



اثر تنش غرقابی بر رشد ریشه و اندام هوایی استویا

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

دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد، ^۲دانشیار گروه زراعت دانشگاه گیلان، ^۳استاد گروه زراعت دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

به منظور بررسی اثر شدت و مدت غرقابی بر رشد ریشه و اندام هوایی گیاه استویا، یک آزمایش گلدانی در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطح ایستابی در چهار سطح (صفر، ۵- و ۱۰- سانتی متر از سطح خاک و شاهد)، به مدت (۲ و ۴ روز) بودند. تنش غرقابی ۴۵ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان اعمال و صفات در انتهای دوره رشد گیاه پیش از گلدهی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که صفات ریشه‌ای و اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شده گیاه شامل وزن خشک و طول ریشه، سطح ریشه، حجم ریشه، چگالی سطح ریشه، سطح برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد برگ‌ها و محتوای کلروفیل در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری داشتند. تعداد برگ‌ها، سطح برگ و ارتفاع بوته در تیمار سطح ایستابی ۱۰- سانتی متر (به ترتیب با میانگین ۲۳۸/۵ عدد و ۶۳/۵۳ سانتی متر مربع و ۵۵/۱۶ سانتی متر) و در تیمار مدت غرقابی ۲ روز (به ترتیب با میانگین ۲۴۲/۴۱ عدد و ۶۰/۰۷ سانتی متر مربع و ۶۸/۰۸ سانتی متر) کمترین مقدار کاهش را نسبت به شاهد نشان دادند. اثر متقابل تیمارهای سطح ایستابی در سطح ۱۰- و مدت ۲ روز نیز در صفات نام برده اندام‌های هوایی کمترین اختلاف را نسبت به شاهد نشان دادند (تعداد برگ ۲۴۲ عدد، سطح برگ ۷۰ سانتی متر مربع و ارتفاع بوته ۵۶/۶۶ سانتی متر) و در صفات اندام‌های زیرزمینی شامل وزن خشک ریشه، طول ریشه، سطح ریشه، حجم ریشه و چگالی سطح ریشه (به ترتیب با میانگین ۱۵۰/۸۸ گرم، ۲۴/۶۶ سانتی متر، ۸۶/۱ سانتی متر مربع، ۲۴ میلی لیتر، ۱۱۶/۸ سانتی متر مربع بر سانتی متر مکعب) نیز کمترین تفاوت نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج کلی این آزمایش نشان داد که گیاه استویا به سطح غرقاب ۱۰- سانتی متر، طی ۲ روز نسبتاً تحمل داشته و صفات اندام‌های هوایی و زیرزمینی گیاه در این تیمار حداقل تفاوت با شاهد را نشان دادند.

کلمات کلیدی: استویا، چگالی سطح ریشه، حجم ریشه و هیپوکسی.

مقدمه

یکی از گیاهان مهم که به دلیل قابلیت‌های بالای آن، پژوهش‌های زیادی در زمینه‌های بیوشیمیایی و صنایع غذایی روی آن صورت گرفته، استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) است. ساویتا و همکاران^۱ (۲۰۰۴) گزارش کردند که میزان انرژی‌زایی عصاره برگ استویا ۲/۷ کیلوکالری بر گرم (بر پایه وزن خشک) است، بنابراین استویا می‌تواند به عنوان یک شیرین کننده کم کالری در مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. پژوهش‌هایی در ارتباط با نقش عوامل زراعی در تولید استویا اجرا شده است (۳)، اما امروزه بعد از گذشت سی سال از زراعت استویا، هنوز عملکرد این گیاه پایین است. این موضوع به‌ویژه به دلیل ناکافی بودن اطلاعات مربوط به واکنش این گیاه به تنش‌های غیر زیستی است. خاستگاه استویا منطقه آمریکای لاتین و اقلیم گرمسیری بوده (۴) و اقلیم استان گیلان نیز شباهت زیادی با اقلیم رویشگاه طبیعی این گیاه دارد. نتایج تحقیقات انجام شده حاکی از سازگاری خوب استویا با اقلیم گیلان

