

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

REZA MALMIR<sup>1</sup>, BABAK MOTESHAREZADEH<sup>2\*</sup>, LEYLA TABRIZI<sup>3</sup> AND FARZANEH BEKHRADI<sup>4</sup>

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.

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

رضا مالیر<sup>۱</sup>، بابک متشروع زاده<sup>۱\*</sup>، لیلا تبریزی<sup>۲</sup> و فرزانه بخردی<sup>۲</sup>

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، هیومینستار 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 وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک ریشه، 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 وزن تر 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 هیومینستار سیلیسیم بیش‌ترین وزن تر 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 هیومینستار سیلیسیم بیش‌ترین درصد استویوزاید (۵/۲۳)، ریبودیوزاید A (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

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، از این‌رو 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 مضر است که در نیشکر

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<sup>۱</sup> است. این گیاه بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری غربی آمریکای شمالی تا آمریکای جنوبی است.

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 قابل جذب خاک به روش اولسن (Olsen and Sommer, 1982)، پتاسیم قابل جذب خاک با دستگاه فلیم فتومتر (Helmke and Sparks, 1996)، سیلیسیم قابل جذب خاک (Mckeague and Day, 1996) با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. گلدان‌های ۴ کیلوگرمی (با ویژگی‌های قطر ۱۵ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر) با خاکی که از الک ۴ میلی‌متری عبور داده شده 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<sup>۱</sup> 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 مورد استفاده به شرح 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 پرتو ایکس از آزمایشگاه پژوهشکده رازی تهیه شد (شکل ۱-۳) و دارای مشخصات زیر است.

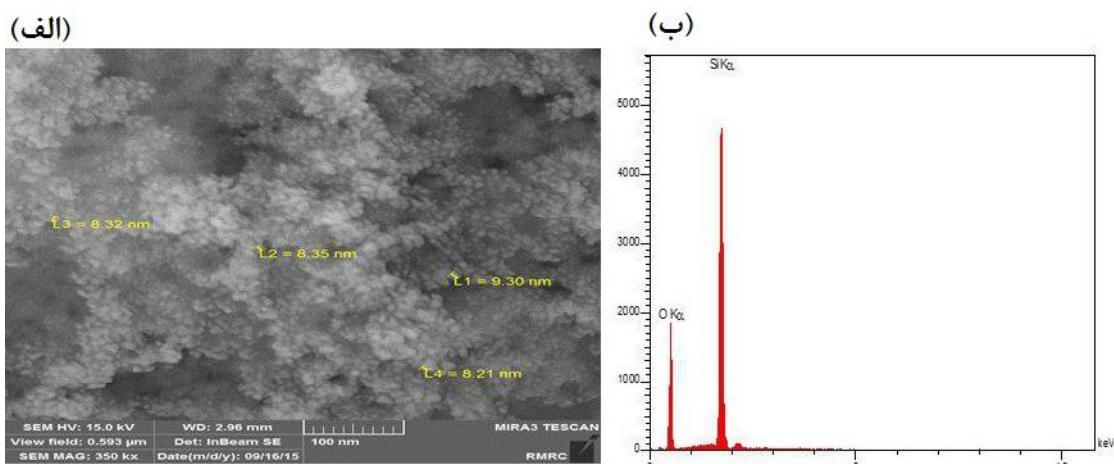
اندازه ذرات: کمتر از ۱۰ نانومتر و درصد خلوص: ۹۹ با سطح فعال (m<sup>2</sup>/g): ۴۶۰

و چغندر وجود دارد (Renwick, 2008). برخی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که گلیکوزیدهای موجود در برگ استویا از جمله 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 خشک شده 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 پر مصرف است، اما این عناصر نقش مهمی در کیفیت محصولات دارند (sheu et al., 1987).

