

# تاثیر همزیستی توأم قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری ریزوبیوم بر میزان گلیکوزیدهای استویول در گیاه دارویی استویا

مهستی فرید<sup>a</sup>، حمید مظفری<sup>\*b</sup>، ابراهیم محمدی گل تپه<sup>c</sup>

<sup>a</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>b</sup> استادیار گروه زراعت، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>c</sup> استاد گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۳/۲۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱/۷

## چکیده

**مقدمه:** گیاه استویا به عنوان منبع جدید مواد شیرین کننده عاری از قند ساکارز است و می‌تواند جایگزین مناسبی برای منابع قندی مثل ساکارز باشد. این امر برای حفظ سلامتی افراد و همچنین رفع محدودیت استفاده از قند توسط بیماران دیابتی حائز اهمیت فراوان است.

**مواد و روش‌ها:** در این آزمایش تأثیر میکرو ارگانیسم‌های قارچ میکوریزا در ۳ سطح و باکتری ریزوبیوم در ۵ سطح به صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس بر میزان قندهای استویوزید و ریبائودیوزید A گیاه استویا بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که فاکتورهای قارچ میکوریزا، باکتری ریزوبیوم و اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر روی صفات مورد بررسی داشت. بیشترین درصد قندهای استویوزید و ریبائودیوزید A به ترتیب در ترکیب‌های تیماری b<sub>0</sub>f<sub>25</sub> (بدون استفاده از باکتری و ۲۵ درصد قارچ آربوسکولار) و b<sub>100</sub>f<sub>50</sub> (۱۰۰ سی سی باکتری و ۵۰ درصد قارچ آربوسکولار) حاصل شد.

**نتیجه‌گیری:** همزیستی قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم با گیاه استویا می‌تواند در بهبود عملکرد اقتصادی و تولید قند موثر واقع شود.

**واژه‌های کلیدی:** استویا، استویوزید، باکتری ریزوبیوم، ریبائودیوزید A، قارچ میکوریزا

## مقدمه

گیاه استویا<sup>۱</sup> نخستین بار در دره ریو ماندی<sup>۲</sup> در شمال شرقی کشور پاراگوئه شناخته شد. این گیاه شامل ۲۴۰ گونه گیاهان بومی آمریکای جنوبی، آمریکای مرکزی و مکزیک و گونه‌هایی است که در بخش‌های شمالی مانند دیو مکزیکو، آریزونا و تکزاس یافت شده‌اند (Koyama et al., 2003). برگ‌های استویا به دلیل شیرین بودن نام‌های مختلفی از جمله برگ قندی، برگ عسلی، برگ شیرین، علف شیرین، برگ آبنباتی و برگ شیرین پاراگوئه داشته است و به جهت شیرین بودن برگ‌ها به‌طور وسیعی کاشته می‌شود (Carakostas et al., 2008). استویا گیاهی چندساله از تیره مرکبان است که به‌طور طبیعی بدون کالری و دارای گلیکوزیدهای استویول در برگ‌ها می‌باشد که ۳۰۰ الی ۴۰۰ برابر شیرین‌تر از قند می‌باشد و در دنیا به عنوان شیرین کننده طبیعی جایگزین ساکارز شناخته شده است (Chalapathi et al., 1997).

مهمترین کشورهای تولید کننده استویا: ژاپن، چین، تایوان، کره، برزیل، مالزی و پاراگوئه هستند. مهمترین اهمیت اقتصادی آن به عنوان یک ماده شیرین کننده طبیعی در جایگزینی شیرین کننده های مصنوعی (آسپارتام و سدیم ساخارین) است به طوری که در کشورهای ژاپن، کره و چین، پاراگوئه و بسیاری کشورهای دیگر در محصولات غذایی و در آمریکا و کانادا در تهیه مواد خوراکی رژیمی مجاز است. در حال حاضر در ژاپن مصرف سالیانه قند استویوزید<sup>۳</sup> ۵۰ تن به ارزش ۲۲۰ میلیون دلار کانادا است (Zare Hoseini et al., 2015).

