بررسی اثر عناصر ریز مغذی (آهن، روی، منگنز) بر صفات کمی و کیفی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*)

The effect of micronutrients (Fe, Zn and Mn) on the quantity and quality of the Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*)

عارف رضایی[۱]، محمد نصری[۲*]، فرشاد قوشچی[۱]

۱- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات فنآوری‌های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسوول مکاتبات: dr.nasri@ iauvaramin.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۲۰

چکیده

به‌منظور بررسی اثر عناصر ریزمغذی (آهن، روی و منگنز) بر صفات کمی و کیفی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) آزمایشی در گلخانه آموزشی– پژوهشی دانشکده کشاورزی واحد ورامین در سال ۱۳۹۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش اثر محلول‌پاشی تیمارهای مختلف کودی آهن و روی و منگنز بر گیاه و میزان قند استویا بررسی گردید. تیمارهای آزمایش شامل سطوح ذیل بود: ۱- شاهد (بدون محلول‌پاشی). ۲- محلول‌پاشی آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب). ۳- محلول‌پاشی (شش درصد آهن قابل حل در آب). ۴- محلول‌پاشی آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی کود روی. ۵- محلول‌پاشی آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی کود روی. ۶- محلول‌پاشی آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی کود منگنز. ۷- محلول‌پاشی آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی کود منگنز. ۸- محلول‌پاشی آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی کود روی + محلول‌پاشی کود منگنز. ۹- محلول‌پاشی آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی کود روی + محلول‌پاشی کود منگنز بودند. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کودهای مختلف بر طول ساقه، وزن خشک ریشه، میزان استویوزید، میزان گلیکوزید، محتوای آهن، روی و منگنز گیاه تأثیر معنی‌داری داشت. بیش‌ترین میزان گلیکوزید در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی+ منگنز و کم‌ترین آن در تیمار شاهد به‌ترتیب با میانگین ۷/۵۵ و ۳/۹۴ درصد ماده خشک برگ حاصل شد. بیش‌ترین طول ساقه در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز و کم‌ترین آن در تیمار شاهد به‌ترتیب با میانگین ۸۱ و ۵۸ سانتی‌متر حاصل شد. کم‌ترین میزان استویوزید نیز با میانگین ۲/۲۵ درصد ماده خشک برگ در تیمار شاهد به‌دست آمد و تیمار ترکیبی آهن + روی + منگنز نسبت به سایر تیمارها سهم بیش‌تری در افزایش استویوزید در گیاه استویا داشتند. همچنین در بین تیمارهای دو قسمتی بیش‌ترین محتوای آهن گیاه در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + منگنز با ۱۷۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم حاصل شد. کم‌ترین محتوای آهن گیاه نیز در تیمار شاهد با ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد. بنابراین می‌توان تیمار آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی روی + محلول‌پاشی منگنز را به‌دلیل فرم نانوبودن و جذب بهتر آن توسط گیاه و بالاترین میزان عملکرد در اکثریت صفات اندازه‌گیری شده، به‌عنوان بهترین تیمار پیشنهاد کرد.

واژگان کلیدی: استویا، محلول‌پاشی، آهن، روی، منگنز، صفات کمی و کیفی.

مقدمه

طبق برآوردی که توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) صورت گرفت، بیش از ۸۰ درصد مردم جهان (نزدیک به پنج میلیارد نفر)، برای درمان بیماری‌ها از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند. تقریباً یک چهارم داروهای تهیه شده‌ی دنیا دارای منشأ گیاهی هستند که یا مستقیماً از گیاهان عصاره‌گیری شدند و یا براساس ترکیب گیاهی، به‌طور مصنوعی ساخته شدند (امیدبیگی، ۱۳۷۹). گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طورکلی فرآورده‌های طبیعی، به‌ویژه در طی سال‌های اخیر روبه افزایش است. استفاده از داروهای گیاهی علاوه بر هزینه‌های کم‌تر به‌دلیل توأم بودن ماهیت طبیعی و وجود ترکیبات همولوگ دارویی در آن، با بدن سازگاری بهتری دارد (Sharifi and Pouresmael, 2006).