سیلیسیم دومین عنصر فراوان در سطح 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 نگاه داشتن 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 انباشت‌کننده، میزان جذب سیلیسیم در این گیاهان همانند یا کمتر از آب است (Epstein, 1999). خانواده‌ی دولپه‌ای فابیاسه، کورکوریتاسه 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 مورفوفیزیولوژیکی 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 آبیگ استان



شکل ۱- الف- نمونه میکروسکوپ الکترونی روبشی از نانو سیلیسیم مورد استفاده در پژوهش. ب- طیف پراش انرژی پرتو ایکس (EDS)

تمایز آن‌ها دریافت سیلیسیم دی اکساید از منبع مختلف باشد. در پایان دوره ۹۰ روزه، با توجه به منابع (Madan *et al.*, 2010 and Ramesh *et al.*, 2006) مورفولوژیکی گیاه از جمله ارتفاع ساقه گیاه با خط کش فلزی آزمایشگاهی با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن تر و خشک ساقه و ریشه گیاه به وسیله 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 گسترسی ۱۹۱۲۰، ساخت ایران با دقت  $0.2 \pm$ ) 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 به وسیله کولیس دیجیتالی، حجم ریشه از روی اختلاف آب بالآمده بر اثر جابجا شدن آب پس از غوطه‌ور ساختن ریشه‌ها در آب توسط یک استوانه مدرج ۱۰۰۰ سی‌سی (درجه A، با دقت  $0.5 \pm$  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 وزن تر، 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 مینولتا-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

ترکیبات کود سیلیکات پتاسیم مایع حاوی سیلیسیم :  $SiO_2$  ۶۰ گرم وزنی، پتاسیم  $K_2O$  ۷۸ گرم وزنی ترکیبات جامد سیلیکات کلسیم حاوی سیلیسیم  $SiO_2$  : 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 هر روز 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 (Schimmel 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 ذکر شده، سعی بر آن شد تا تیمارها یکسان‌سازی شوند و تنها وجه

سرعت جریان 1 ml/min، و فاز آب- استونیتریل (۲۰ به ۸۰) بود که pH آن به وسیله فسفریک اسید روی ۳ تنظیم شد و از استویوزاید ۹۵ درصد و ریبودیوزاید ۹۸ درصد شرکت سیگما به عنوان 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 به دست آمده درصد مقادیر دیگر گلیکوزیدهای مورد نظر 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

A rebaudioside (برحسب میلی گرم) 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

C rebaudioside در نمونه هستند.

آنالیز تمامی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹.۴

انجام گردید. از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA)

برای بررسی تفاوت تیمارهای مختلف استفاده شده 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<sup>۲</sup> معرفی و

همچنین توصیه شده که از کشت این گیاه در خاک شور اجتناب

شود. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به کار برده

شده در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. برخی خصوصیات مهم فیزیکی و شیمیایی خاک

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

سوزاندن خشک<sup>۱</sup> و سپس ترکیب با HCl یک نرمال استفاده شد (Cottenie et al., 1980). غلظت پتاسیم اندام هوایی در عصاره تهیه شده به روش هضم خشک تعیین گردید (Ryan et al., 2001). برای اندازه گیری فسفر از روش زرد (مولیبدو وانادات) استفاده شد (Kuo., 1996). غلظت سیلیسیم موجود در گیاه با روش رنگ سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد (Elliott and Snyder., 1991). ابتدا ۲۰۰ میلی گرم نمونه پودر شده بخش هوایی گیاه درون ظرف پلی اتیلن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و سپس ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک یک مولار و ۲۰ میلی لیتر اسید فلئوریدریک ۲/۳ مولار به آن اضافه گردید. بعد به مدت ۱۵ ساعت در تکان دهنده برقی با سرعت ۱۸۰ دور بر دقیقه تکان داده شد و سپس مخلوط به دست آمده با استفاده از کاغذ واتمن ۴۱ صاف شد. لازم به ذکر است به دلیل اینکه اسید فلئوریدریک شیشه را حل می کند، بایستی تمام ظروف مورد استفاده از جنس پلاستیک یا پلی اتیلن باشند. در مرحله بعد یک میلی لیتر از عصاره صاف شده را داخل لوله آزمایش ۱۰ میلی لیتری ریخته شد و پس از افزودن سه میلی لیتر اسید بوریک ۲/۵ درصد، با وارونه کردن لوله، مواد داخل آن به خوبی مخلوط شد. بعد یک میلی لیتر محلول مولیبدات آمونیوم به آن اضافه گردید و محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در حالت ثابت قرار گرفت. در مرحله بعد نیم میلی لیتر محلول اسید تارتاریک ۲۰ درصد و سپس نیم میلی لیتر محلول احیا کننده به آن اضافه شد. پس از گذشت نیم ساعت، اندازه گیری با استفاده از اسپکتروفوتومتر Shimadzu UV- 3100 و قرائت جذب در طول موج ۶۵۰ نانومتر انجام شد.