تاکنون ۸ نوع گلیکوزید دترپنوئید<sup>۴</sup> که به گلیکوزیدهای استویول<sup>۵</sup> هم معروف هستند، شناخته شده‌اند که شامل استویوزید، ریباتودیوزید<sup>۶</sup> A تا F و دالکوزید<sup>۷</sup> A می‌باشد و همچنان شناخت ترکیبات جدید ادامه دارد (Venkata Sai et al., 2011). از این میان چهار نوع گلیکوزید استویول اصلی شامل استویوزید، ریباتودیوزید A، ریباتودیوزید C و دالکوزید A در گیاه استویا وجود دارد. از خواص، ریباتودیوزید A می‌توان به خاصیت ضد فشار خون، ضد تومور، ضد اسهال، ادرارآور و دارای قابلیت ایمنی‌سازی اشاره کرد (Robert et al., 2008).

دیابت یا مرض قند یک بیماری بغرنج و دارای انواع مختلفی است که متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها را بر هم زده، در روند آن‌ها اختلال ایجاد می‌کند و نتیجه آن کمبود و یا فقدان ترشح انسولین و یا کاهش حساسیت بافت به انسولین است. امروزه مدیریت دیابت یک مساله جهانی است و هنوز درمان موفقی برای آن پیدا نشده است (Li et al., 2004). به طوری که عوامل کاهش‌دهنده جدید قند خون دارای اثرات جانبی و ناخواسته بوده و بنابراین درمان جایگزین و استفاده از گیاهان بومی مختلف و فرمول‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Satyanarayana et al., 2007). گلیکوزیدهای شیرین موجود در برگ‌های استویا دارای خواص مثبت دارویی از جمله درمان یا بهبود دیابت نوع ۲، تصلب شریان و فشار خون بالا می‌باشد (Geuns, 2010). به همین جهت برگ‌های این گیاه دارای اهمیت اقتصادی بوده و لازم است که مطالعات به‌زراعی بیشتری بر روی آن انجام گیرد.

در سال ۱۹۵۷ نشان داده شد که همزیستی گیاه با قارچ میکوریزا دارای اثر افزایش بر جذب عناصر غذایی و رشد گیاه است (Smith et al., 1997). از آن زمان تاکنون گزارش‌های بسیاری در مورد افزایش رشد گستره وسیعی از وارپته‌ها و گونه‌های مختلف گیاهان مانند گیاهان زراعی (Fagardo et al., 1982) و درختان میوه (Calvet et al., 2001) دارای توان برقراری رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریزا ارائه شده است. مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با تاثیر میکوریزا بر رشد رویشی گیاهان ذکر شده است. یکی از آنها تاثیر میکوریزا بر جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است (Abdelhanej & Abdel- Monsif, 2006).

Gupta و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی تاثیر همزیستی قارچ *Glomus fasciculatum* با سه رقم نناع (*Mentha arvensis*) شامل Kalka, Shivalik و Gomti نتیجه گرفتند که کلنیزاسیون ریشه ارقامی که با قارچ میکوریزا تیمار شده بودند به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده و طول گیاهان بلندتر می‌شود. آزمایش Ratti و همکاران (۲۰۰۱) بر روی علف لیمو (*Cymbopogon martini* var. motia) نیز موید این مطلب است.

<sup>1</sup> *Stevia rebaudiana* Bertoni  
<sup>5</sup> Stevioi Glycosides

<sup>2</sup> Riomondy  
<sup>6</sup> Rebaudiosides

<sup>3</sup> Stevioside  
<sup>7</sup> Dulcoside

<sup>4</sup> Diterpenoid Glycosides

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در استان تهران با متوسط دمای گلخانه ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد در روز، ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و متوسط رطوبت نسبی هوا ۶۰-۵۰ درصد اجراء گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل: باکتری ریزوبیوم (B) در پنج سطح ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ سی سی و فاکتور دوم قارچ میکوریزای آربوسکولار (F) در سه سطح ۰، ۲۵ و ۵۰ درصد بود. تیمارهای آزمایش شامل ۱۵ ترکیب تیماری به شرح زیر بود:

