



# The effect of glycine betaine nanoparticles and fish waste liquid fertilizer treatments on morphophysiological and biochemical traits *Stevia rebaudiana* Bertoni plant in response to salinity

Zahra mahdavi<sup>1</sup> , Behrouz Esmailpour<sup>2✉</sup> , Rasul Azarmi<sup>3</sup>

- 1- P. h.D Graduate of Agronomy, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University Mohaghegh Ardabili, city Ardabil, Iran. E-mail: [zahramahdavi@uma.ac.ir](mailto:zahramahdavi@uma.ac.ir)
- 2- \*Corresponding Author: Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University Mohaghegh Ardabili, city Ardabil, Iran. Email: [Esmailpour@uma.ac.ir](mailto:Esmailpour@uma.ac.ir)
- 3- Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University Mohaghegh Ardabili, city Ardabil, Iran. E-mail: [r\\_azarmi@uma.ac.ir](mailto:r_azarmi@uma.ac.ir)

## Article Info

**Article type:**  
Research Article

**Article history:**  
Received 5 May 2025  
Received in revised form 15 September 2025  
Accepted 20 September 2025  
Available online 13 December 2025

**Keywords:**  
Stevia  
sodium chloride  
organic fertilizer  
nanotechnolog  
membrane electrolyte leakage

## ABSTRACT

**Objective:** "Salinity has adverse effects on plant productivity by causing ionic toxicity, osmotic stress, and nutrient deficiency. Stevia is a medicinal plant sensitive to salinity. The application of nanotechnology and organic fertilizers is one of the novel methods to reduce the effects of salinity stress. The application of organic fertilizers, in addition to increasing the population and activity of beneficial soil microorganisms, improves plant growth and yield by providing plant access to elements. Nanotechnology has also been useful in reducing salinity stress by increasing the level of nutrient absorption and reducing environmental protection costs.

**Method:** This study was conducted as a factorial experiment and based on a completely randomized design with four replications. The different treatments in this experiment were foliar spraying of salinity reducer at five levels (control, 15 and 30 mgL<sup>-1</sup> glycine betaine without liquid fish waste fertilizer, 15 and 30 mgL<sup>-1</sup> glycine betaine with 15% (v/v) liquid fish waste fertilizer) on stevia plants grown under salt stress conditions (0, 30, 60, 90 mM of NaCl).

**Results:** Results showed that salinity negatively affected growth parameters, relative water content, a\* and b\* colors, and increased the activity of total phenol, hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), malondialdehyde (MDA), proline, and total carbohydrates compared with control samples. Salinity at 90 mM decreased the relative water content by compared to the non-stressed. Salinity 90 mM salinity stress increased total carbohydrates, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MDA, Electrolyte leakage (EL) and proline content by compared to the control. On the other hand, simultaneous application of glycine betaine and fish waste biofertilizer mitigated the effects of salinity stress by enhancing growth parameters, especially at the highest salinity level (90 mM). Results showed that salinity negatively affected plant growth and yield, and overall, application of glycine betaine especially when used at a concentration of 30 (mg L<sup>-1</sup>) and fish waste bio-fertilizer could be considered as a sustainable, for mitigating salinity stress effects in *Stevia* plants and potentially other crops.

**Conclusions:** In general, the application of glycine betaine nanoparticles along with liquid fish waste fertilizer can reduce the absorption of sodium and chlorine by the roots by increasing the growth of shoots and roots and the need for greater absorption of nutrients, and due to the competition between nutrients and sodium and chlorine ions.

**Cite this article:** mahdavi, Z., Esmailpour, B., Azarmi, R (2025). The effect of glycine betaine nanoparticles and fish waste liquid fertilizer treatments on morphophysiological and biochemical traits *Stevia rebaudiana* Bertoni plant in response to salinity stress. *Nova Biologica Reperta*, 12 (3), 1-20. <http://doi.org/10.22034/NBR.12.3.5>



## Introduction

*Stevia rebaudiana* Bertoni (candy leaf, sweet herb of Paraguay) is plant of most important perennial medicinal belonging to the Asteraceae (Compositae) family. The most important compounds (e.g., stevioside and ribosides the two main diterpenoid steviol glycosides) which are 30–400 times sweeter than sucrose and have no calories. In the world, Salinity stress is a vital restricting factor affects crop production in arid and semi-arid areas in all climate zones. Salt with a destructive effect on seed germination, photosynthesis, transpiration, leaf area and the chlorophyll content PSII photosystems, and stomatal conductance, water absorption, adversely effects on plant growth and performance. Salinity stress disrupts the ionic content (high presence of  $(\text{Na}^+)$  and chloride  $(\text{Cl}^-)$  ions and decrease  $(\text{K}^+)$ ,  $(\text{Ca}^{2+})$ ,  $(\text{Mg}^{2+})$  and  $(\text{NO}_3^-)$  ions) in plants. Also salinity causes osmotic stress and production of reactive oxygen species (ROS) and then oxidative stress. Glycine betaine (GB) is one of compatible solutes and an osmoprotectant applicated in response to biotic and abiotic stress such as salinity. Accumulation of GB happens in plant during exposure to stress. The amount of this biosynthesis is insufficient, so it is applied externally to tolerance with the stress of this substance. Exogenous GB with induce the antioxidant capacity estricts the generation ROS and absorption  $\text{Na}^+$ . The importance of fish waste is due to the high content of proteins, amino acids (e.g., Glutamine, Glycine betaine and etc), peptides, collagen, minerals( e.g., nitrogen (N) phosphorus (P)-potassium (K) (macronutrients) and etc ), and enzymes (Proteases and etc). Since the positive effects of nano materials and fish waste liquid fertilizer (increasing fish waste) in plant growth and reducing the effects of stress in plants have not been investigated. This experiment investigated the simultaneous effects of nano materials (glycine betaine) and fish waste liquid fertilizer on the morphological, physiological and biochemical characteristics of stevia plant under salinity stress conditions.

## Method

This study was conducted in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, Mohagheh Ardabili University in a factorial experiment and 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, 90 mM NaCl) and the second factor was different treatments were foliar spraying of salinity reducer at five levels (control, 15 and 30  $\text{mgL}^{-1}$  glycine betaine without liquid fish waste fertilizer, 15 and 30  $\text{mgL}^{-1}$  glycine betaine with 15% (v/v) liquid fish waste fertilizer). *Stevia* seedlings (*Stevia rebaudiana* Bertoni) were prepared from a medicinal plants greenhouse in Shiraz city and planted in 25 x 20 cm pots containing a cocopeat and perlite mixture (1:1). The traits of height of shoot, length of root, fresh and dry weights of roots were recorded as morphological parameters. Relative water content (RWC), soluble carbohydrates, hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), malondialdehyde (MDA), electrolyte leakage (EL),  $a^*$  and  $b^*$  colors, proline content, total phenolic content and sodium (Na), potassium (K) and calcium (Ca) content of roots were measured. Data were analyzed using SAS

9.1 software through analyzing the means using Duncan's multi-range test with a significant difference level at  $P < 0.05$  level of probability.

## Results

All morphological traits of Stevia plant were significantly ( $p < 0.05$ ) reduced by salt stress, and the application of GB and liquid fish waste fertilizer increased all morphological characteristics under salinity conditions. In regard other morphological trait, the highest root dry weight and root length were obtained in the salinity control treatment and the 30 mg/l GB + 15% bio-fertilizer treatment. Also results showed that salinity negatively affected relative water content,  $a^*$  and  $b^*$  colors, and increased the activity of total phenol, hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), malondialdehyde (MDA), proline, and total carbohydrates compared with control samples. Salinity at 90 mM decreased the relative water content by 44.7% compared to the non-stressed. Salinity 90 mM salinity stress increased 70.46% total carbohydrates, 66.66% in  $H_2O_2$ , MDA by 66.66%, Electrolyte leakage (EL) by 67.04 and 47.21% proline content by compared to the control.

## Conclusions

The current study aimed to put a light in the application of glycine betaine and liquid fish waste fertilizer on stevia plant under salinity condition. The glycine betaine and liquid fish waste fertilizer increased morphological, Physiological and biochemical parameters. The glycine betaine particularly at 30 mg/l and liquid fish waste fertilizer (15%) concentration could be introduced as the best dose based on the measured parameters to lessen salinity effects. Hence, simultaneous application glycine betaine and liquid fish waste fertilizer could be announced as effective procedure to mitigate stress effects on plants under different stress condition.

## 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.E; methodology, Z.M; R .A ; software, Z.M; validation, Z.M., B.E. formal analysis, B.E; investigation, Z.M.; resources, Z.M and R.A; data curation, Z.M; writing—original draft preparation, Z.M; writing—review and editing, Z.M.; visualization, Z.M.; supervision, Z.M and R.A.; project administration, B.E.; funding acquisition, B.E and Z.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.”

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

## Data Availability Statement

Not applicable

***Acknowledgements***

The authors are grateful of Faculty of Agricultural Science and Technology at the University of Mohagheh Ardabili for providing facilities and equipment in this research. The authors thank all participants in this study.

***Ethical Considerations***

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

***Funding***

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

***Conflict of Interest***

The authors declare no conflict of interest.

## تاثیر تیمارهای نانوذرات گلیسین بتابین و کود مایع ضایعات ماهی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) در پاسخ به تنش شوری

زهرا مهدوی<sup>۱</sup>، بهروز اسماعیل پور<sup>۲\*</sup>، رسول آذر می<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، شهر اردبیل، ایران

[zahramahdavi@uma.ac.ir](mailto:zahramahdavi@uma.ac.ir)

۲- \*نویسنده مسئول: مرتبه علمی استاد، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، شهر اردبیل، ایران

[behsmail@yahoo.com](mailto:behsmail@yahoo.com)

۳- مرتبه علمی دانشیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، شهر اردبیل، ایران [r\\_azarmi@uma.ac.ir](mailto:r_azarmi@uma.ac.ir)

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**نوع مقاله:** مقاله پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۴/۰۲/۱۵

**تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۴/۰۶/۲۴

**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۶/۲۸

**تاریخ انتشار:** ۱۴۰۴/۰۹/۲۲

**کلیدواژه‌ها:** تنش شوری، کود آلی، نانو کود، نشأت الکترولیت غشا

**مقدمه:** شوری با ایجاد سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد غذایی اثرات نامطلوبی بر بهره‌وری گیاهان، دارد. گیاه استویا یک گیاه دارویی حساس به شوری می‌باشد. تیمار فناوری‌های نانو و کودهای زیستی از جمله روش‌های جدید برای کاهش اثرات تنش شوری است. کودهای آلی با افزایش جمعیت و فعالیت ریزجانداران مفید خاک و فراهم نمودن دسترسی به عناصر، موجب بهبود رشد و عملکرد گیاهان، می‌شود. فناوری نانو نیز با افزایش سطح جذب عناصر غذایی و کاهش هزینه‌های حفاظت از محیط زیست در کاهش تنش شوری مفید می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** بدین جهت آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. تیمارهای مختلف در این آزمایش محلول پاشی تعدیل‌کننده‌های شوری در پنج سطح (شاهد، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر گلیسین‌بتابین بدون کود مایع ضایعات ماهی، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر گلیسین‌بتابین همراه کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد) بود. تنش شوری به صورت نمک کلرید سدیم در غلظت‌های مختلف (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ میلی‌مولار) اعمال گردید.