امروزه کارخانه‌های تولید کننده فرآورده‌های غذایی به دو نکته، بسیار توجه نمودند به‌طوری‌که شعار اصلی آن‌ها این چنین است: محصول طبیعی و محصول کم کالری. گیاه استویا خوشبختانه هر دو مشخصه را داراست. شکر اساساً یک ترکیب شیمیایی است که برای سال‌های بسیار متمادی در سوپر مارکت‌ها استفاه شده، اما امروزه با تغییر سبک زندگی و هوشیاری افراد نسبت به سلامتی خود نسبت به گذشته، مصرف جهانی شکر در حال کاهش است و شکر توسط شیرین‌کننده‌های با کالری پایین در حال جایگزینی است. استویا بیش‌ترین پذیرش را در میان کشورهای خاورمیانه داراست. روزانه در حدود ۱۵۰ میلیون نفر، در سراسر گیتی از استویا استفاده می‌کنند و رقابت فشرده‌ای میان شرکت‌های خارجی در جهت استفاده و تولید محصولات مشتق شده از استویا ایجاد شده‌است. به این ترتیب گیاه مذکور در بسیاری از کشورها به محصولی با پتانسیل بالای اقتصادی در کسب درآمد و ایجاد اشتغال در زمینه کشاورزی مبدل گردید (Ren and Shi., 2012). استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) گیاهی از تیره مرکبان (*Asteraceae*) و بومی جنگل‌های پاراگوئه، مکزیک و برزیل است (Gregersen *et al*., 2004). استویا متحمل به خشکی نیست و نیاز به آب کافی در طول سال دارد. همچنین در طول رشد به سرما حساس است. در کشت این گیاه نیز بایستی به این نکته توجه نمود که این گیاه به آب بسیار زیاد نیاز دارد به‌صورتی‌که خاک آن همیشه مرطوب باشد. مناسب ترین خاک برای کشت استویا خاک قرمز و خاک شنی لومی (خاک واجد شن، رس و مواد پوسیده گیاهی) با pH=6-7 است (Madan *et al*., 2010). همچنین غالبیت انتهایی شدیدی دارد و می‌تواند بلند و دراز و باریک شود. سیستم ریشه‌ای گیاه گسترده است و ساقه‌ها ترد و شکننده هستند (Entrepreneur, 2004). ترکیب وزن خشک استویا بدین صورت گزارش گردید: پروتئین حدود ۶/۲ درصد، لیپید حدود ۵/۶ درصد، کربوهیدرات‌های کلی حدود ۵۲/۸ درصد، استویوزید حدود ۱۵ درصد و نیز حاوی حدود ۴۲ درصد مواد محلول در آب است. اجزای و ترکیبات غیرشیرین به شرح زیر بود: لابدان دی ترپن، تری ترپن‌ها، استرول‌ها، فلاونوئیدها، ترکیبات روغنی فرار، پیگمان‌ها، و مواد غیر آلی (Geuns and Struyf., 2010). عوامل گلیکوزیدی که دارای ساختار دی‌ترپن باشند و در ایجاد طعم شیرین استویا موثر هستند عبارتند از: Steviosie، Rebaudioside و Dulcidoside در این میان استویوزید از بقیه گلیکوزیدها شیرین‌تر است (تخت‌چین، ۱۳۹۰).

از شانزده عنصر غذایی مورد نیاز گیاهان، هفت عنصر آهن، روی، منگنز، بور، مس، مولیبدن وکلر به مقدار بسیار ناچیزی مورد نیاز گیاهان هستند و بنابراین دلیل عناصر کم‌مصرف یا ریزمغذی نام دارند. این عناصر پس از متعادل‌سازی مصرف کودهای نیتروژنه، فسفاته و پتاسیمی نقش خود را در افزایش تولید نشان می‌دهند. در ایران کمبود عناصر کم‌مصرف به‌ویژه روی، منگنز و بر در مزارع و باغ‌ها به‌دلیل کاهش درصد مواد آلی خاک‌ها، وجود یون‌های کربنات و بی‌کربنات در آب‌های آبیاری و مصرف زیاد فسفر عمومیت دارد (Ravi *et al*., 2008).

آهن یکی از عناصر ضروری برای رشد همه ی گیاهان است و در صورت کمبود آن کلروفیل به‌مقدار

کافی در سلول‌های برگ ایجاد نمی‌شود و برگ گیاه رنگ پریده به‌نظر می‌رسد. البته به‌جز رگبرگ‌ها، کل سطح برگ زرد رنگ می‌شود و ابتدا این علائم در برگ‌های جوان و قسمت بالای ساقه مشاهده می‌شود و به تدریج کل گیاه را در بر می‌گیرد. از آنجا که آهن غیرمتحرک است، این علائم ابتدا در برگ‌های جوان و در قسمت بالای ساقه مشاهده می‌شود و سپس با شدت یافتن کمبود، تمامی برگ را در بر می‌گیرد. در غلات برگ‌های دچار کمبود آهن، راه راه به‌نظر می‌رسند. در درختان میوه، زردی برگ در حالی‌که رگبرگ‌ها کم و بیش سبز ماندند، پدیده رایجی می‌باشد. با شدت کمبود حاشیه برگ‌ها به سفیدی گرائیده و سپس علائم سوختگی (نکروز) مشاهده می‌شود (Singh, 2001).

