵

تلفن: ۰۹۱۰۲۱۰۶۲۵۷، ۰۹۱۰۲۱۰۶۰۵۵

پست الکترونیک: rzhosaeni@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۴/۷/۷

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۹

چکیده

مقدمه: با توجه به اهمیت گیاه دارویی شیرین برگ که گلیکوزیدهای آن در سال‌های اخیر به عنوان شیرین‌کننده طبیعی جایگزین ساکارز معرفی شده است، بررسی تأثیر کودهای زیستی بر رشد آن ضروری به نظر می‌رسد.

هدف: بررسی تأثیر ورمی کمپوست و قارچ‌های میکوریزا بر صفات رشدی و میزان ماده شیرین‌کننده استویوزید.

روش بررسی: آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار در ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به اجرا درآمد. در این آزمایش، عامل مقادیر ورمی کمپوست در چهار سطح شامل بستر پایه (خاک مزرعه + ۱۵ درصد وزنی گلدان کود گاوی) به علاوه مقادیر ۱۰، ۰، ۰ درصد و ۲۰ درصد ورمی کمپوست و نیز خاک مزرعه به عنوان شاهد و عامل تلکیح شامل تلکیح قارچ مایکوریزا (*Piriformospora Glomus mosseae* (Gm))، اندوفیت ریشه (*indica*) (Pi) و عدم تلکیح قارچ (شاهد) بود.

نتایج: تیمارهای کودهای زیستی بر میزان ماده شیرین‌کننده استویوزید و همچنین اغلب پارامترهای مورد بررسی در ارتباط با عملکرد کمی تأثیر معنی‌داری داشتند ($P < 0.01$). بیشترین میزان کلروفیل برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در تیمارهای ورمی کمپوست ۲۰ درصد و تلکیح با قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae* (Gm)) به دست آمد. بیشترین میزان گلیکوزید استویوزید در زمان بلوغ رویشی و در زمان گلددهی در بستر کشت شاهد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: کاربرد ورمی کمپوست تأثیر مثبت و معنی‌داری بر میزان کلروفیل و عملکرد پارامترهای رویشی داشت و بیشترین مقدار آنها در تیمار کاربرد نتواء ورمی کمپوست و تلکیح به دست آمد.

گل واژگان: *Stevia rebaudiana*، میزان استویوزید، میکوریزا، ورمی کمپوست



مقدمه

می‌باشد که امروزه استفاده از آن در کشاورزی پایدار، جهت بهبود رشد و کیفیت محصولات زراعی و باگی بسیار متداول می‌باشد [۷، ۸].

کودهای ارگانیک و بویژه کودهای دامی در مقایسه با کودهای شیمیایی شامل مقادیر بالایی از ماده آلی بوده و می‌توانند منبعی از عناصر غذایی بویژه نیتروژن، فسفر و پتاسیم باشند [۹] که بدترین آنها را در اختیار گیاه قرار می‌دهند [۱۰]. ولی نمی‌توانند تمام عناصر مورد نیاز گیاه را تأمین کنند [۱۱]. مصرف کودهای زیستی در یک سیستم مبتنی بر کشت ارگانیک ضمن حفظ محیط زیست موجب افزایش کیفیت و پایداری عملکرد بویژه در تولید گیاهان دارویی می‌شود [۱۲]. در مورد کاربرد کودهای زیستی روی گیاه دارویی استویا اطلاعات بسیار کمی در دست است. با این حال در تحقیق متدل *Rhizophagus fasciculatus*، بیان شد تلکیح گیاهان با مایکوریزای گلیکوزیدهای این گیاه دارویی نسبت به گیاهان غیر مایکوریزایی شده است [۱۳]. همچنین گزارش شده است کاربرد باکتری‌های حل کننده فسفات (PSB) سبب افزایش رشد طول شاخه، طول ریشه، وزن خشک ساقه و برگ و بیومس شاخه و همچنین افزایش میزان گلیکوزیدها نسبت به گیاهان شاهد شده است [۱۴]. با توجه به اهمیت گیاه شیرین برگ و اثرات مطلوب کودهای زیستی در گیاهان، این تحقیق به منظور بررسی اثر ورمی کمپوست بر خصوصیات کمی و میزان شیرین کننده گیاه شیرین برگ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در گلخانه گروه علوم باگبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در استان تهران با ارتفاع از سطح دریا: ۱۲۱۵ متر و میانگین سالیانه بارندگی: ۲۴۲ میلی‌متر انجام شده است. متوسط دمای گلخانه در روز ۳۰ - ۲۵ و دمای شب ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت گلخانه بیشتر از ۴۰ درصد بود. به منظور ارزیابی اثر تلکیح دو قارچ