**نتایج:** نتایج نشان داد که شوری پارامترهای رشد، محتوای نسبی آب، رنگ  $a^*$  و  $b^*$  را کاهش داده و فعالیت فنل کل، پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌الدئید، پرولین و کربوهیدرات‌های کل را در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش می‌دهد. تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش کربوهیدرات کل، پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌الدئید، نشأت الکترولیت و محتوای پرولین نسبت به شاهد شد. از سوی دیگر، محلول پاشی همزمان گلیسین‌بتابین در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر و کود مایع ضایعات ماهی در غلظت ۱۵ درصد باعث افزایش صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه و تعدیل اثرات منفی تنش شوری بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شد.

**نتیجه‌گیری:** به طور کلی، تیمار نانو ذره گلیسین‌بتابین همراه کود مایع ضایعات ماهی، می‌تواند با افزایش رشد اندام هوایی و ریشه و جذب بیشتر عناصر غذایی و با ایجاد رقابت در جذب عناصر غذایی و یون‌های سدیم و کلر منجر به کاهش جذب سدیم و کلر توسط ریشه شده و در نتیجه می‌تواند به عنوان یک راهکار جدید برای کاهش اثرات تنش شوری در گیاه استویا و سایر محصولات زراعی و باغی توصیه شود.

**استناد:** مهدوی، زهرا؛ اسماعیل پور، بهروز؛ آذر می، رسول (۱۴۰۴). تاثیر تیمارهای نانوذرات گلیسین بتابین و کود مایع ضایعات ماهی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana Bertoni*) در پاسخ به تنش شوری. یافته‌های نوین در علوم

زیستی، ۱۲ (۳)، ۲۰-۱. <http://doi.org/10.22034/NBR.12.3.5>



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه خوارزمی.

### مقدمه

تنش شوری بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از مساحت جهان را تحت تأثیر قرار داده است. بیش از ۲۰ درصد از کشت آبی زمین با کلرید سدیم آسیب دیده است، که این روند رو به رشد در نتیجه تغییرات آب و هوایی و استفاده بیش از حد از منابع آب زیرزمینی است (Shafiq et al., 2024). تنش شوری تقریباً بر تمام اجزای گیاهان، مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی تأثیر می‌گذارد و باعث کاهش قابل توجه تولید زیست توده و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (Ashraf et al., 2013). اثرات نامطلوب تنش شوری عبارتند از: کاهش پتانسیل هیدرولیکی که منجر به تنش اسمزی، عدم تعادل یونی ناشی از مضرات یون‌های سدیم و کلر بر عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان، دینامیک انرژی سلولی، و اختلال در تامین و جذب عناصر ضروری (Munns et al., 2019). نمک مازاد رسوب شده در گیاهان، ممکن است عملکرد آنزیم‌ها را مسدود کرده و منجر به از بین رفتن برگ‌ها شود. کلرید سدیم همچنین می‌تواند بر عملکرد کلروپلاست‌ها و متابولیت‌های برگ تأثیر منفی بگذارد. واکنش گیاه به نمک اضافی در دو مرحله مجزا اتفاق می‌افتد. مرحله اول که از چند دقیقه تا چند روز طول می‌کشد و مربوط به سنجش مقدار اولیه یون‌های سدیم می‌باشد و بر روابط اسمزی گیاه تأثیر می‌گذارد، که منجر به بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تکثیر برگ می‌شود. مرحله دوم از چند روز تا چند هفته طول می‌کشد. منجر به پیری زودرس برگ، کاهش عملکرد یا حتی از بین رفتن گیاه می‌شود (Alam et al., 2021). در گیاهان حساس به شوری نظیر استویا، زمانی که محلول خاک به حدود ۴۰ تا ۵۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم با فشار اسمزی ۰٫۲ مگاپاسکال می‌رسد، تلفات محصول رخ می‌دهد (Tang et al., 2015).

*Stevia rebaudiana* Bertoni یک گیاه علفی و چند ساله متعلق به خانواده *Asteraceae* و بومی آمریکای جنوبی، به ویژه شمال شرقی پاراگوئه است، که به استویا یا برگ‌های عسل معروف است. امروزه اهمیت جهانی استویا به دلیل وجود برگ‌های شیرین در آن است که به طور سنتی در ژاپن، کره، چین و آمریکای جنوبی استفاده می‌شود. شیرینی استویا به دلیل وجود گلیکوزیدهای آن است که در آب محلول هستند و ۲۵۰ تا ۳۰۰ بار شیرین‌تر از شکر معمولی هستند. این گیاه به طول روز بسیار حساس است و به ۱۲ تا ۱۶ ساعت نور خورشید نیاز دارد. مواد دارویی 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 سرطان‌ها اشاره کرد (Mahdavi et al., 2020; Forouzi et al., 2024). در حال حاضر نانوذرات (NPs) به عنوان یکی از موثرترین راهکارها، برای بهبود شرایط تنش می‌باشد (Etesami et al., 2021). نانوتکنولوژی، مطالعه و تیمار ذرات در مقیاس نانو با کیفیت‌های خاص و قطرهای کوچک (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) است. نانو تکنولوژی تیمار گسترده‌ای در جنبه‌های مختلف کشاورزی مانند تغذیه گیاهی، حفاظت از گیاهان و نانو آفت‌کش‌ها دارد (Hawrylak-Nowak et al., 2018). از میان نانو ذرات موجود، دی‌اکسید سرب، مگنتیت، اکسید روی، دی‌اکسید سیلیکون، اکسید مس، اکسید آلومینیوم، گلیسین‌بتائین و نانولوله‌های کربنی نقش محافظتی در گیاهان تحت شرایط تنش نشان دادند (Shekhalipour et al., 2021). گلیسین‌بتائین یک ترکیب آمونیم چهارتایی است که به طور طبیعی در آرکی باکتریال هموفیل، باکتری‌ها، بی‌مهرگان دریایی، گیاهان و حیوانات یافت می‌شود، این ماده به علت ارگانیک بودن و حلالیت شدید آن در آب و چگالی کم، یک تنظیم کننده اسمزی کلیدی می‌باشد (Huang et al., 2020).

### General functions of GB in plants

GB, a fully N-methyl-substituted derivative of glycine, is one of the organic compatible solutes that can accumulate rapidly in a large variety of microorganisms (Anburajan et al. 2017), higher plants (Hefni et al. 2018; Servillo et al. 2018) and animals (Choi et al. 2018; Shadmehr et al. 2018). Numerous studies on the physiology, biochemistry, biophysics, and genetics of plants have suggested that GB plays an important role in plants under various types of environmental stresses, such as salt (Mbarki et al. 2018; Tang et al. 2015; Tian et al. 2017), heat (Allakhverdiev et al. 2007; Yang et al. 2007) and low temperature (Razavi et al. 2018; Wang et al. 2019). GB is an amphoteric compound that is electrically neutral over a wide range of physiological pH values. The molecular features of GB allow it to interact with both hydrophilic and hydrophobic domains of macromolecules, such as enzymes and protein complexes (Sakamoto and Murata 2002). Consequently, GB can effectively stabilize the quaternary structures of

enzymes and complex proteins, protect lipids and alleviate ions efux (Allakhver-diev et al. 2003; Wei et al. 2017) and maintain the highly ordered state of membranes under abnormal environmental conditions. Although great attention has been paid to the way that GB protect macromolecular structures and enzymic activi- ties from denaturation and deactivation, the details have not been fully worked out yet. Indeed, two separate hypotheses emerged long ago. On the one hand, Kuwabara and Murata (1983) proposed the 'solute exclusion hypothesis', they held the view that proteins are always preferentially induced hydration in its surface by GB so that a hydration shell (lay- ers of bound water) can be maintained around the surface of the protein. This 'solute exclusion mechanism' plays a vital role in the stabilization of the structure of protein. On the other hand, Schobert (1977) argued that the hydropho- bic domains of a protein's surface are the vulnerable area, GB as an amphoteric compound, which has hydrophobic groups can bind to the hydrophobic surface of proteins. In this way, GB allows the hydrophobic domains of the pro- tein to become more accessible to water, so the protein can eventually preserve the structural integrity under conditions of water deficiency. As we all know, photosynthesis is one of the fundamental and crucial physiological processes of plants and often lim- ited by diferent environmental stresses such as heat, cold, drought, salt and high light (Xu et al. 2015). And the reac- tion center of PSII, a highly complex proteins, is the key site of photosynthesis, often damaged by various environmental stresses (Adir et al. 2003; Murata et al. 2007). It is important for plants to stabilize the structure and function of PSII. Therefore, betaine was proposed as a protective substance based on experimental evidence. GB plays important roles in the stabilization of the structure and function of PSII under various abiotic stresses.

محللول پاشی خارجی گلیسین بتائین به عنوان یک محافظ اسمزی با کنترل باز و بسته شدن روزنه‌ها موجب افزایش فعالیت فتوسنتزی می‌شود، همچنین با افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه نیتروژن موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سطح پروتئین‌های محللول و هموستازی یونی شده و در نتیجه با کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از اکسیژن فعال، زیست‌توده گیاهی افزایش یافته و گیاه را در برابر تنش شوری مقاوم می‌کند (Zhu et al., 2022).