عنصر روی یکی از عناصر مهم و ضروری در فرآیند رشد و نمو در گیاهان و جانوران است، چرا که این عنصر در بسیاری از واکنش‌های آنزیمی، فرآیندهای متابولیکی و همچنین واکنش‌های اکسایش-کاهش نقش اساسی ایفا می‌کند؛ علاوه براین، عنصر روی (Zn) در ساختار بسیاری از آنزیم‌های دخیل در فرآیندهای سوخت و ساز نیتروژن، انتقال انرژی و ساخت پروتئین نقش اساسی دارد. کمبود روی در گیاهان فرآیندهای رشد و نمو را تحت تاثیر قرار داده و به تعویق می‌اندازد و باعث کاهش شدید محصول می‌گردد؛ کمبود این عنصر در انسان، اثرات خود را در فرآیندهای رشدی به‌وضوح نشان خواهد داد. براساس گزارش‌های موجود، بیش از سه میلیارد نفر در سراسر جهان از کمبود آهن (Fe) و روی (Zn) رنج می‌برند و این وضعیت خصوصا در مناطقی به‌چشم می‌آید که مردم عمدتا از برنامه‌های غذایی کاملا یک نواخت بر پایه غلات بدون سبوس استفاده می‌کنند؛ عمده عنصر آهن و روی در سبوس غلات ذخیره می‌شود که این جز با ارزش عمدتا طی فرآیند آسیاب کردن از غلات جدا می‌شود (Hafeez *et al*., 2013). منگنز همانند آهن عنصری غیرمتحرک در گیاه است و علائم کمبود آن ابتدا در برگ‌های جوان ظاهر می‌شود. مهم‌ترین نشانه کمبود منگنز، کلروز بین برگ‌ها هست که معمولاً تمام قسمت‌های بالای گیاه را فرا می‌گیرد، رشد نیز کاهش می‌یابد (Marschner, 1995).

با بررسی اثر عناصر ریز مغذی و تراکم بوته بر درصد اسانس و عملکرد اسانس و عملکرد اسانس بر گیاه گیاه نعناع مشخص گردید که محلول‌پاشی با عناصر ریز مغذی اظهار داشت، انجام محلول‌پاشی در چین دوم بیش‌ترین عملکرد اسانس را تولید نمود (Ebhin *et al*., 2006). آزمایشات نشان داد که گیاه با آن‌که به‌مقدار کمی از عناصر کم مصرف احتیاج دارد، ولی کمبود آن‌ها عملکرد را محدود می‌کند (Motta *et al*., 2010).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر محلول‌پاشی تیمارهای مختلف کود آهن و روی و منگنز بر میزان عملکرد قند استویا بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه آموزشی – پژوهشی دانشکده کشاورزی واحد ورامین در سال ۱۳۹۳ انجام شد. بدین منظور قلمه‌های مورد نظر را داخل گلدان‌ها قرار داده و گلدان‌ها را به‌میزان سه کیلوگرم خاک شامل ماسه، شن، خاک زراعی به نسبت ۱:۱:۲ پر گردید و داخل هر گلدان یک قلمه قرار داده شد. با گذشت ۱۵ روز که کاشت، قلمه‌ها استقرار یافتند. تیمارهای محلول‌پاشی کودی را به‌صورت تقسیط سه مرحله‌ای، (۱۵ روز بعد از استقرار گیاهچه در گلدان، ۳۰ روز پس از استقرار گیاهچه در گلدان، ۴۵ روز پس از استقرار گیاهچه در گلدان) به برگ گیاهان مورد نظر محلول‌پاشی گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: شاهد بدون (محلول‌پاشی) ۲- محلول‌پاشی چهار کیلوگرم در هکتار کود نانو کلات آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب). ۳- محلول‌پاشی شش کیلوگرم در هکتار کود کلات آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب). ۴- محلول‌پاشی چهار کیلوگرم در هکتار کود نانو کلات آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی شش در هزار کود روی. ۵- محلول‌پاشی شش کیلوگرم در هکتار کود کلات آهن (شش درصد

آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی شش در هزار کود روی. ۶- محلول‌پاشی چهار کیلوگرم در هکتار کود نانو کلات آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی چهار در هزار کود منگنز. ۷- محلول‌پاشی شش کیلوگرم در هکتار کود کلات آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی چهار در هزار کود منگنز. ۸- محلول‌پاشی چهار کیلوگرم در هکتار کود نانو کلات آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی شش در هزار کود روی + محلول‌پاشی چهار در هزار کود منگنز. ۹- محلول‌پاشی شش کیلوگرم در هکتار کود کلات آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی شش در هزار کود روی + محلول‌پاشی چهار در هزار کود منگنز. برای محاسبه وزن خشک ریشه، پس از قراردادن ریشه‌ها در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. سنجش استویوزید و گلیکوزید با روش هرن و صابری (Hearn and Subedi , 2009) انجام شد که از دستگاه HPLC (مدل Knauer، آلمان) و از ستون آمین (شرکتTeknokroma، اسپانیا) با طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر ۴/۶ میلی‌متر و با اندازه ذرات پنج میکرومتراستفاده شد. سرعت جریان حلال ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه و فاز متحرک به‌صورت ایزوکراتیک، حاوی آب و استونیتریتل به‌ترتیب با نسبت ۸۰:۲۰ بود و آشکارساز (detector) دستگاه از نوع UV بود و طول موج دستگاه روی ۲۱۰ نانومتر تنظیم شد. مقدار عصاره استفاده شده در هر تزریق ۴۰ میکرولیتر بود و میزان دو گلیکوزید و استویوزید (شرکت Sigma، آلمان) براساس سطح زیرمنحنی و مقدار استانداردهای تزریق شده به دست آمد. اندازه‌گیری عناصر روی، آهن و منگنز با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Shimadzu-AA6 400 قرائت گردید (Zheljazkov *et al*., 2006).

برای تجزیه آماری داده‌های آزمایش، از نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده شد. مقایسه کلیه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون ال اس دی انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

جدول ۱- تجزیه واریانس استویا تحت تیمارهای مختلف

Table 1. Analysis of variyans Stevia under different treatments

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	منگنز Mn	روی Zn	آهن Fe	گلیکوزید Glycoside	استویوزید Steviosid	وزن خشک ریشه Dry weight	طول ساقه Stem length
Repeat	تکرار	2	87 ^{ns}	184 ^{ns}	59 ^{ns}	0.55 ^{ns}	0.66 ^{ns}	0.34**	6.29 ^{ns}
Treatment	تیمار	8	6160**	1040**	2946**	3.61**	2.28**	0.93**	136.11**
Error	خطا	16	103	147	86	0.48	0.37	0.055	35.44
CV(%)	ضریب تغییرات		10.87	17.55	5.03	10.92	14.39	6.61	8.13

ns عدم تفاوت معنی‌دار و * در سطح پنج و ** در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

and * ns no significant difference in levels 5 and ** is significant at 1% level.

نتایج و بحث

طول ساقه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول‌پاشی تیمارهای مختلف کودی در سطح احتمال یک درصد بر طول ساقه معنی‌دار بود (جدول یک). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین طول ساقه در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز (A_8) و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (A_1) به‌ترتیب با میانگین ۸۱ و ۵۸ سانتی‌متر حاصل شد (جدول دو). نتایج تحقیق نشان داد که کاربرد عناصر ریزمغذی سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه سویا شد (Goos and Johnson., 2001). افزایش ارتفاع در این بررسی را می‌توان به نقش عناصر آهن، منگنز و روی در ساخت کلروفیل و به

دنبـال آن، افـزایش فتوسنتـز و رشـد گیـاه مربـوط دانست.

