تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد ششم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۳، ص ۱۵۵-۱۳۹

مقاله پژوهشی

اثر محلول‌پاشی گلایسین بتائین بر صفات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و زراعی گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa* Wild.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

سید فاطمه موسوی ساردو[1*]

۱- دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

* مسئول مکاتبه: mfateme604@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۵ **DOI: 10.22034/CSRAR.2024.457698.1417**

چکیده

به منظور بررسی تأثیر گلایسین بتائین در کاهش اثرات زیان‌آور تنش کمبود آب در گیاه کینوا، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو سال زراعی (۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰) در ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان انجام شد. فاکتور اصلی شامل سه سطح تیمار آبیاری (آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل (کنترل)، آبیاری تا شروع مرحله گل‌دهی (تنش شدید) و آبیاری تا شروع مرحله خمیری (تنش ملایم)) و فاکتور فرعی شامل دو سطح گلایسین بتائین (۰ و ۳ میلی‌مولار) بود. اثر سال و اثرات متقابل سال با سایر فاکتورها بر روی صفات مطالعه شده معنی‌دار نبود. اثر آبیاری بر روی کلیه صفات اندازه‌گیری شده و اثر گلایسین بتائین و اثر متقابل آن‌ها بر روی همه صفات به غیر از شاخص برداشت معنی‌دار بودند. بیشترین محتوای پرولین و فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تیمار تنش شدید آبی و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین به دست آمد. بیشترین عملکرد بیولوژیک و دانه تحت شرایط کنترل و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین مشاهده شد. میزان کاهش عملکرد دانه تحت شرایط تنش آبی ملایم و شدید در سطح عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین به ترتیب ۱۶/۸۵ و ۲۰/۰۴ درصد و ۳۴/۱۹ و ۴۵/۳۷ درصد بود. نتایج آزمایش نشان می‌دهد که محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین از طریق افزایش مکانیزم‌های دفاعی غیرآنزیمی و آنزیمی می‌تواند سبب بهبود عملکرد دانه شود. بنابراین گلایسین بتائین به سبب کاهش اثرات زیان‌آور تنش خشکی می‌تواند برای بهبود رشد و عملکرد دانه در گیاه کینوا استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اثر متقابل، پرولین، تنش کمبود آب، عملکرد دانه

مقدمه

دانه‌های شبه غلات ارزش غذایی و عملکرد بالایی دارند که با کیفیت و کمیت پروتئین‌ها، چربی‌ها و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مرتبط است (Gorinstein and Lojek, 2008). کینوا (*Chenopodium quinoa* Wild.) متعلق به خانواده تاج خروس (Amarranthaceae) یک شبه غلات است که یکی از قدیمی‌ترین محصولات قاره آمریکا و یک گیاه بومی در منطقه آند است (Matiacevich *et al.*, 2006). در مقایسه با سایر غلات، کینوا پروتئین بیشتر (۷۴۷-۲۲۱ گرم در کیلوگرم) و ترکیب اسید آمینه متعادل‌تری با مقدار لیزین ۵-۸ درصد و متیونین ۲/۴-۵/۱ درصد دارد. هم‌چنین سرشار از فیبر غذایی و مواد مغذی معدنی (۳ درصد) و طیف وسیعی از ویتامین‌ها است. به دلیل این ارزش‌های تغذیه‌ای، کینوا در نان، ماکارونی و غذای کودک و هم‌چنین در رژیم‌های غذایی رایج در دهه اخیر مورد استفاده قرار گرفته است (Hirose *et al.*, 2010). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن به محتوای ترکیبات فنلی مانند توکوفرول‌ها (ویتامین E) مرتبط است که فرآیند زنجیره رادیکال خود اکسیداسیون روی اسیدهای چرب را متوقف می‌کند، با رادیکال‌های پراکسیل اسید چرب واکنش می‌دهد و محصولات پایدار و غیر رادیکالی را تشکیل می‌دهد (Schneider, 2005).