- ۱: باکتری ریزوبیوم ۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۰ درصد (تیمار شاهد:  $b_0f_0$ )
- ۲: باکتری ریزوبیوم ۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۲۵ درصد ( $b_0f_{25}$ )
- ۳: باکتری ریزوبیوم ۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۵۰ درصد ( $b_0f_{50}$ )
- ۴: باکتری ریزوبیوم ۲۵ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۰ درصد ( $b_{25}f_0$ )
- ۵: باکتری ریزوبیوم ۲۵ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۲۵ درصد ( $b_{25}f_{25}$ )
- ۶: باکتری ریزوبیوم ۲۵ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۵۰ درصد ( $b_{25}f_{50}$ )
- ۷: باکتری ریزوبیوم ۵۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۰ درصد ( $b_{50}f_0$ )
- ۸: باکتری ریزوبیوم ۵۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۲۵ درصد ( $b_{50}f_{25}$ )
- ۹: باکتری ریزوبیوم ۵۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۵۰ درصد ( $b_{50}f_{50}$ )
- ۱۰: باکتری ریزوبیوم ۷۵ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۰ درصد ( $b_{75}f_0$ )
- ۱۱: باکتری ریزوبیوم ۷۵ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۲۵ درصد ( $b_{75}f_{25}$ )
- ۱۲: باکتری ریزوبیوم ۷۵ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۵۰ درصد ( $b_{75}f_{50}$ )
- ۱۳: باکتری ریزوبیوم ۱۰۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۰ درصد ( $b_{100}f_0$ )

میکروارگانسیم دیگری که توانایی همزیستی با گیاهان و در نتیجه استفاده در کشاورزی را دارد باکتری با نام عملی ریزوبیا از خانواده باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن است که قادر به همزیستی خوبی با لگومها هستند. از جمله فعالیت‌های مفید این باکتری‌ها می‌توان به تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه به ویژه اکسین‌ها و ترکیبات مشابه آن توسط سویه‌های مختلف ریزوبیومی اشاره داشت (Calderon *et al.*, 2004). ریزوبیوم‌ها از طریق آلوده‌سازی تارهای کشنده یا جراحات اپیدرمی، وارد سیستم ریشه‌ای گیاه شده و سلول‌های کورتکس ریشه را تحریک به تقسیم شدن و ایجاد گره می‌نمایند. در گره‌های ریشه‌ای، ریزوبیوم‌ها نیتروژن اتمسفری ( $N_2$ ) را که برای گیاه قابل استفاده نبوده به فرم قابل استفاده گیاه ( $NH_4^+$ ) تبدیل می‌نمایند که این فرآیند تثبیت زیستی نیتروژن نام دارد (Asadi Rahmani *et al.*, 2007). با توجه به اهمیت گیاه استویا و اثرات مطلوب میکروارگانسیم‌ها در گیاهان، این تحقیق به منظور بررسی تأثیر همزیستی توأم قارچ میکوریزا آربوسکولار و باکتری ریزوبیوم بر خصوصیات میزان گلیکوزیدهای استویول در گیاه دارویی استویا به منظور راه کاری جهت افزایش میزان عملکرد و قند و کاهش استفاده از کودهای شیمیایی به لحاظ مخاطرات زیست محیطی و حفظ سلامت مصرف کنندگان انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### - مواد گیاهی و میکروارگانسیم‌ها

گیاه مورد استفاده در این آزمایش استویا (*Stevia rebaudiana* B. بود. میکروارگانسیم‌ها شامل قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* و باکتری ریزوبیوم بودند. قارچ مذکور از کلینیک گیاه‌شناسی ارگانیک همدان تهیه شد که دارای مشخصات عمومی ۱۲۰ اسپور در هر سانتی‌متر ریشه، ۸۰٪ میزان همزیستی با گیاه و طول ریشه ۶ متر در هر گرم خاک بود. همچنین باکتری ریزوبیوم تحت عنوان کود بیولوژیک ریزوبین سوپر پلاس حاوی باکتری مزوریزوبیوم از شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا تهیه گردید.

### - شرایط رشد گیاهان

مواد جامد و ناخالصی‌های عصاره، مقدار ۳ میلی‌لیتر از عصاره از فیلتر (0.45 $\mu$ m) عبور داده و در ظرف جدید نگهداری گردید. در مرحله بعد و به منظور خالص‌سازی گلیکوزیدهای استویول، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره فیلتر شده از کارتریج C<sub>18</sub>، که قبلاً با متانول و آب بهینه شده بود، عبور داده شد. سپس با استفاده از استونیتریل ۲۰ درصد، مواد زائد و رنگیزه‌ها شسته و سر انجام با استفاده از استونیتریل ۸۰ درصد گلیکوزیدهای استویول از کارتریج جدا و در تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری نگهداری تا کروماتوگرافی شود.