شیرین برگ (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاهی چندساله از تیره مرکبان است که به طور طبیعی بدون کالری و دارای گلیکوزیدهای استویول (۳۰۰-۴۰۰ بار شیرین‌تر از قند) در برگ‌ها می‌باشد و در دنیا به عنوان شیرین‌کننده طبیعی جایگزین ساکارز شناخته شده است [۱]. گلیکوزیدهای شیرین در برگ‌های گیاه شیرین برگ شامل استویوزید، ریبانوئدیوزید a, c و دالکوزید a می‌باشد [۲]. علاوه بر شیرینی زیاد این ترکیبات، استویوزید دارای خواص مثبت دارویی از جمله درمان یا بهبود دیابت نوع ۲، تصلب شریان و فشار خون بالا می‌باشد [۳]. بنابراین برگ این گیاه دارای اهمیت تجارتی بوده و باستی انجام تحقیقاتی به زراعی در جهت ایجاد روش‌های مؤثر و کارا برای کشت این گیاه در شرایط خاکی مختلف انجام شود [۴]. از جمله این تحقیقات، بررسی تأثیر کودهای زیستی همچون ورمی کمپوست، کود حیوانی و قارچ‌های مایکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی این گیاه می‌باشد. تحقیقات نشان داده کودهای زیستی به طور قابل توجهی عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم را برای گیاه فراهم کرده و از طرف دیگر، گیاه را در برابر تنفس‌های مختلف محیطی محافظت کرده و مقاومت گیاه را نیز در شرایط تنفس افزایش می‌دهد [۵].

قارچ‌های میکوریزای وزیکولار- آربوسکولار (VAM) یکی از انواع کودهای زیستی بوده که دارای رابطه همزیستی با ریشه اکثر گیاهان زراعی می‌باشد. این قارچ‌ها با افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر، نیتروژن و برخی عناصر ریزمندی، افزایش جذب آب و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماریزا، سبب بهبود رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزان در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌شوند [۶]. از دیگر کودهای زیستی، ورمی کمپوست است که از طریق فرآوری ضایعات آلی نظیر کود دامی، بقایای گیاهی و غیره توسط کرم‌های خاکی حاصل می‌شود. این ماده دارای تخلخل زیاد، قدرت جذب و نگهداری بالای عناصر معدنی، تهویه و زهکش مناسب، ظرفیت زیاد نگهداری آب و بدون بوی نامطبوع و عوامل بیماریزا



قارچ *Glomus mosseae*, حدود ۲۰ گرم از خاک محتوی اسپور و ریسه‌های این قارچ و ۲۰ میلی‌لیتر از کشت مایع قارچ *Piriformospora indica* در کنار ریشه گیاهان مورد نظر قرار گرفت به طوری که در تماس با هم قرار گرفتند. در انتهای دوره رشد میزان سبزینگی برگ توسط دستگاه SPAD (Minolta, 502) و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه توسط ترازوی دقیق دیجیتالی اندازه‌گیری شد. گلیکوزید استویوزید در دو نوبت اندازه‌گیری شد. نوبت اول، دو ماه بعد از تلقيح گیاهان با مایکوريزا و در زمان بلوغ رویشي گیاه و نوبت دوم، سه ماه پس از تلقيح در زمان گلدهي بود. نمونه‌های برگ از تمام قسمت‌های گیاه، تهييه و در آون با دماي ۷۰ درجه سانتي گراد و مدت زمان ۴۸ ساعت خشک شد. آناليز و اندازه‌گيری میزان استویوزید با HPLC (Pump Model Sykam, Model S7131) انجام شد که در اين روش كروماتوگرافی از دو ستون C18 به صورت سري و دتكتور UV-vis در طول موج ۲۰۲ استفاده شد [۳]. تجزие و SAS تحليل آماري داده‌ها با استفاده از نرم افوار (Ver 9.1) انجام گرفت. مقاييس ميانگين با استفاده از آزمون چند دامنه‌اي دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افوار Excel استفاده شد.

نتایج میزان سبزینگی (SPAD)

با توجه به نتایج تجزيء واريانس (جدول شماره ۱)، تأثير فاكتور ورمي كمپوست و تلقيح مایکوريزايي در سطح ۱ درصد و نيز اثر متقابل آنها در سطح ۵ درصد بر میزان سبزینگي معني دار گردید. مقاييس ميانگين تأثير تيمارهای ورمي كمپوست (جدول شماره ۲) نشان داد كمترین میزان سبزینگی در تيمار شاهد (C) و SMV0 به دست آمد. با افزایش مصرف ورمي كمپوست، میزان سبزینگی افزایش يافت و بيشترین مقدار آن در تيمار SMV20 مشاهده گردید. تأثير تيمار تلقيح (جدول شماره ۳) نشان مي‌دهد که گیاهان تلقيح شده با مایکوريزا حاوي سبزینگي بيشتری نسبت به شاهد هستند و بيشترین

ميکوريزا و مقادير مختلف ورمي كمپوست، آزمایشي به صورت فاكتوري در قالب طرح بلوک‌های كامل تصادفي در ۱۲ تيمار و ۳ تكرار به اجرا در آمد.

به منظور کشت، بستری با ترکيب خاک مزرعه (تهيه شده از منطقه سبزیکاری چهار باغ کرج) به عنوان بستر شاهد در نظر گرفته شد. ضدغونی خاک با فرماليين ۰/۰۷ در ۴۸ ساعت انجام شد. مخلوط خاک مزرعه و کود گاوی به عنوان بستر پایه در نظر گرفته شد و به ترتيب مقادير ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد وزني گلدانها، ورمي كمپوست به آن اضافه گردید.