جدول ۲- مقایسات میانگین طول ساقه استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 2. Comparison of average stem length of Stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	طول ساقه (cm) Stem Lenght
Control (A_1)	شاهد	58 [c]
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	69 [b]
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	66 [b]
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	73 [b]
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	71 [b]
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	74 [ab]
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	79 [ab]
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	81 [a]
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	80 [ab]

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

وزن خشک ریشه

نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کودهای مختلف بر وزن خشک و تر ریشه استویا تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول یک). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین وزن خشک ریشه در تیمارهای آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز (A_8) و شاهد (A_1) به ترتیب با میانگین ۴/۳۳ و ۲/۴۲ گرم به‌دست آمد (جدول سه). در طی تحقیقی مشخص گردید که سطوح متفاوتی از عناصر ریز مغذی روی وزن خشک ترخون تأثیر داشت (Glyn, 2002). افزایش وزن خشک در نتیجه تقسیم سلولی و افزایش رشد گیاه حاصل می‌گردد. عناصر ریزمغذی برای رشد طبیعی گیاهان ضروری هستند و در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه دخالت دارند و سبب افزایش رشد و وزن خشک می‌گردند که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

استویوزید

بر طبق نتایج تاثیر محلول‌پاشی کودهای مختلف بر استویوزید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول یک). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تیمارهای کودی مختلف اختلاف معنی‌داری وجودداشت، به‌طوری‌که تیمار ترکیبی آهن + روی + منگنز نسبت به سایر تیمارها سهم بیش‌تری در افزایش استویوزید در گیاه استویا داشتند. در غلظت آهن شش و نه درصد قابل حل در آب با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و هیچ یک از تیمارهای دو قسمتی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند که بیش‌ترین میزان استویوزید آن مربوط به آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز با ۵/۳۳ درصد و کم‌ترین میزان با میانگین ۲/۲۴ درصد ماده خشک برگ در تیمار شاهد به‌دست آمد (جدول چهار). رشد گیاهان و میزان استویوزید موجود در برگ گیاهان رشد یافته از قلمه ساقه یکنواختی بیش‌تری از گیاهان رشد یافته از بذر داشتند. با این حال ریشه‌زایی قلمه‌ها به‌دلیل نیاز به شرایط ویژه، طولانی بودن زمان مورد نیاز جهت ریشه‌زایی قلمه‌ها، درصد پایین ریشه‌زایی و تعداد اندک قلمه‌های قابل تهیه از یک گیاه مادری دارای محدودیت است (Hussein *et al*., 2006).

نقش عناصر به کاربرده شده در کلروفیل و تأثیر آن‌ها بر میزان فتوسنتز و تثبیت دی اکسید کربن و تولید قند گیاه، موجب افزایش محتوای استویوزید شد. بنابراین مطابق نتایج سایر تحقیقات تأخیر در کاشت سبب کاهش معنی‌دار طول دوره رشد که اثر منفی بر رشد و سوخت و ساز گیاه دارد، می‌گردد (Saniah and Sharifah, 2012).

جدول۳- مقایسات میانگین وزن خشک استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 3. Comparison of mean dry weight of stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	وزن خشک ریشه Dry weight (g)
Control (A_1)	شاهد	2.24 ^{f}
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	3.29 ^{cde}
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	3.06 ^{e}
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	3.64 ^{cd}
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	3.55 ^{cd}
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	3.89 ^{bc}
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	3.70 ^{bcd}
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	4.33 ^{a}
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	4.12 ^{ab}

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصداختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

جدول۴- مقایسات میانگین محتوای قند استویوزید استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 4. Comparison of average sugar content Stevized of stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	استویوزید Steviosid(%)
Control (A_1)	شاهد	2.24 ^{c}
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	4.14 ^{b}
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	3.82 ^{b}
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	4.38 ^{ab}
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	4.09 ^{b}
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	4.69 ^{ab}
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	4.64 ^{ab}
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	5.33 ^{a}
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	4.81 ^{ab}

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

گلیکوزید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول‌پاشی تیمارهای مختلف کودی در سطح احتمال یک درصد بر میزان گلیکوزید معنی‌دار بود (جدول یک). جدول مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین میزان گلیکوزید در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز (A_8) و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (A_1) به‌ترتیب با میانگین ۷/۵۴ و ۳/۹۴ درصد ماده خشک برگ حاصل شد (جدول پنج). افزایش محتوای گلیکوزید نیازمند افزایش سوخت و ساز و افزایش مواد فتوسنتزی هست. محلول‌پاشی آهن، روی و منگنز، از این طریق سبب افزایش محتوای گلیکوزید گردید. فراهمی آهن به‌طور مشخصی باز شدن روزنه‌ها را افزایش می‌دهد که ناشی از اثرات آهن در ساخت کلروفیل می‌باشد، این امر می‌تواند منجر به افزایش توان فتوسنتزی وتخصیص آسیمیلات بیش‌تر برای سوخت و ساز تولید در گیاهان شود (Shiemshi, 2007). اثرات عنصر روی بر سوخت و ساز تولید قند احتمالاً به‌دلیل نقش ویژه‌ی این عنصر در افزایش فعالیت‌های متابولیکی مخصوصاً واکنش‌های منتج به ساخت آن باشد، که تأثیر جای‌گذاری این عنصر تایید شده است (Kocon., 2006). که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