برای اندازه گیری و شناسایی ماده مؤثر گیاهی، عصاره گیری بر اساس روش (Kolb et al., 2001) و اندازه گیری گلیکوزیدهای استویا بر اساس گزارش (Woelwer-Rieck et al., 2010) صورت گرفت. برای عصاره گیری ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از پودر خشک گیاه برداشته و در مقدار ۵۰ میلی لیتر 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 مورد استفاده قرار گرفت. محلول استخراج شده 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 سانتی متر، قطر داخلی ستون ۰/۴۶ سانتی متر، دکتور ۲۱۰:۲۵۰ nm، Knauer k2501،

الکترونی، ابعاد ذرات سیلیسیم مورد استفاده 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 سیلیسیم بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه**  
در جدول ۲ نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تیمارها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع و قطر ساقه، حجم ریشه، سطح برگ و کلروفیل برگ نشان داده شده است. در تمامی تیمارها برای این صفات اختلاف بسیار معنی‌دار ( $p < 0.01$ ) وجود دارد و فقط برای صفت وزن خشک ریشه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

بر اساس نتایج جدول (۱) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه از جمله 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 مورد مطالعه 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 اشاره شده، در ابتدای دوره کاشت و بر اساس میزان نیاز و با توجه به نتایج تجزیه خاک، به تمامی 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

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر سیلیسیم، بر خصوصیات مورفولوژیکی 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**	۶۶۳/۴۳**	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، به طوری که 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 به صورت 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 سیلیسیم نتایج بهتری را نشان می‌دهد. به طور کلی بر اساس نتایج به دست آمده، 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

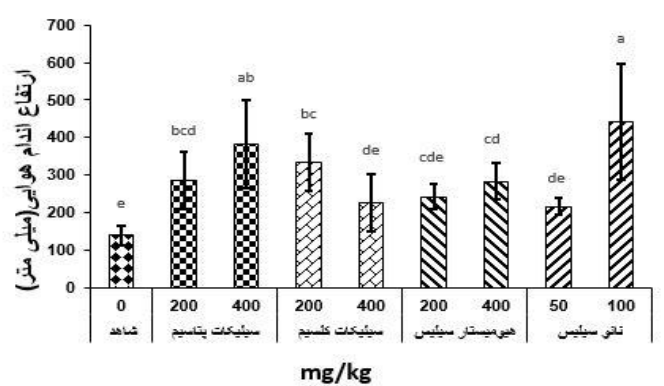
شدن ساقه گیاه می‌شود و همچنین کاربرد سیلیسیم به علت نفوذ به داخل دیواره سلولی و بهتر شدن ساختار دیواره گیاه و فراهمی عناصر مؤثر در رشد سبب افزایش رشد گیاه استویا می‌شود (Datnoff et al., 2001). نتایج مشابه متعددی بر افزایش ارتفاع ساقه گیاه در نتیجه کاربرد سیلیسیم توسط سایر پژوهشگران چون (Kamenidou et 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 احتمالاً باعث ایجاد شوری برای گیاه و افزایش تنش شده است (شکل ۳). می‌توان استنتاج کرد احتمالاً حلالیت این ترکیب به عنوان ماده کودی مناسب گیاه نیست. ضمن آنکه اصولاً 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.