به اين ترتيب سطوح فاكتور اول عبارت بودند از:
S: خاک مزرعه

ورمي كمپوست: خاک مزرعه + ۱۵ درصد کود گاوی + ۰ درصد

ورمي كمپوست: خاک مزرعه + ۱۵ درصد کود گاوی + ۱۰ درصد

ورمي كمپوست: خاک مزرعه + ۱۵ درصد کود گاوی + ۲۰ درصد

ورمي كمپوست: سطوح فاكتور دوم عبارت بودند از:

عدم تلقيح: شاهد

Gm: تلقيح قارچ مایکوريز

Pi: تلقيح قارچ اندوفيت ريشه
در آغاز تحقیق نشاهد با طول تقریباً یکسان از شرکت پژوهشی و فناوری صبا سکه اصفهان تهیه شد. در اوخر بهار ۱۳۹۱ با توجه به طرح آزمایش و نقشه کشت، نشاهد با احتیاط از گلدانهای استکانی خارج و در گلدانهای آزمایش کشت شد و به گلخانه تحقیقاتی منتقل شدند. آبیاري گلدانها بالا فاصله پس از کشت انجام و پس از آن با توجه به حجم گلدان و رطوبت بالاي محبيط هر دو روز يكبار انجام شد. بعد از کاشت نشاهد، نياز به زمان بود تا گیاهان استقرار پيدا كرده و آماده تلقيح گردند. قارچ مایکوريز *Glomus mosseae* از کلينيك گیاهشناسي ارگانيک همدان و قارچ شبه مایکوريز اندوفيت ريشه *Piriformospora indica* از آزمایشگاه بيماري شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. يك ماه پس از استقرار نشاهد، جهت تلقيح



نتایج نشان داد که تمامی تیمارها بر وزن تر و خشک ریشه تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) داشتند (جدول شماره ۱). بیشترین و کمترین وزن تر و خشک ریشه به ترتیب مربوط به تیمارهای SMV20 و تیمار C (جدول شماره ۲) بود و در تیمارهای SMV20×Gm و تیمار C (جدول شماره ۳) بود. نتایج قارچ بیشترین میزان متعلق به تلقیح با مایکوریزای *G. mosseae* نسبت به شاهد بود (جدول شماره ۴). همچنین در تیمارهای اثر متقابل، بیشترین وزن تر و خشک ریشه در تیمار SMV20×Gm و کمترین آن در تیمار C به دست آمد (جدول شماره ۵).

محتوای گلیکوزید استویوزید

طبق نتایج مندرج در جدول شماره ۱، تیمارها تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) بر میزان استویوزید داشتند. اثر تیمارهای ورمی کمپوست در زمان بلوغ رویشی و در زمان گلدهی نشان داد که بیشترین و کمترین میزان این گلیکوزید به ترتیب مربوط به تیمار C و SMV20 بود (جدول شماره ۶). همچنین بیشترین میزان این گلیکوزید در تیمار تلقیح قارچ، متعلق به قارچ *P. indica* در زمان بلوغ رویشی و کمترین میزان متعلق به قارچ *G. mosseae* در زمان گلدهی بود (جدول شماره ۷). همچنین در اثر مقابل این دو تیمار هم بیشترین میزان استویوزید در زمان بلوغ رویشی در تیمار C و کمترین آن در زمان گلدهی در تیمار SMV20×Gm به دست آمد (جدول شماره ۸).

میزان سبزینگی در گیاهان تلقیح شده با مایکوریزای *P. indica* به دست آمد. در تیمارهای تأثیر متقابل دو فاکتور هم بیشترین میزان سبزینگی در تیمارهای SMV20×Gm و SMV20×Gm به دست آمد (جدول شماره ۹).

وزن تر و وزن خشک هوایی (گرم)

نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۱) نشان داد که تمامی تیمارها بر وزن تر اندام هوایی تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) داشتند. ولیکن وزن خشک اندام هوایی تنها تحت تأثیر تیمار ورمی کمپوست قرار گرفت ($P \leq 0.01$). نتایج (جدول شماره ۲) نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی در تیمار C کمترین مقدار بود و با افزودن ورمی کمپوست به بستر کشت، وزن تر و خشک اندام هوایی افزایش یافت به طوری که بیشترین مقدار در تیمار SMV20 به دست آمد. نتایج تیمارهای تلقیح (جدول شماره ۳) نشان داد که تلقیح با مایکوریزا، وزن تر هوایی را به طور معنی داری (به ترتیب برای *P. indica* و *G. mosseae* برابر ۹۰/۲ و ۸۹/۵ گرم) نسبت به شاهد (۷۵/۴ گرم) افزایش داد. همچنین اثر م مقابل تیمارها (جدول شماره ۴) نشان داد که بیشترین وزن تر و خشک هوایی در تیمار SMV20×Gm بود و کمترین مقدار آن در تیمار C، C×Pi و C×Gm به دست آمد.

