

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

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

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

۲- استاد، گروه بیماری شناسی 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 جهاددانشگاهی، کرج، ایران

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

تلفن: ۰۹۱۰۲۱۰۶۲۵۷، ۴۴۲۵۲۰۵۵ (۰۲۱)

پست الکترونیک: rzhosaeeni@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 شیرین کننده طبیعی جایگزین ساکارز معرفی شده است، بررسی تأثیر کودهای زیستی بر رشد آن ضروری به نظر می رسد.

هدف: بررسی تأثیر ورمی کمپوست و قارچ های میکوریزا بر صفات رشدی و میزان ماده شیرین کننده استویوزید.

روش بررسی: آزمایش ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های 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 ۰، ۱۰ درصد و ۲۰ درصد ورمی کمپوست و نیز خاک مزرعه به عنوان شاهد و عامل تلقیح شامل تلقیح قارچ مایکوریزای *Glomus mosseae* (Gm) اندوفیت ریشه *Piriformospora indica* (Pi) و عدم تلقیح قارچ (شاهد) بود.

نتایج: تیمارهای کودهای زیستی بر میزان ماده شیرین کننده استویوزید و همچنین اغلب پارامترهای مورد بررسی در ارتباط با عملکرد کمی تأثیر معنی داری داشتند ($P \leq 0/01$). بیشترین میزان کلروفیل برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در تیمارهای ورمی کمپوست ۲۰ درصد و تلقیح با قارچ مایکوریزای *Glomus mosseae* به دست آمد. بیشترین میزان گلیکوزید استویوزید در زمان بلوغ رویشی و در زمان گلدهی در بستر کشت شاهد مشاهده شد.

نتیجه گیری: کاربرد ورمی کمپوست تأثیر مثبت و معنی داری بر میزان کلروفیل و عملکرد پارامترهای رویشی داشت و بیشترین مقدار آنها در تیمار کاربرد ورمی کمپوست و تلقیح به دست آمد.

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



مقدمه

شیرین برگ (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاهی چندساله از تیره مرکبان است که به طور طبیعی بدون کالری و دارای گلیکوزیدهای استویول (۳۰۰-۴۰۰ بار شیرین تر 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، ریباثودیوزید 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 تجاری بوده و بایستی انجام تحقیقاتی به زراعی در جهت ایجاد روش‌هایی 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 میکوریزا 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 تنش‌های مختلف محیطی محافظت کرده و مقاومت گیاه را نیز در شرایط تنش 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 ریزمغذی، افزایش جذب آب و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماریزا، سبب بهبود رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزبان 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

می‌باشد که امروزه استفاده از آن در کشاورزی پایدار، جهت بهبود رشد و کیفیت محصولات زراعی و باغی 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 بتدریج 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 مندل (۲۰۱۳)، بیان شد تلقیح گیاهان با میکوریزای *Rhizophagus fasciculatus* سبب بهبود بیوماس شاخه‌ها و افزایش غلظت گلیکوزیدهای این گیاه دارویی نسبت به گیاهان غیر میکوریزایی شده است [۱۳]. همچنین گزارش شده است کاربرد باکتری‌های حل‌کننده 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 شیرین‌کننده گیاه شیرین برگ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ در گلخانه گروه علوم باغبانی 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 تلقیح دو قارچ



قارچ *Glomus mosseae* حدود ۲۰ گرم از خاک محتوی اسپور و ریشه‌های 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 سبزیگی 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 تلقیح گیاهان با میکوریزا و در زمان بلوغ رویشی گیاه و نوبت دوم، سه ماه پس از تلقیح در زمان گلدهی بود. نمونه‌های برگ از تمام قسمت‌های گیاه، تهیه و در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۴۸ ساعت خشک شد. آنالیز و اندازه‌گیری میزان استویوزید با HPLC (Sykam, Pump Model S7131) انجام شد که در این روش کروماتوگرافی از دو ستون C18 به صورت سری و دتکتور UV-vis در طول موج ۲۰۲ استفاده شد [۳]. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (Ver 9.1) انجام گرفت. مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج

میزان سبزیگی (SPAD)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۱)، تأثیر فاکتور ورمی کمپوست و تلقیح میکوریزایی در سطح ۱ درصد و نیز اثر متقابل آنها در سطح ۵ درصد بر میزان سبزیگی معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای ورمی کمپوست (جدول شماره ۲) نشان داد کمترین میزان سبزیگی در تیمار شاهد (C) و SMV0 به دست آمد. با افزایش مصرف ورمی کمپوست، میزان سبزیگی افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار SMV20 مشاهده گردید. تأثیر تیمار تلقیح (جدول شماره ۳) نشان می‌دهد که گیاهان تلقیح شده با میکوریزا حاوی سبزیگی بیشتری نسبت به شاهد هستند و بیشترین

میکوریزا و مقادیر مختلف ورمی کمپوست، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۱۲ تیمار و ۳ تکرار به اجرا در آمد.

