

اثر مدت و سطح تنش غرقاب و کود نیتروژن بر صفات رویشی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* B.) در اقلیم رشت

ریحانه پردل^۱، محمد کافی^{۲*}، مسعود اصفهانی^۳، احمد نظامی^۲

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳. استاد دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان.

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۴

چکیده

عصاره خام گیاه استویا حاوی ماده شیرین کننده‌ای است که از برگ‌های این گیاه به دست می‌آید و به‌عنوان یک شیرین کننده کم‌کالری مورد استفاده قرار می‌گیرد. این آزمایش گلدانی با هدف مطالعه اثر سطح تنش غرقاب، مدت غرقاب و کود نیتروژن بر رشد اندام‌های هوایی گیاه استویا در دانشگاه گیلان در سال ۱۳۹۲ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح تنش غرقاب شامل (صفر، ۵- و ۱۰- سانتی‌متر از سطح خاک و آبیاری نرمال بر اساس نیاز گیاه به‌عنوان شاهد)، مدت غرقاب (دو و چهار روز) و دو سطح کودی شامل (صفر و شش و شش در هزار محلول نیتروژن با منشأ اوره) به صورت محلول پاشی بود. نتایج نشان داد که کاربرد کود نیتروژن در شرایط تنش غرقاب منجر به بهبود صفات اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع، درصد برگ، وزن مخصوص برگ و وزن خشک برگ شد. برهم‌کنش کود نیتروژن و مدت غرقاب نشان داد که با افزایش مدت غرقاب از دو روز به چهار روز کاربرد کود نیتروژن منجر به بهبود ۱۴٪ وزن خشک برگ، ۱۱٪ وزن مخصوص برگ و ۴/۵٪ برگی بودن نسبت به تیمار عدم کاربرد کود شد. همچنین برهم‌کنش کود نیتروژن و سطح غرقاب نیز نشان داد که در سطح غرقاب ۱۰- سانتی‌متر، کاربرد کود نیتروژن منجر به کاهش اثرات نامطلوب تنش شد به طوری که کاهش تعداد شاخه‌های جانبی و میزان وزن خشک برگ در سطح غرقاب ۱۰- و بدون کاربرد کود نیتروژن در مقایسه با تیمار کاربرد کود نیتروژن به ترتیب نه و هشت درصد بیشتر بود. به طور خلاصه نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد کود نیتروژن در شرایط تنش غرقابی منجر به بهبود رشد اندام‌های هوایی استویا و کاهش اثر تنش غرقابی در گیاه استویا در شرایط رشت می‌شود.

واژه‌های کلیدی: برگ استویا، سطوح نیتروژن، وزن خشک، وزن ویژه برگ

مقدمه

می‌شود و قابلیت جایگزینی به‌جای شکر را دارد. برگ‌های استویا حاوی ماده استویوزاید (Stevioside) می‌باشند که این ترکیب شیرین کننده در صنایع غذایی به‌طور وسیعی استفاده می‌شود (Siddique et al., 2016). میزان انرژی‌زایی عصاره برگی استویا ۲/۷ کیلوکالری بر گرم (بر پایه وزن خشک) است که نشان دهنده این است که استویا می‌تواند به‌عنوان یک

امروزه در بازار محصولات غذایی در کنار دسترسی به مواد غذایی متعارف، نیاز به محصولاتی است که دارای منشأ طبیعی و باکیفیت خوب بوده و عوارض جانبی برای مصرف‌کنندگان نداشته باشند (Liu et al., 2007). استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گیاهی است که از برگ‌های آن به‌عنوان ماده شیرین کننده طبیعی استفاده

تا گیاه برای تداوم رشد، نیتروژن را از برگ‌های قدیمی به برگ‌های جدید منتقل نماید که این موضوع باعث زرد شدن و پژمردگی برگ‌های قدیمی خواهد شد (Hodgson, 1982; Lu et al., 2016; Fiebig and dodd, 2016). در پژوهش حاضر سعی بر این است که طول مدت غرقابی، کاربرد نیتروژن به‌منظور کاهش خسارت تنش غرقابی در شرایط اقلیمی استان گیلان بر عملکرد و صفات کمی استویا مطالعه شده و گامی در جهت تکمیل پژوهش‌های زراعی و توسعه‌ی کشت این گیاه در منطقه رشت برداشته شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌صورت فاکتوریل با سه عامل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در محوطه دانشگاه گیلان اجرا شد و عوامل آزمایش شامل سطح ایستابی (صفر، ۵- و ۱۰- سانتی-متر از سطح خاک)، مدت ایستابی (دو و چهار روز)، مصرف کود نیتروژن (صفر و شش در هزار محلول نیتروژن با منشأ اوره) در نظر گرفته شدند.