بنابراین استفاده از نانو ذره گلیسین بتائین از راهکارهای جدید و عاقلانه‌ای است که برای افزایش رشد، عملکرد و به ویژه بهبود متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت تنش شوری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gohari et al., 2020). کودهای آلی با بهبود ساختار شیمیایی و فعالیت بیولوژیکی خاک منجر به افزایش عملکرد محصول در شرایط تنش می‌شود (Yidirim et al., 2016). تولید ضایعات ماهی در سطح جهانی در حال افزایش است که منجر به دفع مقادیر زیادی از عناصر غذایی و اسیدهای آمینه می‌شود. کود مایع ضایعات ماهی به عنوان یک کود آلی با تأمین پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، کلاژن، مواد معدنی، آنزیم‌ها و آزادسازی آهسته عناصر میکرو و ماکرو ضروری و جلوگیری از شستشوی عناصر غذایی رشد گیاه را تحریک می‌کند (Radziemska et al., 2019; Mahdavi et al., 2024). هدف از پژوهش حاضر بررسی همزمان محللول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی به عنوان تعدیل کننده تنش بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه استویا در شرایط تنش شوری است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل و در چهار تکرار در دان‌شگاه محقق اردبیلی در فصل زراعی سال ۱۴۰۱ به صورت کشت هیدروپونیک انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری در چهار سطح (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود و عامل دوم محللول پاشی تعدیل کننده‌های شوری در پنج سطح سطح (شاهد، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر گلیسین بتائین بدون کود مایع ضایعات ماهی، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی ۱۵ درصد) بود. برای تهیه محللول نانو ذره گلیسین بتائین حدود ۲ گرم اسید سیتریک با ۰٫۵ گرم گلیسین بتائین توسط

۱۰ میلی لیتر آب مقطر در بشر شیشه‌ای (۲۵ میلی لیتر) مخلوط گشت. سپس محلول در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت داخل اتوکلاو با پوشش تفلون گرم شد. بعد از رسیدن دمای محلول به دمای اتاق مقدار pH محلول به وسیله هیدروکسید سدیم روی ۷ تنظیم گشت (Gohari et al., 2021). ضایعات ماهی شامل سر، دم، باله گونه ماهی آزاد (*Hypophthalmichthys molitrix*) پس از خشک شدن، آسیاب شد، سپس این پودر به نسبت ۱:۵ با آب مقطر و ۳۵ میلی لیتر باکتری هیدرولیزکننده پروتئین (*Bacillus licheniformis*) و حدود ۱۵۰ گرم شکر مخلوط شده و به مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Whiting et al., 2005). برای جداسازی فاز مایع از جامد از فیلترهای غشایی (Micro MF Filtration-) استفاده شد. عناصر موجود و اسیدهای آمینه کل و اسیدهای آمینه آزاد در کود مایع ضایعات ماهی در جدول های ۱ و ۲ آمده است. برای اندازه‌گیری اسیدهای آمینه از دستگاه HPLC استفاده شد.

#### جدول ۱- عناصر غذایی موجود در کود مایع ضایعات ماهی

Table 1. The composition of major nutrients of fish waste bio-fertilizer

نمونه	اکسید کلسیم %	پنتا اکسید فسفر %	اکسید پتاسیم %	سدیم %	مواد آلی %
	۱,۸۰۱	۹,۱۶۴	۷,۵۸	۶,۰۲	۱۲

#### جدول ۲- اسیدهای آمینه موجود در کود مایع ضایعات ماهی

Table 2. Composition of amino acids in fish waste bio-fertilizer.

اسید آمینه آزاد (mg AA g <sup>-1</sup> sample)	اسید آمینه کل (mg AA g <sup>-1</sup> sample)	اسید آمینه
۰,۷	۱,۳۶	آسپارتیک اسید
۱,۴۹	۳,۵۷	گلوتامیک اسید
۰,۱۷	۰,۸۷	سرین
۱,۰۸	۳,۴۲	گلیسین
۰,۱۵	۰,۴۸	هیستیدین
۰,۲۳	۱,۰۲	آرژنین
۰,۱۴	۰,۸۴	ترئونین
۱,۳۴	۲,۷۷	آلانین
۰,۶۱	۱,۸۶	پرولین
۰,۴۸	۰,۴۸	تیروزین
۰,۷۲	۱,۶۳	والین
۰,۲۶	۰,۵۱	متیونین
۰,۰۰	۰,۰۰	سیستئین
۰,۴۷	۰,۹۴	ایزولوسین
۰,۹۸	۱,۷	لوسین
۰,۴۱	۰,۸۳	فنیل آلانین
۰,۲۸	۰,۹۲	لیزین

یک عدد نشا گیاه استویا، در گلدان‌هایی به اندازه ۲۵×۲۰ سانتی‌متر کاشته شد. بستر کشت شامل مخلوط کوکوپیت و پرلیت با نسبت (۱:۱) بود. پس از کشت گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۶۵ تا ۷۰ درصد قرار داده شدند. گیاهان، با محلول هوگلند با غلظت کامل حدود ۵۰۰ میلی لیتر در روز آبیاری شدند. هدایت الکتریکی محلول غذایی ۲,۰۴۴ دسی زیمنس بر متر بود. اسیدیته محلول هوگلند در طول آبیاری ۵/۹۴ بود. حدود ۱۰ روز بعد از کشت نشا تنش کلرید سدیم در سطوح (۰،)

۳۰، ۶۰، ۹۰ میلی مولار) همراه با محلول غذایی، اعمال شد. ۱۴ روز بعد از آبیاری با محلول هوگلند حاوی کلرید سدیم اندام هوایی گیاه با نانو ذره گلابسین بتابین در سطوح (۰، ۱۵، ۳۰ میلی گرم در لیتر همراه با توئین ۰،۱ درصد) با تیمار همزمان با کود مایع ضایعات ماهی با غلظت ۱۵ درصد همراه با توئین ۰،۱ درصد و بدون تیمار این کود محلول پاشی گردید. تعداد دفعات محلول پاشی با تعدیل کننده شوری ۴ بار تا زمان برداشت و هر ۸ روز یکبار انجام شد. گیاهان شاهد تا زمان برداشت فقط با محلول غذایی هوگلند بدون کلرید سدیم، آبیاری شدند و تیمار تعدیل کننده شوری (نانو ذره گلابسین بتابین و کود مایع ضایعات ماهی) در گیاهان شاهد نیز اعمال گشت. با گذشت حدود ۲ ماه پس از کشت، صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه به عنوان صفات مورفولوژیکی ثبت شد. برای بدست آوردن ماده خشک، ریشه گیاه در دمای ۴۸ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت در آون خشک کن قرار داده شد.

#### رنگیزه $a^*$ ، $b^*$ ، هدایت روزنه‌ای

برای اندازه‌گیری شاخص رنگیزه ( $a^*$ ،  $b^*$ ) از دستگاه رنگ سنج (Minolta و مدل CR-400)، استفاده شد. شاخص هدایت روزنه‌ای با استفاده از دستگاه پرومتر و از برگ‌های بالغ گیاه و در زمان ۹ تا ۱۱ صبح ثبت گردید.

#### محتوای نسبی آب

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (Ritchie et al., 1990)، ۱۰ عدد دیسک برگ (قطر ۱۰ میلی‌متر) از هر گیاه تهیه و وزن تر (FW) آن ثبت شد. سپس برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار داده شدند. سپس وزن تورژسانس (TW) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند تا وزن خشک آنها (DW) بدست آید. مقدار نسبی آب از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC \% = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

#### پراکسید هیدروژن

برای اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن ابتدا ۰/۱ گرم وزن تر گیاه در ۲ میلی لیتر، تری کلرواستیک اسید (۰،۱ درصد) همگن شد. مخلوط واکنش حاوی ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۱۰۰ میلی مولار، pH=7) و ۲ میلی لیتر یدید پتاسیم (۱ میلی مولار) و ۵۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی بود. جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت، منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن برای تعیین محتوای پراکسید هیدروژن استفاده شد (Sergiev et al., 1997).

#### مالون دی‌آلدئید

برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید در بخش اندام هوایی گیاه استویا به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، ۰،۱ گرم بافت تازه برگ در ۲ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۰،۱ درصد همگن شدند و سپس ۵۰۰ میکرولیتر عصاره به یک میلی لیتر تیوباریوتیک اسید ۰،۵ درصد که حاوی تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد اضافه شد و میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد (Heath & Packer, 1968).

#### نشت الکترولیت غشا

نشت الکترولیت غشا با استفاده از یک هدایت سنج 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 میلی لیتر 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 (Redman et al., 1986).

$$EL (\%) = (EC1/EC2) \times 100$$

#### پرولین

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین، مقدار ۰،۱ گرم بافت برگ تازه در ۲ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد همگن شدند. مخلوط واکنش شامل عصاره گیاهی، اسید نین‌هیدرین، اسیداستیک گلابسیال بود. سپس تولوئن برای جداسازی دو فاز استفاده

شد. جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Hitachi U-2910) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس مقدار پرولین با استفاده از نمودار استاندارد تعیین گردید (Bates et al., 1973).

### فنل کل

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل تقریباً ۰٫۲ گرم از وزن تازه اندام‌هوایی گیاهی در اتانول ۷۰ درصد همگن شد. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر عصاره، ۵۰۰ میکرولیتر اتانول (۹۶ درصد) و آب مقطر تا رسیدن به حجم ۲٫۵ میلی‌لیتر اضافه شد. سپس معرف فولین ۱۰ درصد و کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد و بعد از یک ساعت تاریکی، جذب در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. نتایج به صورت میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در هر گرم وزن تازه بیان شد (Xu et al., 2010).

### کربوهیدرات محلول

مقدار کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از معرف آنترون به شرح زیر اندازه‌گیری شد (Omokolo et al., 1992). برای این منظور ۰٫۱ گرم از بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد همگن شد و در آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و پس جداسازی فاز مایع از جامد، فاز جامد با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط گشت و در آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس عصاره‌ها جمع‌آوری شده و تا رسیدن حجم عصاره به یک پنجم مقدار اولیه در دمای ۷۰ درجه قرار داده شدند. پس از سانتریفیوژ، ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون به عصاره تهیه شده اضافه شد و جذب در ۶۲۰ نانومتر ثبت شد. در نهایت غلظت گلوکز با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

### عناصر سدیم، پتاسیم و کلسیم

برای اندازه‌گیری عناصر غذایی ابتدا نمونه‌های ریشه گیاهی بعد از شستشو با آب دیونیزه در دمای ۶۰ درجه داخل آون خشک شده و سپس توسط آسیاب پودر شده و در آون با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت خاکستر شدند. سپس توسط اسید هیدروکلریک ۲ نرمال هضم شد و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم‌فتومتری اندازه‌گیری شد. غلظت کلسیم با ابزار جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Chapman et al., 1961).