Savita^۱





است (۵)، لیکن در زراعت استویا در استان گیلان یکی از تنش‌های مهمی که به دلیل سنگین بودن بافت خاک و بارش‌های مداوم در استان گیلان رخ می‌دهد، تنش غرقابی است. در پژوهش حاضر هدف این بوده است که با آزمایش طول مدت غرقابی در شرایط اقلیمی استان گیلان و بررسی نتایج حاصل از آنها بر تعدادی از صفات گیاهی استویا، گامی در جهت تکمیل پژوهش‌های زراعی و توسعه‌ی کشت این گیاه برداشته شود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سطح ایستابی در سه سطح (صفر، ۵- و ۱۰- سانتی‌متر از سطح خاک)، به مدت (۲ و ۴ روز) بود. هر واحد آزمایشی (گلدان) مشتمل بر لوله‌ای با عرض دهانه ۱۶ و ارتفاع ۵۰ سانتیمتر از جنس پی وی سی در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج تجزیه شیمیایی خاک، بافت خاک لوم شنی (شن ۷۴، سیلت ۱۶، رس ۱۰ درصد) گزارش شد. گیاهچه‌های استویا که از موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال تهیه شده بودند، به تعداد ۳ بوته در هر واحد آزمایشی درون آنها کاشته شد و کاشت آنها در نیمه‌ی اردیبهشت ۱۳۹۲ انجام گرفت. در هر گلدان تعداد ۳ بوته کاشته شده و اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت گیاهچه‌ها انجام شد. تنش ۴۵ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان اعمال و صفات در انتهای دوره رشد گیاه پیش از گلدهی اندازه‌گیری شدند. برای اعمال تنش از سطوح بزرگ با ارتفاع ۸۰ و قطر ۵۰ سانتیمتر که لوله‌های پی وی سی حاوی بوته‌های استویا درون آنها قرار داده شدند، استفاده شد. واحدهای آزمایشی طی دو زمان ۲ و ۴ روزه در سه سطح ایستابی صفر، ۵- و ۱۰- سانتی‌متر از سطح خاک تحت تنش غرقابی قرار داده شدند. صفات سطح برگ (LA) با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ رومیزی (Li Core3100, USA)، ارتفاع بوته، محتوای کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دستی (SPAD502 Minolta, Japan) اندازه‌گیری و تعداد شاخه‌های جانبی و تعداد برگ‌ها روی شاخه‌ی اصلی و شاخه جانبی شمارش شدند. تمامی ریشه‌ها بطور کامل و با رعایت حداقل آسیب با استفاده از آب جاری شسته شدند. وزن خشک ریشه (RDW) با دقت ۰/۰۰۱ گرم با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد، طول ریشه (RL)، سطح ریشه (RA)، حجم ریشه (RV) از طریق اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرار دادن ریشه در حجم مشخصی از آب با دقت ۰/۱ میلی لیتر، نسبت وزن خشک ریشه به حجم ریشه (چگالی ریشه) (RDW/RV) و نسبت وزن خشک ریشه به سطح ریشه (وزن مخصوص ریشه) (Root Specific Weight) ۱۵۰ روز پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌ها، پیش از گلدهی گیاهان اندازه‌گیری شد (۶). داده‌های جمع‌آوری شده از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS و SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تیمارهای آزمایشی از نظر تاثیر بر صفات وزن خشک ریشه (RDW)، طول ریشه (TL)، سطح ریشه (RA)، حجم ریشه (RV)، چگالی ریشه و وزن مخصوص ریشه تفاوت معنی‌داری داشتند. تنش غرقاب باعث کاهش صفات ریشه‌ای در بوته‌های استویا شد. بیشترین طول ریشه نیز مربوط به تیمار سطح ایستابی ۱۰- (با میانگین ۲۴/۱۷ سانتی‌متر) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای تنش داشت (جدول ۱). بیشترین مقدار ماده خشک اندازه‌گیری شده در تیمار سطح ایستابی ۱۰- به مدت ۲ روز (۱۵۰/۸۸ گرم) مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین سطح، حجم ریشه و چگالی سطح ریشه نیز مربوط به سطح ایستابی ۱۰- (به ترتیب با میانگین ۸۴/۵۶ و ۲۲/۸۳ سانتی‌متر مربع و ۱۱۴/۹۶ سانتیمتر مربع بر سانتیمتر مکعب) بود که تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارهای تنش نشان داد (جدول ۱). وزن مخصوص ریشه نیز با افزایش سطح ریشه کاهش می‌یابد، کمترین وزن مخصوص اندازه‌گیری شده در تیمار سطح ایستابی ۱۰- به مدت ۲ روز (۱۷/۷ سانتیمتر مربع بر گرم) مشاهده شد (جدول ۲). مهم‌ترین تاثیر تنش غرقابی، افزایش تنفس