وزن تر و خشک ریشه (گرم)

جدول شماره ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد مطالعه بر روی صفات کمی و کیفی گیاه دارویی شیرین برگ

ردیف	نام تغییرات	درجه آزادی	میزان سبزینگی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	میانگین مریعات	
								استویوزید	ریشه
۱/۱۴**	ورمی کمپوست	۳	۱۸/۱۴**	۹۲۰/۸**	۹۲۰/۸**	۱۰۶/۶ **	۹۲/۳**	۹/۲/۳**	۷/۱۴**
۶/۲۵**	تلقیح	۲	۷/۱۷ **	۸۶۸/۶**	۸۶۸/۶**	۳۱۵/۳۷**	۳۲/۷**	۶/۲۵**	۶/۱۲**
۶/۱۲**	اثر م مقابل ورمی کمپوست و تلقیح	۶	۳/۱۳*	۶۰۹/۶**	۶۰۹/۶**	۲۰۵/۱۵**	۲۰۵/۳۸**	۱/۱۲	۰/۰۰۶
۶/۰	اشتباه	۲۴	۵/۰۹	۱۰۶/۱	۱۰۶/۱	۴۱/۹	۴۱/۹	۱۱/۴۶	۱۱/۴۶
								ضریب تغییرات (CV)	

*، **، ns به ترتیب معنی داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی داری را نشان می دهد.



جدول شماره ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر صفات رویشی مورد مطالعه گیاه شیرین برگ*

تیمار	میزان سبزینگی (SPAD)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک ریشه (گرم)
C (control)	۲۹/۹۳ b	۲۵/۴ d	۶/۴۴ c	۲۲/۳ c	۴/۹۹ c	۴/۹۹ c
SMV0	۳۰/۰۳ b	۸۲/۴ c	۲۲/۳ b	۳۴/۶ b	۹/۲ b	۹/۴ b
SMV10	۳۲ ab	۱۰/۲۵ b	۲۵/۳ b	۳۴/۷۵ b	۹/۴ b	۱۲/۷ a
SMV20	۸۶/۳۲ a	۱۲۹/۳ a	۲۹/۹ a	۵۷/۲۳ a	۱۲/۷ a	

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین اثر تلکیح مایکوریزایی بر صفات رویشی مورد مطالعه گیاه شیرین برگ

تیمار تلکیح	میزان سبزینگی (SPAD)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک	وزن تریشه
Glomus mosseae (Gm)	۳۱/۸۵ b	۹۰/۲ a	۲۲/۲۴ a	۴۳/۱ a	۱۱/۱۳ a	۴۳/۱ a	۱۱/۱۳ a
Piriformospora indica (Pi)	۳۴/۴۴ a	۸۹/۵ a	۲۳/۳۵ a	۳۴/۶۱ b	۸/۵۴ b	۳۴/۶۱ b	۸/۵۴ b
Control (C)	۳۰/۳۲ c	۷۵/۴ b	۱۸/۷۸ a	۳۳/۹۲ b	۸/۰۵ b	۳۳/۹۲ b	۸/۰۵ b

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

جدول شماره ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی کمپوست و تلکیح مایکوریزایی بر صفات رویشی مورد مطالعه گیاه شیرین برگ

کمپوست و تلکیح	میزان سبزینگی (SPAD)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک	وزن تریشه	اثر متقابل ورمی-
C×Gm	۲۹/۸۶ ab	۲۸/۶ g	۶/۴۸ d	۲۹/۳۹ de	۴/۸۸ ef	۲۹/۳۹ de	۶/۳۲ e	
C×Pi	۳۰/۷ ab	۲۱/۹ g	۷/۷۹ d	۲۲/۹ e	۳/۷۸ f	۱۴/۵۴ f	۶/۳۲ e	
C	۲۹/۲۳ b	۲۵/۹۲ g	۵/۶۸ d	۲۰/۷ de	۸/۸۵ cd	۳۰/۷ de	۸/۸۵ cd	
SMV0×Gm	۲۹/۷۵ ab	۱۰۰/۸ cd	۲۷/۹۹ ab	۳۷/۶۶ c	۱۰/۵۴ bc	۲۷/۹۹ ab	۳۷/۶۶ c	
SMV0×Pi	۲۹/۹۹ ab	۷۵/۲ ef	۱۰۰/۸ cd	۱۸/۶۸ d	۸/۳۹ d	۱۸/۶۸ c	۳۵/۵۰ cd	
SMV0	۳۰/۳۴ ab	۷۲/۲ f	۷۲/۰۶ ab	۳۸/۳۹ c	۱۱/۸۷ b	۲۶/۰۶ ab	۳۸/۳۹ c	
SMV10×Gm	۳۳/۹۱ a	۱۰۲/۴ bcd	۱۰۲/۰۶ ab	۲۷/۱۲ ab	۹/۱ cd	۱۱۴/۰۶ bc	۳۳/۶ d	
SMV10×Pi	۳۲/۷۸ ab	۱۱۴/۰۶ bc	۱۱۴/۰۶ bc	۳۲/۲۶ de	۸/۹۵ cd	۹۱/۲ de	۳۲/۲۶ de	
SMV10	۲۹/۷۱۷ ab	۹۱/۲ de	۹۱/۲ de	۲۳ ab	۱۸/۹۱ a	۱۵۴/۵ a	۷۴/۰۱ a	
SMV20×Gm	۳۳/۸۸ a	۱۲۱/۱ b	۱۲۱/۱ b	۲۸/۵۳ ab	۸/۲ d	۱۱۲/۱۷۷ bc	۴۲/۲۸ bc	
SMV20×Pi	۳۲/۶۸ ab	۱۱۲/۱۷۷ bc	۱۱۲/۱۷۷ bc	۲۷/۷۸ ab	۱۱/۱ b	۵۳/۴ b	۵۳/۴ b	
SMV20	۳۲/۰۲ ab							

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.