خشکی، گرما، شوری و ... انواعی از تنش‌های غیرزنده هستند که رشد گیاه را کاهش می‌دهند و سبب افت شدید عملکرد گیاهان زراعی به سبب تغییرات مختلف در سطح فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و مولکولی می‌شوند (Mahmood *et al.*, 2010). اثرات کاهش‌دهنده خشکی بر روی تولید و رشد گیاه در نتیجه تغییرات در متابولیسم گیاهی و کاهش توسعه سلولی، فعالیت آنزیم‌های متابولیکی مختلف، تنفس، جابه‌جایی، جذب یون و سطوح پارامترهای رشدی است (Praba *et al.*, 2009). هم‌چنین کمبود آب به طور زیان‌آوری چندین فرآیند بیوشیمیایی و مولکولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که نتیجه آن

بسته شدن روزنه‌ها و کاهش سرعت تعرق، محتوای رنگیزه و فتوسنتز می‌باشد و بدین ترتیب رشد و نمو گیاه را به طور جزئی یا کامل ممانعت می‌کند (Quiroga *et al.*, 2020).

علاوه بر این، تنش خشکی ممکن است باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان شود که به ساختارهای لیپیدی و پروتئینی آسیب می‌رساند و باعث می‌شود که غشای سلولی نفوذپذیری و انتخاب‌پذیری را از دست بدهد. نشت یون‌های داخل سلولی منجر به اختلال در متابولیسم، تجزیه کلروپلاست و کاهش محتوای کلروفیل می‌شود. در موارد شدید ممکن است منجر به مرگ گیاه نیز گردد (Lin and Chao, 2021). کاهش پارامترهای رشدی و عملکرد گیاه کینوا تحت شرایط کمبود آب توسط محققین متعددی گزارش شده است (Lin and Chao, 2021; Fischer *et al.*, 2013; Mohammadi *et al.*, 2021).

گیاهان برای مقابله با تنش‌های مختلف و محافظت از خود، مکانیسم‌های پیچیده و سازمان‌یافته‌ای را تکامل داده‌اند. بیوسنتز و تجمع انواع مختلف اسمولیت‌ها یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های گیاهان میزبان برای مبارزه با تنش اکسیداتیو و هم‌چنین تنش اسمزی ناشی از عوامل تنش‌زا هستند (Beebs *et al.*, 2011). اصطلاح اسمولیت‌ها به ترکیب‌ها یا متابولیت‌های مختلف با وزن مولکولی کم از جمله قندهای محلول (ترهالوز، ساکارز، گلوکز و فروکتوز)، پلی‌آمین‌ها، متابولیت‌های ثانویه، اسیدهای آمینه (تری متیل گلیسین، پرولین و ...) و پلی‌ال‌ها (مانیتول، اینوزیتول و سوربیتول) اشاره دارد (Gosh *et al.*, 2021; Lin and Chao 2021).

علاوه بر این گیاهان مکانیسم‌های سم‌زدایی آنزیمی برای مبارزه با آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن تکامل داده‌اند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان شامل سوپر اکساید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیدازها، آسکوربات پراکسیداز، مونودیدروآسکوربات ردوکتاز، ردوکتاز دی هیدروکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون S-ترانسفرازها می‌باشد (Rajput *et al.*, 2021; Fahad *et al.*, 2017; Zeinab *et al.*, 2021). تأثیر تنش خشکی بر روی تجمع اسمولیت‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان مختلف مانند کینوا (Elewa *et al.*, 2017)، یولاف (Shehzadi *et al.*, 2019) و ذرت (Shafiq *et al.*, 2021) مشاهده شده است.

گلایسین بتائین یک ترکیب آمونیوم چهارتایی است که به طور درون‌زا در کلروپلاست‌ها در پاسخ به عوامل تنش‌زای غیرزنده مانند خشکی و شوری سنتز می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007). گلایسین بتائین نه تنها به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی عمل می‌کند بلکه ساختار و فعالیت آنزیم‌ها و کمپلکس‌های پروتئینی را تثبیت می‌کند و یکپارچگی غشاها در برابر اثرات مخرب خشکی را حفظ می‌کند (Quan *et al.*, 2004).

تیمار گلایسین بتائین رشد، زنده‌مانی و تحمل گیاهان به شرایط تنش مختلف را از طریق تنظیم فرآیندهای متابولیکی مختلف، بهبود سرعت جذب CO_2 خالص، حفظ پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و لیپیدهای دستگاه فتوسنتزی و حفظ جریان الکترون از طریق غشاهای تیلاکوئید و تنظیم سیستم فتوسنتزی و هموستازی یون‌ها افزایش می‌دهد (Raza *et al.*, 2007). گزارش شده است که گلایسن بتائین سبب بهبود پارامترهای رشدی و عملکرد، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کینوا تحت شرایط تنش شوری شده است (Maqsood *et al.*, 2021). تأثیر مثبت گلایسین بتائین بر روی پارامترهای رشدی و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان مانند آفتابگردان (Iqbal *et al.*, 2008) و گز روغنی (Abd Elhamid *et al.*, 2021) تحت شرایط تنش خشکی نیز مشاهده شده است.