تیمارها در سطل‌های بزرگ به ارتفاع ۸۰ و قطر دهانه ۵۰ سانتی‌متر اجرا شد (شکل ۱) سپس به‌منظور ایجاد شرایط غرقاب در عمق موردنظر، داخل هر سطل از لوله‌های پی‌وی-سی با ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۶ سانتی‌متر گیاهان کاشته شدند به صورتی که هر کدام از آن‌ها در عمق مشخص مطابق با تیمارهای غرقاب موردنظر سوراخ شدند و در داخل سطل‌ها قرار داده شدند (شکل ۱).

شیرین‌کننده‌ی کم‌کالری مورد استفاده قرار گیرد (Savita et al., 2004, Sharma et al., 2016). در عین حال شیرینی این گیاه بسیار زیاد و قابل‌مقایسه با شیرین‌کننده‌های تجاری است. استویا هم‌چنین از مهم‌ترین گیاهان دارویی با خواص کاهش دهنده‌ی قند خون است که گزارش‌های بالینی و آزمایشگاهی معتبری مبنی بر مؤثر بودن آن‌ها موجود است و در طب سنتی نیز در درمان بیماری دیابت تجویز می‌شود (Dabaghian et al., 2012).

در زراعت استویا در استان گیلان یکی از تنش‌های مهمی که به دلیل سنگین بودن بافت خاک و بارش‌های مداوم رخ می‌دهد، تنش غرقابی است. تغییر عملکرد گیاهان مربوط به تأثیرات غیرمستقیمی است که سطح ایستابی بر وضعیت تهویه‌ی خاک، مواد غذایی قابل‌دسترس و رطوبت قابل‌دسترس خاک می‌گذارد (Mejia et al., 2000). از آنجایی که برگ‌ها بخش اقتصادی گیاه استویا می‌باشند، برای دستیابی به عملکردهای بالا و توجیه‌پذیر از نظر اقتصادی، کوددهی گیاه استویا ضروری است (Bakhshandeh et al., 2016). فرض بر این است که کاربرد بیشتر عناصر غذایی می‌تواند در حصول عملکرد بالاتر مطلوب باشد. نیتروژن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مواد غذایی گیاه، در شرایط غرقابی در اثر پدیده‌ی دنیتریفیکاسیون، به نیتروژن نیتریتی تبدیل شده و از دسترس گیاهان خارج می‌شود (Friedl et al., 2016). کمبود نیتروژن در شرایط غرقابی موجب می‌شود



شکل ۱. تصویری از هر گلدان که حاوی چهار بوته است. هر بوته در یک لوله قرار داده شده است

Fig 1. A view of each pot. Each bush was planted in one tube

گیاهچه‌های چهار برگی استویا از مجتمع گیاهان داروئی دارواش گیاه خزر تهیه شدند (شکل ۲). در نیمه‌ی دوم اردیبهشت ۱۳۹۲ در هر گلدان چهار بوته (در هر لوله یک بوته) کشت شد و اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت گیاهچه‌ها و آبیاری‌های بعدی هر دو روز یک‌بار به‌صورت دستی با آبیاش صورت گرفت.

مشخصات خاک مورد استفاده در جدول (۱) آورده شده است. در هر سطل چهار لوله به‌عنوان واحد آزمایشی قرار داده شد. کود مورد نیاز هر گلدان بر اساس نتایج آزمایش خاک (برای عناصر فسفر و پتاسیم از منبع سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم) تأمین شد (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات خاک محل آزمایش

Table 2. Soil properties of the experimental site.

بافت خاک Soil texture	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dSm ⁻¹)	اسیدیته گل اشباع Soil acidity (pH)	نیتروژن کل Total Nitrogen (%)	فسفر قابل جذب Phosphorus (mg.kg ⁻¹)	پتاسیم قابل جذب Potassium (mg.kg ⁻¹)
رس-لومی Loamy-clay	1.17	7.31	0.17	60.7	256



شکل ۲. نهال‌های استویا تهیه‌شده از مجتمع گیاهان داروئی دارواش گیاه خزر

Fig 2. Stevia seedling provided by Darvash giah khazar medicinal plant institute

صفر تحت تأثیر تنش غرقابی قرار گیرند. بعد از اعمال تنش غرقاب، تیمار کود نیتروژن (یک ماه بعد از کاشت گیاهچه‌ها) به‌صورت محلول‌پاشی روی برگ گیاهان به نحوی اعمال شد که بعد از محلول‌پاشی سطح برگ گیاهان کاملاً خیس شده بود. برای تیمار عدم مصرف کود نیز از پاشش آب مقطر استفاده شد.