### وزن تر اندام هوایی

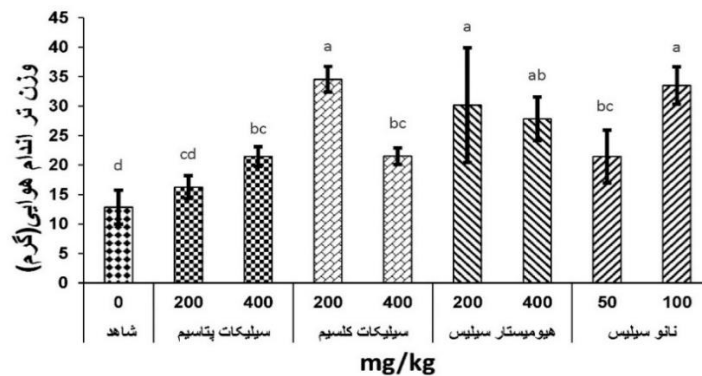
بررسی منابع مختلف سیلیسیم موجب افزایش معنی‌دار وزن تر

ساقه (در سطح ۵ درصد) نسبت به حالت شاهد گردید و همچنین نشان از اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار می‌دهد (جدول ۲، شکل ۳). بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم و بعد از آن ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و ۲۰۰ میلی‌گرم هیومیکستار سیلیسیم به ترتیب با میانگین ۳۴/۵ و ۳۳/۴ و ۳۰/۱۵ گرم بود. همچنین مصرف سیلیسیم به صورت 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

تأثیر مطلوب تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به علت اندازه کوچک تر نانو ذرات (کوچک تر از ۱۰ نانومتر) است. نتایج مشابه دیگری توسط (Zhao et al., 2013, Kafi and Rahimi., 2011, Haghghi 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 سیلیسیم (p<0.05).



شکل ۳- مقایسه میانگین وزن تر اندام هوایی گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیسیم (p<0.05).

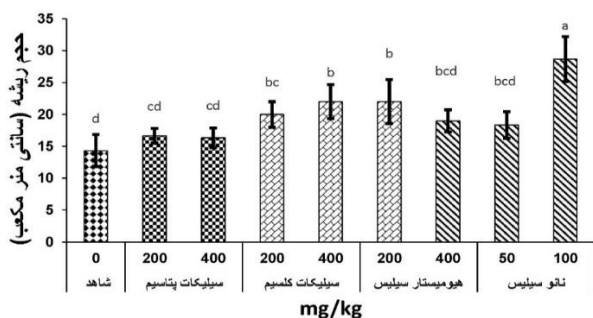
کلسیم می‌باشد که هر دو مستقیماً بر فرایندهای تولید ماده خشک گیاه و مقابله با تنش‌های زنده و غیر زنده موثرند، این عناصر سبب حفظ و استحکام ساختار دیواره سلولی و کنترل سوخت‌وساز گیاه، پایداری سطوح غشاء و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گیاهی می‌شوند (Moteszarezhadeh and Mousavi, 2018). بر این اساس، به نظر می‌رسد غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سیلیکات کلسیم غلظت بهینه‌ای برای توصیه در شرایط مورد آزمایش باشد.

وزن تر ریشه  
تأثیر منابع مختلف سیلیسیم نشانگر افزایش وزن تر ریشه در سطح ۵ درصد و اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار است. به طوری که بیشترین مقدار وزن تر ریشه مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و پس از آن ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هیومیکستار 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

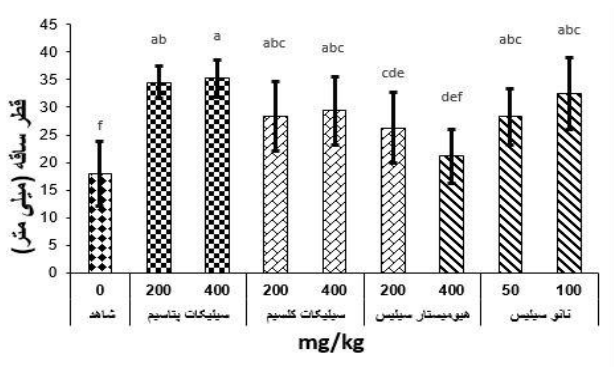
مشابه دیگری توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (Sonobe et al., 2001; Mohagheg et al., 2010; Haghghi et al., 2012).

