DOI: 10.22059/ijswr.2019.276885.668137 تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۱، شماره ۲، اردیبهشت ۱۳۹۹ (ص ۲۹۵-۲۸۱)

Effect of Silicon Sources and Nano Silicon on Some Morphophysiologic Response of *Stevia rebaudiana* Bertoni

REZA MALMIR[1], BABAK MOTESHAREZADEH[2*], LEYLA TABRIZI[3] AND FARZANEH BEKHRADI[4]

1. Soil Science Department, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Horticultural Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Managing Director of Sepahan Rooyesh Company, Isfahan, Iran

(Received: July. 10, 2019- Revised: Sep. 24, 2019- Accepted: Oct. 2, 2019)

ABSTRACT

One of the ways to improve the food security of a growing population of the world is to increase the amount of production per unit area. Some of the nutrient elements such as silicon not only increase nutrient use efficiency but also increment product quality. In this research, the effects of various sources of silicon included Potassium silicate, Calcium silicate, Humistar Si in two levels 200 and 400 mg/kg and Nano-silicon in two levels 50 and 100 mg/kg and Control treatment on morphophysiological responses of the herb of the stevia plant were examined. After three months, the plants were harvested and fresh and dry weight of shoot and root, height and diameter of the shoot, root volume and leaf area as morphophysiological indices of the plant, and leaf chlorophyll, the concentration of silicon, phosphorus, potassium in the shoots, and Glycosides in the stevia leaf, including Stevioside, Rebaudioside A and B were measured. The results showed the effects of silicon sources on the fresh and dry weight of shoot and root, height of shoot, root volume, stem diameter, leaf area and leaf chlorophyll index were significant. The treatments of calcium silicate-200, Nanosilicon-100, and Humistar silicon-200 yielded the highest fresh weight of the shoot compared to the control samples and Nanosilicon-100 led to an increase of 55, 64, and 35% of mentioned elements compared to the control treatment. The treatment of Humistar silicon-400 showed the highest amounts of Stevioside (5.23%), Rebaudioside A (0.67%). Considering the effectiveness of the use of silicon element on morpho-physiological and nutritional responses, and improving the quality of Stevioside and Rebaudioside sugars, it is recommended that along with the optimal use of nutrients, more attention should be paid to the role of this valuable element.

Keywords: Stevia medicinal herb, Silicon, Morpho-physiological, Essential elements, Secondary metabolites.

*Corresponding author's Email: moteshare@ut.ac.ir

تأثیر منابع مختلف سیلیسیم و نانو سیلیسیم بر برخی پاسخ‌های مورفو فیزیولوژیکی گیاه استویا ***rebaudiana*** **(*Stevia* Bertoni)**

رضا مالمیر[۱]، بابک متشرع زاده[۱*]، لیلا تبریزی[۲] و فرزانه بخردی[۳]

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲. گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه تهران، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۳. مدیر عامل شرکت سپاهان رویش، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۹- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۷/۲- تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۷/۱۰)

چکیده

یکی از راهکارهای بهبود امنیت غذایی جمعیت رو به افزایش جهان، افزایش مقدار تولید در واحد سطح است. برخی عناصر غذایی نظیر سیلیسیم ضمن بهبود کارایی جذب سایر عناصر، کیفیت تولید را نیز افزایش می‌دهند. در این پژوهش، تأثیر منابع مختلف سیلیسیم شامل سیلیکات پتاسیم در دو سطح ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سیلیکات کلسیم در دو سطح ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، هیومیستار سیلیسیم در دو سطح ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، نانو سیلیسیم در دو سطح ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار شاهد بر پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه دارویی استویا بررسی شد. پس از سه ماه دوره کاشت و داشت، گیاهان برداشت و ویژگی‌های وزن‌تر و خشک ساقه و وزن‌تر و خشک‌ریشه، ارتفاع و قطر ساقه، حجم ریشه و سطح برگ به‌عنوان شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه، کلروفیل برگ و همچنین غلظت عناصر سیلیسیم، فسفر، پتاسیم در ساقه گیاه، و همچنین گلیکوزیدهای موجود در برگ استویا، شامل استویوزاید، ریبودیوزاید A و B اندازه‌گیری شد. نتایج حاکی از اثر معنی‌دار کاربرد سیلیسیم بر وزن‌تر و خشک ساقه و ریشه، ارتفاع ساقه، حجم ریشه، قطر ساقه، سطح برگ و شاخص کلروفیل برگ بود. کاربرد تیمارهای ۲۰۰ سیلیکات کلسیم و ۱۰۰ نانو سیلیسیم و ۲۰۰ هیومیستار سیلیسیم بیش‌ترین وزن‌تر ساقه را نسبت به شاهد حاصل کرد و تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به ترتیب سبب افزایش ۵۵، ۶۴ و ۳۵ درصدی عناصر ذکرشده در مقایسه با تیمار شاهد شد. تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم بیش‌ترین درصد استویوزاید (۵/۲۳)، ریبودیوزاید A با (۰/۶۷) را نشان دادند. با توجه به اثربخشی کاربرد عنصر سیلیسیم بر پاسخ‌های مورفوفیزیولوژی، تغذیه‌ای و بهبود کیفیت قندهای استویوزاید و ریبودیوزاید، توصیه می‌شود در کنار مصرف بهینه عناصر غذایی به نقش این عنصر ارزشمند به‌ویژه به‌عنوان یک عنصر ضد تنش، توجه بیشتری معطوف گردد.

واژه‌های کلیدی: گیاه دارویی استویا، سیلیسیم، ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی، عناصر ضروری، متابولیت‌های ثانویه.

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی در تأمین سلامت جامعه از جایگاه خاصی برخوردارند. تنوع شرایط آب و هوایی ایران و قدمت استفاده از گیاهان دارویی در فرهنگ مردم کشورمان، توجه پژوهشگران و مراکز تحقیقاتی را بیش‌ازپیش به بهره‌برداری مناسب از این گیاهان ارزشمند به خود اختصاص داده است (Dini and Babakhanlou, 2003). استویا یکی از ۲۴۰ گونه خانواده کاسنیان[۱] است. این گیاه بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری غربی آمریکای شمالی تا آمریکای جنوبی است. گونه‌های استویا که عموماً با نام برگ شیرین، برگ قندی، برگ عسلی و یا به‌طور ساده استویا شناخته‌شده‌اند، به جهت استفاده از برگ شیرین‌شان به‌طور وسیعی کاشته می‌شوند. ماده شیرین‌کننده استویا که به استویوزاید معروف است کالری‌زا نیست و در سیستم گوارش جذب نمی‌شود، ازاین‌رو برای افراد مبتلا به بیماری دیابت و نیز افراد چاق مناسب است(Pawar *et al*., 2013). قند این گیاه عامل پوسیدگی دندان نمی‌باشد و همین‌طور می‌توان از آن به‌عنوان جایگزین دارو برای درمان افراد مبتلا به دیابت استفاده کرد، زیرا فاقد خواص شیمیایی مضری است که در نیشکر

* نویسنده مسئول: moteshare@ut.ac.ir

1. Asteraceae

و چغندر وجود دارد(Renwick, 2008). برخی مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که گلیکوزیدهای موجود در برگ استویا ازجمله استویوزاید و ریبودیوزاید A و ترکیبات متابولیکی آن‌ها علاوه بر شیرین‌کنندگی، دارای خواص درمانی نیز می‌باشند (Pawar *et al*., 2013). استفاده بهینه از ترکیبات کودی و بهره‌مندی گیاه از اثرات عناصر غذایی ضروری و مفید نسبت به عدم استفاده آن، سبب رشد بهتر استویا و عملکرد برگ خشک‌شده است (Utumi *et al*., 1999). پیوستگی زیادی بین مصرف عناصر غذایی با تجمع استویوزاید در گیاه وجود دارد، اگرچه نیاز گیاه به عناصر کم‌مصرف کمتر از عناصر پرمصرف است، اما این عناصر نقش مهمی در کیفیت محصولات دارند (sheu *et al*., 1987).

سیلیسیم دومین عنصر فـراوان در سـطح کره زمین و یکی از عناصر غذایی مفید در رشد و سلامت گیاهان است (Datnoff *et al*., 2001). سیلیسیم سبب مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزنده از جمله تنش آب‌وهوا، کمبود آب، شوری، فلزات سنگین (آهن، آلومینیم، منگنز) و کمبود فسفر و همچنین تنش‌های زنده از جمله کپک پودری، آسیب آفات نظیر کرم ساقه خوار و زنجیرک، آسیب حشرات موذی برنج مثل ملخ، بلاست و سوختگی غلاف برنج، می‌شود. همچنین علاوه بر نقشی که در کنترل تنش‌ها دارد، با تقویت دیواره سلولی، برافراشته نگاه‌داشتن گیاه، افزایش سطح برگ، افزایش رشد جوانه‌زنی ریشه و کاهش نابسامانی‌های فیزیولوژیک مانند کج شدن ساقه گیاه و گردن گل، سبب افزایش عملکرد گیاهان می‌شود. گیاهان در برابر جذب و تجمع سیلیسیم، به سه دسته‌ی انباشتگر فعال، غیرفعال و گیاهان طرد کننده‌ی سیلیسیم گروه‌بندی می‌شوند (Datnoff *et al*., 2001). گروه گیاهان انباشت‌کننده سیلیسیم، میزان جذب سیلیسیم در آن‌ها، به میزان زیادی بیشتر از جذب آب است و گروه گیاهان غیر انباشت کننده، میزان جذب سیلیسیم در این گیاهان همانند یا کمتر از آب است (Epstein, 1999). خانواده‌ی دولپه‌ای فابیاسه، کوکوربیتاسه و استراسه آ حاوی تجمع‌گر سیلیسیم می‌باشند. استویا از خانواده‌ی استراسه آ است. با علم به اهمیت کاشت گیاه استویا و همچنین نقش سیلیسیم در عملکرد گیاهان، این پژوهش باهدف بررسی تأثیر سیلیسیم از منابع مختلف بر خصوصیات مورفو-فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای گیاه دارویی استویا در شرایط گلخانه‌ای اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، ابتدا خاک مناسب برای کشت استویا (Goyal *et al*., 2010) از منطقه‌ای واقع در شهرستان آبیک استان قزوین با موقعیت ۴۵ درجه و ۱۲ دقیقه و ۱۴ ثانیه طول جغرافیایی و ۳۹ درجه و ۸۹ دقیقه و ۷۲۲ ثانیه عرض جغرافیایی، ۱۲۳۰ متر ارتفاع از سطح دریا، ۲۷۴ میلی‌متر بارندگی سالانه و متوسط دمای سالیانه ۱۳/۴ درجه سانتی‌گراد، به روش نمونه‌برداری مرکب، تهیه گردید.