برای اندازه‌گیری ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ساقه و وزن خشک برگ و ریشه، در هر تکرار چهار بوته به‌طور تصادفی انتخاب و برداشت شدند. برداشت بوته به‌وسیله‌ی قطع بوته‌ها از حدود پنج سانتی‌متری بالای سطح خاک صورت گرفت. به‌منظور تعیین

تنش غرقاب ۲۰ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان و زمانی که شاخه‌های جانبی متقابل شروع به رشد کردند اعمال شد. برای اعمال تنش غرقابی، به مدت دو روز سطل‌های بزرگ کامل تا عمق موردنظر پر از آب ماندند و در روز سوم آب سطل بزرگ به‌طور کامل خالی شد، همین روش برای اعمال تنش غرقابی به مدت چهار روز نیز اجرا شد و آب سطل بزرگ در روز پنجم به‌طور کامل خالی شد. برای تثبیت سطح آب در عمق موردنظر، جداره‌ی لوله‌های پی‌وی سی در عمق محاسبه شده سوراخ گردید برای اعمال سطح غرقاب صفر (غرقاب کامل) سطح لوله‌ها هم سطح لبه سطل قرار داده شد تا گیاهان قرارگرفته در سطح غرقاب

نیترژن خالص در هکتار به دست آمد. به نظر می‌رسد که افزایش ارتفاع گیاه در نتیجه استفاده بهتر از شرایط رطوبتی و نیز مصرف بهینه ذخایر غذایی موجود در دسترس گیاه باشد (Angelini et al., 2017). افزایش ارتفاع در اثر کاربرد کود نیترژن در آزمایش خیراندیش و همکاران (Kheyrandish et al., 2016) نیز گزارش شده است به طوری که کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن ارتفاع بوته بادرسبو را (۸۳/۶۴ سانتیمتر) در مقایسه با تیمار شاهد (۷۷/۰۲ سانتیمتر) حدود ۹ درصد افزایش داد. بررسی نتایج حاصل از آزمایش علیزاده سهرابی و همکاران (Alizadeh sohrabi et al., 2007) بر گیاه دارویی مرزه، نشان داد که مقادیر ۱۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم نیترژن خالص در هکتار به ترتیب بیشترین و تیمارهای ۵۰ کیلوگرم نیترژن خالص در هکتار و عدم مصرف نیترژن کمترین ارتفاع را به خود اختصاص دادند. نیترژن یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی و عامل کلیدی در دستیابی به عملکرد مطلوب در گیاهان است به طوری که کمبود آن بیش از سایر عناصر غذایی عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مصرف نیترژن باعث افزایش رشد رویشی و ارتفاع گیاه می‌گردد (Bowles et al., 2014).

کود نیترژن در تیمار دو روز غرقاب بر برگی بودن گیاه تأثیر مثبتی نگذاشت (جدول ۲) و حتی منجر به کاهش آن از ۴۴٫۹٪ به ۴۱٫۱٪ گردید (جدول ۳). در حالی که در مدت‌زمان چهار روز اعمال تنش غرقاب، کاربرد کود منجر به بهبود ۴/۵ درصدی برگی بودن استویا نسبت به شرایط عدم کاربرد کود شد (جدول ۳). این نتایج نشان‌دهنده این است که اثر کود در مدت‌زمان طولانی‌تر تنش غرقاب منجر به بهبود معنی‌دار درصد برگی بودن گیاه شد. با توجه به اینکه افزایش مقدار نیترژن سبب افزایش پارامترهای رشد از قبیل سطح برگ و وزن خشک کل گیاه می‌شود (Ghorbanli and Niakan, 2007)، به نظر می‌رسد در این آزمایش کاربرد نیترژن منجر به تحریک برگ زایی و افزایش اندازه برگ طی تیمار دو روز غرقاب نشد اما در شرایط چهار روز غرقاب کاربرد نیترژن در بهبود اثرات منفی تنش غرقاب بر برگ‌زایی و اندازه برگ به‌طور معنی‌داری مؤثر بود. نیترژن به‌عنوان محرک تولید هورمون سیتوکینین شناخته می‌شود و سیگنال‌هایی که با میانجی‌گری سیتوکینین فعال می‌شوند کنترل رشد و نمو گیاه، تولید پروتئین و جذب سایر عناصر

صفات ریشه ابتدا گل‌دان‌ها به مدت یک ساعت غرقاب شدند تا شستشوی ریشه‌ها با کمترین خسارت به آن‌ها انجام شود. سپس گیاهچه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند. ارتفاع گیاهان با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ رومی‌زی^۱، تعیین شد. برای تعیین وزن خشک اندام هوایی (ساقه و برگ) و اندام زیرزمینی، گیاهان در آون با دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده و سپس توزین شدند. با داشتن اطلاعات مربوط به ارتفاع گیاه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک برگ، سطح برگ، صفاتی مانند وزن مخصوص برگ (معادله ۱)، درصد برگ (معادله ۲) و تراکم سطح برگ (معادله ۳) محاسبه شدند (Alizadeh, 2005).