#### قطر ساقه

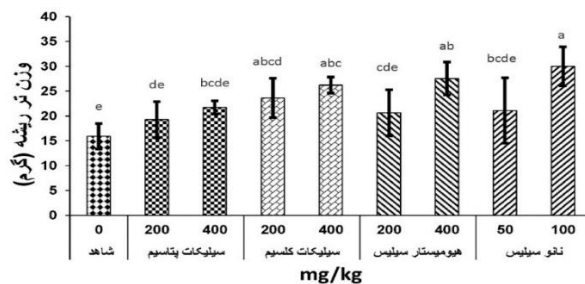
تأثیر سیلیسیم از منابع متفاوت برافزایش قطر ساقه در سطح ۵ درصد، معنی‌داری شد و گواهی از وجود اختلاف آماری حداقل بین دو تیمار می‌دهد. به طوری که میانگین بیش‌ترین افزایش قطر ساقه در تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم به ترتیب با میانگین ۳۵/۲ و ۳۴/۵ میلی‌متر و کم‌ترین مقدار در تیمار شاهد با میانگین ۱/۸ میلی‌متر مشاهده شد (جدول ۲ و شکل ۷). 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; Haghghi et al., 2012) به‌دست آمد.



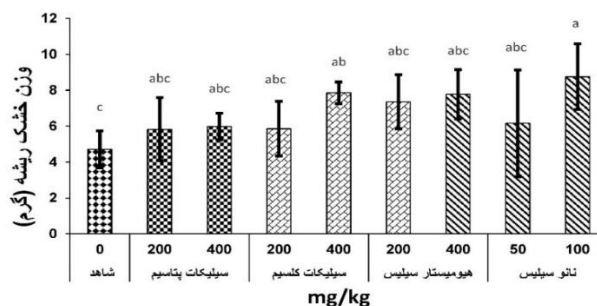
شکل ۶- مقایسه میانگین حجم ریشه گیاه استویا در تیمارهای مختلف سیلیس (p<0.05).



شکل ۷- مقایسه میانگین قطر ساقه گیاه در تیمارهای مختلف سیلیس (p<0.05).



شکل ۴- مقایسه میانگین وزن تر 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 خشک ریشه

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 بیومس 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 (Haghghi 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 از نظر آماری معنی‌دار و بیانگر تفاوت آماری حداقل بین دو تیمار است. به طوری که 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



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. به طوری که 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 در حالی که 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).



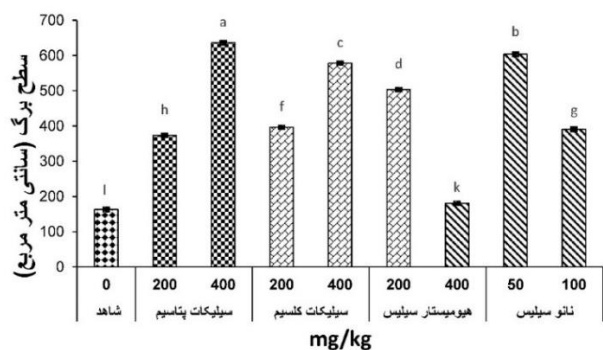
شکل ۸- مقایسه ریشه گیاهان تیمار شده با نانو سیلیسیم در مقایسه با شاهد

در خصوص اثر معکوس افزایش غلظت سیلیکات کلسیم در طول اندام هوایی و اثر مثبت آن در قطر به نظر می‌رسد به واسطه نقش اختصاصی کلسیم در تقسیم سلولی و نیز افزایش استحکام دیواره سلولی، اثر آن بر قطر مشخص‌تر، دیده شده است (Moteszarezhadeh and Mousavi, 2018). البته ممکن است تغذیه گیاه با عناصر غذایی و نسبت‌های مختلف سبب ایجاد تغییراتی در سایر مشخصات مورفولوژیکی و حتی آنزیمی و

جدول ۳. 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

در صورت کمبود سیلیسیم، مقدار کلروفیل کم شده و در نتیجه 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).

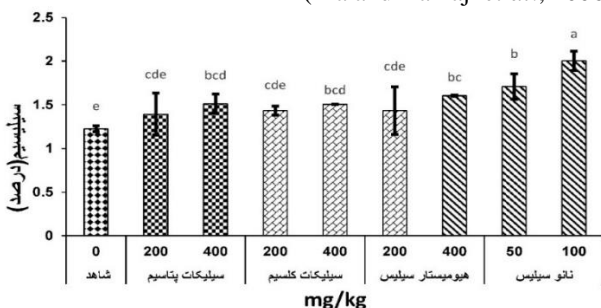


شکل ۹- مقایسه میانگین سطح برگ در تیمارهای مختلف سیلیسیم (p<0.05).