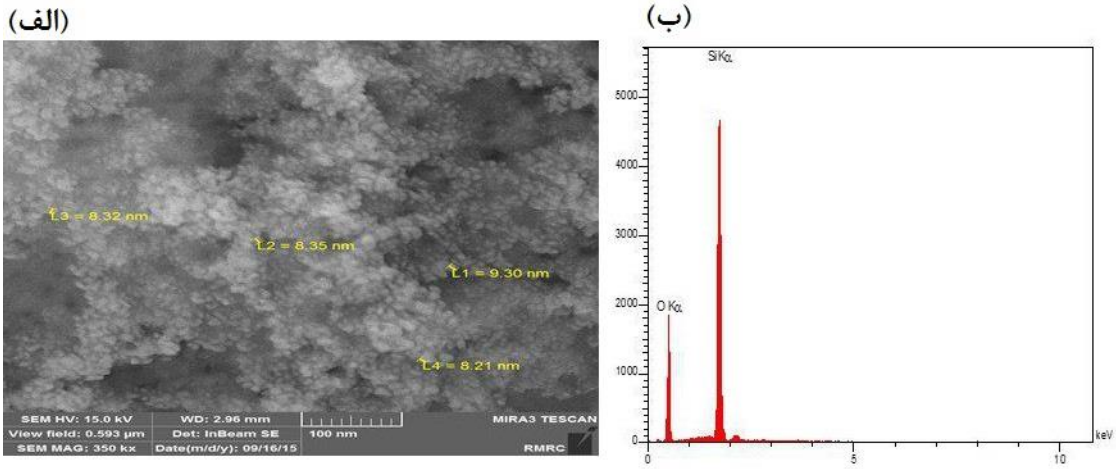
پس از آماده‌سازی خاک، برخی خصوصیات مختلف فیزیکی و شیمیایی شامل pH و EC (Sparks, 1996)، بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، درصد رطوبت اشباع خاک (Rhoades, 1996)، جرم مخصوص ظاهری خاک (Grossman and Reinsch, 2002)، کربنات کلسیم معادل خاک (Spark, 1996)، ظرفیت تبادل کاتیونی (Sumner and Miller, 1996)، کربن آلی و ماده آلی خاک (Nelson and Sommers, 1996)، فسفر قابل‌جذب خاک به روش اولسن (Olsen and Sommer, 1982)، پتاسیم قابل‌جذب خاک با دستگاه فلیم فتومتر (Helmke and Sparks, 1996)، سیلیسیم قابل‌جذب خاک (Mckeague and Day, 1996) با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. گلدان‌های ۴ کیلوگرمی (با ویژگی‌های قطر ۱۵و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر) با خاکی که از الک ۴ میلی‌متری عبور داده‌شده بود پر شدند و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، انکوباسیون شدند. بافت خاک Sandy Loam بود که با توجه به منابع بهترین نوع خاک جهت کشت گیاه دارویی استویا هست (Goyal *et al*., 2010). نشاهای گیاه استویا با شرایط یکسان (طول متوسط ۸ تا ۱۰ سانتی‌متر و وزن یکسان) داخل گلدان‌ها کشت شدند. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی[1] پایه‌ریزی شد. تیمارها شامل نانو کود سیلیسیم در دو غلظت ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه شاهد، و سایر تیمارها عبارت‌اند از کودهای حاوی سیلیسیم از جمله سیلیکات پتاسیم ، سیلیکات کلسیم و هیومیستار سیلیسیم هرکدام در دو غلظت ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه شد و به همراه شاهد و مجموعاً ۹ تیمار، در ۳ تکرار و تعداد ۲۷ گلدان در محیط اتاقک رشد انجام شد. نیتروژن مورد نیاز نیز از کود یارا میلا تامین شد. مشخصات کود و مواد شیمیایی مورداستفاده به‌شرح زیر بود:

ترکیبات کود هیومیستار سیلیسیم حاوی ۷ درصد وزنی- حجمی سیلیسیم و ۳/۹ درصد وزنی- حجمی پتاسیم.

ترکیبات نانو سیلیسیم: برای اطمینان از اندازه ذرات نانو، تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف پراش پرتوایکس از آزمایشگاه پژوهشکده رازی تهیه شد (شکل ۳-۱) و دارای مشخصات زیر است.

اندازه ذرات: کمتر از ۱۰ نانومتر و درصد خلوص: ۹۹ با سطح‌فعال (m^2/g): ۴۶۰

1. RCBD= Randomized Complete Block Designe



شکل ۱- الف-نمونه میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانو سیلیسیم مورداستفاده در پژوهش. ب-طیف پراش انرژی پرتوایکس (EDS)

ترکیبات کود سیلیکات پتاسیم مایع حاوی سیلیسیم : SiO_2 ۶۰ گرم وزنی، پتاسیم K_2O :۷۸ گرم وزنی

ترکیبات جامد سیلیکات کلسیم حاوی سیلیسیمSiO_2 : ۳۴ گرم وزنی، کلسیم CaO :۱۱۲ گرم وزنی و درصد خلوص: ۹۸٪

در طول ۹۰ روز استقرار گیاه در اتاقک رشد، میانگین دمای ۲۵ درجه سلسیوس و نسبت طول روز به شب ۱۴ به ۱۰ ساعت و رطوبت نسبی ۷۰ درصد تنظیم شد (Ramesh *et al.*, 2006). آبیاری گلدان‌ها هرروز یک‌بار و بر اساس نیاز گیاه به آب، در مراحل رشد با توجه منبع (Goenadi *et al.*, 1983)، به‌صورت یکسان برای تمامی گلدان‌ها انجام گرفت. کمبود عناصر غذایی خاک توسط مشخصات اولیه خاک (جدول ۴-۱) به‌دست‌آمده، شناسایی و در هفته‌های ابتدایی کشت رفع نیاز صورت گرفت. ابتدا با توجه کمبود عناصر پرمصرف اولیه، کود N-P-K شرکت یارا میلا (با نسبت کودی ۱۲ درصد N، ۱۱ درصد P_2O_5، ۱۸ درصد K_2O_5) بر اساس نتایج آزمون خاک به گلدان‌ها داده شد. نانو سیلیسیم ابتدا در کوره در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و سپس ۲۰ دقیقه بر روی همزن برقی و ۳۰ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک با توان ۲۰۰ وات و دوره تناوب ۰/۵ قرار داده شد و بعد از آن به مقدار لازم برای گلدان‌های آن تیمار در آب آبیاری روزانه حل شد و با پیپت به‌صورت لایه‌ای و ترکیب با خاک گلدان صورت گرفت (Schimel and Holden., 2011). کود هیومیستار سیلیسیم، سیلیکات پتاسیم، سیلیکات کلسیم، در ۸ مرحله به‌صورت ترکیب با نیاز آبی به تیمارهای کودی طبق طرح آزمایش اضافه شدند. به‌منظور مشاهده اثر سیلیسیم به شکل عنصر (SiO_2) بر روی تیمارهای ذکرشده، سعی بر آن شد تا تیمارها یکسان‌سازی شوند و تنها وجه تمایز آن‌ها دریافت سیلسیم دی اکساید از منبع مختلف باشد.

در پایان دوره ۹۰ روزه، با توجه به منابع (Madan *et al*, 2010 and Ramesh *et al.*, 2006) خصوصیات رشدی و مورفولوژیکی گیاه ازجمله ارتفاع ساقه گیاه با خط‌کش فلزی آزمایشگاهی با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

وزن‌تر و خشک ساقه و ریشه گیاه به‌وسیله ترازوی دیجیتالی (AND SCALE FX300I) کالیبره شده با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد، سپس درون پاکت‌های کاغذی کرافت قرار گرفت و در آون (فن آزما گسترسری ۱۹۱۲۰، ساخت ایران با دقت ۰±/۲) در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شد و جهت اندازه‌گیری وزن خشک ساقه گیاه توسط ترازوی دیجیتالی با دقت مجدداً وزن شد، قطر ساقه به‌وسیله کولیس دیجیتالی، حجم ریشه از روی اختلاف آب بالاآمده براثر جابجا شدن آب پس از غوطه‌ور ساختن ریشه‌ها در آب توسط یک استوانه مدرج ۱۰۰۰ سی‌سی (درجه A، با دقت ±۰/۵ مدل Isolab، ساخت کشور آلمان) به روش تغییر حجمی آب طبق قانون ارشمیدس برحسب میلی‌متر برآورد گردید (Sojka., 1998)، سطح برگ در هنگام برداشت ساقه، کلیه پهنک‌های برگ از ساقه جدا و پس از تعیین وزن‌تر، سطح آن‌ها با استفاده از دستگاه تعیین سطح برگ مدل Leaf Area Meter CI-202 اندازه‌گیری شد. شاخص کلروفیل برگ (SPAD۱) توسط دستگاه کلروفیل متر SPAD-502 (مدل مینولتا۲-ساخت ژاپن) بدون تخریب بافت‌های گیاهی برگ اندازه‌گیری شد. بدین منظور در زمان گلدهی به‌طور متوسط سه برگ تصادفی انتخاب گردید و از نقطه میانی آن میزان کلروفیل برگ اندازه‌گیری شد.