جدول شماره ۵- مقایسه میانگین اثر ورمی کمپوست، اثر تلقیح مایکوریزایی و اثر متقابل ورمی کمپوست با تلقیح مایکوریزایی بر میزان شیرین کننده استویوزید گیاه شیرین برگ

تیمار	تیمار ورمی کمپوست		
میزان استویوزید در زمان بلوغ گیاه (درصد وزن خشک برگ)	میزان استویوزید گیاه شیرین برگ		
میزان شیرین کننده استویوزید پس از گلدهی (درصد وزن خشک برگ)	میزان شیرین کننده استویوزید گیاه شیرین برگ		
	تیمار تلقیح		
۱۱/۶۸ d	۱۲/۴۸ a	C (control)	
۱۱/۷ d	۱۲/۴۲ b	SMV0	
۱۱/۵۸ d	۱۲/۱۱ c	SMV10	
۱۱/۱۱ e	۱۱/۰۲ e	SMV20	
		عدم تلقیح	
۱۰/۴۳ f	۱۲/۱۸ c	<i>Glomus mosseae</i>	
۱۱/۴۳ e	۱۲/۸۶ a	<i>Piriformospora indica</i>	
۱۲/۷۱ b	۱۱/۴۷ d	control	اثر متقابل کود و تلقیح
۱۰/۷۵ l	۱۲/۵ g	C×Gm	
۱۰/۷۴ l	۱۲/۸۲ f	C×Pi	
۱۳/۵۶ c	۱۵/۱۳ a	C	
۱۰/۸۳ l	۱۲/۲۲ e	SMV0×Gm	
۱۲/۴۴ g	۱۳/۷۹ b	SMV0×Pi	
۱۱/۸۵ i	۱۰/۲۴ n	SMV0	
۱۰/۳۵ n	۱۱/۹۵ i	SMV10×Gm	
۱۱/۰۵ k	۱۳/۲۸ de	SMV10×Pi	
۱۳/۳۶ d	۱۱/۱۲ k	SMV10	
۹/۷۷ o	۱۱/۰۵ k	SMV20×Gm	
۱۱/۴۸ j	۱۱/۵۳ j	SMV20×Pi	
۱۲/۰۸ h	۱۰/۴۸ m	SMV20	

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

جدول شماره ۶- مشخصات شیمیایی و فیزیکی خاک مزرعه (عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری) مورد استفاده در آزمایش

کربن آلی	C.E.C	Mn	Cu	Zn	Fe	pH	EC	K	P	N	مشخصات
%	Cmol/Kg	Ppm	ppm	ppm	ppm	-	ds/m	ppm	ppm	%	
۰/۷۵	۱۳/۴	۴/۸۴	۱/۳	۰/۵۸	۹/۶	۷/۵۵	۱/۴۵	۱۰/۷/۶	۲/۲	۰/۰۷	نمونه خاک

جدول شماره ۷ - تجزیه شیمیایی ورمی کمپوست و کود گاوی پوسیده

K (ppm)	P (ppm)	N%	EC	pH	OC%	مشخصات
۲۶۶۷	۹۶	۰/۷۴	۱۲	۷/۶۷	۷/۴۴	ورمی کمپوست
۱۶۳۰	۸۸	۰/۷۸	۶/۷۵	۷/۹۸	۷/۸۳	کودگاوی پوسیده



بحث

کمپوست توانایی بیشتری در جذب عناصر ضروری کم مصرف و پرمصرف از خود نشان می‌دهند که نتیجه آن افزایش رشد و توسعه ریشه است [۲۴-۲۷]. در این تحقیق افزایش محتوای کلروفیل، وزن تر و خشک هوایی و وزن تر و خشک ریشه در تیمار SMV20 نسبت به تیمار C گویای این مطلب است که افزودن ورمی کمپوست و شاید اثر سینزیستی ورمی کمپوست و کود گاوی سبب افزایش این پارامترها گردیده است. به عبارت دیگر می‌توان گفت که مصرف مقدار مناسب ورمی کمپوست از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک و تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه توسط این موجودات و جذب بیشتر عناصر غذایی سبب افزایش فتوستز و افزایش رشد اندام‌های هوایی و ماده خشک گیاه گردیده است [۲۸، ۲۹]. در تحقیق دیگری که روی گیاه دارویی *Coleus forskohlii* انجام شد، تعامل *Piriformospora indica* با ریشه گیاه منجر به افزایش کلی زیست توده اندام هوایی، محتوای کلروفیل a و b و مجموع آنها در میلی گرم/گرم وزن تر) و کسب فسفر بیشتر، افزایش ارتفاع، تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد برگ و سطح برگ و تولید بیشتر ریشه‌های جانبی (بعد از ۶ ماه) گردید و در نهایت جذب عناصر غذایی ارزشمند را افزایش داده است [۳۰].