میزان آهن

بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی کودهای مختلف بر آهن در سطح یک

درصد معنی‌دار بود (جدول یک). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای کودی مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین محتوای آهن گیاه با میانگین ۱۷۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز (A_8) به‌دست آمد. همان‌طور که انتظار می‌رفت در تیمارهایی که محلول‌پاشی آهن با غلظت بالاتری (نه درصد قابل حل در آب) انجام شد اختلاف معنی‌داری با تیمارهایی که آهن با غلظت کم‌تر (شش درصد قابل حل در آب) محلول‌پاشی گردید، داشتند و افزایش بیش‌تری در محتوای آهن گیاه استویا نشان دادند. کم‌ترین محتوای آهن گیاه نیز در تیمار شاهد (A_1) با ۷۰میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد (جدول شش). مشخص گردید که مصرف آهن به‌فرم محلول‌پاشی منجر به افزایش میزان جذب این عنصر توسط گیاه شد و بنابراین توان فتوسنتزی گیاه و دوام سطح برگ افزایش می‌یابد که این دو در نهایت باعث افزایش تولید در گیاه می‌شود (Fernandez *et al*., 2004) که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۵- مقایسات میانگین محتوای قند گلیکوزید (قند کل) استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 5. Mean comparisons glycoside sugar content (sugar) Stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	گلیکوزید Glycoside (%)
Control (A_1)	شاهد	3.94 ^{d}
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	6.14 ^{bc}
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	5.72 ^{c}
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	6.36 ^{abc}
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	6.11 ^{bc}
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	7.21 ^{ab}
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	6.87 ^{abc}
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	7.54 ^{a}
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	7.26 ^{ab}

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

جدول ۶- مقایسات میانگین میزان آهن بر استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 6. Comparison of average iron on Stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	آهن Fe (ppm)
Control (A_1)	شاهد	70 ^{e}
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	153 ^{bc}
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	121 ^{d}
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	163 ^{ab}
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	139 ^{c}
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	167 ^{ab}
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	144 ^{c}
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	174 ^{a}
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	145 ^{c}

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

روی

تأثیر محلول‌پاشی کودهای مختلف بر میزان روی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول یک). نتایج جدول مقایسه میانگین نشان داد که بین تیمارهای کودی مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین میزان روی با میانگین ۶۶ پی پی ام در

تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز (A_8) و کم‌ترین مربوط به تیمار شاهد (A_1) با ۱۷ پی پی ام به‌دست آمد. در تیمارهایی که محلول‌پاشی روی انجام شد نسبت به تیمارهایی روی به‌کار برده نشد، اختلاف معنی‌داری وجود داشت و افزایش بیش‌تری در میزان روی در گیاه نشان دادند (جدول هفت). عنصر روی به‌عنوان کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز آمینواسید تریپتوفان که به‌عنوان پیش ماده سنتز اکسین عمل می‌کند، حایز اهمیت است (منگل و کرکبی، ۱۳۸۶). برخی از محققان نیز معتقدند که این عنصر در مسیر تبدیل تریپتوفان به ایندول استیک اسید در مرحله نهایی سنتز اکسین عمل می‌کند (منگل و کرکبی، ۱۳۸۶). دانشمندانی در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که سمیت منگنز باعث کاهش جذب روی در گیاه می‌شود (Venkatesan *et al*., 2007).

ساقه، بعد از ریشه عمده‌ترین مخزن برای روی موجود در گیاه است و به‌عنوان ناحیه ذخیره موقت برای ریزمغذی‌ها از آن نام برده می‌شود. همان‌طور که انتظار می‌رفت در تیمارهایی که عنصر روی به کاربرده شد، بیش‌ترین محتوای روی گیاه نیز در آن تیمارها حاصل گردید.