به منظور کشت، بستری با ترکیب خاک مزرعه (تهیه شده از منطقه سبزیکاری چهار باغ کرج) به عنوان بستر شاهد در نظر گرفته شد. ضدعفونی خاک با فرمالین ۰/۰۷ در ۴۸ ساعت انجام شد. مخلوط خاک مزرعه و کود گاوی به عنوان بستر پایه در نظر گرفته شد و به ترتیب مقادیر ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد وزنی گلدان‌ها، ورمی کمپوست به آن اضافه گردید.

به این ترتیب سطوح فاکتور اول عبارت بودند از:

S: خاک مزرعه

SMV0: خاک مزرعه +۱۵ درصد کود گاوی + ۰ درصد ورمی کمپوست

SMV10: خاک مزرعه +۱۵ درصد کود گاوی +۱۰ درصد ورمی کمپوست

SMV20: خاک مزرعه +۱۵ درصد کود گاوی +۲۰ درصد ورمی کمپوست

سطوح فاکتور دوم عبارت بودند از:

عدم تلقیح: شاهد

Gm: تلقیح قارچ میکوریز *Glomus mosseae*

Pi: تلقیح قارچ اندوفیت ریشه *Piriformospora indica*

در آغاز تحقیق نشاهای با طول تقریباً یکسان از شرکت پژوهشی و فناوری صبا سکه اصفهان تهیه شد. در اواخر بهار ۱۳۹۱ با توجه به طرح آزمایش و نقشه کشت، نشاها با احتیاط از گلدان‌های استکانی خارج و در گلدان‌های آزمایش کشت شد و به گلخانه تحقیقاتی منتقل شدند. آبیاری گلدان‌ها بلافاصله پس از کشت انجام و پس از آن با توجه به حجم گلدان و رطوبت بالای محیط هر دو روز یکبار انجام شد. بعد از کاشت نشاها، نیاز به زمان بود تا گیاهان استقرار پیدا کرده و آماده تلقیح گردند. قارچ میکوریز *Glomus mosseae* از کلینیک گیاه‌شناسی ارگانیک همدان و قارچ شبه میکوریز اندوفیت ریشه *Piriformospora indica* از آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. یک ماه پس از استقرار نشاها، جهت تلقیح



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 تلقیح قارچ بیشترین میزان متعلق به تلقیح با میکوریزای *G. mosseae* نسبت به شاهد بود (جدول شماره ۳). 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 ۴).

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 ۵). 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 ۵). همچنین در اثر متقابل 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 ۵).

میزان سبزینگی در گیاهان تلقیح شده با میکوریزای *P. indica* به دست آمد. در تیمارهای تأثیر متقابل دو فاکتور هم بیشترین میزان سبزینگی در تیمارهای SMV20×Gm و SMV10×Gm به دست آمد (جدول شماره ۴).

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 میکوریزا، وزن تر هوایی را به طور معنی داری (به ترتیب برای *G. mosseae* و *P. indica* برابر ۹۰/۲ و ۸۹/۵ گرم) نسبت به شاهد (۷۵/۴ گرم) افزایش داد. همچنین اثر متقابل 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×Pi، C×Gm و C 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

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		میزان سبزینگی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
ورمی کمپوست	۳	۱۸/۱۴**	۱۷۴۵۹/۷**	۹۲۰/۸**	۱۰۶/۶**	۹۲/۳**
تلقیح	۲	۷/۱۷**	۸۶۸/۶**	۵۲/۰۱ ns	۳۱۵/۳۷**	۳۲/۷**
اثر متقابل ورمی کمپوست و تلقیح	۶	۳/۱۳*	۶۰۹/۶**	۲۲/۹ ns	۲۰۵/۱۵**	۲۵/۳۸**
اشتباه	۲۴	۵/۰۹	۱۰۶/۱	۱۸/۹	۴۱/۹	۱/۱۲
ضریب تغییرات (CV)		۷/۲۳	۱۲/۱	۲۰/۶	۱۷/۳	۱۱/۴۶

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*

وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	میزان سبزیگی (SPAD)	تیمار
۴/۹۹ c	۲۲/۳ c	۶/۴۴ c	۲۵/۴ d	۲۹/۹۳ b	C (control)
۹/۲ b	۳۴/۶ b	۲۲/۳ b	۸۲/۴ c	۳۰/۰۳ b	SMV0
۹/۹ b	۳۴/۷۵ b	۲۵/۳ b	۱۰۲/۵ b	۳۲ ab	SMV10
۱۲/۷ a	۵۷/۲۳ a	۲۹/۹ a	۱۲۹/۳ a	۸۶/۳۲ a	SMV20

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

جدول شماره ۳- مقایسه میانگین اثر تلقیح میکوریزایی بر صفات رویشی مورد مطالعه گیاه شیرین برگ

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

* 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 تلقیح میکوریزایی بر صفات رویشی مورد مطالعه گیاه شیرین برگ

وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	میزان سبزیگی (SPAD)	اثر متقابل ورمی- کمپوست و تلقیح
۴/۸۸ ef	۲۹/۳۹ de	۶/۴۸ d	۲۸/۶ g	۲۹/۸۶ ab	C×Gm
۶/۳۲ e	۲۲/۹ e	۷/۷۹ d	۲۱/۹ g	۳۰/۷ ab	C×Pi
۳/۷۸ f	۱۴/۵۴ f	۵/۶۸ d	۲۵/۹۲ g	۲۹/۲۳ b	C
۸/۸۵ cd	۳۰/۷ de	۲۰/۲۴ c	۷۵/۲ ef	۲۹/۷۵ ab	SMV0×Gm
۱۰/۵۴ bc	۳۷/۶۶ c	۲۷/۹۹ ab	۱۰۰/۸ cd	۲۹/۹۹ ab	SMV0×Pi
۸/۳۹ d	۳۵/۵۰ cd	۱۸/۶۸ c	۷۲/۲ f	۳۰/۳۴ ab	SMV0
۱۱/۸۷ b	۳۸/۳۹ c	۲۶/۰۶ ab	۱۰۲/۴ bcd	۳۳/۹۱ a	SMV10×Gm
۹/۱ cd	۳۳/۶ d	۲۷/۱۲ ab	۱۱۴/۰۶ bc	۳۲/۳۸ ab	SMV10×Pi
۸/۹۵ cd	۳۲/۲۶ de	۲۳ ab	۹۱/۲ de	۲۹/۷۱۷ ab	SMV10
۱۸/۹۱ a	۷۴/۰۱ a	۳۳/۵۲ a	۱۵۴/۵ a	۳۳/۸۸ a	SMV20×Gm
۸/۲ d	۴۴/۲۸ bc	۲۸/۵۳ ab	۱۲۱/۱ b	۳۲/۶۸ ab	SMV20×Pi
۱۱/۱ b	۵۳/۴ b	۲۷/۷۸ ab	۱۱۲/۱۷۷ bc	۳۲/۰۲ ab	SMV20

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

* 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

مشخصات	N %	P ppm	K ppm	EC ds/m	pH	Fe ppm	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	C.E.C Cmol/Kg	کربن آلی %
نمونه خاک	۰/۰۷	۲/۲	۱۰۷/۶	۱/۴۵	۷/۵۵	۹/۶	۰/۵۸	۱/۳	۴/۸۴	۱۳/۴	۰/۷۵

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

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



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 [۲۷-۲۴]. 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 سینرژیستی 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 فتوسنتز 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، متابولیت‌های ثانویه 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 میکوریزا با ریشه گیاه شیرین برگ از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود رشد، نظیر 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 فتوسنتز خالص را در کل دوره رشد گیاه افزایش داده است [۱۷]. به هر حال میکوریزا می‌تواند با افزایش غلظت فسفر، سرعت فتوسنتز خالص را در گیاه میزبان 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 فتوسنتزی برگ‌ها و میزان کلروفیل a و b نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد [۱۹]. تحقیقات نشان داده همزیستی گیاهان با قارچ‌های میکوریزایی 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 فتوسنتز 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 مؤید این مسئله است [۲۳]. محققان بیان کردند گیاهان کود داده شده با ورمی



کنترل شده است [۳۰].

همچنین تأیید شده، که محتوای کل قندهای میوه‌های گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاه غیر میکوریزایی پایین‌تر بوده است [۳۳]. محققان دلیل این موضوع را این گونه بیان می‌کنند که ارتباط میکوریزایی، انتقال قندها را به سمت ریشه تحریک 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 رفته و میزان آن در برگ گیاهان میکوریزایی کم شده است.

نتیجه‌گیری

این تحقیق، تأثیر مثبت استفاده از ورمی کمپوست و میکوریزا 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* تأثیر به‌سزایی داشتند. کود گاوی در بین کودها و در برهمکنش با قارچ *P. indica* (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 می‌تواند نیازهای غذایی گیاه را تا حد زیادی بر طرف کند. بخصوص در مورد گیاهان دارویی باعث تولید ترکیبات فعال سالم‌تر 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 امیدوارکننده‌تری به دست آید.

مطلب 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 مورفولوژیکی مورد نظر (محتوای کلروفیل و وزن تر و خشک هوایی و ریشه) در تیمار C کمترین میزان بوده و در SMV20 به ماکزیم 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 شیرین‌کننده‌ها 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 میکوریزا در تیمار SMV0×Pi در زمان بلوغ رویشی حاصل شده است. همچنین محققان بیان کردند تعامل *P. indica* با ریشه گیاه دارویی *Coleus Forskohlii* 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 reculita L.* (Chamomile). Aspects of mineral nutrition of the crop. *Memorias 11th congress latinoamericano de la Ciencia del Suelo. 2^{ed} Congreso 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 Shanthi 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 xananssa* 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.