#### - کروماتوگرافی مایع با فشار بالا (HPLC):

برای کروماتوگرافی (HPLC) از دو ستون C<sub>18</sub> بصورت سری و دتکتور UV-Vis در طول موج ۲۰۲ استفاده گردید. مخلوط ۵۰ تا ۸۰ درصد استونیول و آب به عنوان حلال و با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ۲ نوع گلیکوزیدهای استویول (استویوزید و ریودیوزید A) اندازه‌گیری شدند. سطح زیر پیک مربوط به هر گلیکوزید استویول توسط نرم‌افزار Chromstar 7.0 انتگرال‌گیری شده و با استفاده از رابطه غلظت استاندارد (استویوزاید) با سطح زیر پیک کروماتوگرام، غلظت گلیکوزیدهای استویول محاسبه و به صورت درصد وزن خشک برگ گزارش گردیدند.

#### - تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver. 22) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

#### یافته‌ها

نتایج آزمون نرمال بودن خطاهای آزمایشی برای همه صفات مورد بررسی نشان داد که توزیع خطاها از توزیع نرمال تبعیت نموده و فرض‌های لازم برای انجام تجزیه واریانس برقرار است.

#### - محتوای استویوزید

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۱ مشخص شد که فاکتورهای باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و اثر متقابل

۱۴: باکتری ریزوبیوم ۱۰۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۲۵ درصد (b<sub>100f25</sub>)

۱۵: باکتری ریزوبیوم ۱۰۰ سی سی - قارچ میکوریزای آربوسکولار ۵۰ درصد (b<sub>100f50</sub>)

خاک مورد استفاده در گلدان‌ها از منطقه سبزیکاری منطقه چهار باغ کرج تهیه شد و ضد عفونی خاک با فرمالین ۷ درصد به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. خاک ضد عفونی شده با کود دامی کاملاً پوسیده به نسبت ۱۵ درصد وزنی مخلوط گردیده و در گلدان‌های با ظرفیت ۳/۵ لیتر ریخته شد. در نهایت نشاءهای سن ۲۰ روزه و ارتفاع تقریبی ۱۳-۱۵ سانتی‌متر به گلدان‌ها منتقل گردید و ترکیب‌های تیماری مذکور اعمال شد.

#### - اندازه‌گیری صفات

##### - اندازه‌گیری گلیکوزیدهای استویول

جهت اندازه‌گیری میزان گلیکوزیدهای استویول نمونه‌های برگ‌ها از تمام تیمارها و واحدهای آزمایشی تهیه گردید. این کار در دو مرحله انجام گردید، مرحله اول، دوماه بعد از تلقیح گیاهان و در مرحله بلوغ گیاه زمانی که تخمین زده می‌شود بهترین زمان تجمع گلیکوزیدهای استویول در برگ‌های گیاه است (قبل از گلدهی) و مرحله دوم سه ماه بعد از تلقیح گیاهان و بعد از اینکه تقریباً گیاهان به گلدهی رسیدند (۹۰ درصد).

اندازه‌گیری گلیکوزیدهای استویول براساس گزارش Geuns و همکاران (۲۰۱۰)، با کمی تغییر به صورت زیر انجام شد:

##### - استخراج و آماده سازی نمونه:

برگ‌های استویا در دمای ۶۰ درجه و به مدت ۱۵ ساعت در آون و تحت وکیوم خشک و سپس با استفاده از هاون پودر و مقدار ۰/۱ گرم از پودر آن برای استخراج گلیکوزیدها استفاده گردید. مقدار ۳ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه پودر شده اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در ترمو میکسر با دمای ۸۵ درجه قرار داده شد. سپس به مدت ۳ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفوژ و عصاره آن ذخیره گردید. این فرآیند سه بار تکرار و عصاره‌ها ادغام و سپس مجموعه عصاره‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ و عصاره جدید جداسازی شدند. این کار مجدداً تکرار و با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. برای جداسازی