برای تهیه عصاره گیاهی جهت تجزیه ساقه گیاه از روش

1. Soil and Plant Analysis Development
2. Minolta

سوزاندن خشک[1] و سپس ترکیب با HCl یک نرمال استفاده شد (Cottenie *et al*., 1980). غلظت پتاسیم اندام هوایی در عصاره تهیه‌شده به روش هضم خشک تعیین گردید (Ryan *et al*., 2001). برای اندازه‌گیری فسفر از روش زرد (مولیبدو وانادات) استفاده شد (Kuo., 1996). غلظت سیلیسیم موجود در گیاه با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد(Elliott and Snyder., 1991) . ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه پودر شده بخش هوایی گیاه درون ظرف پلی‌اتیلن ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک یک مولار و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فلوئوریدریک ۲/۳ مولار به آن اضافه گردید. بعد به مدت ۱۵ ساعت در تکان‌دهنده برقی با سرعت ۱۸۰ دور بر دقیقه تکان داده شد و سپس مخلوط به‌دست‌آمده با استفاده از کاغذ واتمن ۴۱ صاف شد. لازم به ذکر است به دلیل اینکه اسید فلوئوریدریک شیشه راحل می‌کند، بایستی تمام ظروف مورد استفاده از جنس پلاستیک یا پلی‌اتیلن باشند. در مرحله بعد یک میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده را داخل لوله‌آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از افزودن سه میلی‌لیتر اسید بوریک ۲/۵ درصد، با وارونه کردن لوله، مواد داخل آن به‌خوبی مخلوط شد. بعد یک میلی‌لیتر محلول مولیبدات آمونیوم به آن اضافه گردید و محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در حالت ثابت قرار گرفت. در مرحله بعد نیم میلی‌لیتر محلول اسید تارتاریک ۲۰ درصد و سپس نیم میلی‌لیتر محلول احیاکننده به آن اضافه شد. پس از گذشت نیم ساعت، اندازه‌گیری با استفاده از اسپکتروفتومتر Shimadzu UV- 3100 و قرائت جذب در طول‌موج ۶۵۰ نانومتر انجام شد.

برای اندازه‌گیری و شناسایی ماده مؤثر گیاهی، عصاره‌گیری بر اساس روش (Kolb *et al*., 2001) و اندازه‌گیری گلیکوزیدهای استویا بر اساس گزارش (Woelwer-Rieck *et al*., 2010) صورت گرفت. برای عصاره‌گیری ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از پودر خشک گیاه برداشته و در مقدار ۵۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰ درصد و به مدت ۳۰ دقیقه با ۱۴۵ دور در دقیقه و با استفاده از دستگاه شیکر بن ماری استخراج انجام گرفت. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن ۱ صاف شد و محلول زیری برای آنالیز با HPLC مورداستفاده قرار گرفت. محلول استخراج‌شده از پالایه سرنگ ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد تا مواد جامد و زائد موجود در آن گرفته شود. برای کروماتوگرافی گلیکوزیدهای استویول از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مدل KNAURE 1001 با ستون NH2 (Lichrospher 100)، طول ستون ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ستون ۰/۴۶ سانتی‌متر، دتکتورKnauer k2501:210 nm، سرعت جریان 1 ml/min، و فاز آب- استونیتریل (۲۰ به ۸۰) بود که pH آن به‌وسیله فسفریک اسید روی ۳ تنظیم شد و از استویوزاید ۹۵ درصد و ریبودیوزاید ۹۸ درصد شرکت سیگما به‌عنوان استاندارد استفاده شد. در این روش استاندارد ریبودیوزاید A با رقت ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر به دستگاه تزریق شد و با توجه به سطح زیر پیک به‌دست‌آمده درصد مقادیر دیگر گلیکوزیدهای موردنظر در گیاه طبق روش زیر محاسبه شدند.

$$\% \text{ rebaudioside A} = [Ws/W] \times [Aa/As] \times 100$$
$$\% \text{ stevioside} = [Ws/W] \times Ast \times [0.83/As] \times 100$$
$$\% \text{ rebaudioside C} = [Ws/W] \times Ac \times [0.98/As] \times 100$$

در معادلات فوق، Ws = مقدار وزن استاندارد rebaudioside A (برحسب میلی‌گرم) در محلول استاندارد؛ W= مقدار وزن نمونه؛ AS= سطح زیر پیک استاندارد rebaudioside A؛ Aa= سطح زیر پیک rebaudioside A در نمونه مجهول؛ Ast= سطح زیر پیک stevioside در نمونه؛ Ac= سطح زیر پیک rebaudioside C در نمونه هستند.

آنالیز تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹,۴ انجام گردید. از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) برای بررسی تفاوت تیمارهای مختلف استفاده‌شده و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها به کار گرفته شد.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

با توجه به گزارش گویال و همکاران (۲۰۱۰)، بهترین خاک مطلوب برای کشت گیاه استویا خاک لومی- شنی[2] معرفی و همچنین توصیه‌شده که از کشت این گیاه در خاک شور اجتناب شود. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به‌کاربرده شده در جدول (۱) ارائه‌شده است.

جدول ۱. برخی خصوصیات مهم فیزیکی و شیمیایی خاک

ویژگی خاک	مقدار
اسیدیته فعال (1:1)	۷/۸
قابلیت هدایت الکتریکی(dS m^{-1}) (1:1)	۰/۴
ظرفیت تبادل کاتیونی(Cmolc kg^{-1})	۱۷/۴
ماده آلی(%)	۰/۳۱
کربن آلی(%)	۰/۱۸
شن (٪)	۷۳/۴
سیلت (٪)	۱۷/۴
رس (٪)	۹/۲
بافت	لومی شنی
نیتروژن کل (٪)	۰/۰۲۱
فسفر (mg/kg)	۵
پتاسیم (mg/kg)	۱۱۵/۳
سیلیسیم (mg/kg)	۲۵۲/۱۶۸
چگالی ظاهری خاک (g cm^{-3})	۱/۸
کربنات کلسیم(%) معادل	۱۱
رطوبت اشباع (٪)	۲۷/۱

1. Dry ashing

2. Sandy Loam

بر اساس نتایج جدول (۱) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک موردمطالعه ازجمله بافت خاک و قابلیت هدایت الکتریکی، برای کشت گیاه استویا مناسب بود. بهترین pH برای کشت استویا در محدوده ۶/۵ تا ۸ است، که خاک مورد استفاده در نزدیکی این محدوده قرار گرفت. ظرفیت تبادل کاتیونی خاک، برای خاک موردمطالعه در مقدار مطلوبی به سر برد. با توجه به نتایج، کمبود عناصر پرمصرف اولیه در خاک مورد آزمایش وجود داشت و عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم خاک در حد بحرانی بودند که جهت تأمین کمبود اشاره‌شده، در ابتدای دوره کاشت و بر اساس میزان نیاز و با توجه به نتایج تجزیه خاک، به‌تمامی گلدان‌ها حدود ۰/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم خاک، از کود N-P-K شرکت یارا میلا به شکل $N-P_2O_5-K_2O$ به ترتیب با مشخصات کودی عناصر ۱۲، ۸، ۱۸ درصد داده شد. بر اساس نتایج حاصل از میکروسکپ الکترونی، ابعاد ذرات سیلیسیم مورداستفاده زیر ۱۰۰ نانومتر بوده و امکان جذب توسط گیاه و عبور از غشای سلولی فراهم است (Fernández and Brown., 2013).

نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای سیلیسیمی بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه

در جدول۲ نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تیمارها بر وزن‌تر و خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع و قطر ساقه، حجم ریشه، سطح برگ و کلروفیل برگ نشان داده‌شده است. در تمامی تیمارها برای این صفات اختلاف بسیار معنی‌دار($p<0.01$) وجود دارد و فقط برای صفت وزن خشک‌ریشه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

جدول۲. نتایج تجزیه واریانس اثر سیلیسیم، بر خصوصیات مورفو-فیزیولوژیکی گیاه استویا

		میانگین مربعات							
منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	ارتفاع ساقه	قطر ساقه	سطح برگ	کلروفیل برگ
تیمار	۸	۱۸۲/۵۱۲۲**	۶/۶۲۴۳**	۵۷/۳۹۳۳**	۵/۲۹۱۶*	۴۹/۰۲۰۲**	۴۳۳/۲۹۷۸**	۱/۸۷۲۸**	۱۳۶۳۵۹/۶۴۴**	۱۳۴/۲۳**
خطا	۱۸	۱۵/۰۶۰۲	۲/۳۶۸۷	۱۲/۵۰۱۴	۲/۴۵۷۷	۷/۱۶	۶۳/۲۲	۰/۲۸۰۹	۴۸۳۸/۰۸۹	۳۳/۸۶
ضریب تغییرات		۱۷/۶۷	۳۳/۱۳	۱۶/۲۴	۲۴/۹۲	۱۴/۲۹	۲۹/۳۴	۱۹/۴۰	۱۷/۴۵	۱۳/۵۴

* معنی‌داری در سطح ۵ درصد و ** معنی‌داری در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهد

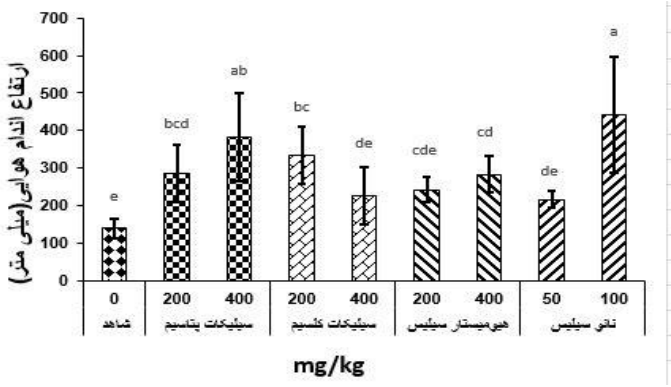
ارتفاع اندام هوایی

نتایج آزمایش نشان داد کاربرد سیلیسیم از منابع مختلف باعث افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) ارتفاع ساقه شد و بیانگر اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است، به‌طوری‌که بیش‌ترین ارتفاع ساقه مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و سپس تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم بود. همچنین بین مصرف سیلیسیم به‌صورت نانو و منبع سیلیکات پتاسیم اختلاف معنی‌دار ولی اندک مشاهده شد و کم-ترین مقدار به تیمار شاهد اختصاص داشت (جدول ۲ و شکل ۲). عدم معنی‌داری بین تیمارهای ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمارها، بیانگر این است که تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در کنار تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیس نتایج بهتری را نشان می‌دهد. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، کاربرد سیلیسیم از منابع نانو سیلیسیم (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سیلیکات پتاسیم (۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث افزایش ارتفاع ساقه گیاه شد. مصرف سیلیسیم از منبع نانو نسبت به سیلیکات پتاسیم نتایج تقریباً یکسان را نشان داد. سیلیسیم باعث افزایش رشد گیاهچه می‌شود و عملکرد را افزایش می‌دهد و همچنین موجب کاهش نابسامانی‌های فیزیولوژیک مثل کج شدن ساقه گیاه می‌شود و همچنین کاربرد سیلیسیم به علت نفوذ به داخل دیواره سلولی و بهتر شدن ساختار دیواره گیاه و فراهمی عناصر مؤثر در رشد سبب افزایش رشد گیاه استویا می‌شود (Datnoff *et al*., 2001). نتایج مشابه متعددی برافزایش ارتفاع ساقه گیاه درنتیجه کاربرد سیلیسیم توسط سایر پژوهشگران چون (Kamenidou *et al*., 2010، Chalmardi *et al*., 2014 ،Kafi and Rahimi., 2011) گزارش شد. بر اساس نتایج مذکور به نظر می‌رسد بین منابع مختلف سیلیسیم اعم از نانو، سیلیکات پتاسیم و کلسیم، تفاوت وجود دارد. با توجه به کاهش وزن ماده تر گیاهی در تیمار ۴۰۰ سیلیکات کلسیم، به نظر می‌رسد این ترکیب و غلظت احتمالا باعث ایجاد شوری برای گیاه و افزایش تنش شده است (شکل ۳). می‌توان استنتاج کرد احتمالا حلالیت این ترکیب به عنوان ماده کودی مناسب گیاه نیست. ضمن آنکه اصولا در تحقیق حاضر این ترکیب شیمیایی در مقایسه با سایر ترکیبات نانو و سیلیکات پتاسیم مقایسه شد و انحلال سیلیکات کلسیم از سیلیکات پتاسیم کمتر است لذا اثر بخشی آن نیز می‌تواند کمتر باشد.

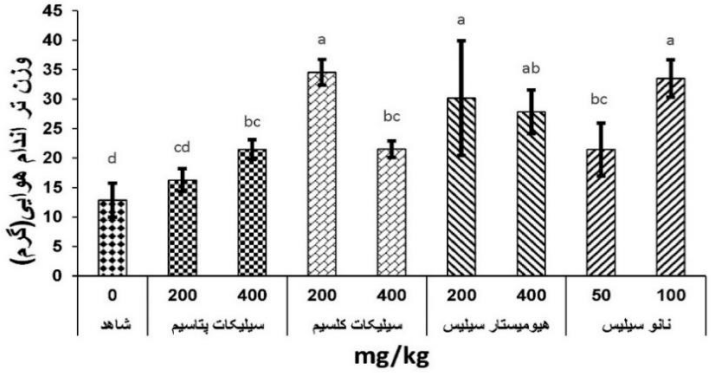
وزن‌تر اندام هوایی

بررسی منابع مختلف سیلیسیم موجب افزایش معنی‌دار وزن‌تر

ساقه (در سطح ۵ درصد) نسبت به حالت شاهد گردید و همچنین نشان از اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار می‌دهد (جدول ۲، شکل۳). بیش‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم و بعدازآن ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و ۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم به‌ترتیب با میانگین ۳۴/۵ و ۳۳/۴ و ۳۰/۱۵ گرم بود. همچنین مصرف سیلیسیم به‌صورت نانو و منبع سیلیکات کلسیم اختلاف معناداری مشاهده نشد و کم‌ترین تیمار به شاهد با میانگین ۱۲/۸ گرم اختصاص داشت. کاربرد سیلیسیم به سبب افزایش زیست-توده و تحریک رشد گیاهچه سبب افزایش وزنی ساقه گیاه شد (Heckman., 2013). تأثیر مطلوب تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به علت اندازه کوچک‌تر نانو ذرات (کوچک‌تر از ۱۰ نانومتر) است. نتایج مشابه دیگری توسط (Zhao *et al.*, 2013، Kafi and Rahimi., 2011، Haghighi *et al.*, 2012، Azizi *et al.*, 2016، Mehrabanjoubani *et al.*, 2015) گزارش شد. با توجه به کاهش وزن ماده تر گیاهی در تیمار ۴۰۰ سیلیکات کلسیم، دلایل احتمالی نظیر ایجاد تنش شوری و کاهش میزان انحلال سیلیکات کلسیم در مقایسه با سایر منابع مورد استفاده، قابل بررسی و تامل بیشتر است.



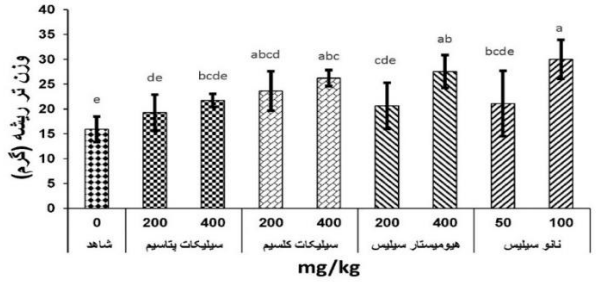
شکل ۲- مقایسه میانگین ارتفاع اندام هوایی گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).



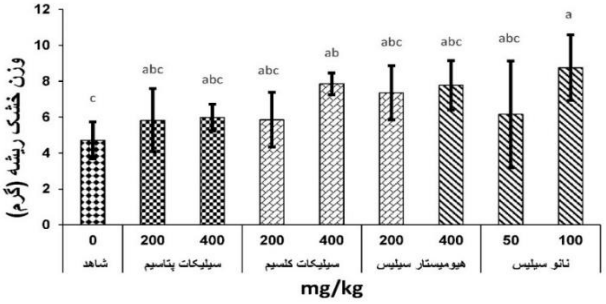
شکل ۳- مقایسه میانگین وزن‌تر اندام هوایی گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).

وزن‌تر ریشه

تأثیر منابع مختلف سیلیسیم نشانگر افزایش وزن‌تر ریشه در سطح ۵ درصد و اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است. به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار وزن‌تر ریشه مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و پس از آن ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم به ترتیب با میانگین ۳۰ و ۲۷/۵ گرم بودند و کم‌ترین تیمار به شاهد سیلیکات پتاسیم با میانگین ۱۵/۹ گرم اختصاص داشت (جدول ۲ و شکل ۴). از آنجایی که ترکیب کودی سیلیکات کلسیم حاوی دو عنصر غذایی پرمصرف سیلیسیم و کلسیم می‌باشد که هر دو مستقیما بر فرایندهای تولید ماده خشک گیاه و مقابله با تنش‌های زنده و غیر زنده موثرند ، این عناصر سبب حفظ و استحکام ساختار دیواره سلولی و کنترل سوخت‌وساز گیاه، پایداری سطوح غشاء و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گیاهی می‌شوند (Motesharezadeh and Mousavi, 2018). بر این اساس، به نظر می‌رسد غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سیلیکات کلسیم غلظت بهینه‌ای برای توصیه در شرایط مورد آزمایش باشد.



شکل ۴- مقایسه میانگین وزن‌تر ریشه گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).



شکل ۵- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).

وزن خشک‌ریشه

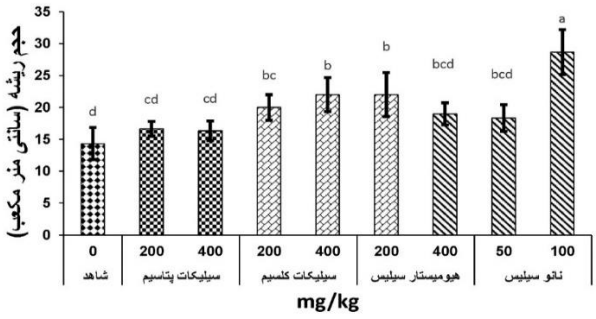
با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲-شکل ۵)، اعمال تیمارهای مختلف سیلیسیم تأثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر وزن خشک ریشه داشت که نشان از تفاوت آماری حداقل بین دو تیمار می‌دهد. سیلیسیم سبب افزایش بایومس ریشه می‌شود و مکانیسم آن به علت انتقال مواد غذایی و همچنین کاهش عدم تعادل مواد غذایی در خاک و محیط ریشه است و همچنین عنصر سیلیسیم سبب افزایش ریشه‌زنی و حجم ریشه می‌شود. تغذیه بهینه سیلیسیم با افزایش رشد و توسعه حجمی و وزنی ریشه‌ها می‌تواند منجر به افزایش سطح کل جذب‌کننده عناصر شود (Haghighi *et al*., 2012; Sun *et al*., 2005; Mohagheg *et al*., 2010 ; Azizi *et al*., 2016; Peyvast *et al*., 2008;).