با توجه به اینکه استان کرمان جزء مناطق خشک می‌باشد و تنش خشکی تأثیر منفی بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارد و در نهایت منجر به کاهش عملکرد گیاهان می‌شود، بررسی تأثیر اسمولیت‌ها بر روی بهبود پارامترهای رشدی و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی گیاهان تحت شرایط کمبود آب ضروری است. از آن‌جا که تأثیر گلایسین بتائین بر روی پارامترهای عملکرد و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه کینوا تحت شرایط تنش کمبود آب در شرایط آب و هوایی منطقه کرمان انجام نشده است، تحقیق حاضر برای بررسی تأثیر گلایسین بتائین بر روی صفات زراعی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه کینوا تحت تیمارهای آبیاری مختلف صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان (ایستگاه جوپار) با موقعیت جغرافیایی ۵۷ درجه و ۵ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۱۷ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۹۰۰ متر از سطح دریا بر روی گیاه کینوا رقم تی‌تی‌کاکا انجام شد. آب و هوای منطقه، خشک و نیمه معتدل بوده، متوسط بارندگی سالیانه آن تقریبا ۱۵۰ میلی‌متر در سال و حداقل و حداکثر متوسط دمای سالیانه آن به ترتیب ۱۴- و ۴۰+ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. متوسط بارندگی در ماه‌های دو سال زراعی (۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰) در جدول ۱ و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱- میانگین بارندگی در ماه‌های دو سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰

Table 1- Average rainfall in the months of 2020-2021 and 2021-2022

ماه‌ها Months	میزان بارندگی Rainfall (ml) ۱۳۹۹-۱۴۰۰ 2020-2021	 ۱۴۰۰-۱۴۰۱ 2021-2022
خرداد June	1.5	0
تیر July	0	0
مرداد August	0	0
شهریور September	0	0
مهر October	26.5	25.5
آبان November	19.6	0

جدول ۲- نتایج ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک (عمق ۶۰-۰ سانتی‌متر)

Table 2- The results of physical and chemical properties of soil (0-60 cm depth)

مشخصات خاک Soil characteristics	نتایج تجزیه خاک Results of soil analysis ۱۳۹۹-۱۴۰۰ 2020-2021	 ۱۴۰۰-۱۴۰۱ 2021-2022
بافت خاک Soil Pattern	لومی شنی Sandy Loam	لومی شنی Sandy Loam
شن Sand (%)	69	71
رس Clay (%)	13	12
سیلت Silt (%)	18	17
واکنش خاک pH	7.7	7.9
هدایت الکتریکی EC($dS.m^{-1}$)	1.98	1.91
پتاسیم K (mg/Kg)	255	250
فسفر P (mg/Kg)	7.9	8.1
نیترو ژن کل Total N (%)	0.07	0.08