$$[۱] \quad \text{وزن ویژه برگ (g/cm}^2\text{)} = \frac{\text{وزن خشک برگ}}{\text{سطح برگ}}$$

$$[۲] \quad \text{درصد برگ} = \frac{\text{وزن خشک برگ}}{\text{وزن خشک اندام هوایی}} \times ۱۰۰$$

$$[۳] \quad \text{تراکم سطح برگ (cm}^2\text{/cm)} = \frac{\text{ارتفاع گیاه}}{\text{سطح برگ}}$$

تجزیه آماری

پس از جمع‌آوری اطلاعات و قبل از انجام تجزیه واریانس ابتدا مفروضات تجزیه واریانس اعم از نرمال بودن داده‌ها مورد آزمون قرار گرفت. پس از آن تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها انجام شد. داده‌های جمع‌آوری‌شده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹٫۲) و مقایسه میانگین با استفاده از حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

کود نیترژن به‌طور معنی‌داری ارتفاع گیاه را تحت تأثیر قرارداد (جدول ۲) به طوری که تیمار با کود نیترژن موجب افزایش ۱۴ درصدی ارتفاع در مقایسه با شاهد شد و آن را از ۴۲/۷ سانتیمتر به ۴۸/۲ سانتیمتر افزایش داد. این نتیجه در تطابق با نتیجه آزمایش بخشنده و همکاران (Bakhshandeh et al., 2016) است که گزارش کردند بیشترین ارتفاع گیاه استویا مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم

^۱ Li Core3100, USA

شرایط چهار روز غرقاب و کاربرد کود وجود داشت به گونه‌ای که با افزایش مدت‌زمان غرقاب به چهار روز و کاربرد کود نیتروژن، وزن خشک ویژه ۱۱ درصد نسبت به شرایط دو روز غرقاب و حالت عدم کاربرد کود افزایش داشت (جدول ۳). کاهش وزن مخصوص برگ در شرایط تنش غرقاب در سایر پژوهش‌ها نیز گزارش شده است (Tiryakioglu et al., 2015; Kuai et al., 2015). نتایج پیشرو نشان می‌دهد که کاربرد کود نیتروژن به‌طور معنی‌داری موجب تخفیف اثر افزایش دوره غرقاب می‌شود به طوری که با زیاد شدن مدت غرقاب از دو به چهار روز کاربرد کود نیتروژن موجب بهبود معنی‌دار میزان وزن ویژه برگ شد. وزن ویژه برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهم‌کنش سطح غرقاب و تیمار کود نیتروژن نیز قرار گرفت (جدول ۲). در سطح غرقاب ۵- سانتی‌متر، کاربرد کود نیتروژن منجر به افزایش ۱۸/۷ درصدی وزن مخصوص برگ نسبت به شاهد شد، در صورتی که در تیمار عدم کاربرد کود وزن ویژه برگ ۳۶/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد (جدول ۴).

ماکرو را به عهده‌دارند (Sakakibara et al., 2006). پژوهش‌ها نشان داده است که اگر نیتروژن مورد نیاز گیاه برای تولید هورمون سیتوکینین فراهم باشد، تولید این هورمون تحت شرایط تنش غرقاب می‌تواند تحمل گیاه به تنش غرقاب را بهبود بخشد (Peterson and Flood, 2012). با توجه به نقش این هورمون در رشد و توسعه سلولی به نظر می‌رسد بهبود شاخص‌های رشد گیاه از جمله درصد برگ در شرایط تنش طولانی‌تر غرقاب می‌تواند نتیجه‌ی کاربرد کود نیتروژن و تولید این هورمون باشد (Lekshmy et al., 2015).

وزن ویژه برگ

وزن ویژه برگ گیاه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهم‌کنش مدت‌زمان غرقاب و کود نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲) و با افزایش مدت تنش غرقاب تغییرات وزن ویژه برگ بسته به کاربرد کود متفاوت بود، به عبارت دیگر اختلاف معنی‌داری بین وزن مخصوص برگ در شرایط دو روز غرقاب و کاربرد کود و

جدول ۲. منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات صفات مورفولوژیک، عدد کلروفیل متر و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه استویا در محیط کنترل شده.