### آنالیز داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## نتایج و بحث

### صفات مورفولوژیکی

مقایسه میانگین اثرات اصلی ارتفاع گیاه و وزن تر ریشه نشان داد که گیاهان تیمار شده با ۹۰ میلی‌مولار شوری حدود ۴۰٫۰۹ و ۴۷٫۶۶ درصد نسبت به گیاهان بدون تنش شوری کاهش نشان دادند. بیشترین میزان وزن تر ریشه (۴۶٫۰۴۹ گرم) مربوط به تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین‌بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی بود. غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانو ذره گلیسین‌بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش ۱۸٫۱۳ درصد ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که وزن خشک ریشه و طول ریشه در گیاهان تیمار شده با ۹۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب حدود ۶۶٫۶۶ درصد و ۷۳٫۹۷ درصد نسبت به گیاهان بدون تنش شوری کاهش یافتند. تیمار نانو ذره گلیسین‌بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی باعث بهبود وزن خشک ریشه به ترتیب در تنش شوری ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار به مقدار (۳۳٫۱۶، ۳۳٫۱۷، ۴۴٫۱۷ درصد) شد. بیشترین مقدار طول ریشه (۲۳٫۳۵ سانتی‌متر) در تیمار بدون شوری و تیمار غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین‌بتائین به همراه اعمال کود مایع ضایعات ماهی بود (جدول ۴). تنش شوری باعث کاهش رشد گیاه می‌شود و سرعت کاهش رشد به عوامل متعددی مانند گونه‌ی گیاه، مرحله رشد و غلظت شوری بستگی دارد (Balasubramaniam et al., 2023). از دیگر دلایل کاهش رشد ناشی از شوری: اختلال در بیوسنتز کلروفیل، تغییر فعالیت آنزیمی، بسته شدن روزنه، کاهش عرضه دی‌اکسیدکربن و آسیب دستگاه فتوسنتزی می‌باشد. تنش شوری ممکن است بیان ژن‌های تنظیم‌کننده چرخه سلولی (سیکلین و کیناز وابسته به سیکلین) را کاهش دهد و منجر به کاهش تعداد سلول‌ها در مریستم و مهار رشد گردد که بر توانایی گیاه در

جذب موثر مواد غذایی و آب تأثیر می‌گذارد. دشواری جذب عناصر غذایی معدنی به ویژه نیتروژن، به دلیل رقابت با یون‌های اصلی سدیم و کلر اتفاق می‌افتد (Garriga et al., 2017). اثرات شوری بر رشد گیاه به طور گسترده در گونه‌های مختلف گیاهی مثل توت فرنگی (Denaxa et al., 2022) و منداب راکتی (Petretto et al., 2019) مورد مطالعه قرار گرفته است که مطابق نتایج پژوهش حاضر روی گیاه استویا، تنش شوری موجب کاهش رشد هر دو گیاه شده است. علاوه بر این، تیمار گلیسین بتائین روی برگ‌ها به طور قابل توجهی فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، محتوای کلروفیل برگ و محتوای کلروفیل کل را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش رشد می‌گردد (Jarín et al., 2024). نقش گلیسین بتائین در هموستازی یونی، به ویژه افزایش تجمع پتاسیم، گیاهان را قادر می‌سازد تا با افزایش نسبت پتاسیم به سدیم یا کلسیم به سدیم در برابر تنش شوری مقاومت کنند.

همچنین محلول پاشی گلیسین بتائین به طور قابل توجهی باعث بهبود آرزیم ضروری در متابولیسم نیتروژن نظیر نیترات ردوکتاز می‌شود. این آرزیم موجب افزایش تولید پروتئین و رشد گیاه می‌شود (Islam et al., 2021). طی مطالعات انجام شده گلیسین بتائین موجب افزایش رشد در گوجه فرنگی شده است (Niu et al., 2023). 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 (Mahdavi et al., 2024). جذب این عناصر باعث افزایش تولید ترکیبات آلی و افزایش فتوسنتز و ساخت کلروفیل در گیاه می‌شود همچنین این باکتری‌ها با افزایش تولید سیدروفور منجر به افزایش دسترسی به آهن می‌شود. این کود باعث آزاد شدن اسید فولویک 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 پژوهش حاضر، کود مایع ضایعات ماهی رشد گیاهان مختلف را افزایش داده است (Roy et al., 2013).

#### محتوای نسبی آب (RWC) و هدایت روزنه‌ای

مقایسه میانگین اثرات اصلی محتوای نسبی آب نشان داد که گیاهان تیمار شده با ۹۰ میلی‌مولار شوری حدود ۴۵٫۶۷ درصد نسبت به گیاهان بدون تنش شوری کاهش داشتند. بهترین نتیجه در مورد محتوای نسبی آب برگ (۰٫۷۵ درصد) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و کم‌ترین آن (۰٫۵۲ درصد) در تیمار شاهد شوری بدست آمد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که تیمار با تعدیل کننده‌های شوری موجب بهبود هدایت روزنه‌ای گشت به طوری که بیشترین مقدار هدایت روزنه‌ای (۱۷٫۲۷ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و بدون تنش شوری بدست آمد (جدول ۴). تنش شوری پتانسیل اسمزی محلول خاک را افزایش می‌دهد و مانع جذب آب توسط ریشه و کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود (Ntanos et al., 2021). کود مایع ضایعات ماهی دارای گلیسین، پرولین و محتوای پتاسیم بالایی است که اثرات مثبتی بر روی پتانسیل اسمزی گیاه و رشد ریشه دارد، که منجر به جذب بیشتر آب و افزایش هدایت روزنه‌ای می‌شود (Shams et al., 2020). تیمار گلیسین بتائین با افزایش یون پتاسیم و کاهش نسبت سدیم به پتاسیم باعث باز شدن روزنه و حفظ هدایت روزنه‌ای و جذب آب در شرایط تنش شوری می‌شود (Ntanos et al., 2021). مطالعه حاضر با مشاهدات پژوهشگران منطبق می‌باشد. (Estaji et al., 2019; Syeed et al., 2021).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی غلظت‌های مختلف ذرات گلیسین بتائین و کود ضایعات ماهی بر محتوای نسبی آب، وزن تر ریشه، ارتفاع بوته گیاه استویا در شرایط تنش شوری.

**Table 3.** Effect of various concentrations of glycine betaine nanoparticles and fish waste fertilizer on Relative water content, Root fresh weight, Shoot length of *Stevia* under salinity stress conditions.

تیمارها	گلیسین بتائین (mgL <sup>-1</sup> ) + کود ضایعات ماهی ۱۵٪			گلیسین بتائین (mgL <sup>-1</sup> )			تنش شوری (mM)			
	۰	۱۵	۳۰	۰	۱۵	۳۰	۰	۳۰	۶۰	۹۰
محتوای نسبی آب	۰٫۷۵ <sup>a</sup>	۰٫۶۶ <sup>b</sup>	۰٫۶۱ <sup>c</sup>	۰٫۵۲ <sup>e</sup>	۰٫۵۶ <sup>d</sup>	۰٫۶۱ <sup>c</sup>	۰٫۸۱ <sup>a</sup>	۰٫۷ <sup>b</sup>	۰٫۵۴ <sup>c</sup>	۰٫۴۴ <sup>d</sup>

				%					
۵۳,۲ <sup>a</sup>	۴۵,۴۷ <sup>b</sup>	۳۴,۴۳ <sup>c</sup>	۲۷,۸۴ <sup>d</sup>	۳۵,۶ <sup>d</sup>	۳۶,۱۶ <sup>c</sup>	۳۹,۵۹ <sup>c</sup>	۴۲,۱۲ <sup>b</sup>	۴۶,۰۴ <sup>a</sup>	وزن تر ریشه (g)
۷۵,۷ <sup>a</sup>	۶۴,۵۳ <sup>b</sup>	۸,۵۳ <sup>c</sup>	۴۵,۳۵ <sup>d</sup>	۵۴,۱۸ <sup>c</sup>	۵۶,۶ <sup>c</sup>	۶۰,۰۶ <sup>b</sup>	۶۲,۰۲ <sup>b</sup>	۶۶,۱۸ <sup>a</sup>	ارتفاع بوته (cm)

حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش دانکن می‌باشد

Same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ ) based on Duncan's Multiple Range test.

### رنگ (a\*, b\*)

براساس جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۴) بیشترین مقدار رنگ a\* و b\* در تیمار ۹۰ میلی‌مولار و بدون تیمار تعدیل کننده شوری به ترتیب ۵,۹- و ۲۱,۴۳ بود که نسبت به کم‌ترین میزان رنگیزه a و b- (۱۴,۰۷ و ۸,۲۱) در تیمار بدون تنش شوری و تیمار غلظت ۳۰ میلی‌گرم برلیتر نانو ذره گلیسین-بتائین به همراه تیمار کود مایع ضایعات ماهی به ترتیب افزایش (۵۸,۰۶ و ۶۱,۶۸ درصد) داشته است. a\* و b\* به ترتیب رنگ قرمز و سبز، +b\* و -b\* به ترتیب رنگ زرد و آبی هستند. تنش شوری با افزایش اکسیژن فعال باعث کاهش کلروفیل (رنگ سبز) و افزایش رنگدانه‌های آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها، بتاسیانین، بتازانتین و بتالین می‌شود که باعث رنگ قرمز و زرد می‌شود (Nazmul Hossani et al., 2022). این نتایج مشابه یافته‌های پژوهش‌های پیشین است (Sarker et al., 2019; Nazmul Hossain et al., 2022). استفاده از گلیسین‌بتائین با کاهش اکسیژن فعال و افزایش جذب مواد مغذی مانند منیزیم (عنصر مرکزی کلروفیل) و غیرفعال کردن آنزیم کلروفیلاز از کاهش کلروفیل (رنگ سبز) جلوگیری می‌کند (Syeed et al., 2021). Ahmed و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش دادند که گلیسین‌بتائین با حفظ رنگیزه کلروفیل باعث بهبود رنگ سبز در گیاه گندم تحت تنش خشکی گردید (Ahmed et al., 2019). کود مایع ضایعات ماهی به دلیل محتوای اسیدهای آمینه و جذب مواد مغذی به ویژه فسفر، منیزیم، نیتروژن، بیوسنتز کلروفیل را در گیاهان، افزایش می‌دهد (Ishak & Sarbon, 2017). بررسی Shahsavani و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد که عناصر منیزیم و نیتروژن موجود در کود مایع ضایعات ماهی با سنتز جدید رنگدانه کلروفیل موجب حفظ رنگ سبز در گیاه لوبیا شده است (Shahsavani et al., 2017).

جدول ۴- اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین‌بتائین بر خصوصیات رنگ a\* و b\*، هدایت روزنه‌ای برگ، نشت الکترولیت غشا برگ، طول ریشه و وزن خشک گیاه استویا تحت تنش شوری

**Table 4.** Effect of various concentrations glycine betaine nanoparticles and fish waste fertilizer on a\* and b\* color of leaves, stomatal conductance of leaves, EL of leaves, Root length, Root dry weight, characteristics of *Stevia* under salinity stress conditions.