حجم ریشه

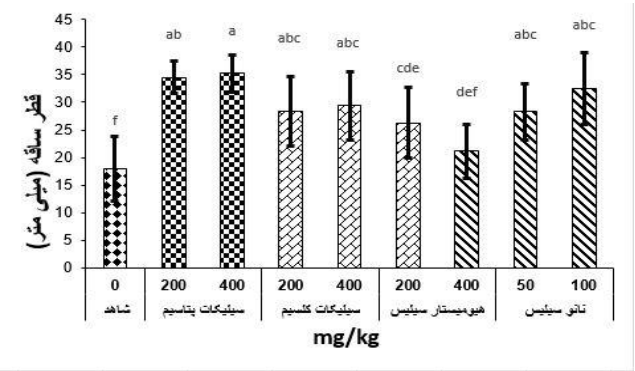
به‌کارگیری منابع مختلف سیلیسیم بر حجم ریشه در سطح ۵ درصد ازنظر آماری معنی‌دار و بیانگر تفاوت آماری حداقل بین دو تیمار است. به‌طوری‌که بهترین تیمار متعلق به ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو با میانگین ۲۸/۶۶ سانتی‌متر مکعب و کم‌ترین آن به تیمار شاهد با میانگین ۱۴/۳۳ سانتی‌متر مکعب اختصاص داشت (جدول ۲ و شکل ۶). سیلیسیم به علت انتقال مواد غذایی و همچنین کاهش عدم تعادل مواد غذایی در خاک و محیط ریشه سبب افزایش حجم ریشه و همچنین ریشه‌زنی می‌شود. تغذیه بهینه سیلیسیم با افزایش رشد و توسعه حجمی و وزنی ریشه‌ها می‌تواند منجر به افزایش سطح کل جذب‌کننده عناصر شود. نتایج مشابه دیگری توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (*Sonobe et al., 2001;* Mohagheg *et al*., 2010; Haghighi *et al*., 2012).

قطر ساقه

تأثیر سیلیسیم از منابع متفاوت برافزایش قطر ساقه در سطح ۵ درصد، معنی‌داری شد و گواهی از وجود اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار می‌دهد. به‌طوری‌که میانگین بیش‌ترین افزایش قطر ساقه در تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم به ترتیب با میانگین ۳۵/۲ و ۳۴/۵ میلی‌متر و کم‌ترین مقدار در تیمار شاهد با میانگین ۱/۸ میلی‌متر مشاهده شد (جدول ۲ و شکل۷). سیلیسیم با ایجاد کمپلکس‌های پیچیده با ترکیبات دیواره سلول، در استحکام و اندازه منافذ دیواره و نیز رشد قطری و طول سلول‌ها، به‌ویژه آوند چوبی گیاهان نقش دارد (شکل ۸) (Bandani and Abdolazadeh., 2007). همچنین سیلیسیم موجب کاهش نابه‌سامانی‌های فیزیولوژیکی مانند کج شدن ساقه گیاه می‌شود (Datnoff *et al*., 2001). سیلیسیم بانفوذ به داخل دیواره سلولی گیاه و منظم‌تر کردن ساختار آن سبب افزایش ضخامت و قطر ساقه می‌شود (Datnoff *et al*., 2001). نتایج مشابه از سایر مطالعات (Zhao *et al*., 2013; Haghighi *et al*., 2012) به‌دست آمد.



شکل ۶- مقایسه میانگین حجم ریشه گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).



شکل۷- مقایسه میانگین قطر ساقه گیاه در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).

شکل ۸-مقایسه ریشه گیاهان تیمار شده با نانو سیلیس در مقایسه با شاهد

در خصوص اثر معکوس افزایش غلظت سیلیکات کلسیم در طول اندام هوایی و اثر مثبت آن در قطر به نظر می‌رسد به‌واسطه نقش اختصاصی کلسیم در تقسیم سلولی و نیز افزایش استحکام دیواره سلولی، اثر آن بر قطر مشخص‌تر، دیده شده است (Motesharezadeh and Mousavi, 2018). البته ممکن است تغذیه گیاه با عناصر غذایی و نسبت های مختلف سبب ایجاد تغییراتی در سایر مشخصات مرفولوژیکی و حتی آنزیمی و هورمونی گیاه شوند که برای درک بهتر مکانیسم‌های احتمالی، نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتری است.

سطح برگ

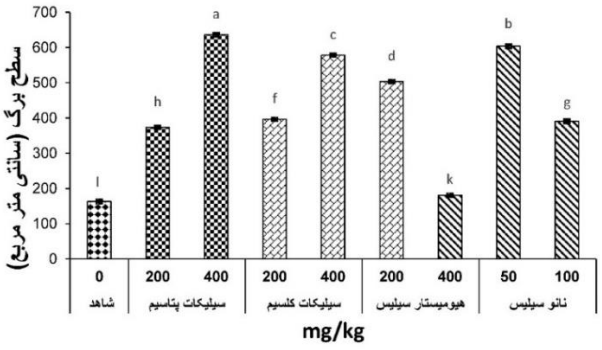
مصرف سیلیسیم از منابع مختلف باعث معنی‌دار شدن افزایش سطح برگ در سطح ۵ درصد شد و تأییدی بر داشتن اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است. به‌طوری‌که بیش‌ترین سطح برگ در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به ترتیب با میانگین ۶۳۶/۲۸ و ۶۰۳/۸۳ سانتی‌متر مربع مشاهده شد درحالی‌که کم‌ترین سطح برگ در تیمار شاهد با میانگین ۱۶۳/۱۷ رخ داد (جدول ۲ و شکل ۹). کاربرد سیلیسیم از چند طریق سبب افزایش سطح برگ گیاهان می‌شود. عنصر سیلیسیم سبب افزایش عملکرد و زیست‌توده گیاهان می‌شود. همچنین عنصر سیلیسیم پیری برگ را به تعویق می‌اندازد و در پهنای برگ رسوب می‌کند و موجب افزایش استحکام و ضخامت برگ و با استحکام ساقه موجب برافراشته ماندن برگ‌ها می‌شود (Savvas *et al*., 2015).

جدول۳. جدول تجزیه واریانس اثر سیلیسیم بر غلظت عناصر در ساقه گیاه استویا

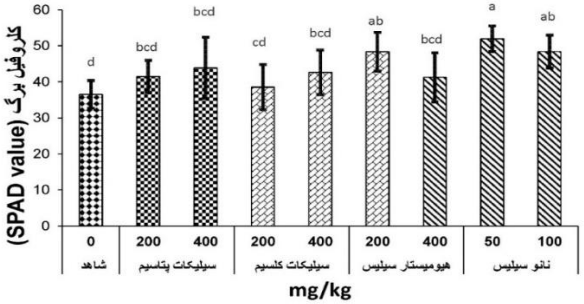
	میانگین مربعات			
منبع تغییرات	درجه آزادی	سیلیسیم	فسفر	پتاسیم
تیمار	۸	۱۶۵۲۱/۶۹**	۱۱۹۴/۴۳**	۴۲۵۲/۷۴**
خطا	۱۸	۳۹۲۶/۷۴	۱۱۱/۶۱	۸۲۵/۱۷
ضریب تغییرات		۸/۷۰	۷/۷۹	۵/۲۴

کلروفیل برگ

اعمال سیلیسیم از تیمارهای متفاوت سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) مقدار کلروفیل برگ گردید و بیانگر اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است. به‌طوری‌که بیش‌ترین داده مربوط به تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و کم‌ترین داده به تیمار شاهد اختصاص داشت (جدول ۲ و شکل ۱۰). تأثیر سیلیسیم بر عملکرد گیاه ممکن است به دلیل رسوب آن در پهنای برگ، افزایش استحکام برگ‌ها و نیز افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ باشد که از این طریق توانایی گیاه برای استفاده مؤثرتر از نور را بالا می‌برد، همچنین کاربرد سیلیسیم محلول جهت تولید غلظت‌های بالاتر آنزیم ریبولوز بیو فسفات کربوکسیلاز در برگ لازم است (Adatia and Besford., 1986). این آنزیم سوخت‌وساز دی‌اکسید کربن را تنظیم کرده و درنتیجه کارایی تثبیت دی‌اکسید کربن توسط گیاهان را افزایش می‌دهد و درنهایت منجر به بهبود فتوسنتز در گیاه می‌شود (Adatia and Besford., 1986). آگاری و همکاران نشان دادند که در صورت کمبود سیلیسیم، مقدار کلروفیل کم شده و درنتیجه آن فتوسنتز در گیاه برنج (Oryza stiva) کاهش می‌یابد. آنان دلیل این امر را نقش سیلیسیم در زنجیره فتوسنتزی و ممانعت از تخریب کلروفیل توسط سیلیسیم دانستند. سیلیسیم اثرهای مثبتی بر رشد و تولید ماده خشک، میزان فتوسنتز، عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارد (Agarie *et al*., 1993).



شکل۹- مقایسه میانگین سطح برگ در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).



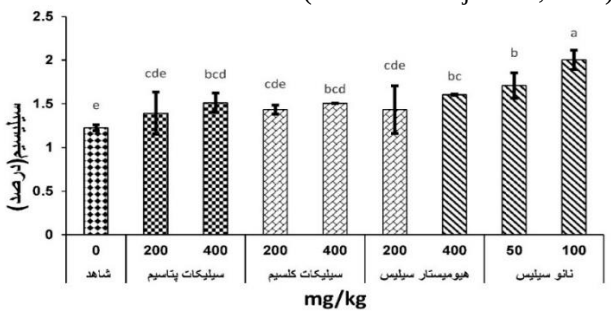
شکل ۱۰- مقایسه میانگین کلروفیل برگ در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).

سیلیسیم ساقه

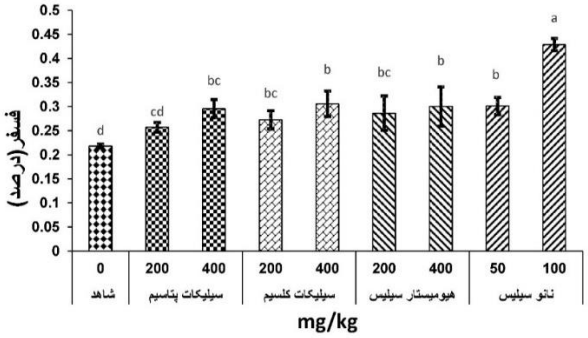
تجمع سیلیسیم در ساقه گیاه، در اثر کاربرد سیلیسیم در منابع مختلف در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و بیانگر اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است. به‌طوری‌که در بیش‌ترین مقدار تجمع سیلیسیم در تیمار ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم به ترتیب با میانگین ۲/۰۲، ۱/۷۰، ۱/۶۰ درصد نسبت به کم‌ترین مقدار که تیمار شاهد با میانگین ۱/۲ درصد مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۱۱). تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم نسبت به شاهد تفاوت آماری معنی‌دار نشان نداد ولی تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش ۱۳ درصدی را نشان داد. تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم به ترتیب ۱۷ و ۲۲ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند اما تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به تیمار ۲۰۰ سیلیکات کلسیم اختلاف آماری نداشت، تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم نسبت به شاهد در یک گروه‌بندی مشترک قرار گرفت و تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش ۳۰ درصدی را نشان داد. تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به‌ترتیب ۳۹ و ۶۳ درصد نسبت به شاهد و تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم ۱۷ درصد افزایش و عملکرد بهتر را نشان داد (شکل ۱۰). پس از جذب سیلیسیم، انتقال این عنصر در گیاه از طریق آوند چوبی و به‌وسیله جریان تعرق از ریشه به شاخساره انجام می‌شود، بنابراین غلظت آن در ساقه بیشتر از ریشه است و درنهایت به‌صورت سیلیکات‌های بی‌شکل (اوپال، ژل سیلیکا یا فیتولیت‌ها) در تمام قسمت‌های گیاه مانند دیواره سلولی، فضاهای بین سلولی، ریشه‌ها، برگ‌ها و اندام‌های تولیدمثلی رسوب می‌کند (Liang *et al*., 2005).