Table 2. Source of variations, degree of freedoms and mean squares of the morphological parameters, relative chlorophyll content and shoots dry weight of Stevia plant under controlled condition

Source of deviation	درجه آزادی df	وزن خشک Dry weight		عدد کلروفیل متر Chlorophyll meter number	شاخه جانبی Lateral shoot	وزن ویژه برگ SLW	درصد برگ Leaf percentage	ارتفاع Height
		ساقه Stem	برگ Leaf					
سطح غرقاب	3	452**	369**	906**	411**	81.4**	102**	406**
Waterlogging level								
مدت غرقاب	1	10.4*	12.8*	73.06**	49**	13.6*	2.24 ^{ns}	82.2**
Water logging duration								
کود	1	87.7**	11.8**	35.9**	169**	2.96 ^{ns}	84.7 ^{ns}	116**
Fertilizer								
سطح غرقاب*مدت غرقاب	3	22.3**	22.8**	33.4**	10.4**	28.1**	7.57 ^{ns}	68.1**
Waterlogging level*duration								
سطح غرقاب*کود	3	7.97*	18.9**	3.27 ^{ns}	14.1**	7.16*	19.8**	39.6 ^{ns}
Waterlogging level*fertilizer								
مدت غرقاب*کود	1	10.7*	44.9**	33.4*	7.1 ^{ns}	18.1*	79.8**	39 ^{ns}
Waterlogging duration*fertilizer								
خطا	32	-	-	-	-	-	-	-
Error								
ضریب تغییرات (%)	-	8.4	4.17	8.34	7.5	6.4	6.3	4.21
CV (%)								

ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح پنج و یک درصد.

ns, * and **: Not significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳. مقایسه میانگین برهم‌کنش مدت غرقاب و کود نیتروژن بر صفات مورفولوژیک، عدد کلروفیل متر و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه استویا در محیط کنترل شده

Table 3. Mean comparison of water logging duration and Nitrogen fertilizer interaction on morphologic parameter, chlorophyll meter number and shoots dry weight of Stevia plant under controlled condition

مدت زمان غرقاب (روز)	کود نیتروژن fertilizer	وزن مخصوص			وزن خشک (گرم در گیاه) Dry weight (g plant ⁻¹)		
		درصد برگ Leaf percentage	برگ SLW (g/cm ²)	عدد کلروفیل متر Chlorophyll meter number	برگ Leaf	ساقه Stem	اندام هوایی Shoot
2	0	44.9 ^a	0.123 ^{ab}	41.0 ^a	29.8 ^b	35.6 ^b	65.4 ^b
	6‰	41.1 ^b	0.116 ^b	40.1 ^a	28.4 ^b	40.4 ^a	68.9 ^b
4	0	42.5 ^b	0.121 ^{ab}	39.2 ^b	28.5 ^b	36.9 ^b	65.4 ^b
	6‰	44.5 ^a	0.137 ^a	39.5 ^{ab}	32.7 ^a	39.9 ^a	72.6 ^a

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم تفاوت معنی داری ندارند. Means followed by the same letters are not significantly different by the LSD test at 5% probability level.

جدول ۴. مقایسه میانگین برهم‌کنش سطح غرقاب و کود نیتروژن بر صفات مورفولوژیک و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه استویا
Table 4. Mean comparison of water logging levels and Nitrogen fertilizer interaction on morphological parameters and shoots dry weight of Stevia plant

سطح غرقاب (سانتی‌متر)	کود Nitrogen fertilizer	درصد برگ Leaf percentage	وزن مخصوص برگ SLW (g/cm ²)	تعداد شاخه جانبی Lateral shoots	وزن خشک (گرم در گیاه) Dry weight (g plant ⁻¹)	
					برگ Leaf	ساقه Stem
0	0	41.1c	0.094f	19.1f	22.6e	32.5g
	6‰	42.2c	0.108de	21.8e	26.1d	36.1e
-5	0	41.1c	0.142bc	21.1e	24.1e	34.4f
	6‰	41.7c	0.152a	23.5d	27.3d	37.9d
-10	0	42.1c	0.104e	23.6d	26.2d	36.2e
	6‰	42.4c	0.113d	25.5c	29.2c	40.3c
شاهد (بدون غرقاب)	0	50.8a	0.149ab	29.2b	43.6a	42.1b
	6‰	45.6b	0.133c	35.3a	39.6b	46.5a

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم تفاوت معنی داری ندارند. Means followed by the same letters are not significantly different by the LSD test at 5% probability level.