با توجه به جدول شماره ۸ ملاحظه می‌گردد که میزان ماده شیرین‌کننده استویوزید در تیمارهای ورمی کمپوست بخصوص در زمان بلوغ رویشی یک روند کاهشی از تیمار C تا تیمار SMV20 طی می‌کند. به عبارتی در تیمار خاک مزرعه بیشترین میزان استویوزید و تیمار ۲۰ درصد ورمی کمپوست کمترین میزان را به خود اختصاص داده است. در تفسیر این نتایج می‌توان گفت که در تیمار C گیاه تا حدی تحت تنش کمبود عناصر غذایی قرار گرفته و از طرفی در فضای کم و محدود گلدان ریشه در جستجوی مواد غذایی بیشتر گسترش یافته (افزایش نسبت وزن تر ریشه) است. در نتیجه‌ی این تنش‌ها، متabolیت‌هایثانویه افزایش یافته و در تیمار SMV20 که مواد غذایی بیشتری در دسترس گیاه بوده میزان تنش کمتر و در نتیجه از میزان این شیرین‌کننده کاسته شده و به کمترین مقدار خود رسیده که البته با افزایش عملکرد برگ در واحد سطح این

به نظر می‌رسد همزیستی قارچ مایکوریزا با ریشه گیاه شیرین برگ از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوستز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود رشد، نظری افزایش وزن تر و خشک هوایی گردیده است. نتایج تحقیقات محققان که روی گیاه دارویی علف لیمو و نعناع (*Mentha arvensis* و *Cymbopogon spp.*) انجام شده است مؤید این مطلب می‌باشد [۱۵، ۱۶]. همچنین آزمایش دیگری نشان داد که تلقیح گیاه شبدر با قارچ‌های میکوریزا موجب افزایش سطح برگ‌ها و در نتیجه افزایش میزان کلروفیل برگ آنها شده و سرعت فتوستز خالص را در کل دوره رشد گیاه افزایش داده است [۱۷]. به هر حال میکوریزا می‌تواند با افزایش غلظت فسفر، سرعت فتوستز خالص را در گیاه میزان افزایش دهد [۱۸]. در آزمایشی دیگر بر روی آناناس (*Ananas comosus*) با کاربرد اسید هیومیک مشتق شده از ورمی کمپوست یک افزایش معنی‌داری در پیگمان‌های فتوستزی برگ‌ها و میزان کلروفیل a و b نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد [۱۹]. تحقیقات نشان داده همزیستی گیاهان با قارچ‌های مایکوریزایی باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه از جمله توسعه بخش‌های رویشی و افزایش وزن تر و خشک بافت‌های گیاهی می‌شود [۲۰]. همچنین تلقیح گیاهان با قارچ‌های AM باعث افزایش عملکرد و رشد گیاه شده است به طوری که بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار همزیست با قارچ *G.mosseae* به دست آمد [۲۱]. همچنین عنوان شده که میکوریز گونه *G. mosseae* با افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم سبب افزایش وزن خشک ریشه و ساقه آکاسیا می‌گردد [۲۲]. به هر حال ورمی کمپوست هم از طریق افزایش قدرت جذب آب و دسترسی مطلوب عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف بر میزان فتوستز و تولید زیست توده گیاه شیرین برگ تأثیر مثبت گذاشته و موجب رشد بوته گردیده است. نتایج دیگر محققان هم که بر روی گونه‌ای گیاه فضای سبز شهری (*Sesbania emerus*) و ارزن مروارید (*Pennisetum glaucum* L.) انجام دادند موید این مسئله است [۲۳]. محققان بیان کردند گیاهان کود داده شده با ورمی



کترول شده است [۳۰].

همچنین تأیید شده، که محتوای کل قندهای میوه‌های گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاه غیر مایکوریزایی پایین‌تر بوده است [۳۳]. محققان دلیل این موضوع را این گونه بیان می‌کنند که ارتباط میکوریزایی، انتقال قندها را به سمت ریشه تحريك می‌کند که مورد نیاز قارچ می‌باشد. بر این اساس کاهش کلی استویول گلیکوزیدها در گیاهان میکوریزایی در این تحقیق در زمان گلدهی احتمالاً به علت گلدهی زودتر و تولید گل‌های بزرگ‌تر بوده که در نتیجه، شیرین‌کننده‌ها از برگ‌ها به سمت گل‌ها که مخزن قویتری هستند رفتند و میزان آن در برگ گیاهان مایکوریزایی کم شده است.