فسفر ساقه

تجمع فسفر در ساقه در اثر کاربرد سیلیسیم در منابع مختلف، در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد و بیانگر اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است و بیش‌ترین تیمارها به‌ترتیب در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم، و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به‌ترتیب با میانگین ۰/۴۲، ۰/۳۰، ۰/۳۰ درصد نسبت به حالت شاهد و کم‌ترین تیمار در شاهد با میانگین ۰/۲۱درصد مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۱۲). تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم نسبت شاهد اختلاف آماری نشان نداد و تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم ۳۵ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم به ترتیب ۲۴ و ۴۰ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند اما تیمار ۴۰۰ نسبت به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم در یک گروه آماری قرار گرفت، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم به ترتیب ۳۱ و ۳۷ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند و تیمار ۴۰۰ نسبت به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم در یک گروه آماری قرار گرفت، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم نانو به‌ترتیب ۳۸ و ۹۶ درصد نسبت به شاهد و تیمار ۱۰۰ نسبت به تیمار ۵۰ میلی‌گرم به کیلوگرم نانو سیلیسیم ۴۲ درصد افزایش و عملکرد بهتر در صفت ذکرشده را دارا بود (شکل ۱۱). رقابت آنیون‌های معمول در خاک‌های زراعی در جذب روی سطوح به‌صورت $SiO_4>PO_4>NO_3=Cl$ است. چون سیلیسیم باقدرت بیشتری نسبت به فسفات جذب سطحی می‌شود، لذا سبب آزادسازی فسفات شده، بدین ترتیب تحرک و قابلیت استفاده آن برای گیاهان افزایش می‌یابد. افزایش جذب فسفر تحت تأثیر مصرف کودهای سیلیسیمی می‌تواند به دلیل افزایش رشد ریشه و درنتیجه افزایش قابلیت دسترسی فسفر خاک باشد که این امر نیز به دلیل کاهش ظرفیت تثبیت فسفر خاک و افزایش حلالیت فسفر است که درنهایت منجر به افزایش کارایی مصرف کودهای فسفاتی می‌گردد. مکانیسم تأثیر سیلیکات احتمالاً به افزایش قابلیت جذب فسفات، در اثر تبادل سیلیکات با فسفات جذب سطحی شده روی سزکوئی اکسیدها بستگی دارد (Ma and Yamaji *et al*., 2006).



شکل۱۱- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف برای صفت سیلیسیم ساقه گیاه استویا با استفاده از آزمون مقایسات میانگین دانکن ($p<0.05$).



شکل ۱۲ - مقایسه میانگین تیمارهای مختلف برای صفت فسفر ساقه گیاه استویا با استفاده از آزمون مقایسات میانگین دانکن ($p<0.05$).

پتاسیم ساقه

تجمع پتاسیم در ساقه در اثر کاربرد سیلیسیم در سطح پنج درصد معنی‌دار شد و بیانگر اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است و بیش‌ترین مقدار به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم با میانگین ۱/۳۳ درصد و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۹۶ درصد اختصاص داشت (جدول ۳ و شکل ۱۳). تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم به ترتیب ۲۲ و ۳۱ درصد نسبت به شاهد افزایش عملکرد نشان دادند اما بین تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم نسبت به شاهد افزایش ۱۵ و ۲۳ درصدی و تیمار ۴۰۰ نسبت به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار در یک گروه آماری قرار گرفت. تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به ترتیب افزایش ۱۵ و ۳۷ درصدی نسبت به شاهد نشان دادند. بهترین مقدار توصیه‌شده تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم بود (شکل۱۲). عناصر غذایی در محلول خاک با بار مثبت جذب سیلیس می‌شوند و عنصر سیلیسیم بدین سبب مانع از دست رفتن پتاسیم و سایر عناصر غذایی متحرک براثر آبشویی از افق سطحی خاک می‌شود و عناصر جذب‌شده بر سطح سیلیس، در دسترس گیاه باقی می‌ماند (Tubana and Heckman., 2015). در شالیزارها افزودن سیلیسیم موجب بهبود پتاسیم قابل‌تبادل خاک و درنهایت جذب بیشتر توسط گیاه برنج شد (Datnoff *et al*., 2001).

شناسایی گلیکوزیدهای موجود در برگ خشک استویا

نتایج آزمایش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در جدول (۴) آمده است. طبق این نتایج میزان عملکرد گلیکوزیدهای استویوزاید، ریبودیوزاید A و C برای تیمارهای مدنظر مشخص‌شده است. طبق گزارش‌ها درصد ترکیبات گلیکوزید موجود در برگ خشک گیاهان به شرایط و زمان کشت و محیط جغرافیایی وابسته است و به‌طور میانگین برای استویوزاید (۵ تا ۱۰ درصد)، ریبودیوزاید A (۲ تا ۴ درصد)، ریبودیوزاید C (۱ تا ۲ درصد) است (Kennelly., 2002; Starrat., 2002). در برگ‌ها به‌طورکلی و با توجه به نتایج سایر مطالعات می‌توان گفت که قندهای اندازه‌گیری شده، به‌خصوص استویوزاید در حد پایینی محدوده موردنظر قرارگرفته است، هرچند که میزان قند به علت شرایط آزمایشی در اتاقک رشد و نور مصنوعی و دور بودن از شرایط طبیعی و فصل مناسب رشد از مقدار بالایی برخوردار نیست اما تأثیر تیمارها قابل‌مشاهده و تأمل است.

جدول ۴. نتایج آزمایش تجزیه واریانس اثر سیلیسیم، بر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، برای ساقه خشک استویا

منبع تغییرات		میانگین مربعات	
	استویوزاید	ریبودیوزاید A	ریبودیوزاید C
درجه آزادی			
تیمار	۸	۲/۸۰۸* ۰/۰۴۷	۰/۹۶۷**
خطا	۱۸	۰/۲۱۰	۰/۰۲۱
ضریب تغییرات		۲۷/۴۳	۳۱/۳۴

تک‌ستاره به معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و دوستاره به معنی‌دار بودن در سطح ۱٪ اشاره می‌کند

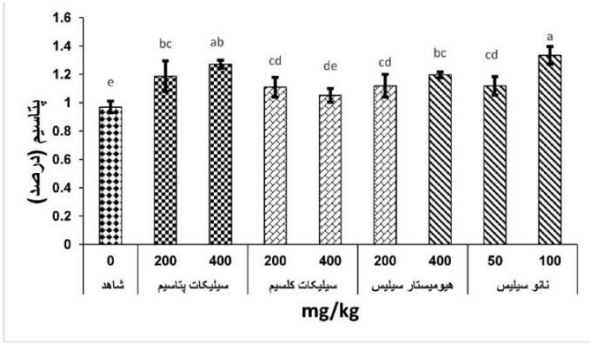
استویوزاید

به‌کارگیری سیلیسیم از منابع مختلف سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) استویوزاید ساقه خشک گیاه استویا گردید و بیانگر اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است. تیمارهای ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم، ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم به ترتیب نسبت به شاهد رشد ۹۶، ۷۲ و ۵۸ درصدی را نشان دادند. تمامی تیمارها جز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم نسبت به شاهد افزایش را نشان دادند. تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم نسبت به شاهد عملکرد بهتری را نشان و افزایش ۱۰ و ۳۱ درصدی را ثبت کردند. تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم نسبت به شاهد افزایش ۱۴ و ۵۸ درصدی در میزان استویوزاید نشان دادند (جدول ۵ و شکل ۱۴). به دلیل نقش مثبت عنصر سیلیسیم در جذب عنصری مثل پتاسیم است که نقش آن در افزایش ترکیبات قندی به اثبات رسیده و همچنین نقش عنصر سیلیسیم در فعالیت‌های آنزیمی درون گیاه همچون بهبود جذب نور و کنترل تنش‌ها است. نتایج مشابه دیگری در منطقه سن پیرو ایتالیا (Fronza and Folegatti ., 2003)، شهر پراگ (Nepovím and Tomáš., 1998)، منطقه شرق پاراگوئه (Tateo *et al*., 2001)، برزیل

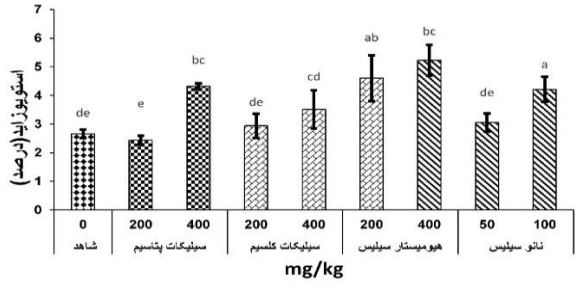
و آرژانتین (Pryluka and Cernadas., 1985) و پالامپور هند[1] گزارش شد (جدول ۳ و نمودار ۱۱).