تعداد شاخه جانبی

تعداد شاخه جانبی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهم‌کنش سطح غرقاب و کاربرد کود نیتروژن قرار گرفت (جدول ۲) و در تمامی تیمارهای کودی در هر تیمار تنش غرقاب تعداد شاخه جانبی افزایش یافت (جدول ۴). در شرایط غرقاب کامل، کاربرد کود نیتروژن تعداد شاخه جانبی را ۳۷ درصد نسبت به شاهد کاهش داد، در صورتی که در سطح غرقاب ۱۰-، کاربرد کود منجر به کاهش ۲۸ درصدی تعداد شاخه نسبت به شاهد شد (جدول ۴). با توجه به اینکه کاربرد کود نیتروژن در شرایط بدون تنش باعث افزایش تعداد شاخه در گیاه

استویا می‌شود به نظر می‌رسد کاهش خسارت غرقاب نتیجه اثر مثبت کاربرد کود نیتروژن بر بهبود وضعیت رشد و افزایش تعداد شاخه گیاه استویا در این آزمایش باشد (Bakhshandeh et al., 2016).

بخشنده و همکاران (Bakhshandeh et al., 2016) نیز با بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و زنولیت بر خصوصیات کمی و کیفی استویا در شرایط آب‌وهوای اهواز گزارش کردند که بیش‌ترین تعداد شاخه در بوته در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار تولید شد. همچنین بررسی کاربرد مقادیر مختلف نیتروژن (۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰

تحت تأثیر برهم‌کنش سطح غرقاب و کاربرد کود نیتروژن نیز قرار گرفت و در شرایط غرقاب کامل و کاربرد کود نیتروژن وزن خشک ساقه ۲۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت، در صورتی که در سطح غرقاب ۱۰- سانتی‌متر، کاربرد کود نیتروژن میزان این کاهش را به ۱۴ درصد رساند (جدول ۴). در شرایط محیطی که غرقاب کوتاه‌مدت و طول فصل رشد طولانی است، تغییر فنولوژی گیاه و رکود در طول غرقاب همراه با قدرت بازیافت سریع، یکی از راهکارهای موفق گیاهان برای فرار از تنش است. تحت شرایط آب ماندگی موقتی به دلیل انرژی بر بودن طولیل شدن ساقه برای دسترسی به اکسیژن و کاهش میزان تولید کربوهیدرات تحت شرایط تنش، گیاه با محدودیت انرژی مواجه است و لذا توقف موقتی رشد شاید بهترین استراتژی باشد (Malik et al., 2002). کاهش وزن خشک ساقه در آزمایش حاضر را می‌توان به دلیل کاهش تعداد شاخه‌های فرعی نسبت داد، چنان‌که با کاهش تعداد شاخه‌ی فرعی، از وزن خشک ساقه نیز کاسته شد. در این آزمایش کاربرد کود نیتروژن احتمالاً باعث بهبود فراهمی مواد فتوسنتزی و جبران کاهش وزن خشک ساقه پس از رفع تنش غرقاب شد (Kant et al., 2010).

وزن خشک اندام هوایی: برهم‌کنش مدت غرقاب و کاربرد کود نیتروژن بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بود و در شرایط چهار روز غرقاب، کاربرد کود نیتروژن سبب بهبود چهاردرصدی وزن خشک اندام هوایی نسبت به تیمار عدم دریافت کود شد، در صورتی که در شرایط دو روز غرقاب این بهبود شش درصد بود (جدول ۳). نجفی و همکاران (Najafi et al., 2011) بیان کردند که با کاربرد کود آلی در شرایط تنش غرقابی وزن خشک اندام هوایی آفتاب‌گردان افزایش یافت به طوری که بیشترین وزن خشک اندام هوایی با کاربرد ۳۰ گرم لجن فاضلاب بر کیلوگرم خاک مربوط به تیمار بدون غرقاب و کمترین آن‌ها مربوط به تیمار ۲۲ روز غرقاب و بدون کود آلی بود.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که گیاه استویا با توجه به این که برای اولین بار در شرایط تنش غرقابی مورد کشت قرار گرفت، سازگاری مناسبی به شرایط غرقابی داشت. افزایش مدت و سطح تنش غرقاب هرچند که منجر به کاهش رشد رویشی گیاه استویا شد، ولی مصرف کود نیتروژن منجر به بهبود نسبی و معنی‌دار

کیلوگرم در هکتار) بر رشد و عملکرد استویا نشان داد که تیمارهای ۴۰ و ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار منجر به افزایش معنی‌دار تعداد شاخه و برگ در مقایسه با سطوح دیگر نیتروژن شد (Rashid et al., 2013).