اولین کنگره بین المللی
و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات
و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر
1st International and
13th Iranian Crop Science Congress
3rd Iranian Seed science and Technology Conference



بی‌هوایی با کارایی بسیار کمتر از تنفس هوایی است. در این شرایط به دلیل پایین بودن میزان تامین انرژی مورد نیاز گیاه، بافت ریشه سریعاً از کربوهیدرات‌ها تخلیه و گرسنگی کربوهیدرات در ریشه حادث می‌شود، در نتیجه وزن ریشه به شدت کاهش می‌یابد (۳). کاهش ذخایر ریشه در شرایط تنش غرقابی، زرد شدن و ریزش برگ‌ها در این شرایط، نتیجه غیرفعال شدن ریشه‌ها برای جذب آب و عناصر غذایی از خاک و انتقال آنها به اندام‌های هوایی است که محل سنتز مواد فتوسنتزی مورد نیاز برای فعل و انفعالات زیستی گیاه می‌باشند. بدیهی است که در این شرایط گیاه دچار ضعف عمومی شده و زیست توده ریشه و اندام هوایی متعاقب آن به شدت کاهش می‌یابد (۴). نتایج حاصله در ارتباط با طول ریشه با گزارش گنجعلی و همکاران (۱۳۸۱) مطابقت داشت. آنها گزارش کردند که تنش غرقابی تأثیر معنی‌داری روی مجموع طول ریشه‌ها و طول ریشه اصلی داشت. با افزایش عمق غرقابی مجموع طول ریشه‌ها کاهش پیدا کرده و فعالیت ریشه در عمق‌های پایین‌تر خاک بسیار محدود می‌گردد. اثر تنش غرقابی بر سطح برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های جانبی و تعداد برگ‌ها در تیمارهای مختلف معنی‌دار بود. اثر متقابل سطح غرقاب در مدت زمان غرقابی نیز بر صفات فوق بجز سطح برگ معنی‌دار بود. اثر متقابل سطح غرقاب در مدت غرقاب نشان داد که سطح غرقاب کامل در هر دو بازه زمانی ۲ و ۴ روز، منجر به کاهش تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد برگ و ارتفاع بوته شد، به طوری که سطح غرقاب ۱۰- سانتی‌متر از سطح خاک در هر دو زمان غرقابی بالاترین تعداد شاخه‌ی جانبی، تعداد برگ و بالاترین ارتفاع بوته (به ترتیب با میانگین ۲۴۲،۲۵/۳ و ۵۶/۶ سانتی‌متر) را در مقایسه با سطوح دیگر غرقابی داشتند (جدول ۴). سطح برگ تک بوته در تیمارهای شدت و مدت غرقاب تفاوت معنی‌داری را نشان دادند، به طوری که بالاترین سطح برگ تک بوته در بین سطوح غرقابی مربوط به سطح غرقاب ۱۰- سانتی‌متر از سطح خاک در مدت ۲ روز بود (۷۰ سانتی‌متر مربع) که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (جدول ۴). اثر متقابل شدت و مدت غرقابی بر محتوای کلروفیل نشان دهنده‌ی کاهش محتوای کلروفیل می‌باشد (جدول ۴) که ممکن است بدلیل کاهش سرعت سنتز و یا شکسته شدن و تخریب سریع کلروفیل‌ها باشد.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر ساده شدت و مدت غرقابی بر صفات اندام‌های زیرزمینی گیاه استویا (صفات مورد مطالعه در یک بوته نشان داده شده است)

