

Effects of the foliar application of glycine betaine nanoparticles and fish waste as novel fertilizers on stevia plants under salinity stress conditions

ABSTRACT

Salinity is a major adverse effect on plant productivity. One of the targets of researchers in agriculture is to mitigate the effects of salinity via new methods. The application of nanotechnology and biofertilizers is among the new methods used to mitigate the effects of salinity stress. Since the effects of nanomaterials and fish waste biofertilizer on stevia plants (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under salinity stress are unclear, an experiment was conducted to investigate the effects of applying different concentrations of glycine betaine (foliar application) at three levels (0, 15, and 30 mg/L) and simultaneous application of fish waste biofertilizer (foliar application) at one level (15% (v/v)) on stevia plants grown under saltwater stress conditions (0, 30, 60, and 90 mM NaCl). The results revealed that salinity caused a 48/02% decrease in growth traits and 51.4% in photosynthetic pigments and increased the levels of antioxidant enzymes, malondialdehyde (MDA) and electrolyte leakage (EL) by 71.2%, 67.4% and 88.2%, respectively. On the other hand, simultaneous application of glycine betaine and fish waste biofertilizer mitigated the effects of salinity stress by increasing growth parameters, especially at the highest salinity level (90 mM). Overall, the application of glycine betaine, especially at a concentration of 30 mg/L, and liquid fish waste biofertilizer could be considered sustainable for mitigating the effects of salinity stress on stevia plants and potentially other crops.

Keywords:

Antioxidant enzymes, biofertilizer growth traits, nanotechnology

Introduction

Stevia rebaudiana Bertoni is the most important perennial medicinal plant belonging to the *Asteraceae* (*Compositae*) family. Salinity stress is a vital restricting factor affecting crop production worldwide in arid and semiarid areas in all climate zones. Across the world, 800 million hectares of land are saline. Currently, the use of nanoparticles (NPs) is one of the most effective methods for improving stress conditions. Glycine betaine (GB) is a compatible solute and osmoprotectant that is applied in response to biotic and abiotic stresses such as salinity. Waste reduction, especially fish waste, is an important strategy for ensuring environmental sustainability and mitigating salinity stress.

Method

This study was conducted as a factorial experiment and was based on a completely randomized design with four replications in the spring-summer of 2022. The first factor was salinity stress at four levels (0, 30, 60, and 90 mM NaCl), and the second factor was glycine betaine (foliar application) at three levels (0, 15, and 30 mg/L) and simultaneous application of fish waste biofertilizer (foliar application) at two levels (0 and 15% (v/v)). The growth parameters, photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence parameters, activity of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content were subsequently measured.

Results

The results revealed that salinity caused a 48% decrease in growth traits (51.4% of photosynthetic pigments) and an increase in antioxidant enzymes (71.2%), malondialdehyde (MDA) (67.4%) and electrolyte leakage (EL) (88.2%). Simultaneous application of glycine betaine and fish waste biofertilizer mitigated the effects of salinity stress. The best result was obtained at a concentration of 30 mg/L, and liquid fish waste biofertilizer (15%) was used.

Conclusions

The current study investigated the application of glycine betaine and fish waste as biofertilizers to stevia plants under saline conditions. Salinity stress due to the accumulation of Na^+ and

disruption of the absorption of essential nutrients, especially N and K, results in cell division, cell elongation, protein synthesis disorders, impaired membrane integrity, increased EL and decreased development. With increasing potassium, glycine betaine and fish waste biofertilizer open the stomata under stress conditions, increase gas exchange, sustain turgor, and eventually increase photosynthesis and plant growth. The glycine betaine, particularly at a concentration of 30 mg/L, and biofertilizer (15%) could be the best dose to reduce the effects of salinity. Hence, the simultaneous application of glycine betaine and fish waste biofertilizer could be an effective procedure for mitigating stress effects in plants under different stress conditions.

Author Contributions

For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used “Conceptualization, Z.M and B.M.; methodology, Z.M. and A.A; software, Z.M.; validation, Z.M., B.E.; formal analysis, B.E.; investigation, Z.M. and A.A; data curation, B.E.; writing—original draft preparation, Z.M.; writing—review and editing, Z.M and B.E.; supervision, Z.M.; project administration, B.E. and Z.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.” Please turn to the CRediT taxonomy for the term explanation. Authorship must be limited to those who have contributed substantially to the work re-reported.

کتابخانه
دانشگاه
مشهد

تأثیر نانو ذرات گلیسین بتائین و ضایعات ماهی – به عنوان یک کود جدید بر گیاه استویا تحت

شرایط تنش شوری

چکیده

شوری به عنوان معضل عمده‌ی جهانی است که بر بهره‌وری گیاهان تأثیر می‌گذارد. یکی از اهداف پژوهشگران کشاورزی، کاهش اثرات شوری با استفاده از روش‌های جدید است. استفاده از فناوری‌های نانو و کودهای آلی از جمله روش‌های جدید برای کاهش اثرات تنش شوری است. به این منظور برای بررسی اثرات استفاده از غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین به صورت محلول‌پاشی در سه سطح (۰، ۱۵، ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) بدون کاربرد و کاربرد همزمان کود مایع ضایعات ماهی به صورت محلول‌پاشی در یک سطح (۱۵ درصد) روی گیاهان استویا در شرایط تنش شوری (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که شوری باعث کاهش ۴۸ درصدی صفات رشد، ۵۱/۴ درصدی رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش ۷۱/۲ درصدی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ۶۷/۴ درصد مالون‌دی‌آلدئید و ۸۸/۲ درصد نشت الکترولیت غشا شد. از سوی دیگر، کاربرد همزمان نانو ذره گلیسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی با افزایش صفات رشدی در مقایسه با عدم کاربرد کود مایع ضایعات ماهی اثرات تنش شوری را کاهش داد. به طور کلی، بهترین نتیجه در این آزمایش در سطح ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره گلیسین بتائین و همراه کود مایع ضایعات ماهی، بدست آمد، که می‌تواند به عنوان یک روش پایدار برای کاهش اثرات تنش شوری در گیاه استویا و بالقوه سایر محصولات در نظر گرفته شود.

کلیدواژه‌ها:

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، صفات رشدی، فناوری نانو، کودهای آلی

مقدمه

کشت گیاهان دارویی از زمان‌های پیشین جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی سنتی ایران داشته است (Mahdavi et al., 2018). استویا با نام علمی *Stevia rebaudiana* Bertoni گیاه مهم دارویی چند ساله متعلق به خانواده *Asteraceae* (Compositae) است. گیاه استویا حاوی بسیاری از ترکیبات و مواد معدنی، پروتئین‌ها، فیبرها و اسانس‌ها هستند. مهم‌ترین ترکیبات گیاه استویا، استویوزید و ربیوزدپوزیدها، دو گلیکوزید اصلی دی‌ترپنوئید استویول هستند که ۳۰۰ تا ۴۰۰ برابر شیرین‌تر از ساکارز هستند و کم‌کالری‌تر از آن هست. گلیکوزیدهای گیاه استویا چندین فعالیت بیولوژیکی از خود نشان می‌دهد که از جمله آن‌ها می‌توان به پیشگیری از دیابت، کاهش فشار خون و سطح قند خون و پیشگیری از برخی بدخیمی‌ها اشاره کرد. با توجه به حساسیت گیاه استویا به شوری، رشد و متابولیتهای ثانویه گیاه می‌توانند تحت تأثیر سمیت شوری قرار گیرند (Sichanova et al., 2023). در آسیا اولین کشوری که از استویا به عنوان یک گیاه دارویی و شیرین کننده استفاده کرد، ژاپن بود که موجب گسترش استویا در کشورهای آسیایی از جمله سنگاپور، کره جنوبی، تایوان، چین، مالزی و تایلند شد (Lemus-Mondaca et al., 2012). کشت و کار استویا در ایران نیز به تازگی آغاز شده است. هرچند که اطلاعات شفافی درباره‌ی سطح کشت آن وجود ندارد ولی استان‌های گیلان و مازندران از بهترین شرایط محیطی کشت استویا در ایران بشمار می‌روند، همچنین این گیاه در برخی شهرهای استان‌های فارس و اصفهان نیز کشت می‌شود (Seraj et al., 2016). از آنجایی که اثرات مثبت نانو ذرات و کود مایع ضایعات ماهی در رشد گیاه و کاهش اثرات تنش در گیاهان بررسی نشده است. این آزمایش اثرات همزمان نانو ذره گلیسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی را بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا در شرایط تنش شوری بررسی کرده است.

پیشینه پژوهش

تنش‌های غیر زیستی دارای اثرات مخربی بر روی ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان هستند (Kumar et al., 2023). در جهان امروز، تنش شوری یک عامل محدود کننده حیاتی است که بر تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک در تمامی مناطق آب و هوایی تأثیر می‌گذارد. در سراسر جهان، ۸۰۰ میلیون هکتار زمین شور وجود دارد

(Shafiq et al., 2024). شوری خاک با تخریب کانی‌های خاک، بالا آمدن آب زیر زمینی، خشک شدن مناطق مرطوب، عدم زهکشی کافی و رسوب املاح، استفاده از کودهای شیمیایی و پساب‌های صنعتی و خانگی اتفاق می‌افتد (Stavi et al., 2021). یون‌های Na^+ ، Ca^{2+} ، Mg^{2+} ، Cl^- ، SO_4^{2-} و HCO_3^- موجب ایجاد شوری در آب و خاک و اثرات مخرب در گیاهان می‌شود (Arif et al., 2014). تنش شوری با اثر مخرب بر جوانه‌زنی بذر، فتوسنتز، تعرق، سطح برگ و محتوای کلروفیل، فتوسنتز II، هدایت روزنه‌ای و جذب آب، اثرات نامطلوب بر رشد و عملکرد گیاه دارد (Shafiq et al., 2024). تنش شوری باعث اختلال در غلظت یونی (حضور زیاد یون‌های سدیم و کلرید و کاهش پتاسیم، کلسیم، منیزیم، نیتрат) در گیاهان می‌شود. همچنین این تنش باعث ایجاد تنش اسمزی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن و سپس تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپید می‌گردد (Magangana et al., 2021). گیاهان برای مقابله با تنش شوری، ترکیبات بیوشیمیایی (مانند قند، پرولین، محتوای فنولیک، فلاونوئید)، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی، فعالیت ضد التهابی و فعالیت ضد میکروبی را افزایش می‌دهند (Magangana et al., 2021). با این وجود، پاسخ‌ها و استراتژی‌های دفاعی گیاهان برای بقا و همچنین حفظ رشد بسیار پیچیده است و مسیرهای متعددی را شامل می‌شود (Mahajana et al., 2020). در حال حاضر نانوذرات به عنوان یکی از موثرترین روش‌ها، برای بهبود شرایط تنش می‌باشد. نانو ذره‌ها موادی در مقیاس ۱۰۰ نانومتر یا کمتر هستند. گلیسین بتائین را می‌توان به عنوان نانو ذره ذکر کرد (Etesami et al., 2021). گلیسین بتائین یکی از املاح سازگار و یک محافظ اسمزی است که در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند شوری به کار می‌رود. گیاه در هنگام قرار گرفتن در معرض تنش مقداری گلیسین بتائین تولید می‌کند که مقدار این بیوسنتز ناکافی است، بنابراین برای تحمل تنش این ماده به صورت خارجی اعمال می‌شود (Annunziata et al., 2019). گلیسین بتائین خارجی با القای ظرفیت آن‌تی اکسیدانی، تولید اکسیژن فعال و جذب سدیم را محدود می‌کند. گلیسین بتائین در حفاظت از ساختار پروتئین‌ها، سیستم‌های فتوسنتزی (روبیسکو و PSII) و ساختار غشای سلولی در شرایط تنش شوری نقش دارد (Yildirim et al., 2015). راهکارهای دیگر در جهت کاهش تنش شوری استفاده از کودهای آلی می‌باشد. کاهش ضایعات و به ویژه ضایعات ماهی (به عنوان یکی از دغدغه‌های امروز جهان) یکی از راهبردهای مهم برای پایداری محیط زیست است. اهمیت فضولات ماهی به دلیل محتوای بالای پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه (به عنوان مثال، گلوتامین، گلیسین بتائین و غیره، پپتیدها، کلاژن، مواد معدنی (مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم و سایر درشت مغذی‌ها) و آنزیم‌هایی نظیر (پروتئازها و غیره) است. همانطور که تولید ضایعات ماهی در سطح جهانی در حال افزایش است و منجر به دفع محتوای بالای مواد مفید می‌شود، تولید کود مایع به یک استراتژی جاه طلبانه صنعت ماهی تبدیل شده است (Mahdavi et al., 2024).