وزن خشک اندام‌های هوایی

وزن خشک برگ: برگ مهم‌ترین اندام اقتصادی گیاه استویا است. برهم‌کنش مدت غرقاب و کاربرد کود نیتروژن بر وزن خشک برگ معنی‌دار بود اما در شرایط دو روز غرقاب تیمار نیتروژن موجب بهبود وزن خشک برگ در مقایسه با تیمار عدم کاربرد کود نشد. در حالی که با افزایش مدت غرقاب از دو روز به چهار روز، کاربرد کود نیتروژن باعث بهبود ۱۴ درصدی وزن خشک برگ نسبت به تیمار عدم کاربرد کود شد (جدول ۳). وزن خشک برگ به طور معنی‌داری تحت تأثیر برهم‌کنش سطح غرقاب و کود نیتروژن قرار گرفت به طوری که کاهش وزن خشک برگ در مقایسه با شاهد در شرایط غرقاب کامل و کاربرد کود نیتروژن ۳۵ درصد بود، در صورتی که با کاهش سطح غرقاب به ۱۰- سانتی‌متر این میزان به ۲۷ درصد کاهش یافت. همچنین در سطح غرقاب ۱۰- سانتی‌متر، کاربرد کود نیتروژن سبب افزایش ۱۱ درصدی وزن خشک برگ نسبت به سطح غرقاب کامل شد، در صورتی که در شرایط عدم کاربرد کود نیتروژن افزایش مربوطه ۱۳/۷ درصد بود (جدول ۴). از نشانه‌های تنش غرقاب در گیاهان، توقف یا کند شدن رشد اندام‌های هوایی است که بلافاصله بعد از تنش رخ می‌دهد. به نظر می‌رسد دلیل عدم رشد در شرایط غرقابی کاهش انتقال مواد تولیدی در برگ‌ها باشد که یکی از عوامل تقلیل فتوسنتز در گیاهانی است که در معرض تنش آب قرار گرفته‌اند. علاوه بر این کمبود اکسیژن و آنوکسی ریشه نیز می‌تواند منجر به توقف رشد برگ و طولیل شدن ساقه شود. به همین دلیل گیاهان در شرایط تنش غرقاب در مقایسه با شرایطی که به خوبی آبیاری می‌شوند، کاهش رشد و کاهش در زیست‌توده تولیدی را نشان می‌دهند (Bailey-seres et al., 2014).

وزن خشک ساقه: برهم‌کنش مدت غرقاب و کاربرد کود نیتروژن بر وزن خشک ساقه معنی‌دار بود و در شرایط دو روز غرقاب کود نیتروژن منجر به بهبود ۱۲ درصدی وزن خشک ساقه در مقایسه با عدم کاربرد آن شد، در صورتی که در شرایط چهار روز غرقاب این افزایش در نتیجه کاربرد نیتروژن هشت درصد بود (جدول ۴). وزن خشک ساقه به طور معنی‌داری

نیترژن شد. با توجه به اینکه وزن خشک برگ در گیاه استویا معادل عملکرد اقتصادی در استویا است، کاربرد کود نیترژن در شرایط غرقاب منجر به بهبود این صفت در گیاه پس از رفع تنش خواهد شد.

صفات مورفولوژیک گیاه در شرایط تنش غرقاب شد. کاربرد کود نیترژن در شرایط غرقاب کامل در مقایسه با عدم کاربرد نیترژن منجر به بهبود ۱۰ درصدی وزن خشک برگ، ۱۴ درصدی ارتفاع و ۱۲ درصدی وزن خشک ساقه و همچنین بهبود تعداد شاخه جانبی نسبت به شرایط عدم کاربرد