نتیجه‌گیری

این تحقیق، تأثیر مثبت استفاده از ورمی کمپوست و مایکوریزا را روی مولفه‌های رشدی (میزان کلروفیل برگ بیوماس هوایی و وزن تر و خشک ریشه) گیاه شیرین برگ نشان داد. در این میان استفاده از مخلوط کودها (کود گاوی + ورمی کمپوست) دارای بیشترین تأثیر و در مقوله تلقیح هم هر دو قارچ و بخصوص *G. mosseae* *P. indica* تأثیر به سزایی داشتند. (صرف نظر از تنش) تأثیر زیادی روی میزان استویوزید نشان داد. این تیمارها بدون کوچکترین صدمات و مخاطرات محیطی و با حفظ پایداری و سلامت سیستم کشاورزی می‌توانند نیازهای غذایی گیاه را تا حد زیادی بر طرف کنند. بخصوص در مورد گیاهان دارویی باعث تولید ترکیبات فعال سالم تر شده و از لحاظ بازار محصول هم می‌تواند توجیه اقتصادی داشته باشد. پیشنهاد می‌شود با بکارگیری گونه‌های دیگر میکروارگانیسم‌های بهبود دهنده رشد و مقادیر دیگری از ورمی کمپوست، نتایج امیدوار کننده‌تری به دست آید.

مطلوب جبران شده و بهترین عملکرد در این تیمار به دست می‌آید. می‌توان نتیجه گرفت با افزایش سطح مصرف ورمی کمپوست و عناصر در دسترس گیاه، تنش کم و شیره سلولی رقیق‌تر و عناصر در دسترس گیاه به مصارفی غیر از سنتز متابولیت‌ها می‌رسد. بر این اساس ملاحظه می‌کنیم صفات مورفوژیکی مورد نظر (محتوای کلروفیل و وزن تر و خشک هوایی و ریشه) در تیمار C کمترین میزان بوده و در SMV20 به ماکریم مقدار خود رسیده است. به عبارت دیگر روندی معکوس با افزایش میزان استویوزید مشاهده می‌گردد. نتایج تحقیقات مقایسه کودهای مختلف بر عملکرد و درصد اسانس در گیاه دارویی ریحان نشان می‌دهد که بیشترین درصد اسانس متعلق به تیمار شاهد و کمترین متعلق به تیمار ورمی کمپوست بوده که دارای بیشترین عملکرد برگ بوده است [۳۱]. نتایج مشابهی در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) مشاهده شده است که تأییدی بر نتایج به دست آمده می‌باشد [۳۲]. نکته قابل توجه این است که میزان تنش تا حدی می‌تواند متابولیت‌های ثانویه را افزایش دهد، چرا که با بالا رفتن میزان تنش، غلبه بر تنش برای گیاه هزینه بر بوده و این هزینه را باید از طریق کاهش عملکرد جبران نماید. در این تحقیق هم با بالا رفتن میزان شیرین کننده‌ها در تیمار C، بیوماس هوایی گیاه کاهش یافت (جدول شماره ۵). به نظر می‌رسد صرف نظر از تیمار C و تنش موجود، بهترین نتیجه کودی و تعامل کود و مایکوریزا در تیمار SMV0×Pi در زمان بلوغ رویشی حاصل شده است. همچنین محققان بیان کردند *Coleus Forskohlii* با ریشه گیاه دارویی *P. indica* منجر به گلدهی زودتر، تعداد گل بیشتر، گل‌های بزرگ‌تر و قدرتمندتر شده که نتیجه آن توسعه گل آذین، افزایش مواد مؤثره گل آذین و افزایش اسانس کلی گیاه در مقایسه با گیاه

منابع

- Chalapathi MV, Thimmegowda S. Natural non-calorie sweetener Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) a future crop of India. *Crop. Res. Hisar* 1997; 14 (2): 347 - 50.
- Brandle JE, Starratt AN and Gijen M. Stevia rebaudiana: its agricultural, biological and chemical properties. *Can. J. Plant Sci.* 1998; 78: 527 - 536.