روش‌شناسی پژوهش

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلیه صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در بهار و تابستان ۱۴۰۱ انجام شد. تنش شوری در چهار سطح (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) بود و عامل دوم گلیسین بتائین به صورت محلول پاشی در سه غلظت (۰، ۱۵، ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) بدون کاربرد کود مایع ضایعات ماهی و مصرف همزمان کود مایع ضایعات ماهی به صورت محلول پاشی در یک سطح (۱۵ درصد) بود. برای تهیه محلول نانو ذره گلیسین بتائین دو گرم اسید سیتریک و ۰/۵ گرم گلیسین بتائین همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در بشر شیشه ای ۲۵ میلی لیتر ریخته شد و هم زده شد تا یک محلول شفاف بدست آید. سپس ماده به اتوکلاو با پوشش تفلون منتقل شده و در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت گرم شد. بعد از رسیدن اتوکلاو و محلول به دمای اتاق مقدار pH محلول با سود روی هفت تنظیم گشت (Gohari et al., 2021). فضولات ماهی، سر، دم، باله گونه ماهی آزاد با نام علمی *Hypophthalmichthys molitrix* از ماهی فروشان محلی شهرستان اردبیل خریداری شد. پودر ضایعات ماهی به نسبت ۱:۵ با آب مقطر مخلوط شد؛ ۳۵ میلی‌لیتر باکتری هیدرولیز کننده پروتئین (*Bacillus licheniformis*) و ۱۵۰ گرم شکر اضافه شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو هفته نگهداری شد (Whiting et al., 2005). در نهایت از فیلترهای غشایی

(Filtration-Micro MF) برای جداسازی فاز مایع استفاده شد و سپس اسیدهای آمینه کل (جدول ۱) و همچنین آنالیز عنصری (جدول ۲) کل کود مایع ضایعات ماهی با استفاده از HPLC اندازه گیری شد.

جدول ۱: ترکیب اسیدهای آمینه در کود مایع ضایعات ماهی

واحد	اسید آمینه کل	اسید آمینه آزاد	اسید آمینه
mg AA/g sample	۱/۳۶	۰/۷	آسپارتیک اسید
mg AA/g sample	۳/۵۷	۱/۴۹	گلوتامیک اسید
mg AA/g sample	۰/۸۷	۰/۱۷	سرب
mg AA/g sample	۳/۴۲	۱/۰۸	گلیسین
mg AA/g sample	۰/۴۸	۰/۱۵	هیستیدین
mg AA/g sample	۱/۰۲	۰/۲۳	آرژنین
mg AA/g sample	۰/۸۴	۰/۱۴	ترئونین
mg AA/g sample	۲/۷۷	۱/۳۹	آلانین
mg AA/g sample	۱/۸۶	۰/۶۱	پرولین
mg AA/g sample	۰/۴۸	۰/۴۸	تیروزین
mg AA/g sample	۱/۶۳	۰/۷۲	والین
mg AA/g sample	۰/۵۱	۰/۲۶	متیونین
mg AA/g sample	۰/۰۰	۰/۰۰	سیستین
mg AA/g sample	۰/۹۴	۰/۴۷	ایزولوسین
mg AA/g sample	۱/۷	۰/۹۸	لوسین
mg AA/g sample	۰/۸۳	۰/۴۱	فنیل آلانین
mg AA/g sample	۰/۹۲	۰/۲۸	لیزین

جدول ۲: ترکیب عناصر غذایی کود مایع ضایعات ماهی

sample	Ca ₂ O%	P ₂ O ₅ %	K ₂ O%	N _{total} %	OC%
	۱/۸۱	۹/۱۶	۷/۶	۶/۰۲	۱۲

نشا استویا (*S. rebaudiana* Bertoni) از گلخانه گیاهان دارویی زر گیاه در شهر شیراز تهیه و یک عدد نشا استویا در گلدان های ۲۵×۲۰ سانتی متری حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) کاشته شد و در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۵ تا ۷۰ درصد و میانگین شدت نور ۴۳۴ لوکس قرار داده شدند. گیاهان ابتدا با غلظت یک چهارم غلظت (یک هفته) و سپس محلول هوگلند یک دوم غلظت (چهار هفته) و در نهایت با محلول غذایی با غلظت کامل (تا برداشت: ۵۰۰ میلی لیتر هر روز) آبیاری شدند. محلول یک دوم غلظت هوگلند دارای رسانایی الکتریکی ۱/۰۲ دسی زیمنس بر متر بود. pH محلول هوگلند در طول آزمایش در ۵/۹ ثابت ماند. پس از استقرار گیاه (هشت روز پس از انتقال نهال به گلدان)، با افزودن غلظت های ذکر شده سدیم کلرید (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ میلی مولار) به محلول غذایی، شوری اعمال شد. پس از شروع تیمارهای شوری، گیاهان به مدت هشت هفته کشت شدند. دو هفته بعد از اعمال شوری، برگ ها (اندام هوایی) با غلظت های ذکر شده گلیسین بتائین (۰، ۱۵، ۳۰ میلی گرم در لیتر همراه با توئین ۰/۱ درصد) همراه و بدون کاربرد کود زیستی ضایعات ماهی (۱۵ درصد (۷/۷) همراه با توئین ۰/۱ درصد) و به فاصله هشت روز محلول پاشی شدند. گیاهان شاهد تا زمان برداشت فقط با محلول غذایی آبیاری شدند و تیمار گلیسین بتائین و کود زیستی ضایعات ماهی در گیاهان شاهد نیز اعمال گشت. گیاهان ۷۰ روز پس از کاشت برداشت شدند.

اندازه گیری صفات

بعد از گذشت حدود دو ماه پس از کاشت، صفات ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد برگ و سطح برگ به عنوان صفات مورفولوژیکی ثبت شد. برای بدست آوردن ماده خشک مواد گیاهی شامل شاخه و برگ ها در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد

به مدت ۷۲ ساعت در آون خشک کن نگهداری شدند و با استفاده از دستگاه Pamwin (PAM 2500) سطح برگ تعیین شد. برای اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل و کارتنوئیدها طبق روش (Arnon, 1949) به روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. بدین منظور ۰/۱ گرم بافت برگ با استون (۸۰ درصد) همگن شد و بعد بدست آمدن عصاره، میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه UV-V (Hitachi U-2910، توکیو، ژاپن)، در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر ثبت شد.

$$\text{Chl a} = [(19.3 \times A_{663.2} - 0.86 \times A_{646.8})] V/100W \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$\text{Chl b} = [(19.3 \times A_{646.8} - 3.6 \times A_{663.2})] V/100W \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$\text{Carotenoids} = [100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl b})] / 227 \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$\text{ChlTotal} = \text{Chl a} + \text{Chl b} \quad \text{رابطه (۴)}$$

که در آن V حجم عصاره و W وزن ماده تازه است.

کلروفیل فلورسانس (Fv/Fm) با استفاده از فلورومتر (مدل OS-30p) پس از ۱۵ دقیقه سازگاری برگ در تاریکی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین در برگ‌های گیاه استویا، نمونه‌های برگ با سه میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (pH = ۶/۸) همگن شدند. مخلوط واکنش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۹۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد بود. واکنش در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Bradford et al., 1976). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ابتدا ۰/۱ گرم بافت برگ با دو میلی‌لیتر بافر فسفات (pH = ۶/۸؛ ۱۰ میلی‌مولار)، همگن گردید و سپس عصاره (۶۰۰۰ دور در دقیقه، ۲۰ دقیقه) سانتریفیوژ شد و از مایع رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. کلیه مراحل در یخ انجام گرفت. برای سنجش آنزیم پراکسیداز، مخلوط واکنش شامل ۲/۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (۱۰۰ میلی‌مولار) حاوی گایاکول (۱۰۰ میلی‌مولار)، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود، که ثبت میزان آنزیم در طول موج ۴۷۰ نانومتر با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۲۰ میلی‌مولار) پس از ۹۰ ثانیه آغاز شد (Hemeda and Klein, 1990). مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۰/۳ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن پنج میلی‌مولار و ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب با تجزیه پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Kar and Mishra, 1976). برای اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز، مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار، pH=7، اسید آسکوربیک (۵۰ میکرومولار)، پراکسید هیدروژن (۱/۵ میلی‌مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. مقدار جذب در ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت گردید (Nakano and Asada, 1981). برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید در بخش اندام‌هوایی گیاه استویا به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، ۰/۱ گرم بافت برگ تازه در اسید تری کلرواستیک ۰/۱ در صد همگن شدند و سپس ۵۰۰ میکرولیتر عصاره به یک میلی‌لیتر اسید تیوباریبوتیک ۰/۵ درصد که حاوی اسید تری-کلرواستیک ۲۰ درصد اضافه شد و میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر ثبت شد (Heath and Packer, 1968). برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت غشا از روش (Redman et al., 1986) استفاده شد. بر اساس این روش، نشت الکترولیت غشا با استفاده از یک هدایت‌سنج الکتریکی (Hanna, HI98192, Hanna Instruments, Inc., Woonsocket, RI, USA) تعیین شد. پس از جمع‌آوری ۱۵ دیسک (قطر ۰/۵ سانتی‌متر) به طور تصادفی از برگ‌ها و انکوباسیون با ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه در دمای محیط (۲۴ ساعت)، هدایت الکتریکی اولیه (EC₁) ثبت شد. رسانایی نهایی (EC₂) پس از انکوباسیون نمونه‌ها در آب جوش (۲۰ دقیقه) و سرد شدن اندازه‌گیری شد. در نهایت، EL از معادله زیر محاسبه شد.