| صفات گیاهی | | | تیمارهای آزمایشی | | | |
|--------------------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| وزن مخصوص ریشه (g.cm ⁻²) | چگالی سطح ریشه (cm ² .cm ⁻³) | حجم ریشه (cm ³) | سطح ریشه (cm ²) | طول ریشه (cm) | وزن خشک ریشه (g) | سطح غرقاب (cm) |
| ۰/۱۸ ^b | ۶۵/۹۸ ^d | ۱۴/۷ ^d | ۶۵/۱ ^d | ۱۷/۱ ^d | ۱۴۳/۸ ^a | صفر |
| ۰/۱۸ ^b | ۸۱/۲۳ ^c | ۱۹/۱ ^c | ۶۹/۵ ^c | ۲۰/۱ ^c | ۱۳۲ ^c | -۵ |
| ۰/۱۷ ^b | ۱۱۴/۹۶ ^b | ۲۲/۸ ^b | ۸۴/۶ ^b | ۲۴/۱ ^b | ۱۳۶/۳ ^b | -۱۰ |
| ۰/۲۱ ^a | ۲۰۲/۷۵ ^a | ۲۴/۷ ^a | ۹۹/۶ ^a | ۲۶/۱ ^a | ۱۳۹ ^a | شاهد |
| ۰/۱۹ ^a | ۱۲۱/۶۰ ^a | ۲۱/۴ ^a | ۸۱/۸ ^a | ۲۴/۸ ^a | ۱۳۴/۲ ^b | ۲ |
| ۰/۱۸ ^a | ۱۱۰/۸۶ ^b | ۱۹/۲ ^b | ۷۳ ^b | ۲۰/۸ ^b | ۱۴۳/۸ ^a | ۴ |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD ندارند



اولین کنگره بین المللی
و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات
و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر
1st International and
13th Iranian Crop Science Congress
3rd Iranian Seed science and Technology Conference



جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل شدت و مدت غرقابی بر صفات اندام‌های زیرزمینی گیاه استویا