ریبودیوزاید A

با توجه به جدول (۳) و شکل (۱۲)، تفاوت معناداری بین گروه‌ها نسبت به شاهد مشاهده نشد. تیمارهای ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیس و سیلیکات پتاسیم بیش‌ترین مقدار را نسبت به شاهد داشتند. مقدار تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم، ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم نسبت به شاهد کم‌ترین مقدار ریبودیوزاید A را در بین تیمارها داشتند. تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم نسبت به شاهد عملکرد بدتر، اما تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد دارای عملکرد بهتر و افزایش ۲۲ درصدی را نشان داد. تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم نسبت به شاهد عملکرد بهتری را نشان داد. تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیس نسبت به شاهد افزایش ۲۴ درصدی و تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیس نسبت به شاهد ۱۶ درصدی نشان دادند (جدول ۶ و شکل ۱۵). به‌طورکلی درصد ریبودیوزاید A به علت دور بودن از شرایط کاشت طبیعی، پایین‌تر از حد استاندارد (۲ تا ۴ درصد وزن برگ خشک) قرار گرفت. توصیه می‌شود در تحقیقات بعدی اثر سیلیکات کلسیم بر ریبودیوزاید با حساسیت و نگاه مکانیسمی، بررسی شود.



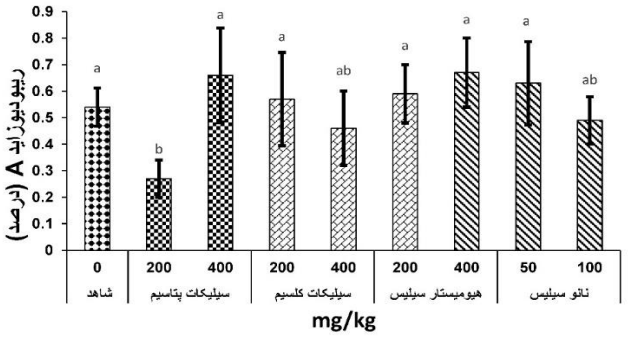
شکل ۱۳- مقایسه میانگین سیلیسم، فسفر و پتاسیم ساقه در تیمارهای مختلف کاربرد سیلیس ($p<0.05$).



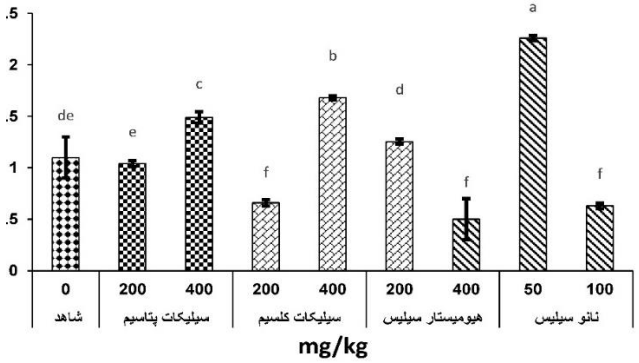
شکل ۱۴- مقایسه میانگین استویوزاید ساقه خشک گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس ($p<0.05$).

ریبودیوزاید C

با توجه به جدول (۲) و نمودار (۱۳)، کاربرد سیلیسیم از منابع مختلف سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) استویوزاید ساقه خشک گیاه استویا گردید و نشانگر تفاوت آماری حداقل بین دو تیمار است. تیمارهای ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و همچنین ۴۰۰ سیلیکات کلسیم و پتاسیم به‌ترتیب بیش‌ترین مقدار ریبودیوزاید C را ثبت کردند و به‌طورکلی اعمال تیمارهای ۴۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم سیلیکات پتاسیم و کلسیم نسبت به شاهد بر ریبودیوزاید C تأثیر داشت و تیمار ۲۰۰ هیومیستار سیلیس نسبت به شاهد، همچنین تیمار ۵۰ نانو سیلیسیم نسبت به شاهد عملکرد بهتر نشان داد، به‌طوری‌که تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم نسبت به شاهد رشد بیش از دو برابری را ثبت کرد (جدول۵ و شکل ۱۶). به‌طورکلی درصد ریبودیوزاید C در حد استاندارد (۱ تا ۲ درصد وزن برگ خشک بر اساس مرجع Yadav *et al* ., 2011) قرار گرفت.



شکل ۱۵- مقایسه میانگین تیمارهای مدنظر برای ریبودیوزایدA ساقه خشک گیاه استویا ($p<0.05$).



شکل ۱۶- مقایسه میانگین تیمارهای مدنظر در ۳ تکرار برای ریبودیوزایدC ساقه خشک گیاه استویا ($p<0.05$).

به‌طورکلی اعمال تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم و نیز همچنین ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم

1. Based on present R&D at the Institute IHBT, India

سبب عملکرد بهتر گیاه در افزایش درصد ترکیبات قندی گیاه استویا در مقایسه با تیمار شاهد گردید اما با توجه به اینکه در این پژوهش، کشت گیاه استویا در شرایط اتاقک رشد و دور بودن از شرایط طبیعی انجام شد درحالی‌که رشد و گلدهی استویا به عوامل محیطی (تابش نور، طول روز، دما، آب‌وخاک و وزش باد) وابسته است، نتایج از مقدار ایده آل کمتر شد که نیازمند مطالعات بیشتر و بررسی میزان قند گیاه در شرایط طبیعی کشت است.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش، افزایش ارتفاع و قطر ساقه‌ی گیاه نشان‌دهنده‌ی بهبود رشد و مقاومت مکانیکی ساقه گیاه است که با توجه به افزایش شاخص کلروفیل و سطح برگ گیاه، نشان‌دهنده‌ی عملکرد بهتر برگ گیاه در مقابل جذب نور و فتوسنتز و تاج پوشش بهتر اندام هوایی گیاه استویا است. همچنین افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه بیانگر تولید کمی بیشتر گیاه شد همچنین افزایش وزن تر و خشک و حجم ریشه گیاه نشانگر تأثیر سیلیسیم بر رشد ریشه گیاه و توسعه‌ی آن به جهت جذب بهتر عناصر غذایی و آب است و همچنین در شرایط کاشت طبیعی باعث افزایش قندهای ثانویه می‌شود و به‌طورکلی می‌توان گفت کاربرد سیلیسیم از منابع مختلف بر گیاه استویا تأثیرگزار بوده و باعث عملکرد کیفی و کمی بهتر گیاه دارویی استویا گردیده است و با توجه به نتایج به‌دست‌آمده تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیر بهتری دارند همچنین تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیس نسبت به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عملکرد بهتری را نشان داد. مصرف سیلیکات پتاسیم و کود کامل هیومیستار سیلیس برای گیاه استویا توصیه می‌شود هرچند نیازمند مطالعات بیشتر در این زمینه است. با علم به اینکه وجود سیلیسیم در خاک و به‌خصوص محیط ریزوسفر باعث بهبود ساختمان خاک و فراهمی عناصر و همچنین دفع فلزات سنگین از محیط ریشه گیاه می‌شود، اما کاربرد سلیسیم به شکل نانو نیازمند بررسی‌های بیشتر به‌خصوص از جنبه‌ی زیست‌محیطی در خاک‌های مورداستفاده است. جذب بالای سیلیسیم در اندام گیاه در مقایسه با سایر عناصر تاییدی بر جذب لوکس عنصر سیلیسیم و همچنین سیلیسیم دوست بودن گیاه استویا است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل، مستخرج از طرح پژوهشی کاربردی استویا فی مابین پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و شرکت سپاهان رویش می‌باشد. نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را اعلام می‌دارند.

REFERENCES

Adatia, M. H., and Besford, R. T. (1986). The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. Annals of Botany, 58(3), 343-351.

Agarie, S. (1993). Effect of silicon on growth, dry matter production and photosynthesis in rice plants. Crop Prod. Improve. Tech. Asia., 225-234.

Azizi, M., Abdolzadeh, A., Mehrabanjoubani, P., and Sadeghipour, H. R. (2016). Evaluation of effect of silicon on NaCl tolerance in annual Medicago scutellata L. Iranian Journal of Field Crops Research, 14(1).

Bandani, M., and Abdolazadeh, A. (2007). Effects of silicon nutrition on salinity tolerance of Puccinellia distans (jacq.) parl.

Bayat, H., Nemati, S., Selahvarzi, Y., and Abdollahi, S. A. (2013). The effect of Silicon on the growth, evapotransportation and the reproductive yield of the Persian Petunia (*Petunia Hybrida*).

Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. Agronomy journal, 54(5), 464-465.

Chalmardi, Z. K., Abdolzadeh, A., and Sadeghipour, H. R. (2014). Silicon nutrition potentiates the antioxidant metabolism of rice plants under iron toxicity. Acta physiologiae plantarum, 36(2), 493-502.

Chen, D., Cao, B., Wang, S., Liu, P., Deng, X., Yin, L., and Zhang, S. (2016). Silicon moderated the K deficiency by improving the plant-water status in sorghum. Scientific reports, 6, 22882.

Cottenie, A., Camerlynck, R., Verloo, M., and Dhaese, A. (1980). Fractionation and determination of trace elements in plants, soils and sediments. Pure and Applied Chemistry, 52(1), 45-53.

Crooks, Regan, and Peter Prentice. "Extensive investigation into field based responses to a silica fertiliser." Silicon 9.2 (2017): 301-304.

Cuong, T. X., Ullah, H., Datta, A., and Hanh, T. C. (2017). Effects of silicon-based fertilizer on growth, yield and nutrient uptake of rice in tropical zone of Vietnam. Rice Sci, 24(5), 283-290.

Datnoff, L. E., Snyder, G. H., and Korndörfer, G. H. (Eds.). (2001). Silicon in agriculture (Vol. 8). Elsevier.

Dini, M., and Babakhanlou, P. (2002). The checklist of useful plants.

Elliott, C. L., and Snyder, G. H. (1991). Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39(6), 1118-1119.

Epstein, E. (1999). Silicon. Annual review of plant biology, 50(1), 641-664.

Fernández, V., and Brown, P. H. (2013). From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of

foliar-applied nutrients. Frontiers in plant science, 4, 289.

Fronza, D., and Folegatti, M. V. (2003). Water consumption of the estevia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni) crop estimated through microlysimeter. Scientia Agricola, 60(3), 595-599.