$$EL (\%) = (EC_1/EC_2) \times 100 \quad \text{رابطه (۴)}$$

برای اندازه‌گیری میزان سدیم، پتاسیم و کلسیم اندام‌هوایی ابتدا نمونه‌های شاخساره گیاهی جمع‌آوری شده با آب دیونیزه چندین بار شسته شدند. نمونه‌های خشک اندام‌هوایی استویا در آون با دمای ۲۵ ± ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. برای تعیین کلسیم، پتاسیم و سدیم خاکستر سفید در اسید هیدروکلریک غلیظ هضم شد و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم‌فتومتری اندازه‌گیری شد. غلظت کلسیم با ابزار جذب اتمی ثبت شد (Chapman and Pratt, 1961).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌های پژوهش

صفات رویشی

با توجه به جدول تجزیه واریانس حاصل از تاثیر تیمارهای تنش شوری و محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی به همراه نانو ذره گلیسین بتایین نشان داد که تاثیر تنش شوری بر صفات ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، تعداد برگ، سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). تاثیر محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی به همراه نانو ذره گلیسین بتایین بر صفات ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، تعداد برگ، سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی و نانو ذره گلیسین بتایین بر صفات وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی کود مایع ضایعات و نانو ذره پرولین ماهی برای هیچ کدام از صفات اندازه‌گیری شده به جزء سطح برگ در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتایین بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه استویا تحت تنش شوری

Fv/Fm	نشت الکترولیت غشا	سطح برگ	تعداد برگ	میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
				وزن خشک گیاه	ارتفاع بوته		
۰/۲۳**	۶۶۳۷/۱**	۲۷۳۰/۳**	۱۰۴۱۶۰/۳**	۳۰۱/۲**	۳۴۵۵/۴**	۳	تنش شوری
۰/۰۴**	۹۸۵/۹**	۵۰۳/۸**	۷۳۱۶/۸۵**	۱۱۷/۳**	۳۵۳/۵**	۴	(تعدیل کننده) گلیسین بتایین/کود مایع ماهی
۰/۰۰۷**	۲۲۱/۳**	۳۱/۴**	۹۱/۳ ^{ns}	۳/۴ ^{ns}	۷/۳ ^{ns}	۱۲	تنش شوری × تعدیل کننده
۰/۰۰۲	۲۰/۲	۳/۶	۱۲۳۳/۳	۵/۵	۱۵/۴	۶۰	اشتباه آزمایشی
۴/۹	۹/۹	۵/۶	۱۸/۷	۱۲/۶	۶/۶		ضریب تغییرات

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد

جدول مقایسه میانگین که با افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار، ارتفاع بوته ۴۰/۱ درصد کاهش یافته است. محلول‌پاشی گیاهان استویا با تعدیل کننده شوری (نانو ذره گلیسین بتایین و کود مایع ضایعات ماهی) توانست اثرات نامطلوب ناشی تنش شوری را کاهش دهد، به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته (۶۶/۲ سانتی‌متر) در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره گلیسین بتایین به همراه کود مایع ضایعات بدست آمد (جدول ۴).

با توجه به مقایسه میانگین تیمارها مشخص گردید که در صفت وزن خشک بوته، بیشترین مقدار (۲۲/۶ گرم) در تیمار بدون شوری و کم‌ترین مقدار (۱۳/۶ گرم) در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری بدست آمد، که با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری بود. محلول‌پاشی با تعدیل کننده شوری توانست اثرات نامطلوب ناشی از تنش شوری را کاهش دهد به‌طوری‌که در تیمار بدون محلول‌پاشی، تعدیل کننده مقدار این شاخص (۱۵/۵ گرم) بود و در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره گلیسین بتایین به همراه کود مایع ضایعات ماهی مقدار (۲۲/۸ گرم) بوده است (جدول ۴).

تنش شوری باعث کاهش ۶۲/۲ درصد تعداد برگ شده است. براساس همین جدول (جدول ۴) کاربرد تعدیل کننده شوری توانست اثرات نامطلوب ناشی تنش شوری را کاهش دهد و باعث بهبود این شاخص بشود. به طوری‌که تعداد برگ در تیمار بدون تعدیل کننده شوری (۱۶۴/۳ عدد) و در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین به همراه کاربرد کود مایع ضایعات ماهی (۲۲۰/۴ عدد) بوده است (جدول ۴).

براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۵) تنش شوری باعث کاهش سطح برگ گیاه استویا گردید. بیشترین مقدار سطح برگ در (۶۱/۸ میلی‌متر مربع) در تیمار بدون شوری و کاربرد غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین به همراه کاربرد کود مایع ضایعات ماهی بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشته است. کم‌ترین مقدار سطح برگ در (۱۸/۱ میلی‌متر

مربع) در ۹۰ میلی مولار شوری و بدون کاربرد تعدیل کننده شوری بدست آمد که تفاوت معنی داری با سایر تیمار ها داشته است (جدول ۵).

جدول ۴: مقایسه میانگین اثرات اصلی کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک استویا تحت تنش شوری

تیمارها	ارتفاع بوته (سانتی متر)	وزن خشک بوته (گرم)	تعداد برگ
۰	۷۵/۷ ^a	۲۲/۶ ^a	۲۶۶/۴۵ ^a
۳۰	۶۴/۳۵ ^b	۲۰/۴۵ ^b	۲۲۰/۸۵ ^b
۶۰	۵۳/۸ ^c	۱۸ ^c	۱۶۰/۳ ^c
۹۰	۴۵/۳۵ ^d	۱۳/۶ ^d	۱۰۰/۷ ^d
۰	۵۴/۱۸ ^c	۱۵/۵۵ ^d	۱۶۴/۳ ^c
۱۵	۵۶/۵ ^c	۱۷/۴ ^c	۱۷۴/۴ ^{cb}
۳۰	۶۰/۱ ^b	۱۸/۱ ^{bc}	۱۸۳/۷ ^{cb}
۱۵	۶۲/۱ ^b	۱۹/۵ ^b	۱۹۲/۵ ^b
۳۰	۶۶/۳ ^a	۲۲/۸ ^a	۲۲۰/۴ ^a

حروف مشترک در هر ستون، نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد به روش دانکن می باشد.

صفات فیزیولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تنش شوری بر صفات نشت الکترولیت غشا، کلروفیل فلورسانس در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تاثیر محلول پاشی و نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی بر صفات نشت الکترولیت غشا، کلروفیل فلورسانس در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. اثر متقابل تنش شوری و محلول پاشی تعدیل کننده تنش شوری برای صفات نشت الکترولیت غشا، کلروفیل فلورسانس در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی داری داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که تنش شوری باعث افزایش نشت الکترولیت غشا گردید. بیشترین مقدار نشت الکترولیت غشا در (۸۸/۲ درصد) در تیمار بدون کاربرد تعدیل کننده شوری و تنش شوری ۹۰ میلی مولار بدست آمد. کمترین میزان نشت الکترولیت غشا (۲۰/۶ درصد) در کاربرد ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی در شرایط بدون تنش شوری بدست آمد که با سایر تیمارها در همین سطح شوری تفاوت معنی داری داشته است (جدول ۵). براساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۵) تنش شوری باعث کاهش کلروفیل فلورسانس گردید. بیشترین مقدار کلروفیل فلورسانس (۰/۸۲)، در تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و بدون تنش شوری بدست آمد که با سایر تیمارها در این سطح شوری تفاوت معنی داری داشته است. کمترین میزان کلروفیل فلورسانس (۰/۴۴)، در تیمار ۹۰ میلی مولار تنش شوری و بدون کاربرد تعدیل کننده شوری بدست آمد (جدول ۵).

جدول ۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی استویا تحت تنش شوری

تنش شوری (میلی مولار)	کود مایع ضایعات ماهی (درصد)	گلیسین بتائین (میلی گرم بر لیتر)	سطح برگ (میلی متر مربع)	نشت الکترولیت غشا (درصد)	Fv/Fm
۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۴۰/۱ ^d	۲۹/۱ ^{ji}	۰/۸ ^{abc}
۰	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۱۵	۴۱/۱ ^d	۲۷/۶ ^{ijk}	۰/۸ ^{ab}
۰		۳۰	۴۸/۱ ^b	۲۳/۴ ^{ijkl}	۰/۸ ^{abc}
۰		۱۵	۵۰/۸ ^b	۲۱/۴ ^{kl}	۰/۸ ^{ab}
۳۰		۳۰	۶۱/۸ ^a	۲۰/۶ ^l	۰/۸ ^{۳a}
۳۰		۰	۳۰/۱ ^{ef}	۴۲/۸۹ ^{ef}	۰/۷ ^{ef}

بدون کود مایع ضایعات ماهی	۱۵	۳۲/۱ ^e	۴۰/۱ ^{gf}	۰/۷۱ ^{def}
کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۳۰	۴۰/۵ ^d	۳۶/۴ ^{efgh}	۰/۷۳ ^{def}
	۱۵	۴۱/۷ ^{cd}	۳۳/۹ ^{ghi}	۰/۷۵ ^{cde}
	۳۰	۴۴/۴ ^c	۳۱/۱ ^{hi}	۰/۷۹ ^{bcd}
بدون کود مایع ضایعات ماهی	۱۵	۲۵/۸ ^g	۵۵/۷۵ ^{bc}	۰/۶۳ ^g
کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۳۰	۲۸/۷ ^f	۵۳/۱ ^{cd}	۰/۶۹ ^{ef}
	۱۵	۳۰/۴ ^{ef}	۵۱/۳ ^{cd}	۰/۷۳ ^{def}
	۳۰	۳۳ ^e	۴۸/۲ ^{de}	۰/۷۶ ^{bcd}
بدون کود مایع ضایعات ماهی	۱۵	۱۹/۱ ^j	۸۸/۳ ^a	۰/۴۴ ^h
کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۳۰	۲۰/۶ ^{zhi}	۵۳/۵ ^{cd}	۰/۶۱ ^g
	۱۵	۲۱/۹ ^{hi}	۵۱/۵ ^{cd}	۰/۴۹ ^h
	۳۰	۲۸/۹ ^f	۵۱/۱ ^{cd}	۰/۶۹ ^f

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش چند دامنه ای دانکن می باشد.

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تنش شوری بر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تاثیر محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی بر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. اثر متقابل تنش شوری و محلول پاشی تعدیل کننده تنش شوری برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی داری داشت (جدول ۶).