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو سال زراعی (۱۴۰۰-۱۳۹۹ و ۱۴۰۱-۱۴۰۰) انجام گردید. فاکتور اصلی شامل سه سطح تیمار آبیاری (آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل (کنترل)، آبیاری تا شروع مرحله گل‌دهی (تنش آبی شدید) و آبیاری تا شروع مرحله خمیری (تنش آبی ملایم)) و فاکتور فرعی شامل دو سطح محلول‌پاشی گلایسین بتائین (۰ و ۳ میلی‌مولار) بود. گلایسین بتائین از شرکت مرک آلمان تهیه شد. عرض و طول کرت‌ها ۲/۴ در ۳ متر، فاصله بین کرت‌ها یک متر و فاصله بین بلوک‌ها سه متر در نظر گرفته شد. در هر کرت فرعی چهار ردیف کاشت قرار داشته و فاصله بین ردیف‌ها ۶۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها در هر خط کاشت ۱۰ سانتی‌متر بود. قبل از کاشت و بعد از سبز شدن، آبیاری هفته‌ای یکبار تا شروع مرحله گل‌دهی (۱ مهر) برای شرایط تنش آبی شدید انجام شد. در شرایط تنش ملایم، آبیاری تا شروع مرحله خمیری (۲۰ مهر) ادامه داشته و در شرایط کنترل (بدون تنش) آبیاری تا رسیدگی فیزیولوژیک انجام شد. برای کاشت ابتدا خاک مزرعه تسطیح و شخم به عمق ۳۰ سانتی‌متر با گاوآهن قلمی انجام گردید. مقدار کود مصرفی ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره و ۵۰ کیلوگرم در هکتارکود سوپر فسفات تریپل بود. کل کود سوپر فسفات تریپل و نصف کود اوره قبل از کاشت به کار رفت و نصف باقیمانده کود اوره نیز قبل از گل‌دهی استفاده شد. قبل از کاشت، بذور با قارچ‌کش برای جلوگیری از بیماری بوته‌میری ضدعفونی شدند. کاشت بذور در تاریخ ۱۵ مرداد ماه و در عمق ۱ سانتی‌متری و مبازره با علف‌های هرز به صورت دستی انجام شد. محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین در زمان غروب آفتاب در ۲ مرحله (یک‌بار در مرحله شروع گل‌دهی و بار دوم ۲ هفته پس از محلول‌پاشی نوبت اول) با استفاده از سم‌پاش دستی انجام شد. برداشت گیاهان در تاریخ ۲۵ آبان ماه پس از زرد شدن بوته‌ها و رسیدگی فیزیولوژیک به صورت دستی انجام گردید.

اندازه‌گیری صفات مورد بررسی

عملکرد بیولوژیک: جهت تعیین عملکرد بیولوژیک بوته‌ها، پس از رسیدگی فیزیولوژیک دانه‌ها و حذف حاشیه، از سطح یک متر مربع هر کرت آزمایشی، بوته‌ها از سطح زمین برداشت شده و پس از خشک شدن، وزن خشک بوته‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال به دست آمد.

عملکرد دانه: برای اندازه‌گیری عملکرد دانه، دانه‌های جمع‌آوری شده از بوته‌های برداشت شده از سطح یک متر مربع با ترازوی دیجیتال وزن شد.

شاخص برداشت: از تقسیم عملکرد دلنه بر عملکرد بیولوژیک محاسبه گردید و بر اساس درصد بیان شد.

محتوای پرولین: اندازه‌گیری مقدار پرولین برگ به شرح زیر انجام شد: ابتدا ۰/۰۵ گرم از بافت برگ در ۵ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به خوبی ساییده شده و محلول به دست آمده با کاغذ صافی صاف گردید. ۳ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده با ۲ میلی‌لیتر محلول اسید ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک مخلوط شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از آن لوله‌ها به حمام یخ انتقال داده شدند. سپس ۶ میلی لیتر تولوئن به لوله‌ها اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شدند. پس از حدود ۲۰ ثانیه دو فاز مجزا تشکیل شد. از فاز رویی برای تعیین میزان پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Hitachi-japan U1800) در طول موج ۵۲۹ نانومتر استفاده گردید (Bates *et al.*, 1973).

محتوای فنل کل: برای اندازه‌گیری میزان فنل کل، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی برگ‌ها با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیو کالتو ۱۰ درصد و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به خوبی مخلوط شد. سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شدند. پس از آن، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. مقدار محتوای فنل کل نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد و بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن تر گزارش شد (Ardestani and Yazdanparast, 2007).

محتوای فلاونوئید کل: برای سنجش مقدار فلاونوئید کل، به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی برگ‌ها، ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه شده و پس از ۶ دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار به محلول به دست آمده اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه، میزان جذب نمونه‌ها به

وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استلندارد کوئرستین به دست آمده و بر مبنای میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر بیان شد (Zang *et al.*, 2015).