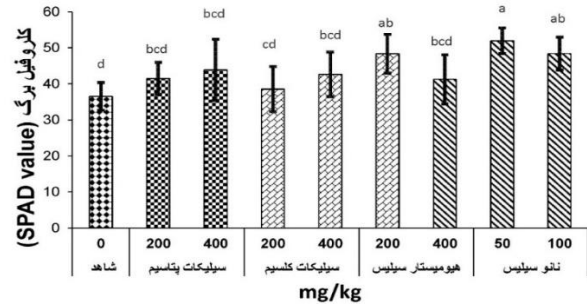
### کلروفیل برگ

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. به طوری که 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 در نتیجه کارایی تثبیت دی‌اکسید کربن توسط گیاهان را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به بهبود فتوسنتز در گیاه می‌شود (Adatia and Besford., 1986). آگاری و همکاران نشان دادند که

دو تیمار است و بیشترین تیمارها به ترتیب در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم، و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به ترتیب با میانگین ۰/۴۲، ۰/۳۰، ۰/۳۰ درصد نسبت به حالت شاهد و کمترین تیمار در شاهد با میانگین ۰/۲۱ درصد مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۱۲). تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم نسبت شاهد اختلاف آماری نشان نداد و تیمار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم ۳۵ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم به ترتیب ۲۴ و ۴۰ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند اما تیمار ۴۰۰ نسبت به تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم در یک گروه آماری قرار گرفت، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیومینستار سیلیسیم به ترتیب ۳۱ و ۳۷ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند و تیمار ۴۰۰ نسبت به تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیومینستار سیلیسیم در یک گروه آماری قرار گرفت، تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو به ترتیب ۳۸ و ۹۶ درصد نسبت به شاهد و تیمار ۱۰۰ نسبت به تیمار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم ۴۲ درصد افزایش و عملکرد بهتر در صفت ذکر شده را دارا بود (شکل ۱۱). رقابت آنیون‌های معمول در خاک‌های زراعی در جذب روی سطوح به صورت  $\text{SiO}_4 > \text{PO}_4 > \text{NO}_3 = \text{Cl}$  است. چون سیلیسیم با قدرت 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 سیلیسیم می‌تواند به دلیل افزایش رشد ریشه و در نتیجه افزایش قابلیت دسترسی فسفر خاک باشد که این امر نیز به دلیل کاهش ظرفیت تثبیت فسفر خاک و افزایش حلالیت فسفر است که در نهایت 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 سزکونی اکسیدها بستگی دارد (Ma and Yamaji et al., 2006).



شکل ۱۱- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف برای صفت سیلیسیم ساقه گیاه استویا با استفاده از آزمون مقایسات میانگین دانکن ( $p < 0.05$ ).



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

### 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. به طوری که در بیشترین مقدار تجمع سیلیسیم در تیمار ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیومینستار 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 میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم نسبت به شاهد تفاوت آماری معنی‌دار نشان نداد ولی تیمار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش ۱۳ درصدی را نشان داد. تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم به ترتیب ۱۷ و ۲۲ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان دادند اما تیمار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به تیمار ۲۰۰ سیلیکات کلسیم اختلاف آماری نداشت، تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیومینستار سیلیسیم نسبت به شاهد در یک گروه‌بندی مشترک قرار گرفت و تیمار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به شاهد افزایش ۳۰ درصدی را نشان داد. تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم به ترتیب ۳۹ و ۶۳ درصد نسبت به شاهد و تیمار ۱۰۰ میلی گرم 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 به وسیله جریان تعرق از ریشه به شاخساره انجام می‌شود، بنابراین غلظت آن در ساقه بیشتر از ریشه است و در نهایت به صورت 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

مشخص شده 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 استویزاید (۵ تا ۱۰ درصد)، ربودیوزاید A (۲ تا ۴ درصد)، ربودیوزاید C (۱ تا ۲ درصد) است (Kennelly., 2002; Starrat., 2002). در برگها بهطور کلی و با توجه به نتایج سایر مطالعات می‌توان گفت که قندهای اندازه‌گیری شده، به‌خصوص استویزاید در حد پایینی محدوده موردنظر قرار گرفته 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 تاثیر تیمارها قابل مشاهده و تأمل است.