جدول ۶: نتایج تجزیه واریانس اثر کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استویا تحت تنش شوری

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
تنش شوری	۳	۳۷۷۳/۹**	۱۱۹/۴**	۴۰۴۱/۱**	۱۲۱/۷۵**
(تعدیل کننده) گلیسین بتائین/کود مایع ماهی	۴	۵۴۴**	۶۰/۴**	۹۶۶**	۶۹/۸**
تنش شوری × تعدیل کننده	۱۲	۲۱/۹**	۲/۸**	۳۵**	۵/۲**
اشتباه آزمایشی	۶۰	۰/۸۷	۰/۸۱	۱/۷	۰/۱۷
ضریب تغییرات		۲/۷	۱۰/۳	۳/۱	۴/۷

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد

تنش ۹۰ میلی مولار شوری باعث کاهش ۵۹/۶ درصد کلروفیل a نسبت به تیمار بدون شوری شد. کاربرد غلظت ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش کلروفیل a به ترتیب (۲۶/۶ و ۴۵/۸ درصد) به ترتیب در تنش شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار شد و کاربرد نانو ذره گلیسین بتائین بدون کاربرد کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش کلروفیل a به ترتیب (۱۶/۹ و ۲۱/۹ درصد) به ترتیب در تنش شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار شد (جدول ۷). با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۷)، تنش ۹۰ میلی مولار شوری باعث کاهش (۴۴/۹، ۵۶/۸ درصد) کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به تیمار بدون شوری شد. بیشترین مقدار کلروفیل b و کل به ترتیب در (۱۶/۱، ۴/۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و بدون تنش شوری بدست آمد. کمترین میزان کلروفیل b (۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۹۰ میلی مولار تنش شوری و بدون کاربرد تعدیل کننده شوری بدست آمد.

مطابق نتایج، افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی مولار باعث کاهش ۴۴/۱ درصد کارتنوئید شد. بیشترین مقدار کارتنوئید (۱۷/۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و بدون کاربرد شوری بدست آمد که با سایر تیمارها در این سطح شوری تفاوت معنی داری داشته است (جدول ۷).

جدول ۷: مقایسه میانگین اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استویا تحت تنش شوری

تنش شوری (میلی مولار)	کود مایع ضایعات ماهی چ (درصد)	گلیسین بتائین (میلی گرم بر لیتر)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کارتنوئید (میلی - گرم بر گرم وزن تر)
۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۳۹/۵ ^c	۹/۰۷ ^{de}	۴۸/۶ ^f	۸/۹ ^f
	ماهی	۱۵	۴۱/۰۷ ^{ef}	۹/۶۵ ^d	۵۰/۷ ^e	۹/۳۵ ^{ef}
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۴۸/۸ ^c	۱۱/۳ ^c	۶۰/۲ ^b	۱۰/۶ ^{cd}
	درصد	۱۵	۵۰/۳ ^b	۱۲/۶ ^{bc}	۶۲/۹ ^b	۱۲/۶ ^b
۳۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۶۰/۰۶ ^a	۱۶/۱ ^a	۷۶/۲ ^a	۱۷/۳ ^a
	ماهی	۳۰	۳۰/۱ ⁱ	۷/۰۹ ^{gh}	۳۷/۰۴ ⁱ	۷/۳ ^h
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۱۵	۴۰/۶ ^{fg}	۷/۵ ^{gf}	۳۹/۳ ^h	۸ ^g
	درصد	۳۰	۴۲/۱ ^e	۱۰ ^d	۵۰/۵ ^e	۱۰/۲ ^d
۶۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۴۴/۷۵ ^d	۱۳/۱ ^b	۵۷/۹ ^d	۱۳ ^b
	ماهی	۱۵	۲۴/۰۸ ^j	۵/۷ ^{hi}	۲۹/۸ ^{ki}	۵/۴ ^k
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۲۵/۰۸ ^j	۶/۱ ^{hi}	۳۱/۸ ^j	۶/۱ ^j
	درصد	۳۰	۲۹/۰۱ ⁱ	۷/۸ ^{ef}	۳۶/۸ ⁱ	۸ ^g
۹۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۳۰/۳ ⁱ	۸/۱ ^{ef}	۳۸/۳ ^{hi}	۸/۸ ^f
	ماهی	۱۵	۳۲/۸ ^h	۹ ^{de}	۴۱/۹ ^g	۹/۵ ^e
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۱۶ ^l	۵ ^j	۲۱ ^m	۵ ^k
	درصد	۳۰	۲۰/۵ ^k	۶/۴ ^{ghi}	۲۶/۹ ^l	۶/۶ ^{ji}
	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۱۵	۲۱/۲ ^k	۶/۸ ^{fgh}	۲۸/۱ ^{kl}	۶/۸ ^{hi}
	ماهی	۳۰	۲۹/۵ ⁱ	۷/۸ ^{ef}	۳۷/۳ ⁱ	۷/۳ ^h
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰				
	درصد					

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

آنزیم پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر تنش شوری بر صفات آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز، آنزیم آسکوربات پراکسیداز و مالون دیالدهید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. تاثیر محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی بر صفات آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز، آنزیم آسکوربات پراکسیداز و مالون دیالدهید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. اثر متقابل تنش شوری و محلول پاشی تعدیل کننده تنش شوری برای صفات آنزیم پراکسیداز، آنزیم کاتالاز، آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی داری داشت. برای صفت مالون دیالدهید در سطح احتمال پنج درصد تاثیر معنی داری داشت (جدول ۸).

جدول ۸: ادامه نتایج تجزیه واریانس اثر کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استویا تحت تنش شوری

میانگین مربعات					منابع تغییرات
مالون	آنزیم اسکوربات	آنزیم	آنزیم	درجه آزادی	
دی‌الدئید	پراکسیداز	کاتالاز	پراکسیداز		
۰/۸**	۲۱۲۰۵/۶۱**	۳/۰۸**	۲۲۵۰۶۶/۷۹**	۳	تنش شوری
۰/۲۴**	۱۵۹۱/۶۶**	۰/۷۳**	۸۵۳۴۹/۲۶**	۴	(تعدیل کننده) گلیسین بتائین / کود مایع ماهی
۰/۰۱*	۳۰۴/۴۸**	۰/۱۸**	۱۱۳۲۱/۴۸**	۱۲	تنش شوری × تعدیل کننده
۰/۰۰۰۵	۳۰/۵۴	۰/۰۰۵۶	۱۱۰۲/۴۷	۶۰	اشتباه آزمایشی
۵/۶۴	۱۲/۳۷	۱۲/۳۱	۱۱/۷۸		ضریب تغییرات

NS، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد

مطابق نتایج بدست آمده افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۳۷ درصد آنزیم پراکسیداز شد. بالاترین میزان آنزیم پراکسیداز (۶۱۴/۷ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) در ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری و تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و کم‌ترین (۱۵۶ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) میزان آنزیم پراکسیداز در تیمار بدون تنش شوری و بدون کاربرد تعدیل کننده بدست آمد (جدول ۹).

مطابق نتایج بدست آمده افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۷۷/۵ درصد آنزیم کاتالاز شد. بالاترین میزان این آنزیم (۲ میلی مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) در ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری در ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی بدست آمد که تفاوت معنی داری یا سایر تیمارها در این سطح شوری داشت. کم‌ترین آن (۰/۱۶ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) میزان آنزیم کاتالاز در تیمار بدون تنش شوری و بدون کاربرد تعدیل کننده بدست آمد (جدول ۹).

بر اساس نتایج بدست آمده تنش ۹۰ میلی‌مولار شوری باعث افزایش ۸۵ درصد نسبت به عدم تیمار شوری شد. در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری بالاترین (۱۲۰/۸ میلی مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) میزان آنزیم اسکوربات پراکسیداز در ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی بدست آمد. که دارای تفاوت معنی دار با سایر تیمارها در این سطح شوری بود. کم‌ترین آن (۹/۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین) میزان آنزیم کاتالاز در تیمار بدون تنش شوری و بدون کاربرد تعدیل کننده بدست آمد (جدول ۹).

مالون دی‌الدئید

با توجه به جدول مقایسه میانگین افزایش تنش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۶۷/۴ درصد مالون دی‌الدئید نسبت به تیمار بدون شوری شد. کم‌ترین میزان مالون دی‌الدئید (۰/۲ میکرومول بر گرم) در تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین همراه با کود مایع ضایعات ماهی و بدون کاربرد شوری بدست آمد. بیشترین میزان مالون دی‌الدئید (۰/۹ میکرومول بر گرم)، در تیمار بدون کاربرد تعدیل کننده شوری و تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار بدست آمد (جدول ۹).

جدول ۵: ادامه مقایسه میانگین اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استویا

تحت تنش شوری

تنش شوری (میلی مولار)	کود مایع ضایعات ماهی (درصد)	گلیسین - بتائین (میلی گرم بر لیتر)	آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین)	آنزیم کاتالاز (میلی مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین)	آنزیم اسکوریات پراکسیداز (میلی مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین)	مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم)
۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۰	۱۵۶/۰۵ ^g	۰/۱۶ ^h	۹/۸ ^j	۰/۳ ^{hi}
		۱۵	۱۶۱/۰۵ ^g	۰/۱۷ ^{gh}	۱۰/۳ ^{ij}	۰/۳ ^{hi}
		۳۰	۱۸۶/۲ ^{fg}	۰/۳۹ ^f	۱۳/۵ ^{hij}	۰/۲ ^j
		۱۵	۱۹۱/۲ ^{gf}	۰/۴ ^f	۱۵۴ ^{hij}	۰/۲ ^j
۳۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۳۰	۲۱۰/۸ ^{efg}	۰/۴۳ ^f	۱۷ ^{hij}	۰/۲ ^j
		۰	۱۷۷/۹ ^{gf}	۰/۲۶ ^{gh}	۱۹ ^{hi}	۰/۵ ^e
		۱۵	۱۸۷/۹ ^{gf}	۰/۲۸ ^g	۲۱/۵ ^h	۰/۵ ^e
		۳۰	۲۰۹/۸ ^{efg}	۰/۴۴ ^f	۳۰/۷ ^g	۰/۳ ^{hi}
۶۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۱۵	۲۲۴/۸۵ ^{ef}	۰/۴۶ ^f	۳۲ ^g	۰/۲۵ ⁱ
		۳۰	۲۹۷/۱ ^d	۰/۵ ^{ef}	۳۷/۲ ^{fg}	۰/۲ ^j
		۰	۲۰۹/۹ ^{efg}	۰/۴ ^f	۴۱/۵ ^{ef}	۰/۶ ^c
		۱۵	۲۲۴/۹ ^{ef}	۰/۴ ^f	۴۶ ^{de}	۰/۶ ^c
۹۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۳۰	۳۳۸/۶ ^d	۰/۶ ^{de}	۴۶/۶ ^{de}	۰/۶ ^{ef}
		۱۵	۳۴۶/۱ ^d	۰/۶۲ ^{cd}	۵۲/۱ ^d	۰/۵۵ ^f
		۳۰	۴۱۰ ^c	۰/۷ ^{cd}	۶۰/۳ ^c	۰/۴۵ ^{gh}
		۰	۲۴۷/۸ ^e	۰/۷ ^{cd}	۶۵/۵ ^e	۰/۹ ^a
۹۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد	۱۵	۳۲۶ ^d	۰/۷۴ ^c	۶۸/۵ ^c	۰/۸ ^b
		۳۰	۴۵۰ ^{bc}	۱/۲ ^b	۹۰/۷ ^b	۰/۶ ^c
		۱۵	۴۶۲/۵ ^b	۱/۳ ^b	۹۵/۲ ^b	۰/۶ ^c
		۳۰	۶۱۴/۷ ^a	۲ ^a	۱۲۰/۸ ^a	۰/۵ ^d

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

محتوای عناصر گیاه

نتایج تجزیه واریانس جدول (۱۰) نشان داد که اثرات اصلی تیمارهای شوری بر سدیم، پتاسیم و کلسیم اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد و کاربرد تعدیل کننده های تنش شوری بر سدیم، پتاسیم و کلسیم اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شدند. بر اساس همین جدول اثرات متقابل تیمارهای شوری و کاربرد تعدیل کننده های تنش شوری بر سدیم، پتاسیم و کلسیم اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شدند (جدول ۱۰).