منابع

- Alizadeh Sohrabi, A., Sharifi Ashorabadi, A.H., Shrani Rad, A.R., ValadAbadi, H., Abadi Farahani, A., Abas Zadeh, B., 2007. Effect of methods and levels of nitrogen on essential oil yield in summer savory. *Iranian Journal of Medicinal Aromatic Plants*. 23(3), 416- 431. [In Persian with English summary].
- Alizadeh, A., 2005. Water, Soil and Plant Relationship. *Jahad Daneshgahi Mashhad Publication*. 533. [In Persian]
- Angelini, L.G., Martini, A., Passera, B., Tavarini, S., 2018. Cultivation of *Stevia rebaudiana* Bertoni and associated challenges. *Sweeteners: Pharmacology, Biotechnology, and Applications*, springer, pp., 1-52.
- Bailey-Seres, J., Colmer, T.D., 2014. Plant tolerance of flooding stress—recent advances. *Plant, Cell and Environment*. 37(10), 2211-2215.
- Bakhshandeh, A., Gharineh, M., Ebdali, A., Telavat, M., Reis zadeh, M., 2016. The effects of Nitrogen and natural zeolite on *Stevia* in Ahvaz condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 14, 244-254. . [In Persian with English summary].
- Bowles, T.M., Acosta-Martínez, V., Calderón, F., Jackson, L.E., 2014. Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. *Soil Biology and Biochemistry*. 68, 252-262.
- Dabaghian, H., Kamalinejad, F., Shojaii, M., Abdollahi Fard M., Ghushagir, S., 2012. Review of antidiabetic plants in Iranian traditional medicine and their efficacy. *Journal of Medicinal Plants*. 41, 1-11. [In Persian with English summary].
- Fiebig, A., Dodd, I.C. 2016. Inhibition of tomato shoot growth by over-irrigation is linked to nitrogen deficiency and ethylene. *Physiologia Plantarum*, 156(1), 70-83.
- Friedl, J., Scheer, C., Rowlings, D.W., McIntosh, H.V., Strazzabosco, A., Warner, D.I., Grace, P.R. 2016. Denitrification losses from an intensively managed sub-tropical pasture—Impact of soil moisture on the partitioning of N₂ and N₂O emissions. *Soil Biology and Biochemistry*. 92, 58-66.
- Ghorbanli, M., Niakan., M., 2007. The effects of drought stress on soluble sugars, proteins, proline and reductase activity in Soybean. *Science Journal of Tarbiat Moalem University*. 5(1,2), 537-550.
- Hasanuzzaman, M., Ahamed, K.U., Rahmatullah, N.M., Akhter, N., Nahar, K., Rahman, M.L. 2010. Plant growth characters and productivity of wetland rice (*Oryza sativa* L.) as affected by application of different manures. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 22, 46-55
- Hodgson, A.S., 1982. Effect of duration, timing and chemical amelioration of short term waterlogging during furrow. *Agriculture Research*. 23, 1019-1028.
- Hoogenboom, G., Peterson C.M., Huck M.G., 1987. Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal*, 79, 598-607.
- Kant, S., Bi, Y.M., Rothstein, S.J., 2010. Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency. *Journal of Experimental Botany*. 62, 1499-1509.
- Kheyrandish, A., Roshdi, M., Yusef zadeh, S., 2016. Drought stress effect and nitrogen fertilizer on quantity and quality of *Dracocephalum moldavica* L. *Journal of Crop Production*. 9(1), 109-125. . [In Persian with English summary].
- Kinghorn, A.D., Kim, N.C., 2002. Highly sweet compounds of plant origin. *Archives of Pharmacy and Research*. 25, 725-746.

- Kuai, J., Zhou, Z., Wang, Y., Meng, Y., Chen, B., Zhao, W., 2015. The effects of short-term waterlogging on the lint yield and yield components of cotton with respect to boll position. *European Journal of Agronomy*. 67, 61-74.
- Lekshmy, S., Jha, S.K., Sairam, R.K., 2015. Physiological and molecular mechanisms of flooding tolerance in plants. In *Elucidation of Abiotic Stress Signaling in Plants*. Springer New York, 227-242.
- Liu, X., Ren, G., Shi, Y., 2011. The effect of organic manure and chemical fertilizer on growth and development of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Energy Procedia*. 5, 1200-1204.
- Lu, Q., Zhou, W., Min, M., Ma, X., Ma, Y., Chen, P., Urriola, P.E., 2016. Mitigating ammonia nitrogen deficiency in dairy waste waters for algae cultivation. *Bioresource Technology*. 201, 33-40.
- Malik, A.I., Colmer, T.D., Lambers, H., Setter, T.L., Schortemeyer, M., 2002. Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. *New Phytologist*. 153(2), 225-236.
- Mejia, M.N., Madramootoo, C.A., Broughhton, R.S., 2000. Influence of water table management on corn and soybean yields. *Agriculture Water Management*. 46, 73-89.
- Najafi, N., Mardomi, S., 2012. The Effects of waterlogging, sewage sludge and manure on the growth characteristics of sunflower in a sandy loam soil. *Journal of Water and Soil*. 25, 1266-1274.
- Peterson, L.J., Flood, P.M., 2012. Oxidative stress and microglial cells in Parkinson's disease. *Mediators of Inflammation*. 2012, 1-12.
- Rashid, Z., Rashid, M., Inamullah, S., Rasool, S., Bahar F., 2013. Effect of different levels of farmyard manure and nitrogen on the yield and nitrogen uptake by stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *African Journal of Agricultural Research*. 8(29), 3941-3945.
- Sakakibara, H., Takei, K., Hirose, N., 2006. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science*. 9, 440-448.
- Savita, S., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A., Ramakrishna, P. 2004. *Stevia rebaudiana* – A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*. 15, 261-264.
- Sharma, S., Walia, S., Singh, B., Kumar, R., 2016. Comprehensive review on agro technologies of low-calorie natural sweetener stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): a boon to diabetic patients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96(6), 1867-1879.
- Siddique, A.B., Rahman, S.M., Hossain, M.A., 2016. Chemical composition of essential oil by different extraction methods and fatty acid analysis of the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Arabian Journal of Chemistry*. 9, S1185-S1189.
- Tiryakioglu, M., Karanlik, S., Arslan, M., 2015. Response of bread-wheat seedlings to waterlogging stress. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 39(5), 807-816.