رنگ b	رنگ a	هدایت روزنه ای	نشت الکترولیت غشا %	طول ریشه (cm)	وزن خشک ریشه	تیمارها گلیسین بتائین + (mgL <sup>-1</sup> ) کود ضایعات ماهی ۱۵ %	تن ش گلیسین بتائین + کود ماهی
۱۳,۵۵ <sup>ghi</sup>	-۱۲,۲۱ <sup>l</sup>	۹,۱ <sup>efg</sup>	۲۹,۰۷ <sup>ji</sup>	۱۶,۵۲ <sup>d</sup>	۷,۶۳ <sup>e</sup>	.	.
۱۲,۴۵ <sup>ji</sup>	-۱۲,۷۱ <sup>ml</sup>	۹,۶ <sup>def</sup>	۲۷,۵۷ <sup>ijk</sup>	۱۷,۷۵ <sup>c</sup>	۸,۸۷ <sup>d</sup>	گلیسین بتائین ۱۵	.
۱۱,۷ <sup>j</sup>	-۱۲,۲۱ <sup>l</sup>	۱۱,۳ <sup>c</sup>	۲۳,۴۱ <sup>kl</sup>	۱۸,۱۹ <sup>c</sup>	۱۱,۸۷ <sup>c</sup>	گلیسین بتائین ۳۰	.
۹,۷۸ <sup>k</sup>	-۰,۸۱۳ <sup>m</sup>	۱۳,۳۲ <sup>b</sup>	۲۱,۴ <sup>kl</sup>	۱۹,۴۴ <sup>b</sup>	۱۲,۸۷ <sup>b</sup>	گلیسین بتائین ۱۵ + کود ماهی	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی
۸,۲۱ <sup>k</sup>	-۱۴,۰۷ <sup>n</sup>	۱۷,۲۷ <sup>a</sup>	۲۰,۶۳ <sup>l</sup>	۲۳,۳۵ <sup>a</sup>	۱۴,۰۰۳ <sup>a</sup>	.	.
۱۵,۷۷ <sup>f</sup>	-۹,۷۷ <sup>ghi</sup>	۷,۵۵ <sup>ghi</sup>	۴۲,۸۹ <sup>ef</sup>	۱۳,۶۵ <sup>e</sup>	۵,۲۲ <sup>gh</sup>	گلیسین بتائین ۱۵	.
۱۵,۷۷ <sup>f</sup>	-۱۰,۰۲ <sup>hij</sup>	۲,۸ <sup>ghi</sup>	۴۰,۱۴ <sup>gf</sup>	۱۴,۴ <sup>e</sup>	۵,۸ <sup>gf</sup>	گلیسین بتائین ۳۰	۳۰
۱۴,۶۷ <sup>fg</sup>	-۹,۴۹ <sup>ghi</sup>	۹,۸ <sup>de</sup>	۳۶,۴۱ <sup>fg</sup>	۱۶,۰۷ <sup>d</sup>	۷,۴۸ <sup>e</sup>	گلیسین بتائین ۱۵ + کود ماهی	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی
۱۳,۸۴ <sup>gh</sup>	-۱۰,۰۹ <sup>i</sup>	۱۰,۳۲ <sup>cd</sup>	۳۳,۹۱ <sup>ghi</sup>	۱۶,۸۲ <sup>d</sup>	۷,۹۶ <sup>e</sup>	گلیسین بتائین ۱۵ + کود ماهی	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی
۱۳,۰۴ <sup>hi</sup>	-۱۱,۳ <sup>k</sup>	۱۳,۱۵ <sup>b</sup>	۳۱,۰۸ <sup>hi</sup>	۱۸,۱۲ <sup>c</sup>	۹,۳ <sup>d</sup>	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی

۱۸,۷۴ <sup>abcd</sup>	-۸,۳۶ <sup>cd</sup>	۵,۹ <sup>ml</sup>	۶۰,۷۵ <sup>b</sup>	۹,۸۷ <sup>h</sup>	۴,۰۳ <sup>j</sup>	.
۱۸,۲۱ <sup>cde</sup>	-۹,۱۱ <sup>ef</sup>	۶,۵۴ <sup>klj</sup>	۵۵,۷۵ <sup>bc</sup>	۱۰,۳۵ <sup>h</sup>	۴,۶ <sup>hij</sup>	گلابسین بتائین ۱۵
۱۷,۴۷ <sup>e</sup>	-۸,۳۲ <sup>de</sup>	۸,۴۵ <sup>ghf</sup>	۵۳,۰۴ <sup>cd</sup>	۱۱,۹ <sup>g</sup>	۴,۸۸ <sup>hi</sup>	گلابسین بتائین ۳۰
۱۵,۸ <sup>f</sup>	-۹,۴۸ <sup>fgh</sup>	۸,۳ <sup>efg</sup>	۵۱,۲۹ <sup>cd</sup>	۱۲,۶۵ <sup>f</sup>	۵,۱۳ <sup>gh</sup>	گلابسین بتائین ۱۵ + کود ماهی
۱۵,۰۸ <sup>f</sup>	-۱۰,۴۳ <sup>ij</sup>	۹,۷۷ <sup>de</sup>	۴۸,۲ <sup>de</sup>	۱۴,۰۳ <sup>e</sup>	۶,۰۳ <sup>f</sup>	گلابسین بتائین ۳۰ + کود ماهی
۲۱,۴۳ <sup>a</sup>	-۵,۹ <sup>a</sup>	۴,۴ <sup>n</sup>	۸۸,۲۲ <sup>a</sup>	۴,۳ <sup>i</sup>	۲,۵۴ <sup>k</sup>	.
۱۹,۵۶ <sup>b</sup>	-۶,۶۶ <sup>b</sup>	۵,۰۲ <sup>mn</sup>	۸۴,۱۲ <sup>a</sup>	۴,۹۷ <sup>i</sup>	۲,۸۶ <sup>k</sup>	گلابسین بتائین ۱۵
۱۸,۵۶ <sup>bcd</sup>	-۷,۷۸ <sup>c</sup>	۶,۱ <sup>kml</sup>	۵۳,۴۷ <sup>cd</sup>	۶,۳ <sup>k</sup>	۹,۳ <sup>j</sup>	گلابسین بتائین ۳۰
۱۹,۳۶ <sup>bc</sup>	-۸,۲۲ <sup>cd</sup>	۶,۸۵ <sup>kjl</sup>	۵۱,۴۸ <sup>cd</sup>	۷,۰۷ <sup>j</sup>	۴,۱۵ <sup>ji</sup>	گلابسین بتائین ۱۵ + کود ماهی
۱۷,۸۶ <sup>de</sup>	-۸,۸۸ <sup>def</sup>	۷,۲۵ <sup>kjl</sup>	۵۱,۱۳ <sup>cd</sup>	۷,۹۲ <sup>i</sup>	۴,۵۵ <sup>jhi</sup>	گلابسین بتائین ۳۰ + کود ماهی

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ ) based on Duncan's Multiple Range test.

### پرولین و محتوای کربوهیدرات کل

طبق نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل، افزایش شوری از صفر به ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش به ترتیب ۴۶,۳۸ و ۶۷,۹۲ درصدی پرولین و کربوهیدرات کل شد. بیشترین (۴۱,۵۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کم‌ترین (۹,۰۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) میزان پرولین به ترتیب در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری به همراه ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلابسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی و شاهد مشاهده شد (جدول ۵). بیشترین و کم‌ترین میزان کربوهیدرات کل (۴۱۱,۲۹، ۳۹,۴۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) به ترتیب در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری در تیمار ۱۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلابسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و در تیمار شاهد تعدیل کننده شوری و بدون تنش شوری بدست آمد (جدول ۵). یکی از اولین و گسترده‌ترین مکانیسم‌های پذیرفته شده برای توضیح نقش پرولین در تحمل تنش، محافظت اسمزی پرولین است، که از دست دادن آب را از سلول محدود یا متوقف می‌کند و فشار تورژسانس سلول را حفظ می‌کند. پرولین دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و با از بین بردن اکسیژن‌های فعال تولید شده طی تنش موجب حفاظت از پروتئین‌ها و غشاهای می‌شود. همچنین پرولین به عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده برای تولید دوباره پرولین در داخل سلول شناخته شده است (Renzetti et al., 2025). در شرایط تنش شوری پرولین باعث کاهش تجمع یون‌های سدیم و کلر و در نتیجه بهبود فتوسنتز و در نهایت رشد گیاه می‌گردد (Hasanuzzaman et al., 2014). در شرایط تنش شوری و کاهش پتانسیل اسمزی، به دلیل افزایش سنتز پرولین و کاهش اکسیداسیون آن، تجمع پرولین مشاهده می‌گردد (Sofy et al., 2020). تنش شوری باعث افزایش پرولین در گیاهان مختلف شده است (Gohari et al., 2023). محلول پاشی نانو ذره گلابسین بتائین سبب افزایش سنتز پرولین می‌شود. Hasanuzzaman و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که تیمار گلابسین بتائین خارجی موجب افزایش پرولین در گیاه برنج شده است (Hasanuzzaman et al., 2014). مقدار افزایش یافته پرولین پس از تیمار کود مایع ضایعات ماهی به محتوای بالای نیتروژن و فسفر آن اشاره دارد که به کاهش اثرات شوری کمک می‌کند (mahdavi et al., 2024). همچنین کود مایع ضایعات ماهی حاوی اسیدآمینو پرولین است (mahdavi et al., 2024). پرولین گیاه گوجه فرنگی را در برابر تنش شوری مقاوم می‌کند (Alfosea-Simon et al., 2020). شوری مطابق با نتایج پژوهش حاضر منجر به افزایش قند و پرولین در گیاهان نعنای و بادرنجبویه می‌شود (Gohari et al., 2020; Gohari et al., 2023). گلابسین بتائین با افزایش محتوای یون‌های منیزیم و پتاسیم و کاهش نسبت سدیم به پتاسیم باعث افزایش تولید کلروفیل و به عنوان محافظ اسمزی با افزایش ترکیبات آلی همانند پرولین و قند محلول باعث افزایش جذب آب و باز شدن روزنه شده و در نتیجه باعث فتوسنتز و تولید کربوهیدرات می‌شود (Syed et al., 2021). مطالعات Tisarum و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان داد که محلول پاشی گلابسین بتائین موجب افزایش تولید کربوهیدرات در گیاه سیب‌زمینی شیرین در شرایط تنش خشکی شده است (Tisarum et al., 2020). کود مایع ضایعات ماهی دارای محتوای پتاسیم بالایی است که منجر به کاهش نسبت سدیم به پتاسیم و سپس عملکرد بهتر روزنه می‌شود که در نهایت منجر به افزایش تولید کربوهیدرات می‌شود (Yang et al., 2020). کود مایع ضایعات ماهی به دلیل داشتن اسیدآمینو لوسین و پتاسیم بالا، باعث افزایش تولید کربوهیدرات می‌شود

(Yang et al., 2020). تیمار کود مایع ضایعات ماهی موجب افزایش کربوهیدرات در اسفناج و گیاه گندم شده است (et al., 2020; Ekinci 2019).

#### پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید، نشت الکترولیت غشا

مقایسه میانگین اثرات متقابل داده‌ها بیانگر این بود که بالاترین نشت الکترولیت غشا (۸۸،۲۲ درصد) در تیمار شاهد شوری و تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار بدست آمد. کم‌ترین میزان نشت الکترولیت غشا (۲۰،۶۳ درصد) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین‌بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی در شرایط بدون تنش شوری بدست آمد (جدول ۴). براساس جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۵) تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری باعث افزایش به ترتیب (۷۱،۸۳ درصد و ۶۷،۴۴ درصدی) شاخص پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید نسبت به تیمار بدون تعدیل‌کننده شوری و بدون تنش شوری شد. کم‌ترین میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب (۰،۰۱۵ و ۰،۰۱۸ میکرومول بر گرم) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین‌بتائین همراه با کود مایع ضایعات ماهی و بیشترین آن به ترتیب (۰،۰۰۶ و ۰،۰۸۶ میکرومول بر گرم) در تیمار ۹۰ میلی‌مولار تنش شوری و بدون تعدیل‌کننده شوری بدست آمد. در تنش شوری، یون‌های سدیم و کلر در لایه اپیدرم ریشه تجمع می‌یابند و باعث عدم تعادل اسمزی می‌شوند و در نتیجه هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد و غشای پلاسمایی در اثر تولید اکسیژن فعال از بین می‌رود (Sofy et al., 2020). همچنین اکسیژن فعال تولید شده می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو در پروتئین‌ها، لیپیدها و در نتیجه افزایش پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید، نشت الکترولیت غشا شود (Yildirim et al., 2015). این نتایج شبیه یافته‌های محققان می‌باشد (Gohari; et al., 2020 Erdal and Cakirlar., 2014). گلیسین‌بتائین پس از محلول‌پاشی به سرعت توسط بافت برگ جذب شده و در سیتوزول تجمع می‌یابد. کاهش اکسیژن فعال در گیاهان تیمار شده با گلیسین‌بتائین به دلیل افزایش جاروب‌گر-های اکسیژن فعال است (Sofy et al., 2020; Ahmad et al., 2019). گلیسین‌بتائین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX)) و کاهش فعالیت اکسیژن فعال، تثبیت ساختار چهارتایی پروتئین‌ها و پایداری غشای سیتوپلاسمی را افزایش می‌دهد و در نتیجه موجب کاهش تولید پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و نشت الکترولیت غشا می‌شود. Islam و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش نمودند که تیمار گلیسین‌بتائین با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدئید و نشت الکترولیت غشا در گیاه خردل شده است (Islam et al., 2021). کود مایع ضایعات ماهی حاوی فسفر (تولید‌کننده فسفولیپید) و اسیدهای آمینه پرولین و گلیسین است که موجب پایداری غشا و کاهش پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید، نشت الکترولیت می‌شود. این نتایج شبیه یافته‌های محققان است (Alasvandyari et al., 2017).

**جدول ۵ -** مقایسه میانگین اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول‌پاشی نانو ذره گلیسین‌بتائین بر خصوصیات کربوهیدرات کل، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، فنول، هیدروژن پراکسید برگ استویا تحت تنش شوری

**Table 5.** Effect of various concentrations glycine betaine nanoparticles and fish waste fertilizer on total carbohydrates, Proline, MDA, Phenol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> characteristics of *Stevia* leafs under salinity stress conditions

تنش شوری (mM)	تیمارها گلیسین‌بتائین + (mgL <sup>-1</sup> ) کود ضایعات ماهی ۱۵٪	پرولین (μg g <sup>-1</sup> )	کربوهیدرات کل (μg g <sup>-1</sup> )	پراکسید هیدروژن (μmol g <sup>-1</sup> )	MDA (μmol g <sup>-1</sup> )	فنل (mgL <sup>-1</sup> )
.	.	۹،۰۴ <sup>j</sup>	۳۹،۴۸. <sup>e</sup>	۰،۱۶۷ <sup>gh</sup>	۰،۲۸۰. <sup>hi</sup>	۴۰،۸۳ <sup>f</sup>
.	گلیسین‌بتائین ۱۵	۹،۹۴ <sup>j</sup>	۴۴،۴۸ <sup>l</sup>	۰،۰۱۶۷ <sup>gh</sup>	۰،۲۶ <sup>hi</sup>	۴۳،۵۷ <sup>ef</sup>
.	گلیسین‌بتائین ۳۰	۱۵،۹۸ <sup>h</sup>	۱۰۱،۷ <sup>ijl</sup>	۰،۰۱۶۵ <sup>gh</sup>	۰،۱۸ <sup>j</sup>	۵۵،۰۷ <sup>ef</sup>
.	گلیسین‌بتائین ۱۵ + کود ماهی	۱۳،۹۵ <sup>ijk</sup>	۷۳،۷۹ <sup>cde</sup>	۰،۰۱۶ <sup>h</sup>	۰،۱۸ <sup>j</sup>	۵۹،۸۲ <sup>ef</sup>
.	گلیسین‌بتائین ۳۰ + کود ماهی	۱۸،۰۲ <sup>gh</sup>	۱۰۴،۷۴ <sup>cde</sup>	۰،۰۱۵ <sup>h</sup>	۰،۱۸ <sup>j</sup>	۶۸،۸ <sup>def</sup>
۳۰	.	۱۳،۲۲ <sup>i</sup>	۷۳،۶۲ <sup>cde</sup>	۰،۰۳۴ <sup>d</sup>	۰،۴۸ <sup>e</sup>	۵۹،۴ <sup>ef</sup>
۳۰	گلیسین‌بتائین ۱۵	۱۳،۹۲ <sup>i</sup>	۴۴،۴۸ <sup>de</sup>	۰،۰۳۳ <sup>d</sup>	۰،۴۷ <sup>e</sup>	۶۶،۹ <sup>def</sup>
۳۰	گلیسین‌بتائین ۳۰	۱۸،۲۹ <sup>gh</sup>	۱۰۷،۸۴ <sup>cde</sup>	۰،۰۲۱ <sup>f</sup>	۰،۲۶ <sup>hi</sup>	۷۷،۶۴ <sup>dfg</sup>

۸۲,۳۹ <sup>def</sup>	۰,۲۵ <sup>i</sup>	۰,۰۲۱ <sup>f</sup>	۱۲۲,۶۷ <sup>hi</sup>	۱۷,۲۳ <sup>gh</sup>	گلیسین بتائین ۱۵+ کود ماهی	
۱۱۳,۲۴ <sup>cd</sup>	۰,۰۲ <sup>i</sup>	۰,۰۱۹ <sup>gf</sup>	۱۶۳,۰۰ <sup>c</sup>	۲۱,۰۸ <sup>d</sup>	گلیسین بتائین ۳۰+ کود ماهی	
۷۰,۹۶ <sup>def</sup>	۰,۶۳ <sup>c</sup>	۰,۰۴۴ <sup>b</sup>	۶۹,۳۹ <sup>cde</sup>	۱۶,۷۱ <sup>gh</sup>	.	
۷۴,۹۶ <sup>def</sup>	۰,۶۱ <sup>c</sup>	۰,۰۴۳ <sup>b</sup>	۸۱,۶۳ <sup>cde</sup>	۱۷,۹۶ <sup>gh</sup>	گلیسین بتائین ۱۵	
۸۸,۸۹ <sup>def</sup>	۰,۵۹ <sup>ef</sup>	۰,۰۰۳ <sup>e</sup>	۶۶,۵۵ <sup>cde</sup>	۲۰,۵۶ <sup>de</sup>	گلیسین بتائین ۳۰	
۹۵,۸۹ <sup>de</sup>	۰,۵۵ <sup>f</sup>	۰,۰۲۸ <sup>e</sup>	۷۱,۵۵ <sup>cde</sup>	۲۳,۸۱ <sup>c</sup>	گلیسین بتائین ۱۵+ کود ماهی	۶۰
۱۴۱,۹۸ <sup>bc</sup>	۰,۴۵ <sup>gh</sup>	۰,۰۲۹ <sup>e</sup>	۲۶۴,۲۲ <sup>b</sup>	۳۸,۵ <sup>b</sup>	گلیسین بتائین ۳۰+ کود ماهی	
۷۳,۵۷ <sup>def</sup>	۰,۸۶ <sup>a</sup>	۰,۰۰۶ <sup>a</sup>	۱۲۳,۱ <sup>cde</sup>	۱۶,۸۳ <sup>gh</sup>	.	
۷۵,۸۲ <sup>def</sup>	۰,۸۲ <sup>b</sup>	۰,۰۰۵ <sup>a</sup>	۱۵۰,۶ <sup>cd</sup>	۱۸,۸۳ <sup>defg</sup>	گلیسین بتائین ۱۵	
۱۷۶,۳۶ <sup>ab</sup>	۰,۶۳ <sup>c</sup>	۰,۰۰۴۳ <sup>b</sup>	۳۸۳,۶ <sup>a</sup>	۲۳,۲ <sup>c</sup>	گلیسین بتائین ۳۰	۹۰
۱۹۱,۳۶ <sup>b</sup>	۰,۶۱ <sup>c</sup>	۰,۰۰۴۱ <sup>bc</sup>	۴۱۱,۲۹ <sup>a</sup>	۲۴,۴۹ <sup>c</sup>	گلیسین بتائین ۱۵+ کود ماهی	
۲۱۸,۰۶ <sup>a</sup>	۰,۵۱ <sup>d</sup>	۰,۰۰۳۹ <sup>c</sup>	۳۶۳,۷ <sup>a</sup>	۴۱,۵۴ <sup>a</sup>	گلیسین بتائین ۳۰+ کود ماهی	

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد  
Same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ ) based on Duncan's Multiple Range test.

### فنل کل

افزایش تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار باعث افزایش ۴۴,۵۱ درصد فنل کل نسبت به شرایط بدون تنش شوری شد (جدول ۵). بیشترین مقدار فنل کل (۲۱۸,۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین به همراه کود مایع ضایعات ماهی و تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار و کم‌ترین میزان فنل کل (۴۰,۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد بدست آمد. ترکیبات فنلی، آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی هستند که مقادیر آن‌ها تحت تنش شوری برای خنثی کردن اکسیژن فعال و جلوگیری از تجزیه پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد (Minh et al., 2016).

افزایش فنل‌ها در گیاهان آویشن معمولی، فلفل قرمز، آویشن دنیایی، مریم گلی تحت شرایط شوری گزارش شده است (Bistgani et al., 2019). کود مایع ضایعات ماهی حاوی برخی ترکیبات مبتنی بر فنل و فلاونوئید است که می‌تواند محتوای فنلی را در گیاه تحریک کند (Muscolo et al., 2022). تولید ترکیبات فنلی از اسید آمینه فنیل آلانین در گیاهان انگور گزارش شده است (Cheng et al., 2020). همچنین اسید آمینه فنیل آلانین موجود در کود ضایعات ماهی باعث افزایش ترکیبات فنلی گیاه و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از طریق مسیر شیکمیک اسید می‌شود (Cheng et al., 2020). گلیسین بتائین به عنوان یک محافظ اسمزی تأثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم‌های متابولیسم فنیل پروپانوئید شامل آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) و تیروزین آمونیا لایز (TAL) که با بیوسنتز ترکیبات فنلی مرتبط هستند، دارد. آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز و تیروزین آمونیا لایز آنزیم کلیدی هستند که تبدیل فنیل آلانین به اسید ترانس سینامیک را کاتالیز می‌کنند، که مسیر اسید شیکمیک را با مسیر فنیل پروپانوئیدها در شبکه متابولیک سنتز فنلی متصل می‌کنند و بدین طریق به طور غیرمستقیم از طریق مکانیسم انتقال سیگنال در افزایش تولید ترکیبات فنلی نقش ایجاد می‌کنند (Badawy et al., 2024; Wang et al., 2019). افزایش فنل کل در شرایط تنش خشکی در گیاهان ذرت مشاهده شده است (Shafiq et al., 2021).