| وزن مخصوص ریشه (g.cm ⁻²) | چگالی سطح ریشه (cm ² .cm ⁻³) | حجم ریشه (cm ³) | سطح ریشه (cm ²) | طول ریشه (cm) | وزن خشک ریشه (g) | سطح غرقاب (cm) | مدت غرقاب (روز) |
|--------------------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|---------------------|----------------|-----------------|
| ۲۰/۸ ^{ab} | ۶۱/۱ ^{de} | ۱۶ ^{cd} | ۵۶/۷ ^{ef} | ۱۶ ^e | ۱۲۰/۰۵ ^d | صفر | |
| ۱۹/۳ ^{ab} | ۷۶/۴ ^{cd} | ۱۳/۳ ^d | ۶۹ ^{de} | ۱۸/۶ ^{cd} | ۱۳۰/۶۸ ^d | -۵ | ۲روز |
| ۱۷/۷ ^b | ۱۱۶/۸ ^b | ۲۴ ^{ab} | ۸۶/۱ ^{bc} | ۲۴/۶ ^b | ۱۵۰/۸۸ ^c | -۱۰ | |
| ۱۹/۷ ^{ab} | ۱۸۳/۶ ^a | ۲۷/۳ ^a | ۱۰۲ ^a | ۳۰/۳ ^a | ۲۰۰/۶۸ ^b | شاهد | |
| ۱۶/۳ ^b | ۴۴ ^e | ۲۰/۳ ^{bc} | ۴۴/۶ ^f | ۱۲ ^f | ۷۰/۴۵ ^f | صفر | |
| ۱۸/۳ ^{ab} | ۶۴/۳ ^{de} | ۲۰/۳ ^{bc} | ۵۹/۵ ^{def} | ۱۶ ^e | ۱۱۰/۲۱ ^e | -۵ | ۴ روز |
| ۱۷/۷ ^b | ۹۵/۵ ^{bc} | ۲۱/۳ ^{abc} | ۷۴/۴ ^{cd} | ۲۰/۶ ^c | ۱۳۰/۳۴ ^d | -۱۰ | |
| ۲۳ ^a | ۱۹۱ ^a | ۲۲/۳ ^{abc} | ۹۴/۱ ^{ab} | ۳۱/۶ ^a | ۲۲۰/۳۱ ^a | شاهد | |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی داری بر اساس آزمون دانکن ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سادۀ تیمارهای سطوح و مدت غرقاب بر صفات اندام‌های هوایی گیاه استویا

صفات گیاهی

| تعداد شاخه جانبی | عدد کلروفیل متر | سطح برگ (cm ²) | تعداد برگ در بوته | ارتفاع بوته (cm) | تیمارهای آزمایشی |
|--------------------|-------------------|----------------------------|--------------------|---------------------|------------------|
| ۱۹ ^a | ۴۵/۵ ^a | ۵۹/۱۵ ^c | ۲۱۷ ^c | ۶۶/۴۷ ^d | سطح غرقاب |
| ۲۱ ^c | ۴۴/۶ ^b | ۴۳/۰۳ ^d | bc۲۲۸ | ۵۲/۳۳ ^c | -۵ |
| ۲۳ ^b | ۵۴/۸ ^a | ۶۳/۵ ^b | ۲۳۸/۵ ^b | b۵۵/۱۶ | -۱۰ |
| ۲۹ ^a | ۴۵ ^{ab} | ۷۲/۱۶ ^a | a۲۶۷/۸۳ | a۶۷ | شاهد |
| ۲۴/۴۱ ^a | ۴۴/۶ ^b | ۶۰/۰۷ ^a | a۲۴۲/۴۱ | ۶۸/۰۸ ^a | ۲روز |
| ۲۲ ^b | ۴۵/۸ ^a | ۵۵/۳۰ ^a | ۲۳۴/۵ ^b | ۵۵/۷۹۱ ^b | ۴ روز |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شدت و مدت غرقابی بر صفات اندام‌های هوایی گیاه استویا

صفات گیاهی

| تعداد شاخه جانبی | عدد کلروفیل متر | سطح برگ در بوته (cm ²) | تعداد برگ در بوته | ارتفاع بوته (cm) | سطح غرقاب (cm) | مدت غرقاب |
|--------------------|--------------------|------------------------------------|-------------------|-------------------|----------------|-----------|
| ۲۰/۸ ^c | ۴۲/۴ ^c | ۶۵/۸ ^c | ۲۲۲ ^c | ۴۸/۶ ^d | صفر | |
| ۲۲/۷ ^{bc} | ۴۵/۳ ^b | ۳۸/۸ ^b | ۲۳۳ ^c | ۵۴ ^c | -۵ | ۲روز |
| ۲۵/۳ ^b | ۴۶/۳ ^b | ۷۰ ^b | ۲۴۲ ^b | ۵۶/۶ ^b | -۱۰ | |
| ۲۹ ^a | ۴۷/۲ ^a | ۷۳/۹ ^a | ۲۷۱ ^a | ۶۶ ^a | شاهد | |
| ۱۷/۳ ^d | ۴۲/۰۳ ^c | ۵۲/۴ ^e | ۲۱۵ ^d | ۴۶/۶ ^e | صفر | |
| ۱۹/۷ ^{cd} | ۴۶/۶ ^b | ۴۷/۲ ^f | ۲۲۴ ^c | ۵۰/۶ ^d | -۵ | ۴ روز |
| ۲۲ ^c | ۴۵/۵ ^b | ۵۷ ^d | ۲۳۵ ^c | ۵۳/۶ ^c | -۱۰ | |
| ۲۹ ^a | ۴۶/۱ ^b | ۷۰/۳ ^b | ۲۶۴ ^a | ۶۸ ^a | شاهد | |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند تفاوت معنی داری بر اساس آزمون دانکن ندارند.