جدول ۱۰: نتایج تجزیه واریانس اثر کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر میزان عناصر استویا تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه	سدیم اندام هوایی	پتاسیم اندام هوایی	کلسیم اندام هوایی
تنش شوری	۳	۱۵/۵۴ ^{**}	۱/۷۵ ^{**}	۳/۰۳ ^{**}
(تعدیل کننده) گلیسین بتائین/کود مایع	۴	۲۱/۲ ^{**}	۱۹/۸ ^{**}	۴/۲ ^{**}
تنش شوری × تعدیل کننده	۱۲	۲/۹ ^{**}	۰/۹۱ ^{**}	۰/۹ ^{**}
اشتباه آزمایشی	۶۰	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱
ضریب تغییرات		۵/۱۹	۳/۲۷	۳/۴۲

NS، * و **: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد

بر اساس جدول مقایسه میانگین، افزایش تنش شوری از صفر به ۹۰ میلی مولار باعث افزایش ۷۰/۸ درصد مقدار سدیم در اندام هوایی گردید. در غلظت ۹۰ میلی مولار شوری، تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین بدون کود مایع ضایعات ماهی و تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره پرولین همراه با کود مایع ضایعات ماهی باعث کاهش (۶۴/۲ ۷۰/۴۵ درصد) سدیم اندام هوایی نسبت به تیمار عدم کاربرد تعدیل کننده شوری شدند (جدول ۱۱).

بر اساس جدول مقایسه میانگین تنش شوری باعث کاهش به ترتیب (۴۸/۵ ، ۷۰/۵ درصد) مقدار پتاسیم و کلسیم در اندام هوایی گردید. به طور کلی محلول پاشی ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش روند جذب پتاسیم و کلسیم اندام هوایی شده است. در تیمار ۹۰ میلی مولار شوری، تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین بدون کود مایع ضایعات ماهی و تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین همراه با کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش (۶۳/۴ ۷۱/۹ درصد) در پتاسیم اندام هوایی نسبت به تیمار عدم کاربرد تعدیل کننده شوری شدند. در تیمار ۹۰ میلی مولار شوری، تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین بدون کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش (۶۶ درصد) کلسیم اندام هوایی و تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتایین همراه با کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش (۷۴ درصد) کلسیم اندام هوایی نسبت به تیمار عدم کاربرد تعدیل کننده شوری شدند (جدول ۱۱).

جدول ۱۱: مقایسه میانگین اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتایین بر میزان عناصر استویا تحت تنش شوری

تنش شوری (میلی مولار)	کود مایع ضایعات ماهی (درصد)	پرویلین (میلی گرم بر لیتر)	سدیم اندام هوایی (درصد)	پتاسیم اندام هوایی (درصد)	کلسیم اندام هوایی (درصد)
۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۱/۸ ^{kjl}	۳ ^h	۳/۴ ^d
	ماهی	۱۵	۱/۶ ^{kml}	۳ ^h	۳/۶ ^c
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۱/۵ ^{mn}	۳/۴ ^f	۳/۴ ^d
	درصد	۱۵	۱/۳ ⁿ	۳/۷ ^e	۳/۶ ^c
		۳۰	۱ ^o	۴/۷ ^b	۳/۸ ^b
۳۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۳/۴ ^e	۲/۷ ⁱ	۲/۸ ^h
	ماهی	۱۵	۳/۳ ^f	۲/۹ ^h	۱/۹ ^l
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۲/۳ ^g	۳/۲ ^g	۲/۷ ^g
	درصد	۱۵	۲/۱ ^{ghi}	۴/۴ ^c	۲/۹ ^f
		۳۰	۱/۶ ^{ml}	۵/۳ ^{۵a}	۳/۱ ^e
۶۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۴/۶ ^c	۲/۲ ^j	۱/۴ ⁿ
	ماهی	۱۵	۴/۳ ^d	۲/۴ ^j	۱/۶ ^m
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۲/۱ ^{hi}	۳/۳ ^{ef}	۲/۷ ^g
	درصد	۱۵	۱/۹ ^{ij}	۳/۶ ^d	۳ ^{ef}
		۳۰	۱/۶ ^{kml}	۳/۵ ^f	۴/۲ ^a
۹۰	بدون کود مایع ضایعات ماهی	۰	۶ ^a	۱/۵ ^l	۱ ^o
	ماهی	۱۵	۵/۸ ^b	۱/۸ ^{۵k}	۱ ^o
	کود مایع ضایعات ماهی ۱۵	۳۰	۲/۲ ^{gh}	۴/۲ ^d	۳ ^{ef}
	درصد	۱۵	۲ ^{hij}	۴/۳ ^c	۳/۱ ^e
		۳۰	۱/۸ ^k	۵/۴ ^{۵a}	۴ ^b

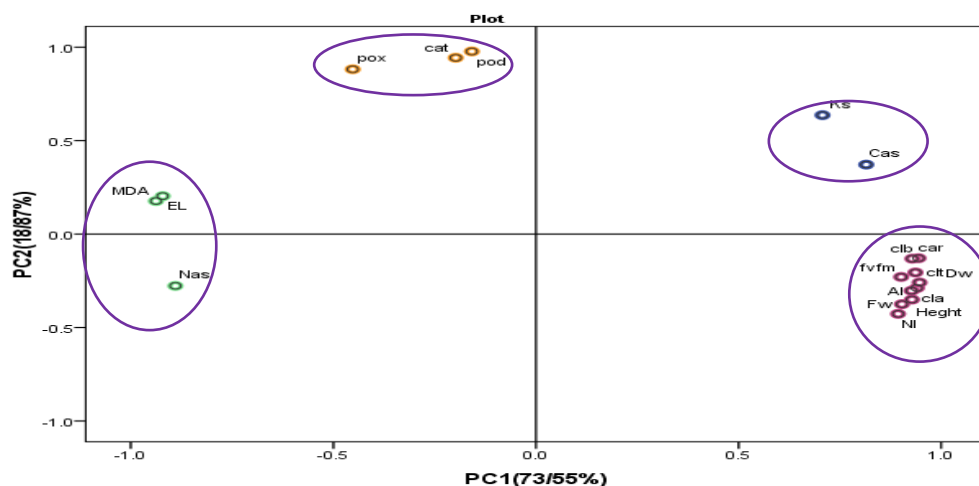
حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد به روش آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

آنالیز همبستگی

همبستگی پیرسون بین رنگدانه‌های مختلف فتوسنتزی، بر F_v/F_m و عناصر سدیم، پتاسیم و کلسیم اندام‌هوایی در پژوهش حاضر انجام شد. کروفیل a، کروفیل b، کروفیل کل و محتوای کارتنوئید با پتاسیم و کلسیم اندام‌هوایی همبستگی مثبت و با سدیم اندام‌هوایی در سطح معنی‌داری ($p < 0.05$) همبستگی منفی دارند. F_v/F_m با پتاسیم، کلسیم و سدیم اندام‌هوایی در سطح معنی‌داری ($p < 0.05$) همبستگی منفی دارد (جدول ۱۲).

جدول ۱۲: ضرایب همبستگی پیرسون (r) بین رنگدانه‌های فتوسنتزی، F_v/F_m و محتوای نسبی آب و سدیم، پتاسیم و کلسیم در اندام‌هوایی *Stevia rebaudiana* Bertoni در شرایط تنش شوری (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$).

کروفیل a	کروفیل b	کروفیل کل	کارتنوئید	F_v/F_m	سدیم اندام‌هوایی	کلسیم اندام‌هوایی	پتاسیم اندام‌هوایی
کروفیل a	۱						
کروفیل b	۰/۹۶**	۱					
کروفیل کل	۰/۹۹**	۰/۹۷**	۱				
کارتنوئید	۰/۹۴**	۰/۹۸**	۰/۹۵**	۱			
F_v/F_m	۰/۸۸**	۰/۷۹**	۰/۸۷**	۰/۷۷**	۱		
سدیم اندام‌هوایی	-۰/۷۱**	-۰/۷۳**	-۰/۷۱**	-۰/۷۸**	-۰/۸۷**	۱	
کلسیم اندام‌هوایی	۰/۶۳**	۰/۶۳**	۰/۶۳**	۰/۷۱**	-۰/۷۸**	۰/۷۲**	۱
پتاسیم اندام‌هوایی	۰/۴۷*	۰/۶**	۰/۵*	۰/۴۶*	-۰/۷۸**	۰/۷۲**	۰/۷۲**



نمودار ۱: تجزیه PCA بر روی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و عناصر در غلظت‌های مختلف NaCl و نانو ذره گلیسین بتائین به همراه و بدون محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی *Stevia rebaudiana* Bertoni انجام شد. اختصارات: وزن تر اندام هوایی (FW)، وزن خشک اندام هوایی (DW)، تعداد برگ (LN)، کلروفیل a (Chla)، کلروفیل b (Chlb)، کلروفیل کل (ChlT)، کارتنوئید (Car)، غلظت سدیم در اندام هوایی (Na^+S)، غلظت پتاسیم در اندام هوایی (K^+S)، غلظت کلسیم در اندام هوایی (Ca^{2+}S)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، نشت الکترولیت (EL)، ارتفاع گیاه (height)، سطح برگ (LA).