### پتاسیم (K)، کلسیم (Ca)، سدیم (Na) ریشه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت شوری در گلدان‌ها، میزان سدیم ریشه گیاه استویا (۵۴,۴ درصد نسبت به شاهد) افزایش یافت. در تنش شوری ۹۰ میلی‌مولار، غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین همراه کود مایع ضایعات باعث افزایش ۷۶,۶۶ درصدی میزان سدیم نسبت به تیمار بدون تیمار گلیسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل تاثیر تیمارها نشان داد که با افزایش غلظت شوری در گلدان‌ها، میزان پتاسیم (۵۳,۲۶ درصد) و کلسیم ریشه (۶۱,۵۳ درصد) به طور معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین پتاسیم و

کلسیم ریشه (۳،۸، ۵،۴۷ درصد) به ترتیب در تیمار ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین همراه با کود مایع ضایعات ماهی و بدون تنش شوری و ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو ذره گلیسین بتائین همراه با کود مایع ضایعات ماهی در تنش شوری ۳۰ میلی مولار بدست آمد. کمترین میزان پتاسیم و کلسیم ریشه (۰،۸۶، ۰،۹۵ درصد) در تنش ۹۰ میلی مولار شوری و تیمار شاهد تعدیل کننده شوری بدست آمد (جدول ۶). تنش شوری با ایجاد رقابت موجب کاهش کلسیم و پتاسیم و افزایش سدیم در گیاه ذرت شده است (Hasana et al., 2017). گلیسین بتائین با تاثیرگذاری بر روی واکوئل سلول‌های ریشه، باعث کاهش تجمع سدیم در سلول‌های ریشه می‌شود (Sofy et al., 2020). این نتایج با نتایج بدست آمده از گیاه کتان تحت تنش شوری مطابقت دارد (Mounkaila Hamani et al., 2021). به نظر می‌رسد که کود مایع ضایعات ماهی با حذف سدیم از آوند چوبی باعث کاهش تجمع سدیم در ریشه می‌شود. به دلیل حلالیت بالا و در دسترس بودن محتویات کلسیم و پتاسیم در کود مایع ضایعات ماهی، تیمار آن می‌تواند کمبود این عناصر ناشی از شوری را جبران کند (Ahuja et al., 2020). تیمار کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم در اسفناج شد (Ekinici et al., 2019).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل کود مایع ضایعات ماهی به همراه محلول پاشی نانو ذره گلیسین بتائین بر میزان عناصر کلسیم، پتاسیم، سدیم ریشه استویا تحت تنش شوری

**Table 6.** Effect of various concentrations glycine betaine nanoparticles and fish waste fertilizer on Ca, K and Na nutrients of *Stevia* roots under salinity stress conditions.

تنش شوری (mM)	تیمارها گلیسین بتائین (mgL <sup>-1</sup> ) کود ماهی %	سدیم ریشه %	پتاسیم ریشه %	کلسیم ریشه %
۰	۰	۳،۴۲ <sup>g</sup>	۱،۸۴ <sup>hi</sup>	۲،۴۷ <sup>g</sup>
	گلیسین بتائین ۱۵	۳،۰۲ <sup>hi</sup>	۲،۰۰ <sup>ghi</sup>	۲،۸۲ <sup>f</sup>
	گلیسین بتائین ۳۰	۲،۹ <sup>i</sup>	۲،۲۲ <sup>fg</sup>	۲،۲۷ <sup>hi</sup>
	گلیسین بتائین ۱۵ + کود ماهی	۲،۳۲ <sup>kj</sup>	۲،۴۹ <sup>de</sup>	۲،۳۹ <sup>gh</sup>
۳۰	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی	۲،۰۲ <sup>l</sup>	۳،۸ <sup>a</sup>	۴،۵۸ <sup>b</sup>
	۰	۴،۵۸ <sup>e</sup>	۱،۴۹ <sup>j</sup>	۱،۹۵ <sup>h</sup>
	گلیسین بتائین ۱۵	۴،۳۳ <sup>f</sup>	۱،۸۴ <sup>hi</sup>	۲،۰۱ <sup>kl</sup>
	گلیسین بتائین ۳۰	۲،۲۳ <sup>kjl</sup>	۲،۲۸ <sup>ef</sup>	۲،۹۶ <sup>e</sup>
۶۰	گلیسین بتائین ۱۵ + کود ماهی	۲،۱۲ <sup>kl</sup>	۲،۵۵ <sup>d</sup>	۳،۱۸ <sup>d</sup>
	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی	۲،۱۴ <sup>kl</sup>	۲،۸۹ <sup>c</sup>	۵،۴۷ <sup>a</sup>
	۰	۵،۶۶ <sup>c</sup>	۱،۰۶ <sup>kl</sup>	۱،۴۳ <sup>j</sup>
	گلیسین بتائین ۱۵	۵،۱۴ <sup>d</sup>	۱،۲۹ <sup>kj</sup>	۱،۵۷ <sup>i</sup>
۹۰	گلیسین بتائین ۳۰	۳،۳۸ <sup>g</sup>	۲،۰۸ <sup>fgh</sup>	۲،۲۳ <sup>ji</sup>
	گلیسین بتائین ۱۵ + کود ماهی	۳،۰۸ <sup>hi</sup>	۲،۲۱ <sup>fg</sup>	۲،۱۹ <sup>g</sup>
	گلیسین بتائین ۳۰ + کود ماهی	۳،۲۳ <sup>gh</sup>	۲،۹ <sup>c</sup>	۴،۶۷ <sup>b</sup>
	۰	۷،۵ <sup>a</sup>	۰،۸۶ <sup>l</sup>	۰،۹۵ <sup>l</sup>

۱,۰۷ <sup>k</sup>	۰,۹۹ <sup>a</sup>	۷,۳ <sup>b</sup>	گلابسین بتائین ۱۵
۱,۹۶ <sup>a</sup>	۲,۱ <sup>fg</sup>	۲,۴۲ <sup>j</sup>	گلابسین بتائین ۳۰
۲,۱۱ <sup>jk</sup>	۲,۲۷ <sup>ef</sup>	۲,۳ <sup>kjl</sup>	گلابسین بتائین ۱۵ + کود ماهی
۳,۸ <sup>c</sup>	۲,۳ <sup>b</sup>	۱,۷۵ <sup>m</sup>	گلابسین بتائین ۳۰ + کود ماهی

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.  
Same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ ) based on Duncan's Multiple Range test.

## نتیجه‌گیری

نانو ذره گلابسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی باعث افزایش پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شدند. نانو ذره گلابسین بتائین در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر و کود مایع ضایعات ماهی (۱۵ درصد) می‌تواند به عنوان بهترین غلظت بر اساس پارامترهای اندازه‌گیری شده برای کاهش اثرات شوری معرفی شود. گلابسین بتائین با تاثیر بر هموستازی یونی، به ویژه پتاسیم و نهایتاً کنترل باز و بسته شدن روزنه‌ها، افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سایر آنزیم‌های سنتز کننده موجب افزایش رشد گیاه می‌گردد. همچنین کود مایع ضایعات ماهی حاوی عناصر غذایی، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، اسیدهای لاکتیک و اسیدهای استیک است که موجب افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در خاک شده و دسترسی عناصر غذایی را افزایش می‌دهند و منجر به افزایش رشد گیاه می‌گردند. از این رو، تیمار همزمان گلابسین بتائین و کود مایع ضایعات ماهی را می‌توان به عنوان روشی موثر برای کاهش اثرات تنش شوری بر روی گیاهان، مختلف اعلام کرد.

## سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از رساله دکتری خانم زهرا مهدوی می‌باشد. بدین وسیله کلیه نویسندگان مقاله از مسئولان دانشگاه محقق اردبیلی به جهت در اختیار قرار دادن مکان انجام رساله شامل گلخانه‌ی تحقیقاتی و تجهیزات آزمایشگاهی تشکر می‌نماییم.

## ملاحظات اخلاقی

### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنهاست.

### مشارکت نویسندگان

جمع‌آوری داده‌ها: زهرا مهدوی تهیه گزارش پژوهش: زهرا مهدوی تحلیل داده‌ها: بهروز اسماعیل پور  
مشارکت نویسندگان در مقاله مستخرج از پایان‌نامه تقریباً به شکل زیر باشد:  
نویسنده اول: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تحلیل و تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیشنویس مقاله  
نویسنده دوم: استاد راهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله

نویسنده سوم: استاد مشاور پایان‌نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله  
نویسنده چهارم: استاد مشاور پایان‌نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله

### تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

## حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. حمایت مالی از این پژوهش از طرف دانشگاه محقق اردبیلی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی در قالب پژوهانه پایان نامه دانشجویی نویسنده اول و همچنین پژوهانه برای سایر نویسندگان انجام شده است. از داوران محترم به خاطر ارائه نظرهای ساختاری و علمی سپاسگزاری می‌شود. نگارندگان بر خود لازم/فرض می‌دانند از آقای دکتر ..... / خانم دکتر ..... به خاطر مطالعه متن مقاله حاضر و ارائه نظرهای ارزشمند سپاسگزاری نمایند.