مشابه با محتوای قند استویوزید، فاکتورهای باکتری ریزوبیوم، قارچ میکوریزا و اثر متقابل باکتری ریزوبیوم × قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری ( $P \leq 0/01$ ) بر روی درصد قند ریباؤدیوزید A داشت (جدول ۱). همچنین نتایج مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری اثر متقابل (جدول ۲) نشان داد که بیشترین درصد قند ریباؤدیوزید A در ترکیب تیماری  $b_{100}f_{50}$  حاصل شد. کمترین میزان این قند نیز در ترکیب‌های تیماری  $b_{100}f_0$  و  $b_0f_{50}$  هر دو با میانگین  $0/1$  درصد رخ داد. همچنین اثر ساده قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم به تنهایی بر محتوای ریباؤدیوزید A در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است که بیشترین مقدار در سطح قارچ میکوریزای  $f_{50}$  و باکتری  $b_{75}$  به دست آمده است.

باکتری ریزوبیوم × قارچ میکوریزا تاثیر معنی‌داری ( $P \leq 0/01$ ) بر روی درصد قند استویوزید داشت. نتایج مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری اثر متقابل (جدول ۲) نشان داد که بیشترین درصد قند استویوزید در اثر ترکیب تیماری  $b_0f_{25}$  با میانگین  $8/3$  درصد به دست آمد از طرفی کمترین درصد قند استویوزید در اثر ترکیب تیماری  $b_0f_{50}$  حاصل شد (جدول ۲). همچنین اثر ساده قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم به تنهایی بر محتوای استویوزید در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است که بیشترین مقدار در سطح قارچ میکوریزای  $f_{25}$  و باکتری  $b_0$  به دست آمده است.

– محتوای ریباؤدیوزید A

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر ساده فاکتورهای قارچ میکوریزای آربوسکولار و باکتری ریزوبیوم و اثر توأم آنها بر محتوای قندهای استویوزید و ریباؤدیوزید A در گیاه استویا

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای استویوزید	محتوای ریباؤدیوزید A
تکرار	۲	$0/084^*$	$0/001^{ns}$
قارچ	۲	$6/57^{**}$	$0/03^{**}$
باکتری	۴	$5/96^{**}$	$0/13^{**}$
قارچ × باکتری	۸	$20/24^{**}$	$0/15^{**}$
خطا	۲۸	$0/023$	$0/002$

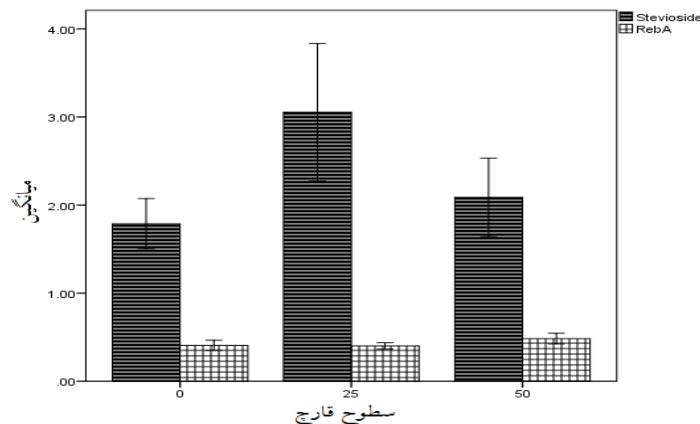
$ns$ ، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد هستند.

جدول ۲- مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری اثر متقابل فاکتورهای سطوح قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر محتوای قندهای استویوزید و ریباؤدیوزید A