تجزیه و تحلیل اجزای اصلی (PCA)

برای نشان دادن تأثیر منفی تنش شوری در گیاه استویا با کاربرد نانو ذره گلیسین بتائین به همراه و بدون محلول‌پاشی کود مایع ضایعات ماهی، تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی انجام شد (نمودار ۱). برای دو مؤلفه اول، یعنی PC1 و PC2، پوشش حدود ۹۲/۴۲ درصد از کل پایگاه داده بود. در اینجا، جزء PC1 در حدود ۷۳/۵۵ درصد مشارکت دارد، که به طور قابل توجهی با فعالیت رنگیزه های فتوسنتزی، Fv/Fm، مالون‌دی‌آلدئید، نشت الکترولیت غشا، ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک گیاه، تعداد برگ، سطح برگ، سدیم و کلسیم اندام هوایی (ویژگی‌های فیزیولوژیکی و رشدی) و از سوی دیگر، جزء دوم، ۱۸/۸۷ درصد PC2 با آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (APX، POD، CAT) و پتاسیم اندام هوایی (ویژگی‌های بیوشیمیایی) مرتبط بوده است. تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی به طور مشابه، نشان داد که صفات فیزیولوژیکی با صفات رشدی و میزان سدیم با میزان مالون‌دی‌آلدئید و نشت الکترولیت غشا همبستگی دارند (نمودار ۱).

بحث

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، تنش شوری باعث کاهش صفات مورفولوژیکی شد، در حالی که تیمار گلیسین بتائین به ویژه در غلظت ۳۰ میلی گرم در لیتر در شرایط بدون و همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث بهبود صفات مورفولوژیکی شدند. کاهش صفات رشدی پس از اعمال شوری به دلیل تجمع سدیم و کلر و اختلال در جذب مواد غذایی ضروری به ویژه نیتروژن و پتاسیم است که منجر به عدم تقسیم سلولی، طول شدن سلول، اختلال در سنتز پروتئین، صدمه به یکپارچگی غشاء و افزایش نشت الکترولیت غشا و کاهش رشد می‌شود (Masoudniaragh et al., 2021). تجمع نمک در قسمت‌های مختلف از گیاه منجر به آسیب به ساختار کلروپلاست و در نتیجه عدم تولید کربوهیدرات و تنظیم‌کننده‌های رشد و افزایش نشت الکترولیت غشا، پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید می‌شود، در نهایت رشد گیاه تحت تأثیر تنش اسمزی و تنش اکسیداتیو مهار می‌شود (Riaz et al., 2021). شوری باعث کاهش وزن تر و خشک، رشد، محتوای نسبی آب و پتانسیل اسمزی در گیاهان مختلف (Hessini et al., 2015; Mahdavi et al., 2024) در راستای نتایج حاصل از آزمایش شد. تجمع بالای یون‌های سدیم در گیاهان به شدت بر روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه مانند سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق و باز و بسته شدن روزنه تأثیر می‌گذارد، که این تأثیر باعث کاهش فتوسنتز و عدم جذب عناصر غذایی ضروری شده و باعث کمبود متابولیت‌های مهم و در نتیجه کاهش رشد در گیاه می‌شود (Riaz et al., 2021).

کود مایع ضایعات ماهی حاوی اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، اسیدهای لاکتیک و اسیدهای استیک است که این مواد باعث فعال سازی باکتری‌هایی مانند ریزوبیوم و باسیلوس با توانایی حل کردن فسفر و تثبیت نیتروژن، کلسیم پتاسیم، منیزیم، منگنز و روی می‌شوند. جذب این عناصر باعث افزایش تولید ترکیبات آلی و افزایش فتوسنتز و ساخت کلروفیل می‌شود همچنین این باکتری‌ها با افزایش تولید سیدروفور باعث افزایش دسترسی آهن (Fe) می‌شود. این کود باعث آزاد شدن اسید فولیک و اسید هیومیک می‌شود که تجزیه آن‌ها باعث ایجاد اکسین شده و جذب فسفر و پتاسیم و سایر مواد مغذی را افزایش می‌دهد و در نتیجه رشد گیاه افزایش می‌یابد (Mahdavi et al, 2024). مطابق با یافته‌های آزمایش کنونی، کود مایع ضایعات ماهی رشد گیاهان مختلف را افزایش داد (Roy et al., 2013).

نتایج نشان داد که محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین به طور قابل توجهی باعث بهبود فعالیت نیترات ردوکتاز برگ (آنزیم ضروری متابولیسم نیتروژن) شد. افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز به دلیل افزایش سنتز یا مهار فعالیت نیترات ردوکتاز کیناز (مسئول غیرفعال کردن نیترات به نیتريت و فعالیت نیترات ردوکتاز) است. این آنزیم در ساخت پروتئین و افزایش رشد گیاه موثر است (Islam et al., 2021). کاربرد گلیسین بتائین باعث کاهش محتوای سدیم برگ و تجمع معنی‌دار عناصر غذایی (مانند پتاسیم و کلسیم) و حفظ نسبت پتاسیم به سدیم در برگ‌های گیاهان تحت تنش شوری شد. افزایش پتاسیم باعث باز شدن روزنه‌ها در شرایط تنش و تبادل بهتر گاز، حفظ فشار اسمزی و در نهایت افزایش فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود. همچنین این نانو ذره با افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی باعث مهار اکسیژن فعال تولید شده ناشی از تنش شوری می‌شود (Hamani et al, 2021). این نتایج مشابه یافته‌های (Yildirim et al., 2015 ; Habib et al., 2012) است.

کلروفیل فلورسانس اثر تنش شوری را بر رشد گیاه (یکپارچگی فتوسنتز برگ) نشان می‌دهد. تنش شوری با آسیب رساندن به غشاهای کلروپلاست، زنجیره انتقال الکترون در فعالیت فتوسیستم I و II، کاهش مقدار انرژی نور مراکز واکنش و کمپلکس تکامل دهنده اکسیژن باعث کاهش Fv/Fm می‌شود (Hamani et al., 2021). نتایج مشابهی توسط (Al-aghabary et al., 2005) مشاهده شد که همگی مطابق با نتایج فعلی بودند. استفاده از گلیسین بتائین با افزایش رسانایی روزنه‌ای و عملکرد فتوسیستم II با بهبود سرعت فتوسنتز باعث افزایش Fv/Fm در شرایط تنش شوری می‌شود. مطالعه حاضر با مشاهدات (Hamani et al., 2021) مطابقت دارد. کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش مانند شوری ممکن است به دلیل اختلال در بیوسنتز (فتوسیستم II، گیرنده کینون و سیستم انتقال اکسیژن) یا تجزیه (افزایش فعالیت کلروپلاز) رنگدانه‌های کلروفیل و کاهش جذب منیزیم، پتاسیم باشد (Shafiq et al., 2021). غلظت بالای یون‌های سدیم در گیاه باعث ایجاد تنش اسمزی و در نهایت تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب رنگدانه‌های کلروفیل می‌شود (Salim Akhter et al., 2021). همچنین کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌تواند از راه توقف فعالیت آنزیم‌های درگیر در زیست ساخت کلروفیل‌ها مانند آمینولولنیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیل ردوکتاز باشد (Mahdavi et al, 2018) نتایج مشابهی در مورد کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری توسط (Salim Akhter et al., 2021) مشاهده شد. کود مایع ضایعات ماهی تولید آنتی‌اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و آلکالوئیدها را در گیاهان در اثر محتوای اسید آمینه‌ای مانند گلیسین و گلوتامین، به عنوان پیش سازهای بیوسنتز کلروفیل افزایش می‌دهد (Ishak and Sarbon, 2017). علاوه بر این، این کود آلی جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و فرآیندهای متابولیکی گیاه را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش سطح برگ و در نهایت رنگدانه‌های فتوسنتزی و فتوسنتز می‌شود. همانطور که گفته شد، کود آلی سرشار از منیزیم و نیتروژن که ماده اصلی کلروفیل است، اسید آمینه گلوتامات موجود در کود مایع ضایعات ماهی با افزایش سنتز کلروفیل و سایر اسیدهای آمینه (اسید آسپارتیک، سرین، آلانین، لیزین و پرولین) رشد رویشی را افزایش می‌دهد. اسید آمینه آلانین موجود در کود مایع ضایعات ماهی دارای عملکرد دوگانه بین متابولیسم کربن و نیتروژن است و در نهایت، این اسیدآمینه با افزایش سنتز کلروفیل و فتوسنتز مرتبط است (Mahdavi et al, 2024). مطالعه حاضر با مشاهدات (Jiang et al., 2019; 2017; Saifuddin et al., 2009; Shahsavani et al., 2009) تأیید می‌شود. افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان استویا تیمار شده با گلیسین بتائین، ممکن است با غیرفعال کردن آنزیم کلروپلاز (مسئول مهار سنتز کلروفیل) و همچنین افزایش جذب عناصر غذایی از جمله منیزیم و سایر عناصر مانند نیتروژن همراه باشد. گلیسین بتائین نقشی مشابه سیتوکینین در افزایش محتوای کلروفیل دارد. گلیسین

بتایین فعالیت کربنیک انیدراز را افزایش می‌دهد و کربنیک انیدراز باعث می‌شود که دی‌اکسید کربن عرضه کافی برای فعالیت کارآمد روبیسکو را ایجاد کند (Islam et al., 2021). استفاده از گلیسین بتایین همچنین باعث افزایش فعالیت گلو تاتیون (GSH) گلو تاتیون ردو کتاز (GR) و حالت ردو کس آن (GSH/GSSG) شد و در نتیجه با کاهش اکسیژن فعال باعث بهبود فتوسنتز تحت تنش شوری شد (Syeed et al., 2021). مطالعه حاضر با مشاهدات (Syeed et al., 2021; Annunziata et al., 2019; Farooq et al., 2016) تأیید می‌شود.

با کاهش رسانایی روزنه‌ای، شوری باعث کاهش دی‌اکسید کربن مورد نیاز برای چرخه کالوین می‌شود و در نتیجه منجر به تخلیه NADP^+ و ایجاد اکسیژن فعال می‌شود (Sofy et al., 2020). شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها در گیاه استویا می‌شود که این افزایش در کارهای (Gohari et al., 2023; Moghaddam et al., 2020) تأیید شده است. گلیسین بتایین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از طریق بیان ژن‌های مرتبط با کاهش دهنده تنش شوری و کاهش تولید اکسیژن افزایش می‌دهد (Ganjavi et al., 2021). استفاده از گلیسین بتایین باعث افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم می‌شود که باعث افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. این نتایج شبیه یافته‌های (Hasanuzzaman et al., 2014; Desoky et al., 2019) است. کربن، نیتروژن و فسفر موجود در کود آلی ضایعات ماهی به عنوان پیش‌ساز برای تولید پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط شوری استفاده می‌شود. آرژنین به عنوان یک اسید آمینه در کود آلی، با تولید اسپرمیدین (یک پلی‌آمین) یا نیترات ردو کتاز (کاهش نیترات به نیتريت) در تحمل تنش شوری نقش دارد. اسیدهای آمینه مختلف، مانند اسید آمینه پرولین موجود در کود آلی ضایعات ماهی، نقش کلیدی در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تولید آنزیم‌های مختلف در شرایط تنش را ایفا می‌کنند (Mahdavi et al., 2024). اثرات مثبت کود مایع ضایعات ماهی در این رابطه توسط (Sahu et al., 2016; Shahsavani et al., 2017) ثابت شده است که همگی مطابق با نتایج فعلی است.