## References

- 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., Dauksas, 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 industries*. 115: 95–112. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.07.025>.
- Alam, M.S., Tester, M., Fiene, G. & Mousa, M.A.A. 2021. Early Growth Stage Characterization and the Biochemical Responses for Salinity Stress in Tomato. *Plants*. 10: 712. <https://doi.org/10.3390/plants10040712>.
- Alasvandyari, F., Mahdavi, B. & Hosseini, S.M. 2017. Glycine betaine affects the antioxidant system and ion accumulation and reduces salinity-induced damage in safflower seedlings. *Archives of Biological Sciences*. 69 (1): 139 – 147. <https://doi.org/10.2298/ABS160216089A>.
- Alfosea-Simon, M., Zavala-Gonzalez, E.A., Camara-Zapata, J.M., Martinez Nicolas, J.J., Simon, I. & Simon-Grao, S. 2020. Effect of foliar application of amino acids on the salinity tolerance of tomato plants cultivated under hydroponic system. *Scientia Horticulturae*. 272: 109509. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109509>.
- Ashraf, M. & Harris, P.J.C. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*. 51: 163–190. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>.
- Badawy, A. A., Alamri, A. A., Hussein, H. A. A., Salem, N. F. G., Mashlawi, A. M., Kenawy, S. K. M. & El-Shabasy, A. 2024. Glycine Betaine Mitigates Heavy Metal Toxicity in *Beta vulgaris* (L.): An Antioxidant-Driven Approach. *Agronomy*. 14(4): 797. <https://doi.org/10.3390/agronomy14040797>
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaili, N., & Zhang, H. 2023. Plants' Response Mechanisms to Salinity Stress. *Plants*. 12(12): 2253. <https://doi.org/10.3390/plants12122253>
- Bates, L., Waldren, R. & Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205–207.
- Bistgani, Z.E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F. & Morshedloo, M.R. 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*. 135: 311–320. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055>
- 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 .
- Cheng, X., Wang, X., Zhang, A., Wang, P., Chen, Q., Ma, T., Li, W., Liang, Y., Sun, X. & Fang, Y. 2020. Foliar Phenylalanine Application Promoted Antioxidant Activities in Cabernet Sauvignon by

- Regulating Phenolic Biosynthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68: 15390–15402. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05565>.
- Denaxa, N.K., Nomikou, A., Malamos, N., Liveri, E., Roussos, P.A. & Papatotiroopoulos, V. 2022. Salinity effect on plant growth parameters and fruit bioactive compounds of two strawberry cultivars, coupled with environmental conditions monitoring. *Agronomy*. 12: 2279. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102279>.
- Ekinci, M., Atamanalp, M., Turan, M., Alak, G., Kul, R., Kitir, N. & Yildirim, E. 2019. Integrated Use of Nitrogen Fertilizer and Fish Manure: Effects on the Growth and Chemical Composition of Spinach. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 50: 1580–1590. <https://doi.org/10.1080/00103624.2019.1631324>.
- 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>.
- Estaji, A., Kalaji, H., Karimi, H., Roosta, H. & Moosavi-Nezhad, S. 2019. How glycine betaine induces tolerance of cucumber plants to salinity stress? *Photosynthetica*. 57: 753–761. <https://doi.org/10.32615/ps.2019.053>
- 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: (2021)112769. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112769>.
- Forouzi, A., Ghasemnezhad, A. & Ghorbani, R. 2020. Phytochemical response of Stevia plant to growth promoting microorganisms under salinity stress. *South African Journal of Botany*. 134: 109-118. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.001>.
- Garriga, M., Caligari, P. & Retamales, J. 2017. Salt stress induces differential responses in yield, fruit quality, vegetative growth and physiological parameters in commercial (*Fragaria* × *ananassa*) and Chilean strawberry (*F. chiloensis*) genotypes. *Acta Horticulturae*, 1156, 419–424. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1156.62>
- 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>.
- Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M.R., Fotopoulos, V. & Kimura, S. 2020. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific Reports*. 10, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57794-1>.
- Gohari, G.H., 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>.
- 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>.
- Hasana, R. & Miyake, H. 2017. Salinity stress alters nutrient uptake and causes the damage of root and leaf anatomy in maize. *KnE Life Sciences*. 3: 219–225. <https://doi.org/10.18502/kls.v3i4.708>.
- 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>.
- Hawrylak-Nowak, B., Hasanuzzaman, M. & Matraszek-Gawron, R. 2018. Mechanisms of selenium-induced enhancement of abiotic stress tolerance in plants. In *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*; Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Oku, H., Nahar, K., Hawrylak-Nowak, B., Eds.; Springer: Singapore . 269–295. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8_12).

- 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).
- Huang, S., Zuo, T. & Ni, W. 2020. Important roles of glycinebetaine in stabilizing the structure and function of the photosystem II complex under abiotic stresses. *Planta*. 251, 36. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03330-z>.
- 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>.
- Jarin, A., Ghosh, U.K., Hossain, S., Mahmud, A. & Khan, A.R. 2024. Glycine betaine in plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Discover Agriculture*. 2: 127 (2024). <https://doi.org/10.1007/s44279-024-00152-w>.
- 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 Bertonii)* under Salinity-Induced Stress. *Plants*. 13(14): 1909. <https://doi.org/10.3390/plants13141909>.
- Minh, D.T.K., Ha, P.T.T., Tuyen, P.T., Minh, T.N., Quan, N.V. & Xuan, T. 2016. Effects of Salinity Stress on Growth and Phenolics of Rice (*Oryza sativa* L.). *International Letters of Natural Sciences*. 57: 1–10.
- Munns, R., Day, D.A., Fricke, W., Watt, M., Arsova, B., Barkla, B.J., Bose, J., Byrt, C.S., Chen, Z. & Foster, K.J. 2019. Energy costs of salt tolerance in crop plants. *New Phytologist*. 225: 1072–1090. <https://doi.org/10.1111/nph.15864>.
- Muscolo, A., Mauriello, F., Marra, F., Calabrò, P.S., Russo, M., Ciriminna, R. & Pagliaro, M. 2022. AnchoisFert: A New Organic Fertilizer from Fish Processing Waste for Sustainable Agriculture. *Global Challenges*. 6: 2100141. <https://doi.org/10.1002/gch2.202100141>.
- Nazmul Hossain, M., Sarker, U., Sharif Raihan, M.d. Asma A. Al-Huqail, A.A., Siddiqui, M.H. & Oba, S.H. 2022. Influence of Salinity Stress on Color Parameters, Leaf Pigmentation, Polyphenol and Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of *Amaranthus lividus* Leafy Vegetables. *Molecules*. 27(6): 18-21. <https://doi.org/10.3390/molecules27061821>.
- Niu, T., Zhang, J., Li, J., Gao, X., Ma, H., Gao, Y., Chang, Y. & Xie, J. 2023. Effects of exogenous glycine betaine and cycloleucine on photosynthetic capacity, amino acid composition, and hormone metabolism in *Solanum melongena* L. *Scientific Reports*. 13:7626. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34509-w>.
- Ntanos, E., Kekelis, P., Assimakopoulou, A., Gasparatos, D., Denaxa, N.-K., Tsafouros, A. & Roussos, P. A. 2021. Amelioration Effects against Salinity Stress in Strawberry by Bentonite–Zeolite Mixture, Glycine Betaine, and *Bacillus amyloliquefaciens* in Terms of Plant Growth, Nutrient Content, Soil Properties, Yield, and Fruit Quality Characteristics. *Applied Sciences*. 11(19): 8796. <https://doi.org/10.3390/app11198796>.
- Omokolo, N.D., Tsala, N.G., Kanmegne, G. & Balange, A.P. 1992. In vitro induction of multiple shoots, plant regeneration and tuberization from tips of cocoyam. *Comptes Rendus de Académie des Sciences*. 318: 773–778. <https://doi.org/10.1100/2012/346595>.
- Petretto, G. L., Urgeghe, P.P., Massa, D. & Melito, S. 2019. Effect of salinity (NaCl) on plant growth, nutrient content, and glucosinolate hydrolysis products trends in rocket genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*. 141: 30-39. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.05.012.
- Radziemska, M., Vaverková, M.D., Adamcova, D., Brtnicky, M. & Mazur, Z. 2019. Valorization of Fish Waste Compost as a Fertilizer for Agricultural Use. *Waste Biomass Valorization*. 10: 2537–2545. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0288-8>.
- 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>.
- Renzetti, M., Funck, D. & Trovato, M. 2025. Proline and ROS: A Unified Mechanism in Plant Development and Stress Response. *Plants*. 14(1), 2. <https://doi.org/10.3390/plants14010002>

- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. & Holaday, A.S. 1990. Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop science* 30:105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x>.
- 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>
- Sarker, U. & Oba, S. 2019. Salinity Stress Enhances Color Parameters, Bioactive Leaf Pigments, Vitamins, Polyphenols, Flavonoids and Antioxidant Activity in Selected Amaranthus Leafy Vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99: 2275–2284. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9423>
- Sergieiev, I., Alexieiva, V. & Karanov, E. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de Académie des Sciences*. 51: 121–124. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- 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://www.mdpi.com/journal/horticulturae>.
- Shafiq, S., Akram, N.A., Ashraf, M., García-Caparrós, P., Ali, O.M. & Abdel Latef, A.A.H. 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>.
- 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>.
- Shams, H., Yildirim, E., Arslan, E. & Agar, G. 2020. Salinity induced alteration in DNA methylation pattern, enzyme activity, nutrient uptake and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*. 42: 59. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03053-9>.
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Gohari, G., Haghghi, 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>.
- Sofy, M.R., Elhawath, N. & Alshaal, T. 2020. Glycine betaine counters salinity stress by maintaining high K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio and antioxidant defense via limiting Na<sup>+</sup> uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 200: 110732. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110732>.
- Syed, S.H., Sehar, Z., Masood, A., Anjum, N.A. & Khan, N.A. 2021. Control of Elevated Ion Accumulation, Oxidative Stress, and Lipid Peroxidation with Salicylic Acid-Induced Accumulation of Glycine Betaine in Salinity-Exposed *Vigna radiata* L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 193: 3301–3320 (2021). <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03595-9>.
- Tang, R.-J., Zhao, F. G., Garcia, V.J., Kleist, T.J., Yang, L., Zhang, H.-X. & Luan, S. 2015. Tonoplast CBL–CIPK calcium signaling network regulates magnesium homeostasis in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112: 3134–3139. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420944112>.
- Tisarum, R., Theerawitaya, C., Samphumphuang, T., Singh, H.P. & Chaum, S. 2020. Foliar application of glycinebetaine regulates soluble sugars and modulates physiological adaptations in sweet potato (*Ipomoea batatas*) under water deficit. *Protoplasma*. 257, 197–211. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01429-4>.
- Wang, P.L., Shan, T., Xie, B., Ling, C., Shao, S., Jin, P. & Zheng, Y. 2019. Glycine betaine reduces chilling injury in peach fruit by enhancing phenolic and sugar metabolisms. *Food Chemistry*. 272: 530-538. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.085>.
- Whiting, D., Wilson, C., Card, A., 2005. Organic Fertilizers. In *Colorado Master Gardener*; Colorado State University: Denver, CO, USA, 2005; pp. 1–5.
- Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., Lu, J. 2010. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China. *Food Chemistry*. 119, 1557–1565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.042>
- Yang, Q., Zhao, D., Liu, Q. 2020. Connections between amino acid metabolisms in plants: Lysine as an example. *Frontiers in Plant Science*. 11, 928. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00928>

- Yidirim, E., Kul, R., Turan, M., Ekinci, M., Alak, G., Atamanalp, M., 2016. Effect of Nitrogen and Fish Manure Fertilization on Growth and Chemical Composition of Lettuce. In Proceedings of the International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. Antalya, Turkey, 21–23 April <https://doi.org/10.1063/1.4945847>.
- 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/10.1080/03650340.2015.1030611>.
- Zhu, M., Li, Q., Zhang, Y., Zhang, M. & Li, Z. 2022. Glycine betaine increases salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) by regulating Na<sup>+</sup> homeostasis. Frontiers in Plant Science. 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.978304>