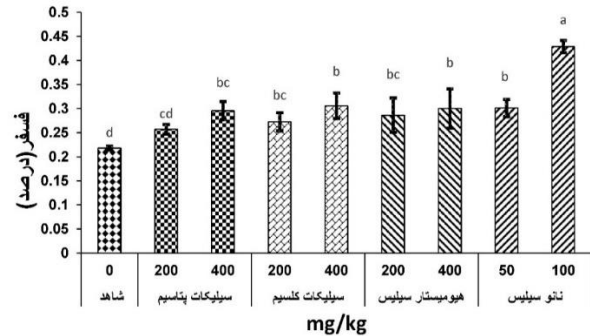
جدول ۴. نتایج آزمایش تجزیه واریانس اثر سیلیسیم، بر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، برای ساقه خشک استویا

منبع تغییرات		میانگین مربعات	
درجه آزادی	استویزاید	ربودیوزاید A	ربودیوزاید C
تیمار	۸	۰/۰۴۷	۰/۹۶۷**
خطا	۱۸	۰/۲۱۰	۰/۲۰
ضریب تغییرات	۲۷/۴۳	۳۱/۳۴	۴۷/۳۰

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

#### استویزاید

به‌کارگیری سیلیسیم از منابع مختلف سبب افزایش معنی‌دار (در سطح ۵ درصد) استویزاید 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 استویزاید 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



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 (شکل ۱۲). 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 بر اثر 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 قابل تبادل خاک و در نهایت 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 استویزاید، ربودیوزاید A و C برای تیمارهای مدنظر

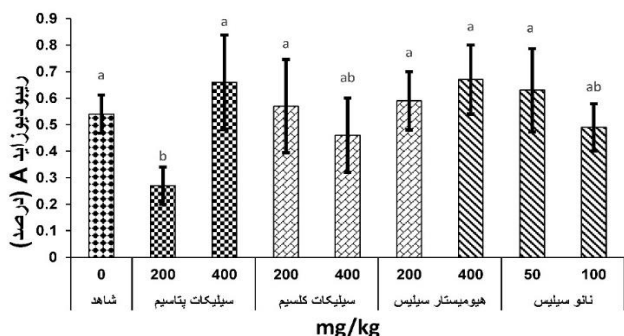
و آرژانتین (Pryluka and Cernadas., 1985) و پالامپور هند گزارش شد (جدول ۳ و نمودار ۱۱).

### ریبودیوزاید A

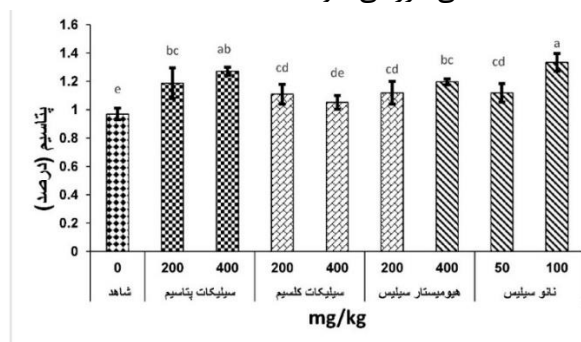
با توجه به جدول (۳) و شکل (۱۲)، تفاوت معناداری بین گروه‌ها نسبت به شاهد مشاهده نشد. تیمارهای ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیس و سیلیکات پتاسیم بیشترین مقدار را نسبت به شاهد داشتند. مقدار تیمارهای ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم، ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات کلسیم، ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم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