در تنش شوری، یون‌های سدیم و کلر توسط ریشه جذب شده و در قسمت هوایی گیاه تجمع می‌یابد. این کار موجب عدم تعادل اسمزی شده و در نتیجه هدایت روزنه‌ای برگ کاهش می‌یابد (Sofy et al., 2020). همچنین اکسیژن فعال تولید شده بر اثر کاهش فتوسنتز می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو در پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA و در نتیجه افزایش مالون دی‌الدئید و نشت الکترولیت غشا می‌شود (Yildirim et al., 2015). این نتایج شبیه یافته‌های (Erdal and Cakirlar, 2014; et al., 2021) می‌باشد. گلیسین بتایین پس از محلول پاشی به سرعت توسط بافت برگ جذب شده و در سیتوزول تجمع می‌یابد. کاهش اکسیژن فعال در گیاهان تیمار شده با گلیسین بتایین به دلیل افزایش جاروب‌گر اکسیژن فعال است. گلیسین بتایین با افزایش فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز) و کاهش فعالیت اکسیژن فعال، تثبیت ساختار چهارتایی پروتئین‌ها (آنزیم‌ها) پایداری غشای سیتوپلاسمی را افزایش می‌دهد. کاهش مالون دی‌الدئید و نشت الکترولیت غشا در کارهای انجام شده (Islam et al., 2021; Ahmed et al., Sofy et al., 2020; 2019) ثابت شده است. محتوای فسفر در کود مایع ضایعات ماهی باعث تولید فسفولیپیدها و تقویت غشای سلولی شده و در نتیجه تولید مالون دی‌الدئید کاهش می‌یابد (Metwally et al., 2021). همچنین گلیسین و پرولین موجود در کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش پایداری دو لایه غشای پلاسمایی با افزایش فعالیت کاتالاز و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و تنظیم پراکسیداسیون لیپیدها و هموستازی یون‌ها می‌شود. تیمار گلیسین باعث افزایش تحمل به شوری در گلرنگ با کاهش میزان مالون دی‌الدئید شده است که با نتایج بدست آمده از آزمایش همخوانی دارد (Alasvandyari et al., 2021).

تحت تنش شوری، H^+ -ATPase های غشای پلاسمایی یک جریان H^+ ایجاد می‌کند که انرژی لازم برای ترشح یون پتاسیم از طریق آنتی‌پورت پتاسیم / هیدروژن و در نتیجه جذب مجدد سدیم تضمین شود (Ketehouli et al., 2019). علاوه بر این، شوری باعث ایجاد فشار اسمزی در محلول ریزوسفر خاک می‌شود که در نتیجه جذب آب و مواد معدنی به اثر آنتاگونیستی (پتاسیم و کلسیم) را کاهش می‌یابد (Lindberg et al., 2012). این نتایج با نتایج آزمایشات (et al., Sheikhalipour et al., 2021) و (Alnusairi 2022) همخوانی دارد. به نظر می‌رسد که کود مایع ضایعات باعث کاهش تجمع سدیم در اندام هوایی به وسیله حذف آن از آوند چوبی می‌شود (Adem et al., 2014). حلالیت بالای کود مایع ضایعات ماهی و در دسترس بودن کلسیم و پتاسیم

باعث جبران کمبود این عنصر ناشی از شوری شود. استفاده از گلیسین بتائین باعث کاهش جذب سدیم و افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم می‌شود. این نتایج شبیه یافته‌های (Bharwana et al., Ali et al., 2015; Ahuja et al., 2020) 2014 می‌باشد که مطابق با نتایج آزمایش حاضر می‌باشد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

مطالعه حاضر با هدف بررسی کاربرد گلیسین بتائین و ضایعات ماهی به عنوان یک کود آلی روی گیاه استویا در شرایط شوری انجام شد. نانو ذره گلیسین بتائین و کود آلی باعث بهبود صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شدند. گلیسین بتائین به ویژه در غلظت ۳۰ میلی گرم در لیتر و کود مایع ضایعات ماهی (۱۵ درصد) می‌تواند به عنوان بهترین غلظت بر اساس صفات اندازه‌گیری شده برای کاهش اثرات شوری معرفی شود. از این رو، کاربرد همزمان گلیسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی را می‌توان به عنوان روشی موثر بر روی گیاهان تحت شرایط تنش مختلف برای کاهش اثرات تنش اعلام کرد.

منابع

مهدوی، مهری؛ اسماعیل‌پور، بهروز و فاطمی، حمیده (۱۳۹۷). بررسی تأثیر تغذیه برگی سیلیسیم بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه نعنای در شرایط تنش کادمیوم. *مجله علوم باغبانی ایران*. ۴۹(۱)، ۱۸۳-۱۹۶.

سراج، فهیمه؛ پیردشتی، همت‌اله؛ یعقوبیان، یاسر؛ قاسمی عمران، ولی‌اله (۱۳۹۵). اثر همزیستی قارچ *Piriformospora indica* بر تحمل به شوری و خشکی استویا (*Stevia rebaudiana*) در شرایط درون شیشه‌ای. *زیستشناسی گیاهی ایران*. ۲۰-۱، (۲۹)۸.

- Adem, G.D., Roy, S.J., Zhou, M., Bowman, J.P. & Shabala, S. (2014). Evaluating contribution of ionic, osmotic and oxidative stress components towards salinity tolerance in barley. *BMC Plant Biology*, (14), 113. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-113>
- Ahmed, N., Zhang, Y., Li, K., Zhou, Y., Zhang, M. & Li, Z. (2019). Exogenous application of glycine betaine improved water use efficiency in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) via modulating photosynthetic efficiency and antioxidative capacity under conventional and limited irrigation conditions. *Crop*, J 7, 635–650. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.03.004>
- Ahuja, I., Daukas, E., Remmec, J.F., Richardsen, R. & Loes, A.K. (2020). Fish and fish waste-based fertilizers in organic farming—with status in Norway: A review. *Waste Management*. 115, 95–112. . <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.07.025>.
- Alasvandyari, F.; Mahdavi, B.; Hosseini, S.M. Glycine betaine affects the antioxidant system and ion accumulation and reduces salinity-induced damage in safflower seedlings. *Archives of Biological Sciences*, 2017, 69, 139–147. <https://doi.org/10.2298/ABS160216089A>
- Al-aghabary, K., Zhu, Z. & Shi, Q. (2005). Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27(12), 2101–15. <https://doi.org/10.1081/LPLA-200034641>
- Ali, S., Chaudhary, A., Rizwan, M., Anwar, H.T., Muhammad Adrees, M., Mujahid Farid, M., Irshad, M.K., Hayat, T. & Anjum, S.A. (2015). Alleviation of chromium toxicity by glycinebetaine is related to elevated antioxidant enzymes and suppressed chromium uptake and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 10669–10678. 1 <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4193-4>
- Alnusairi, G., Mazrou, Y., Qari, S., Elkelish, A., Soliman, M., Eweis, M., Abdelaal, K., El-Samad, G.A., Ibrahim, M. & ElNahas, N. (2022). Exogenous Nitric Oxide Reinforces Photosynthetic Efficiency, Osmolyte, Mineral Uptake, Antioxidant, Expression of StressResponsive Genes and Ameliorates the Effects of Salinity Stress in Wheat. *Plants*, 11, 576. <https://doi.org/10.3390/plants10081693>
- Annunziata, M.G., Ciarmiello, L.F., Woodrow, P., Dell Aversana, E. & Carillo, P. (2019). Spatial and Temporal Profile of Glycine Betaine Accumulation in Plants under Abiotic Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 230. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00230>

- Arif, Y., Singha, P., Siddiquia, H., Bajguzb, A. & Hayata, S. (2014). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64 – 77. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042>
- Arnon, D. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Bharwana, S.A., Ali, S., Farooq, M.A., Iqbal, N., Hameed. A., Abbas, F. & Ahmad, M.S.A. (2014). Glycinebetaine-induced lead toxicity tolerance related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. *Turkish Journal of Botany*, 38,281–292. <https://doi.org/10.3906/bot-1304-65>
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chapman, H.D. & Pratt, D.F. (1961). *Methods of Analysis for Soil, Plant and Water*. University of California Agricultural Science: Davis, CA, USA, pp. 60–62.
- Desoky, E.M., Ibrahim, S.A. & Merwad, A.M. (2019). Mitigation of salinity stress eEffects on growth, physio-chemical parameters and yield of snapbean (*Phaseolus vulgaris* L.) by exogenous application of glycine betaine. *International Letters of Natural Sciences*, 76, 60–71. <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.76.60>
- Erdal, S. C. & Cakirlar, H. (2014). Impact of salt stress on photosystem II efficiency and antioxidant enzyme activities of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *Turkish Journal of Biology*, 38, 549-560. <https://doi.org/10.3906/biy-1401-33>
- Etesami, H., Fatemi, H. & Rizwan, M. (2021) Interactions of nanoparticles and salinity stress at physiological, biochemical and molecular levels in plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225,112769. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112769>
- Farooq, M.A., Ali, S., Hameed, A., Bharwana, S.A., Rizwan, M., Ishaque, W. & Iqbal, Z. (2016). Cadmium stress in cotton seedlings: physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany*, 104, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.11.006>
- Ganjavia, A.S., Oraeia, M., Gohari, G., Akbaric, A. & Faramarzi, A. (2021) Glycine betaine functionalized graphene oxide as a new engineering nanoparticle lessens salt stress impacts in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.028>
- Gohari, GH., Panahirad, S., Sepehri, N., Akbari, A., Zahedi, S.M., Hessam Jafari, H., Dadpour, M.R. & Fotopoulos, V. (2021). Enhanced tolerance to salinity stress in grapevine plants through application of carbon quantum dots functionalized by proline. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 42877–42890. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13794-w>
- Gohari, G., Farhadi, H., Panahirad, S., Zareei, E., Labib, p., Jafari, H., Mahdavinia, G., Hassanpouraghdam, M.B., Ioannou, A. & Kulak, M. (2023). Mitigation of salinity impact in spearmint plants through the application of engineered chitosan-melatonin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, (224), 893–907. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.175>
- Habib, N., Ashraf, M., Ali, Q. & Perveen, R. (2012). Response of salt stressed okra (*Abelmoschus esculentus* Moench) plants to foliar-applied glycine betaine and glycine betaine containing sugarbeet extract. *South African Journal of Botany*, 83, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.08.005>
- Hamani, M., Li, S., Chen, J., Sunusi Amin, A., Wang, G., Xiaojun, S., Zain, M. & Gao, Y. (2021). Linking exogenous foliar application of glycine betaine and stomatal characteristics with salinity stress tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings Abdoul Kader. *BMC Plant Biology*, 21,146. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02892-z>
- Hasanuzzaman, M., Alam, M.M., Rahman, A., Hasanuzzaman, M., Nahar, K. & Fujita, M. (2014). Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *BioMed Research International*, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2014/757219>
- Heath, R.L. & Packer, I. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