جدول ۷- مقایسات میانگین میزان روی بر استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 7. Comparison of average on the Stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	روی Zn (ppm)
Control (A_1)	شاهد	17 ^{d}
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	34 ^{bc}
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	28^{cd}
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	62 ^{ab}
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	63 ^{ab}
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	29 ^{c}
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	36 ^{b}
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	61 ^{ab}
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	66 ^{a}

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

منگنز

بر طبق نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر محلول‌پاشی کودهای مختلف بر منگنز در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول یک). بین تیمارهای کودی مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیش‌ترین محتوای منگنز گیاه با میانگین ۱۷۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمار آهن (نه درصد قابل حل در آب) + روی + منگنز (A_8) به‌دست آمد. همان‌طور که در جدول هشت مشاهده شد در تیمارهایی که محلول‌پاشی آهن با غلظت بالاتری (نه درصد قابل حل در آب) انجام شد اختلاف معنی‌داری با تیمارهایی که آهن با غلظت کم‌تر (شش درصد قابل حل در آب) محلول‌پاشی گردید، داشتند و در غلظت بالای آهن محتوای روی در گیاه کم‌تر بود. در بین تیمارهایی که محلول‌پاشی منگنز و آهن داشتند و محلول‌پاشی روی انجام نشد اختلافی با یکدیگر نداشتند (جدول هشت). نقش منگنز را ناشی از تاثیر آن بر افزایش فعالیت آنزیمی و در نتیجه افزایش بهره وری فعالیت‌های متابولیکی می‌توان نسبت داد. توان بالای جذبی این عنصر با مصرف آن به فرم محلول‌پاشی تایید شد (Camberato, 2004). بنابراین به‌دلیل توان جذبی بالا از طریق برگ، در این مطالعه در تیمارهایی که محلول‌پاشی منگنز انجام گردید، محتوای منگنز بالاتری نیز داشتند.

جدول ۸- مقایسات میانگین میزان منگنز بر استویا تحت تیمارهای مختلف کودی

Table 8. Comparison of average Mn on Stevia under different fertilizer treatments

Treatment	تیمارهای مختلف کودی	منگنز Mn (ppm)
Control (A_1)	شاهد	34 [d]
Fe (%9) (A_2)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب)	65 [c]
Fe (%6) (A_3)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب)	62 [c]
Fe (%9) + Zn (A_4)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی	57 [c]
Fe (%6) + Zn (A_5)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی	64 [c]
Fe (%9) + Mn (A_6)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	134 [ab]
Fe (%6) + Mn (A_7)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + منگنز	150 [a]
Fe (%9) + Mn+Zn (A_8)	آهن (۹ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	129 [b]
Fe (%6) + Mn+Zn (A_9)	آهن (۶ ٪ قابل حل در آب) + روی + منگنز	146 [ab]

میانگین‌های که با حروف مشابه در هر ستون نشان داده شدند از نظر آماری در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means that with the same letters in each column have shown no statistically significant difference in the level of 5%

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان گفت در بین تیمارهای اعمال شده، تیمار محلول‌پاشی آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی روی + محلول‌پاشی منگنز نسبت به سایر تیمارها تأثیر بیش‌تری بر صفات مورد اندازه‌گیری داشت. که البته در برخی از صفات بین این تیمار و تیمار آهن (شش درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی روی + محلول‌پاشی منگنز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و با افزایش غلظت آهن تأثیر معنی‌داری در صفات مورد ارزیابی مشاهده نشد. در تیمارهایی که محلول‌پاشی آهن با غلظت بالاتری (نه درصد قابل حل در آب) انجام شد اختلاف معنی‌داری با تیمارهایی که آهن با غلظت کم‌تر (شش درصد قابل حل در آب) محلول‌پاشی گردید، داشتند و افزایش بیش‌تری در محتوای آهن گیاه استویا نشان دادند.

کم‌ترین محتوای آهن گیاه نیز در تیمار شاهد به‌دست آمد. مشخص گردید که مصرف آهن به فرم محلول‌پاشی منجر به افزایش میزان جذب این عنصر توسط گیاه شد و بنابراین توان فتوسنتزی گیاه و دوام سطح برگ افزایش می‌یابد که این دو در نهایت باعث افزایش تولید در گیاه می‌شود (Fernandez *et al.*, 2004). بنابراین می‌توان تیمار آهن (نه درصد آهن قابل حل در آب) + محلول‌پاشی روی + محلول‌پاشی منگنز را به‌دلیل فرم نانو بودن و جذب بهتر آن توسط گیاه و بالاترین میزان عملکرد در اکثریت صفات اندازه‌گیری شده را که از خود نشان داده است، به عنوان بهترین سطح غلظت پیشنهاد کرد.

منابع

Refrences

امامی، ع. ۱۳۸۴. بررسی اثر جذب برگی عناصر ماکرو و میکرو بر رشد و عملکرد گیاه سیب‌زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان. ۶۶ صفحه.