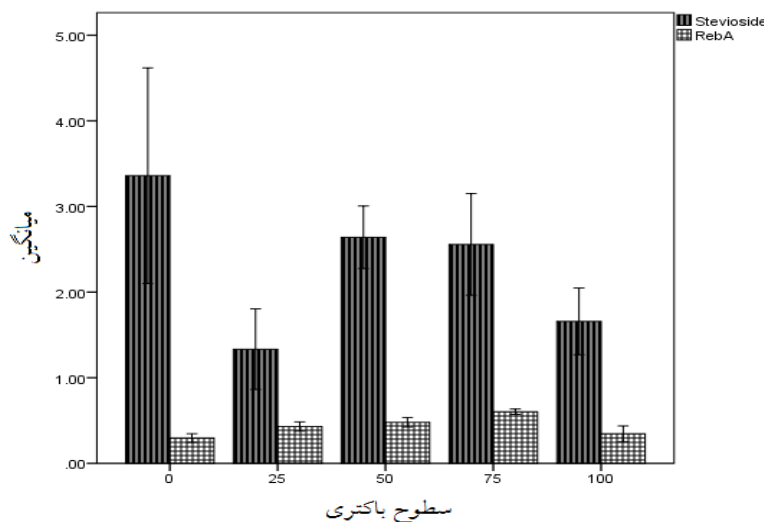
محتوای ریباؤدیوزید A (درصد)	محتوای استویوزید (درصد)	ترکیب تیماری	
		قارچ	باکتری
$0/38^E$	$1/7^H$	۰	
$0/40^E$	$8/3^A$	۲۵	۰
$0/10^G$	$0/1^L$	۵۰	
$0/63^{ABC}$	$3/2^D$	۰	
$0/29^F$	$0/4^{JK}$	۲۵	۲۵
$0/37^E$	$0/4^J$	۵۰	
$0/26^F$	$1/3^I$	۰	
$0/60^{BC}$	$3/8^C$	۲۵	۵۰
$0/58^C$	$2/8^E$	۵۰	
$0/66^{AB}$	$2/6^{EF}$	۰	
$0/48^D$	$0/5^J$	۲۵	۷۵
$0/67^{AB}$	$4/6^B$	۵۰	
$0/10^G$	$0/1^{KL}$	۰	
$0/24^F$	$2/3^G$	۲۵	۱۰۰
$0/70^A$	$2/5^{FG}$	۵۰	

میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

تأثیر همزیستی توأم قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم بر میزان گلیکوزیدهای استویول



شکل ۱- نمایش تأثیر سطوح مختلف قارچ میکوریزا بر درصد قندهای استویوزید و ریباؤدیوزید A



شکل ۲- نمایش تأثیر سطوح مختلف باکتری ریزوبیوم بر درصد قندهای استویوزید و ریباؤدیوزید A

در گیاهان، از روش‌های مختلفی همچون استفاده از منابع کودی، استفاده از مواد آلی و تلقیح گیاهان با باکتری‌های تشدید کننده رشد<sup>۱</sup> (PGPR) می‌توان سود برد. اکثر تحقیقات انجام شده روی باکتری‌های دی ازوتروف آزادی بوده و تعداد کمی نیز روی باکتری‌های همزیست ریزوبیوم، متمرکز بوده است (Robert and Schmidt, 1983). باکتری‌های PGPR با تأثیر بر فیزیولوژی و مورفولوژی ریشه گیاهان تلقیح شده، موجب افزایش جذب عناصر و رشد بیشتر گیاهان می‌شوند (یحیی‌آبادی و اسدی رحمانی، ۱۳۹۳). از طرفی دیگر مشخص شده است که به واسطه همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه گیاه موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی شده و سبب افزایش میزان فتوسنتز و به طبع آن افزایش رشد رویشی و ماده خشک تولید شده می‌گردد (زارع حسینی و همکاران، ۱۳۹۴). به طوری که در

همبستگی بین صفات با توجه به اینکه میزان عملکرد اقتصادی گیاه استویا به درصد قندهای موجود در گیاه و عملکرد بیولوژیکی آن بستگی دارد لذا لازم است ارتباط بین صفات مطالعه شده نیز بررسی گردد به همین منظور ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات محاسبه شد (جدول ۳). نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که بین طول ریشه و درصد قند ریباؤدیوزید A رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). همچنین بین وزن خشک و تر اندام هوایی و وزن خشک و تر ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت.