- Hemeda, H.M. & Klein, B.P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55, 184–185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x>
- Hessini, H., Ferchichi, S., Ben Youssef, S., Werner, K.H., Cruz, C. & Gandour, M. (2015). How does salinity duration affect growth and productivity of cultivated barley. *Agronomy Journal*, 107 (1), 174–180. <https://doi.org/10.1177/15593258211055026>
- Ishak, N. H. & Sarbon, N. M. A. (2017). Review of Protein Hydrolysates and Bioactive Peptides Deriving from Wastes Generated by Fish Processing. *Food and Bioprocess Technology*, 11(11), 2 – 16. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1940-1>
- Islam, S., Parrey, Z.A., Shah, S.H. & Firoz Mohammad, F. (2021). Glycine betaine mediated changes in growth, photosynthetic efficiency, antioxidant system, yield and quality of mustard. *Scientia Horticulturae*, 285, 110170. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110170>
- Jiang, M., Jianga, J., Lia, S.H., Lia, M., Yuanyuan Tana, Y., Songa, S.H., Shua, Q.A. & Huang, J. (2019). Glutamate Alleviates Cadmium Toxicity in Rice via Suppressing Cadmium Uptake and Translocation. *Journal of Hazardous Materials*, (384), 121319. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121319>
- Kar, M. & Mishra, D. (1976). Polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315–319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Ketehouli, T., Idrice Carther, K.F., Noman, M., Wang, F.W., Li, X.W. & Hai-Yan Li, H.Y. (2019). Adaptation of Plants to Salt Stress: Characterization of Na⁺ and K⁺ Transporters and Role of CBL Gene Family in Regulating Salt Stress Response. *Agronomy*, (9), 687. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110687>
- Kumar, R., Sagar, V., Verma, V.C., Kumari, M., Gujjar, R.S., Goswami, S.K., Kumar, S., Pandey, H., Dubey, A.K., Srivastava, S., Singh, S.P., Mall, A.K., Pathak, A.D., Singh, H., Jha, P.K. & Prasad, P.V.V. (2023). Drought and salinity stresses induced physio-biochemical changes in sugarcane: an overview of tolerance mechanism and mitigating approaches. *Frontiers in Plant Science*, (14):1225234. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1225234>
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Galvez, A., Zura-Bravo, L. & Ah-Hen, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132: 1121–1132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140>
- Lindberg, S., Abdul Kader, M.D. & Yemelyanov, V. (2012). Calcium Signalling in Plant Cells under Environmental Stress. In *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*; Springer: New York, NY, USA. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_15
- Magangana, T.P., Stander, M.A., Masondo, N.A. & Makunga, N.P. (2021). Steviol glycoside content and essential oil profiles of *Stevia rebaudiana* Bertoni in response to NaCl and polyethylene glycol as inducers of salinity and drought stress in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 145, 1 – 18. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01972-6>
- Mahajana, M., Sharma, S., Kumar, P. & Pala, P.K. (2020). Foliar application of KNO₃ modulates the biomass yield, nutrient uptake and accumulation of secondary metabolites of *Stevia rebaudiana* under saline conditions. *Industrial Crops & Products*, 145, 112102. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112102>
- Mahdavi, M., Esmailpour, B. & Fatemi, H. (2018). Effect of Silicon nutrition on growth and physiology of spearmint (*Mentha spicata* L.) under Cadmium stress condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(1), 183-196. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2017.218536.1110>. (In Persian)
- Mahdavi, Z., Esmailpour, B., Azarmi, R., Panahirad, S., Ntatsi, G., Gohari, G., & Fotopoulos, V. (2024). Fish Waste—A Novel Bio-Fertilizer for *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under Salinity-Induced Stress. *Plants*, 13(14), 1909. <https://doi.org/10.3390/plants13141909>
- Masoudniaragh, A., Oraei, M., Gohari, G., Akbari, A. & Faramarzi, A. Using halloysite nanotubes as carrier for proline to alleviate salt stress effects in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Scientia Horticulturae*, 285, 110202. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110202>
- Metwally, R., Solimana, S.A., Hamed, A.A., Latef, A. & Abdelhamee, R. (2021). The individual and interactive role of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride* on growth, protein content, amino acids fractionation, and phosphatases enzyme activities of onion plants amended with fish waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (214), 112072. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112072>

- Moghaddam, M., Nasrin, F., Panjtandoust, M. & Ghanati, F. (2020). Seed germination, antioxidant enzymes activity and proline content in medicinal plant *Tagetes minuta* under salinity stress. *Plant Biosystems*, (154), 835–842. <https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1701122>
- Mohammadi, S.A., Hamian, S., Vahed, M.M., Bandehagh, A., Gohari, G., Janda, T. (2021). Transcriptional analysis of salt-responsive genes to salinity stress in three salt-tolerant and salt-sensitive Barely cultivars. *South African Journal of Botany*, 141, 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.002>
- Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22, 867–888. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>.
- Redman, R., Haraldson, J. & Gusta, L. (1986). Leakage of UV- absorbing substances as a measure of salt injury in leaf tissue of woody species. *Plant Physiology*, 67, 87–91. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb01267.x>
- Riaz, S., Hussain, I., Ibrahim, M., Rasheed, R. & Ashraf, M.A. (2021). Choline Chloride Mediates Salinity Tolerance in Cluster Bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) by Improving Growth, Oxidative Defense, and Secondary Metabolism. *Dose-Response: An International Journal*, 1-19. <https://doi.org/10.1177/15593258211055026>.
- Roy, M., Sukalpa, K., Anupam, D., Pradip, K.S. & Joydeep, M. (2013). Application of rural slaughterhouse waste as an organic fertilizer for pot cultivation of solanaceous vegetables in India. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 2, 6 – 16. <https://doi.org/10.1186/2251-7715-2-6>
- Sahu, B., Barik, N.K., Paikaray, A., Agnibesh, A., Mohapatra, S. & Jayasankar, P. (2016). Fish Waste Bio-Refinery Products: Its application in Organic Farming B. *International Journal of Agriculture Environment Biotechnology*, (1), 4. <https://doi.org/10.22161/ijeab/1.4.30>
- Saifuddin, M., Sharif Hossain, A.B.M., Normaniza, O. & Moneruzzaman, K.M. (2009). Bract size enlargement and longevity of *Bougainvillea spectabilis* affected by GA3 and phloemic stress. *Asian Journal of Plant Sciences*, (8), 212–217. <https://doi.org/10.3923/ajps.2009.212.217>
- Salim Akhter, M., Noreen, S., Mahmood, S., Athar, H.U.R., Ashraf, M., Alsahli, A.A. & Ahmad, P. (2021). Influence of salinity stress on PSII in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes, probed by chlorophyll-a fluorescence. *Journal of King Saud University*, (33), 101-239. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101239>
- Shafiq, H., Shani, M.Y., Ashraf, M.Y., Mastro, F.D., Cocozza, C., Abbas, S., Ali, N., un-Nisa, Z., Tahir, A., Iqbal, M., Khan, Z., Gul, N. & Brunetti, G. (2024). Copper Oxide Nanoparticles Induced Growth and Physio-Biochemical Changes in Maize (*Zea mays* L.) in Saline Soil. *Plants*, 13, 1080. <https://doi.org/10.3390/plants13081080>
- Shahsavani, S., Abaspour, A., Parsaeeyan, M. & Yonesi, Z. (2017). Effect of fish waste, chemical fertilizer and bio-fertilizer on yield and yield components of bean (*Vigna sinensis*) and some soil properties. *Iranian Journal Pulses Research*, (8), 45–59. <https://doi.org/10.22067/ijpr.v8i1.47428>
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Gohari, G., Haghighi, M., Jafari, H., Farhadi, H., Kulak, M. & Kalisz, A. (2021). Salt Stress Mitigation via the Foliar Application of Chitosan Functionalized Selenium and Anatase Titanium Dioxide Nanoparticles in Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Molecules*, 26, 4090. <https://doi.org/10.3390/molecules26134090>.
- Seraj, F., Pirdashti, H., Yaghoobian, Y. & Ghasemi Omran, V. (2016). The effect of Piriformospora indica inoculation on salt and drought stress tolerance in Stevia rebaudiana under in vitro conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, 8(29),1-20. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2016.21032>. (in Persian).
- Sichanova, M., Geneva, M., Petrova, M., Miladinova-Georgieva, K., Kirova, E., Nedev, T., Tsekova, D., Ivanova, V. & Trendafilova, A. (2023). Influence of the Abiotic Elicitors Ag Salts of Aspartic Acid Derivatives, Self-Organized in Nanofibers with Monomeric and Dimeric Molecular Structures, on the Antioxidant Activity and Stevioside Content in Micropropagated *Stevia rebaudiana* Bert. *Plants*, 12, 3574. <https://doi.org/10.3390/plants12203574>
- Shafiq, S., Akram, N.A., Ashraf, M., García-Caparrós, P., Omar M., Arafat Abdel, A. & Latef. H.A. (2021). Influence of Glycine Betaine (Natural and Synthetic) on Growth, Metabolism and Yield Production of Drought-Stressed Maize (*Zea mays* L.) Plants. *Plants*, 10, 2540. <https://doi.org/10.3390/plants10112540>
- Sofy, M.R., Elhawathb, N., Alshaal, T. (2020). Glycine betaine counters salinity stress by maintaining high K⁺/Na⁺ ratio and antioxidant defense via limiting Na⁺ uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 200, 110732. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110732>

- Stavi, I., Thevs, N. & Priori, S. (2021). Soil Salinity and Sodicity in Drylands: A Review of Causes, Effects, Monitoring, and Restoration Measures. *Frontiers in Environmental Science*, (9):712-831. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.712831>
- Syeed, S., Sehar, Z., Masood, A., Anjum, N.A., Nafees, A., Jamil, M., Lee, K.J., Kim, J.M., Kim, H-S. & Rha, E.S. (2007). Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. *Scientia Agricola*. 64(2), 111–8. 37. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.712831>
- Whiting, D., Wilson, C., & Card, A. (2005). *Organic Fertilizers*. In Colorado Master Gardener; Colorado State University: Denver, CO, USA. pp. 1–5.
- Yildirim, E., Ekinci, M., Turan, M., Dursun, A., Kul, R. & Parlakova, F. (2015). Roles of glycine betaine in mitigating deleterious effect of salt stress on lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science*. 61, 1673–1689. <https://doi.org/10.1080/03650340.2015.10306>

ویراستاری نشده

کستای نشده