تخت‌چین، ف. ۱۳۹۰. دانشگاه علوم پزشکی وخدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی. ۱۳۹۰. معاونت غذا و دارو.

خلیلی، ج.، تاجبخش، م.، فیاض مقدم ا. و سیادت، ع. ۱۳۸۰. بررسی اثرات محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی بر عملکرد و کیفی سورگوم علوفه‌ای. مجله علمی تخصصی گیاه و زیست بوم، جلد ۳۱ . صفحات ۳۵ تا ۴۴.

منگل، ک. و کرکبی، آ. ۱۳۸۶. اصول تغذیه گیاه. ترجمه سالاردینی، ع. ا. و مجتهدی، م. انتشارات مرکز نشر دانشگاهی تهران، تهران.

Ebhin Masto, R., Chhonkar, P.K., Singh, D., and Patra, A.K. 2006. Changes in characeristics in a long-term field trial on a sub-soil biological and biochemical tropical inceptisoil. Soil biology and biochemistry. 38: 1577-1582.

Fernandez, V., Winkelmann , G., and Elbert, G. 2004. Iron supply to sugar beet plants through foliar application of iron citrate and ferric dimerum acid. Physiol. Planta. 122 (3): 380–385.

Geuns, J., and Struyf, T. 2010. Radical scavenging activity of steviol glycosides and steviol glucuronide. Stevia, Science no Fiction location. Leuven. 29-30 June. Proceedings of the 4th EUSTAS Stevia Symposium, 4 pages, 191-207.

Glyn, M.F. 2002. Mineral nutrition, production and artemisin content in Artemisia annua L. Acta Horticulture, 426: 721-728.

Goos, R.J., and Johnson, B. 2001. Seed treatment, seeding rate, and cultivar effects on iron deficiency chlorosis of soybean. J. Plant Nutr. 24:1255–1268.

Hafeez, Y., Khanif M., and Saleem, M. 2013. "Role of zinc in plant nutrition". American Journal of Experimental Agriculture. 304-391.

Kocon, L. 2006. Coating seed with nutrients. CHS Inc. and Land O'Lakes, Inc. pp: 328.

Madan, S., Amad, S., Singh, G.N., Kohli, K., Kumar, Y., Singh, R., and Garg, M. 2010. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-a review. *Indian Journal of Natural Product and Resources*, 1(3), 267-286.

Motta, A., Basso, B., Dell'Orto, M., Briat, J.F., and Soave, C. 2001. Ferritin synthesis in response to iron in the Fe-inefficient maize mutant ys3. Plant Physiol. Biochem. 39: 461–465.

Ravi, S., Channal, H.T., Hebsur, N.S., Patil, B.N., Dharmatti, P.R. 2008. Effect of sulfur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L). Karnataka J. Agri. Sci. 32, 382-385.

Ren, G., and Shi, Y. 2012. The effects of drought stress on the photosynthetic parameters and dry leaf yield of *Stevia rebaudina* Bertoni. *Advanced Materials Research*, 518. 523, 4786-4789.

Sharifi, M., Pouresmael, M. 2006. Breaking seed dormancy in Bunium persicum by stratification and chemical substances. Asian Journal of Plant Sciences. 5(4): 695-699.

Shiemshi, D. 2007. Leaf chlorosis and stomatal aperture. New Phytol. 166: 455-461.

Singh, B.P., Das, M., and Prasad, R.N. 2001. Evaluation of available Cu status in altitude wetland rice soils. J. Ind. Soc. Soil Sci. 38: 464 – 468.

Zheljazkov, V.D., Craker, L.E., and Xing, B. 2006. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. Environmental and experimental botany, 58(1): p.9-16.

Hussein, M.S., El-Shrbeny, S.E., Khlil, M.Y., Naguib, N.Y., and Aly, S.M. 2006. Growth characters and chemical constituents of Dracocephalum moldavica L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance. Scientica Horticulturae, 108, 322-331.

Saniah, K., and Sharifah, M. 2012. The application of Stevia as sugar substitute using response surface methodology. Journal of Trop. Agriculture and Food. Science. 40(1): 23– 34.

Venkatesan, S., Hemalatha, K.V., and Jayaganesh, S. 2007. Characterization of manganese toxicity and its influence on nutrient uptake, antioxidant enzymes and biochemical parameters in tea. Journal of Phytochemistry 2: 52-60.