### ریبودیوزاید C

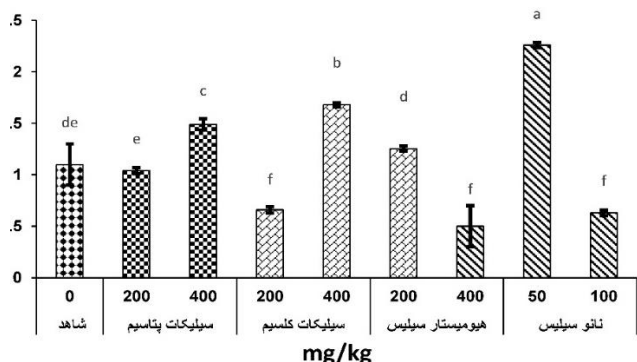
با توجه به جدول (۲) و نمودار (۱۳)، کاربرد سیلیسیم از منابع مختلف سبب افزایش معنی دار (در سطح ۵ درصد) استیویزاید ساقه خشک گیاه استویا گردید و نشانگر تفاوت آماری حداقل بین دو تیمار است. تیمارهای ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم و همچنین ۴۰۰ سیلیکات کلسیم و پتاسیم به ترتیب بیشترین مقدار ریبودیوزاید C را ثبت کردند و به طور کلی اعمال تیمارهای ۴۰۰ میلی گرم 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، به طوری که تیمار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم نسبت به شاهد رشد بیش از دو برابری را ثبت کرد (جدول ۵ و شکل ۱۶). به طور کلی درصد ریبودیوزاید C در حد استاندارد (۱ تا ۲ درصد وزن برگ خشک بر اساس مرجع (Yadav et al., 2011)) قرار گرفت.



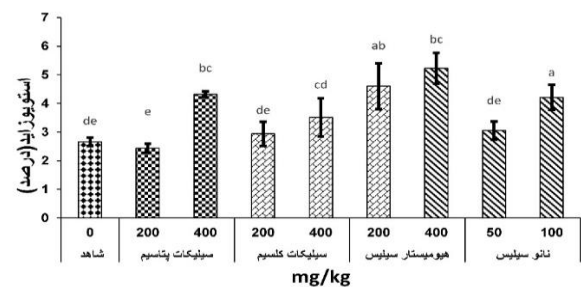
شکل ۱۵- مقایسه میانگین تیمارهای مدنظر برای ریبودیوزاید A ساقه خشک گیاه استویا ( $p < 0.05$ ).



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



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



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

به طور کلی اعمال تیمار ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سیلیکات پتاسیم و ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم هیومیستار سیلیسیم و نیز همچنین ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم

است و با توجه به نتایج به دست آمده تیمارهای ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تأثیر بهتری دارند همچنین تیمار ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو سیلیسیم نسبت به تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عملکرد بهتری را نشان داد. مصرف سیلیکات پتاسیم و کود کامل هیومیستار سیلیسیم برای گیاه استویا توصیه می شود هر چند نیازمند مطالعات بیشتر در این زمینه است. با علم به اینکه وجود سیلیسیم در خاک و به خصوص محیط ریزوسفر باعث بهبود ساختمان خاک و فراهمی عناصر و همچنین دفع فلزات سنگین از محیط ریشه گیاه می شود، اما کاربرد سیلیسیم به شکل نانو نیازمند بررسی های بیشتر به خصوص از جنبه های زیست محیطی در خاک های مورد استفاده 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 می باشد. نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را اعلام می دارند.

### 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, evapotranspiration 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

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 اتافک رشد و دور بودن از شرایط طبیعی انجام شد درحالی که رشد و گلدهی استویا به عوامل محیطی (تابش نور، طول روز، دما، آب و خاک 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.

### نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش، افزایش ارتفاع و قطر ساقه گیاه نشان دهنده بهبود رشد و مقاومت مکانیکی ساقه گیاه است که با توجه به افزایش شاخص کلروفیل و سطح برگ گیاه، نشان دهنده 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 توسعه آن به جهت جذب بهتر عناصر غذایی و آب است و همچنین در شرایط کاشت طبیعی باعث افزایش قندهای ثانویه می شود و به طور کلی می توان گفت کاربرد سیلیسیم از منابع مختلف بر گیاه استویا تأثیر گزار بوده و باعث عملکرد کیفی و کمی بهتر گیاه دارویی استویا گردیده

- 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 TiO<sub>2</sub> 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).
- Moteshareza, 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.
- Nepovim, A., and Vaněk, T. (1998). In vitro propagation of *Stevia rebaudiana* plants using multiple shoot culture. *Planta medica*, 64(08), 775-776.
- Olsen, S. R., Sommers, L. E., and Page, W. W. (1982). *www.SID.ir*

- 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 Agroquímica y Tecnología 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.