### بحث

برای جذب عناصر غذایی خاک و افزایش کارایی جذب

<sup>1</sup> Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات مورد مطالعه در گیاه استویا

صفات	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	طول ساقه	طول ریشه	میزان سبزیگی (SPAD)	محتوای استویوزید
محتوای ریبانودپوزید A	۰/۰۹	۰/۴۶	۰/۱۶	۰/۲۹	۰/۱۲	۰/۶۸**	-۰/۱۹	۰/۴۷
محتوای استویوزید	-۰/۰۲	-۰/۱۹	-۰/۱۶	۰/۰۶	-۰/۰۶	۰/۴۴	-۰/۱۲	
میزان سبزیگی (SPAD)	-۰/۱۵	-۰/۲۵	-۰/۴۲	-۰/۱۴	-۰/۱۹	۰/۰۲		
طول ریشه	۰/۱۸	۰/۴۰	-۰/۰۷	۰/۳۱	-۰/۱۸			
طول ساقه	-۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۲۴	-۰/۳۴				
وزن تر ریشه	۰/۷۵**	۰/۳۹	-۰/۰۱					
وزن تر اندام هوایی	۰/۰۳	۰/۶۶**						
وزن خشک اندام هوایی	۰/۴۲							

\*\* معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

ذکر شده از لحاظ میزان قندهای استویوزید و ریبانودپوزید A نیاز است.

### منابع

افشاری، ع، صباغ پور، س. ح، حاج سید هادی، م. و اسدی رحمانی، ه. (۱۳۹۲). تأثیر باکتری‌های ریزوبیوم و محرک رشد گیاه بر عملکرد و اجزاء عملکرد لوبیا چیتی. فن‌آوری تولیدات گیاهی، ۱(۵)، ۷۱-۸۱.

رضوانی، م، اردکانی، م، رجالی، ف، نورمحمدی، ق، زعفریان، ف. و تیموری، س. (۱۳۸۸). تأثیر سویه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزا روی ویژگی‌های ریشه و غلظت فسفر، پتاسیم، روی و آهن یونجه (*Medicago sativa* L.). بوم‌شناسی گیاهان زراعی (دانش نوین کشاورزی)، ۵(۱۵)، ۵۵-۶۶.

زارع حسینی، ر، محمدی گل‌تپه، ا، کلاته‌جاری، س. و دهقانی‌مشکانی، م. (۱۳۹۴). بررسی تأثیر ورمی کمپوست و تلقیح قارچ بر خصوصیات رشدی و میزان استویوزید گیاه دارویی شیرین برگ (*Stevia rebaudiana* Bertoni). فصلنامه گیاهان دارویی، ۴(۵۶)، ۱۷۹-۱۸۸.

صفاپور، م، اردکانی، م، رجالی، ف، خاقانی، ش. و تیموری، م. (۱۳۸۹). تأثیر تلقیح دوگانه مایکوریزا و ریزوبیوم بر عملکرد سه رقم لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.). یافته‌های نوین کشاورزی، ۵(۱۷)، ۲۱-۳۵.

یحیی‌آبادی، م. و اسدی رحمانی، ه. (۱۳۹۳). بررسی پتانسیل تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و جذب برخی عناصر

این مطالعه، تأثیر توأم همزیستی قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم باعث افزایش میزان سبزیگی برگ‌های استویا شد. قبلاً نیز نتایجی در مورد تأثیر مثبت هر کدام از این دو فاکتور بر روی بهبود رشد گیاه گزارش شده است برای مثال کاربرد قارچ میکوریزا در گیاهان دارویی علف لیمو (Ratti et al., 2001)، نناع (Gupta et al., 2002) و مشخصاً در گیاه استویا (زارع حسینی و همکاران، ۱۳۹۴) و کاربرد باکتری ریزوبیوم در لوبیا چیتی (افشاری و همکاران، ۱۳۹۲) و در لوبیا قرمز (صفاپور و همکاران، ۱۳۸۹).

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که محتوای کل قندهای میوه‌های گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاه غیر میکوریزایی پایین‌تر بوده است و علت این امر انتقال قندها به سمت ریشه برای مصرف قارچ می‌باشد (Goussous and Mohammad, 2009). به همین دلیل احتمال می‌رود که در این مطالعه ترکیب تیماری  $b_0f_{25}$  به علت درصد پایین قارچ و عدم وجود باکتری بیشتری میزان قند استویوزید را تولید کرده است ولی با افزایش درصد قارچ به ۵۰ درصد در ترکیب تیماری  $b_0f_{50}$  به عنوان عامل بازدارنده عمل کرده است. این امر در مورد محتوای قند ریبانودپوزید A کاملاً متفاوت است به طوری که بیشترین درصد قند ریبانودپوزید A در ترکیب تیماری  $b_{100}f_{50}$  حاصل شده است و به نظر می‌رسد که به مطالعات بیشتری برای یافتن فیزیولوژی پاسخ گیاه استویا در پاسخ به میکرواورگانسیم‌های

P fertilizers on growth and nutrient uptake of onions. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 463-467.

Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M. & Kumar, S. (2002). 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 Technology*, 81, 77-9.

Koyama, E., Sakai, N., Otori, Y., Kitazawa, K., Izawa, O., Kakegawa, K., Fujino A. & Ui, M. (2003). Absorption and metabolism of glycosidic sweeteners of stevia mixture and their aglycone, steviol, in rats and humans. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 875-883.

Li, W., Johnson, S. A., Shelley, W. C. & Yoder, M. C. (2004). Hematopoietic stem cell repopulating ability can be maintained in vitro by some primary endothelial cells. *Exp Hematol*, 32, 1226-1237.

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H. N. & Gautam, S. P. (2001). Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. *motia* by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiology Research*, 156, 145-49.

Robert, F. M. & Schmidt, E. L. (1983). Population changes and persistence of *Rhizobium Phaseoli* in soil and rhizospheres. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(2), 550-556.

Satyanarayana, A., Thiagarajan, T. M. & Uphoff, N. (2007). Opportunities for water saving with higher yield from the system of rice intensification. *Irrigation Science*, 25, 99-115.

Smith, S. E. & Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*, Academic press, San Diego California, pp: 126-160.

Venkata, S. P., Mani, A. & Indra, P. (2011). Diterpene Glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Molecules*, 16(5), 3552-3562.

Zare Hoseini, R., Mohammadi Goltapeh, E. & Kalatejari, S. (2015). Effect of bio-fertilizer on growth, development and nutrient content (leaf and soil) of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of Crop Protection*, 4 (Supplementary), 691-704.

ریزمغذی توسط سوی ههای مختلف باکتری ریزوبیوم همزیست لوبیا در دو منطقه از استان اصفهان. نشریه زراعت، ۲۷(۱۰۵)، ۷۵-۸۰

Abdel-Hanej, A. A. A. & Abdel-Monsief, R. A. (2006). Effect of VAM inoculation on growth, yield and nutrient content of Cantaloup and Cucumber under different water regimes.

*Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2, 503-508.

Asadi Rahmani, H., Abbaszadeh, P., Saleh-rastin, N., Khavazi, K., Soltani, A. & Saghafi, K. (2007). Production of ACC-deaminase by isolates of fluorescent Pseudomonads. The 10th Iranian Soil Science Congress, Karaj, Iran.

Carakostas, M. C., Curry, L. L., Boileau, A. C. & Brusick, D. J. (2008). The history, technical function and safety of rebaudioside A, a naturally occurring steviol glycoside, for use in food and beverages. *Food and Chemical Toxicology*, 46, S1-S10.

Calderon, F. J., McCarty, G. W., Van Kessel, J. A. S. & Reeves, J. B. (2004). Carbon and Nitrogen Dynamics During Incubation of Manured Soil. *Soil Science Society of America Journal*, 68, 1592-1599.

Calvet, C., Pinochet, J., Hernandez Dorrego, A., Estaun, V. & Camprubi, A. (2001). Field microplot performance of peach- almond hybrid GF- 677 after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. *Mycorrhiza*, 10, 295-300.

Chalpathi, M. V. & Thimmegowda, S. (1997). Natural noncalorie sweetener *Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)* a future crop of India. *Crop Research Hisar*, 14 (2), 347-350.

Fagardo, B. E., Barea, J. M. & Ocampo, J. A. (1982). The effect of season on VA mycorrhiza of the almond tree and of phosphate fertilization and species of endophyte on its mycorrhizal dependency. *Plant Soil*, 68(3), 361-367.

Genus, J. M. C. (2010). *Stevia* and steviol glycosides. Heverlee. Euprint.

Goussous, S. J. & Mohammad, M. J. (2009). Effect of two arbuscular mycorrhizae and N and