3. Geuns JMC. Stevia and steviol glycosides. Heverlee. Euprint. 2010.
4. Das K, Dang R, Shivananda TN, Sekeroglu N. Influence of bio-fertilizers on the biomass yield and nutrient content in *Stevia (Stevia rebaudiana*. Bert) grown in Indian subtropics. *Journal of Medicinal Plants Res.* 2007; 01 (01): 005 - 008.
5. Smith SE and Read DJ. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London, etc. 1997.
6. Sainz MJ, Taboada-Castro MT and Vilarino A. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. *Plant and Soil.* 1998; 205: 85 - 92.
7. Atiyeh RM, Arancon N, Edwards CA and Metzger JD. The influence of earthworm processed pig manure on the growth and productivity of marigolds. *Bioresource Technol.* 2002; 81: 103 - 8.
8. Arancon N, Edwards CA, Bierman P, Welch C and Metzger JD. Influences of Vermicomposts on field strawberries: 1. Effects on growth and yields. *Bioresource Technol.* 2004; 93: 145 - 53.
9. Fernandez R, Scull R, Gonzales JL, Crespo M, Sanchez E and Carball C. Effect of fertilization on yield and quality of Matricaria recutita L. (Chamomile). Aspects of mineral nutrition of the crop. Memorias 11th congress latinoamericano de la Ciencia del Suelo. 2nd Congresso Cubeno de la Ciencia del Suelo, Berlin, Germany. 1993; p, 891-894.
10. Eghball B, Ginting D and Gilley JE. Residual effects of manure and compost applications on corn production and soil properties. *Agronomy Journal.* 2004; 96: 442-7.
11. Mallanagouda B. Effects of N, P, K and fym on growth parameters of onion, garlic and coriander. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science.* 1995; 4: 916-918.
12. Sharma AK. Biofertilizers for sustainable agriculture. *Agrobios*, India. 2002; 407 p.
13. Mandal Sh, Evelin H, Giri B and Singh VP. Arbuscular mycorrhiza enhances the production of stevioside and rebaudioside-A in *Stevia rebaudiana* via nutritional and non-nutritional mechanisms. *Applied Soil Ecol.* 2013; 72: 187 - 94.
14. Mamta, Rahi P, Pathania V, Gulati A, Singh B, Kumar Bhanwra R and Tewari R. Stimulatory effect of phosphate-solubilizing bacteria on plant growth, stevioside and rebaudioside-A contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Applied Soil Ecol.* 2010; 46: 222 - 29.
15. Ratti N, Kumar S, Verma HN and Gautam SP. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. *Microbiol. Res.* 2001; 156: 145 - 49.
16. Gupta ML, Prasad A, Ram M and Kumar S. Effects of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technol.* 2002; 81: 77 - 9.
17. Wright DP, Scholes JD and Read DJ. Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. *Plant Cell and Environment.* 1998; 21: 209.
18. Reid CPP, Kidd FA and Ekwebelam SA. Nitrogen nutrition, photosynthesis and carbon allocation in ectomycorrhizal pine. *Plant Soil.* 1983; 71: 415 - 32.
19. Baldatto LSB, Baldatto MA, Giro VB, Canellas LP, Olivares FL and Bressan-Smith R. Performance of 'Victoria' pineapple in response to humic acid application during acclimatization. *Braz. J. Soil Sci.* 2009; 33 (4): Section 4.
20. Silveira SA, Lorscheiter R, Barrow IBI, Schwarz SF and Souza PWD. *Mentha piperata* as a multiplying host of AM fungi. *Rev. Bras. Pl. Med.* 2006; 8: 91 - 7.
21. Aslani Z, Hassani A, Rasooli Sadaghiyani M, Sefidkon F and Barin M. Effect of two fungi species of arbuscular mycorrhizal (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) on growth, chlorophyll contents and P concentration in Basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress



- conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2011; Vol. 27, No. 3: 471 - 86.
- 22.** Kaushik JC and Mandal BS. The role of mycorrhiza in stree management for seedling growth of *Dalbergia sissoo* and *Acacia nilotica*. *Bull NIE*. 2005; 15: 133 - 37.
- 23.** Hameeda B, Rupela OP, Gopal Reddy and Satyavani K. Application of plant growth-promoting bacteria associated with composts and macrofauna for growth promotion of Pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). *Biology and Fertility of Soils* 2006; 43: 221 - 27.
- 24.** Edwards CA and Burrows I. The potential of earthworm composts as plant growth media. In *Earthworms in Environmental and Waste Management*. Ed. C. A., Neuhauser, SPB Academic Publ. b.v. The Netherlands 1988; 211 - 20.
- 25.** Werner M and Cuevas R. Vermiculture in Cuba. *Biocycle* 1996; 37 (6): 61 - 2.
- 26.** Atiyeh RM, Edwards CA, Subler S and Metzger JD. Pig manure vermicomposts as a component of a horticultural bedding plant medium: effects on physicochemical properties and plant growth. *Bioresource Technol.* (2001b); 78: 11 - 20.
- 27.** Arancon NQ, Edwards CA and Bierman P. Influences of vermicomposts on field strawberries: Part 2. Effects on soil microbiological and chemical properties. *Biore-source Technol.* 2006; 97: 831 - 40.
- 28.** Ravikumar S, Kathiresan K, Thadedus Maria Ignatiammal S, Babu Selvam M and Shanthy S. Nitrogenfixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecol.* 2004; 312: 5 - 17.
- 29.** Sing R, Sharma R.R, Kumar S, Gupta R.K and Patil R.T. Vermicompost substitution influences growth, physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria xananassa* Duch.). *Bioresource Technol.* 2008; 99: 8507 - 511.
- 30.** Aparajita Das, Shwet Kamal, Najam Akhtar Shakil, Irena Sherameti, Ralf Oelmüller, Meenakshi Dua, Narendra Tuteja, Atul Kumar Johri and Ajit Varma. The root endophyte fungus *Piriformospora indica* leads to early flowering, higher biomass and altered secondary metabolites of the medicinal plant, *Coleus forskohlii*. *Plant Signaling & Behavior*. 2012; 7 (1): 1 - 10.
- 31.** Tahami Zarandi M, Rezvani Mogadam P and Jahan M. comparison of effects of organic and chemical fertilizers on Yield and essential oil yield of basil (*Ocimum basilicum* L.) as a medicinal plant. *Journal of Agroecol.* 2010; Vol. 2, No. 1: 63 - 74.
- 32.** Moradi R. Evaluation of biologic and organic fertilizers effects on grain yield, yield components and essence of fennel (*Foeniculum vulgare*). MSc dissertation, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 2009. (in Persian).
- 33.** Goussous SJ and MJ Mohammad. Effect of two arbuscular mycorrhizae and N and P fertilizers on growth and nutrient uptake of onions. *International journal of agriculture & biology. Int. J. Agric. Biol.* 2009; 11: 463 - 67.