Effect of waterlogging stress on *Stevia* root and shoot growth characteristics

Reyhaneh Pordel, Msoud Esfahani, Mohammad Kafi and Ahmad Nezami

In order to study the effect of levels and duration flooding stress, on root and shoot growth of *Stevia* plant, a greenhouse pot experiment was conducted in Guilan University in 2013. The study design was factorial with completely randomized in three replications. Treatments included four flooding levels; (0, -5, -10 cm from ground surface and control), in period of (2 and 4 days). Flooding stress was induced 45 days after seedlings transferring to pots and traits were measured at the end of plant growth period before flowering. Root and shoot traits including root dry weight (RDW), root length (TL), root area (RA), root volume (RV), root surface area density (RSD), root specific weight (RSW), leaf area (LA), plant height, number of lateral shoots, number of leafs and chlorophyll content showed significant difference in all indicated treatments. Leaf number, leaf area and plant height in flooding treatment, -10 level (respectively 238, 63.53 cm² and 55.16 cm) and in flooding duration, 2 days length (respectively 242, 60.07 cm² and 68/08 cm) showed the lowest decrease in comparison with control treatment. Interaction between level -10 cm flooding and duration, 2 days length in mentioned traits showed the lowest difference in comparison with control treatment (number of leaves 242, leaf area 70cm² and plant height 56.66 cm). Root traits included root dry weight, root length, root area, root volume and root surface area density (150.88 gr, 24.66 cm, 86.1 cm², 24 ml, 116.8cm².m⁻³ respectively) showed minimum difference in comparison with control treatment. General results of the experiment show that in -10 cm flooding treatment level and duration 2 days, *Stevia* plant tolerates stress as approximately all root and shoot traits showed the least difference in these treatments with control plants.

Keywords: *Stevia*, Hypoxia, Root Volume, Root Surface Area Density.

1. Ganjali A., Kafi M., Bagheri A.R., Shahriari Ahmadi F., 2003. Allometric relationship for root and shoot characteristics of chickpea seedlings (*Cicer arietinum*) Journal of Agriculture Science. Thech. 18: 1.67-80.
2. Jackson, M. B., Richard, B., 2003. Physiology, biochemistry and molecular biology of plant root systems subjected to flooding of the Soil.H.D. Kroon and E.J.W. Visser. Root Ecology. Springer Verlag, Berlin. p.193-213
3. Muanda, F., Soulimani, R., Diop, B., Dicko, A., 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. Food Science and Technology 44:1865-1872.
4. Savita, S., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A., Ramakrishna, P., 2004. *Stevia rebaudiana*, A functional component for food industry. Journal of Human Ecology. 15:261-264.
5. Taleie, N., Hamidoghli Y., Rabiei B., Hamidoghli S., 2012. Effects of plant density and transplanting date on herbage, stevioside, phenol and flavonoid yield of *Stevia rebaudiana* Bertoni. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 4(6): 298-302.
6. Alizadeh, A., 2004. Soil, Water, Plant Relationship. Emam Reza University Publishers, Mashhad, Iran. P. 470.