Ge, Y., Schimel, J. P., and Holden, P. A. (2011). Evidence for negative effects of TiO2 and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities. Environmental science and technology, 45(4), 1659-1664.

Gholizadeh, A., Amin, M. S. M., Anuar, A. R., and Aimrun, W. (2009). Evaluation of SPAD chlorophyll meter in two different rice growth stages and its temporal variability. European Journal of Scientific Research, 37(4), 591-598.

Goenadi, D. H. (1983). Water tension and fertilization of Stevia rebaudiana Bertoni on Oxidropudalf soil. Menara perkebunan, Horticulture Abstracts, 54, 2882.

Gonzalo, M. J., Lucena, J. J., and Hernández-Apaolaza, L. (2013). Effect of silicon addition on soybean (*Glycine max*) and cucumber (*Cucumis sativus*) plants grown under iron deficiency. Plant physiology and biochemistry, 70, 455-461.

Goyal, S. K., Samsher, G. R., and Goyal, R. K. (2010). Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. Int J Food Sci Nutr, 61(1), 1-10.

Grossman, R. B., and Reinsch, T. G. (2002). 2.1 Bulk density and linear extensibility. Methods of soil analysis: Part 4 physical methods, (methodsofsoilan4), 201-228.

Haghighi, M., Afifipour, Z., and Mozafarian, M. (2012). The effect of N-Si on tomato seed germination under salinity levels. J Biol Environ Sci, 6(16), 87-90.

Heckman, Joseph. "Silicon: a beneficial substance." Better crops 97.4 (2013): 14-16.

Helaly, M. N., El-Hoseiny, H., El-Sheery, N. I., Rastogi, A., and Kalaji, H. M. (2017). Regulation and physiological role of silicon in alleviating drought stress of mango. Plant physiology and biochemistry, 118, 31-44.

Helmke, P. A., and Sparks, D. L. (1996). Lithium, sodium, potassium, rubidium, and cesium. Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods, (methodsofsoilan3), 551-574.

Kafi, M., and Rahimi, Z. (2011). Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane *(Portulaca oleracea* L.). Soil Science and Plant Nutrition, 57(2), 341-347.

Kamenidou, S., Cavins, T. J., and Marek, S. (2010). Silicon supplements affect floricultural quality traits and elemental nutrient concentrations of greenhouse produced gerbera. Scientia Horticulturae, 123(3), 390-394.

Kamenidou, S., Cavins, T. J., and Marek, S. (2010). Silicon supplements affect floricultural quality traits and elemental nutrient concentrations of greenhouse produced gerbera. Scientia Horticulturae, 123(3), 390-394.

Kennelly, E. J. (2001). Sweet and non-sweet constituents of *Stevia rebaudiana*. In Stevia (pp. 81-99). CRC Press.

Kolb, N., Herrera, J. L., Ferreyra, D. J., and Uliana, R. F. (2001). Analysis of sweet diterpene glycosides from Stevia rebaudiana: improved HPLC method. Journal of agricultural and food chemistry, 49(10), 4538-4541.

Kuo, S. (1996). Phosphorus. p. 869–919. DL Sparks (ed.) Methods of soil analysis. Part 3. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI. Phosphorus. p. 869–919. In DL Sparks (ed.) Methods of soil analysis. Part 3. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI.

Lemraski, M. G., Normohamadi, G., Madani, H., Abad, H. H. S., and Mobasser, H. R. (2017). Two Iranian rice cultivars' response to nitrogen and nano-fertilizer. Open Journal of Ecology, 7(10), 591.

Liang, Y. C., Sun, W. C., Si, J., and Römheld, V. (2005). Effects of foliar-and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in Cucumis sativus. Plant Pathology, 54(5), 678-685.

Ma, J. F., and Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends in plant science, 11(8), 392-397.

Madan, S., Ahmad, S., Singh, G. N., Kohli, K., Kumar, Y., Singh, R., and Garg, M. (2010). *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-a review.

McKeague, J. A., and Cline, M. G. (1963). Silica in soil solutions: II. The adsorption of monosilicic acid by soil and by other substances. Canadian Journal of Soil Science, 43(1), 83-96.

Mehrabanjoubani, P., Abdolzadeh, A., Sadeghipour, H. R., and Aghdasi, M. (2015). Silicon affects transcellular and apoplastic uptake of some nutrients in plants. *Pedosphere*, *25*(2), 192-201.

Mohaghegh, P., Shirvani, M., and Ghasemi, S. (2010). Silicon application effects on yield and growth of two cucumber genotypes in hydroponics system. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture-Isfahan University of Technology, 1(1), 35-40.

Mohammadkhani, A., Mohaghegh, P., and Tehrani, A. F. (2016). Effect of silicon on increasing plant tolerance to oxidative stress by powdery mildew in pumpkin (Cucurbita pepo, var. styriaca). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 7(27).

Motesharezadeh, B., and Mousavi, S.M. (2018). Balanced management of plant nutrition and 100 applied points in foliar fertilization, Jehat Daneshgahi University of Tehran Press, 280 Pp. Tehran, Iran.

Nelson, D. W., and Sommers, L. (1982). Total carbon, organic carbon, and organic matter 1. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, (methodsofsoilan2), 539-579.

Nepovím, A., and Vaněk, T. (1998). In vitro propagation of Stevia rebaudina plants using multiple shoot culture. Planta medica, 64(08), 775-776.

Olsen, S. R., Sommers, L. E., and Page, A. L. (1982).

Methods of soil analysis. Part, 2, 403-430.

Pati, S., Pal, B., Badole, S., Hazra, G. C., and Mandal, B. (2016). Effect of silicon fertilization on growth, yield, and nutrient uptake of rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *47*(3), 284-290.

Pawar, R. S., Krynitsky, A. J., and Rader, J. I. (2013). Sweeteners from plants—with emphasis on *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and Siraitia grosvenorii (Swingle). Analytical and bioanalytical chemistry, 405(13), 4397-4407.

Peyvast, G. A., Zare, M., and Samizade, L. H. (2008). Interaction of silicon and on salinity stress on lettuce growth under NFT system condition.

Pryluka, M., and de Cernadas, R. R. (1985). Note. Determination of the stevioside content in leaves of Stevia rebaudiana Bertoni. Revista de Agroquimica y Tecnologia de Alimentos (Spain).

Ramesh, K., Singh, V., and Megeji, N. W. (2006). Cultivation of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni]: A comprehensive review. Advances in Agronomy, 89, 137-177.

Renwick, A. G. (2008). The use of a sweetener substitution method to predict dietary exposures for the intense sweetener rebaudioside A. Food and chemical toxicology, 46(7), S61-S69.

Rhoades, J. D. (1996). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods, (methodsofsoilan3), 417-435.

Ryan, J., Estefan, G., and Rashid, A. (2001). Soil and plant analysis. Laboratory Manual. International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria.

Savvas, D., and Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. Scientia Horticulturae, 196, 66-81.

Savvas, D., and Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. Scientia Horticulturae, 196, 66-81.

Sheu, B. W., Tamai, F., and Motoda, Y. (1987). Effects of boron on the growth, yield and contents of stevioside and rebaudioside A of kaa he-e (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Journal of Agricultural Science-Tokyo Nogyo Daigaku (Japan).

Singh, A. K., Singh, R., and Singh, K. (2005). Growth, yield and economics of rice (Oryza sativa) as influenced by level and time of silicon application. Indian Journal of Agronomy, 50(3), 190-193.

Sojka, R. E. (1988). Measurement of root porosity (volume of root air space. Environmental and experimental botany, 28(4), 275-280.

Songsri, P., *et al*. "Association of root, specific leaf area and SPAD chlorophyll meter reading to water use efficiency of peanut under different available soil water." Agricultural water management 96.5 (2009): 790-798.

Sonobe, Y., Weller, D., Ikeda, Y., Takano, K., Schabes, M. E., Zeltzer, G., and Best, M. E. (2001). Coupled granular/continuous medium for thermally stable perpendicular magnetic recording. Journal of magnetism and magnetic materials, 235(1-3), 424-428.

Sparks, D. L., Fendorf, S. E., Toner, C. V., and Carski, T. H. (1996). Kinetic methods and measurements. Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods, (methodsofsoilan3), 1275-1307.

Starratt, A. N., Kirby, C. W., Pocs, R., and Brandle, J. E. (2002). Rebaudioside F, a diterpene glycoside from *Stevia rebaudiana*. Phytochemistry, 59(4), 367-370.

Subramanian, S., and Gopalswamy, A. (1991). Effect of moisture, organic matter, phosphate and silicate on availability of silicon and phosphorus in rice soils. Journal of the Indian Society of soil science, 39(1), 99-103.

Sumner, M. E., and Miller, W. P. (1996). Cation exchange capacity and exchange coefficients. Methods of soil analysis part 3—chemical methods, (methodsofsoilan3), 1201-1229.

Tateo, F., Bononi, M., Mariotti, M. G., Cornara, L., and Serrato-Valenti, G. (2001). Trichomes on vegetative and reproductive organs of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae). Structure and secretory products. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 135(1), 25-37.

Tubana, B. T., and Heckman, J. R. (2015). Silicon and Plant Diseases.

Utumi, M. M., Monnerat, P. H., Pereira, P. R. G., Fontes, P. C. R., and Godinho, V. D. P. C. (1999). Macronutrient deficiencies in Stevia: Visual symptoms and effects on growth, chemical composition, and stevioside production. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 34(6), 1038-1043.

Woelwer-Rieck, U., Lankes, C., Wawrzun, A., and Wüst, M. (2010). Improved HPLC method for the evaluation of the major steviol glycosides in leaves of Stevia rebaudiana. European Food Research and Technology, 231(4), 581-588.

Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., and Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia [Stevia rebaudiana (Bertoni)]. Canadian Journal of Plant Science, 91(1), 1-27.

Zhao, D., Hao, Z., Tao, J., and Han, C. (2013). Silicon application enhances the mechanical strength of inflorescence stem in herbaceous peony (Paeonia lactiflora Pall.). Scientia horticulturae, 151, 165-172.