فعالیت آنزیم کلتالاز: برای تهیه عصاره آنزیمی، ۲۰۰ میلی‌گرم بافت سبز برگ با ۴ میلی‌لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=7 در هاون چینی ساییده شده و سپس با کاغذ صافی صاف گردید. محلول صاف شده با سرعت ۱۶ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای سنجش میزان فعالیت آنزیمی فاز رویی مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم با ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۳۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن مخلوط شد. مخلوط به دست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه قرائت گردید. مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی ۳۹/۴ $mM^{-1}cm^{-1}$ و از تقسیم فعالیت حجمی کاتالاز بر میزان پروتئین عصاره به دست آمد (Beers and Sizer, 1952).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: به منظور اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم، ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیم با ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۸ میلی‌مولار مخلوط شد. جذب مخلوط‌ها به مدت ۲ دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. سنجش فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی پراکسیداز ۲۶/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد و بر اساس واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Fielding and Hall, 1978).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: برای سنجش فعالیت این آنزیم، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم با ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و آسکوربات ۵ میلی‌مولار مخلوط شد. جذب مخلوط‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز ۲/۸ $mM^{-1}cm^{-1}$ است و یک واحد از فعالیت آن نشان‌دهنده مقدار آنزیمی است که برای اکسید کردن یک میکرومول آسکوربات در یک دقیقه نیاز می‌باشد (Yoshimura *et al.*, 2000).

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز : برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم، تعدادی لوله آزمایش در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به هر کدام از لوله‌ها ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۲۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار اضافه گردید و تا زمانی‌که دمای لوله‌ها به ۴۰ در جه سانتی‌گراد برسد، در این شرایط نگهداری شد. سپس به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی افزوده گردید. نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۴ دقیقه خوانده شدند (Janovitz-Klapp *et al.*, 1990).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش کولموگروف اسمیرنوف و یکنواختی خطاهای آزمایش با استفاده از روش بارتلت با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. سپس تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده و آزمون مقایسه میانگین آن‌ها با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد با نرم‌افزار SAS انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات زراعی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در جدول ۳ آورده شده است. نتایج تجزیه نشان داد که اثر سال و اثر متقابل سال با سایر تیمارها برای همه صفات مطالعه شده به غیر از اثر متقابل سال و تیمار آبیاری برای محتوای پرولین و اثر متقابل سال و گلایسین بتائین برای محتوای فنل کل معنی‌دار نبود. این نتایج بیانگر این است که این صفات تحت تأثیر شرایط آب و هوایی قرار نگرفته و واکنش تیمارهای مختلف آبیاری و سطوح مختلف گلایسین بتائین برای صفات اندازه‌گیری شده در شرایط مختلف آب و هوایی سال متفاوت نبوده است. اثرات معنی‌دار تیمار آبیاری، گلایسین بتائین و اثر متقابل آن‌ها بر روی کلیه صفات ارزیابی شده به غیر از اثر گلایسین بتائین و اثر متقابل تیمار آبیاری و گلایسین بتائین برای شاخص برداشت مشاهده شد. معنی‌دار بودن اثر متقابل نشان می‌دهد که عکس‌العمل تیمارهای مختلف آبیاری برای این صفات به سطوح مختلف فاکتور گلایسین بتائین متفاوت بوده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات زراعی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه کینوا تحت ۳ تیمار آبیاری و دو سطح گلایسین بتائین در دو سال

Table 3- Analysis of variance of agronomy, biochemical and physiological traits of quinoa plant under three levels of irrigation treatments and two levels of glycine betaine in two years

منابع S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares				
		عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد دانه Seed yield	شاخص برداشت Harvest index	پرولین Proline	فنل کل Total phenol
سال Year	1	78.88^{ns}	3.85^{ns}	0.01^{ns}	0.03^{ns}	0.006^{ns}
(سال) تکرار Rep. (Y)	4	893.77	48.59	0.54	0.02	0.02
تیمار آبیاری Irrigation treatment	2	418429.20**	26262.69**	9.29**	23.12**	11.84**
تیمار آبیاری × سال Y × I	2	186.27^{ns}	2.56^{ns}	0.16^{ns}	0.02*	0.01^{ns}
(سال) تیمار آبیاری × تکرار Rep. × I (Y)	8	607.20	68.18	0.25	0.004	0.006
گلایسین بتائین Glycine Betaine	1	156069.44**	11473.82**	3.35^{ns}	3.35**	2.06**
گلایسین بتائین × تیمار آبیاری I × GB	2	19379.32**	1832.19**	1.06^{ns}	1.87**	0.29**
گلایسین بتائین × سال Y × GB	1	372.73^{ns}	10.72^{ns}	0.15^{ns}	0.003^{ns}	0.04*
گلایسین بتائین × تیمار آبیاری × سال Y × I × GB	2	186.09^{ns}	5.05^{ns}	0.01^{ns}	0.002^{ns}	0.009^{ns}
خطا Error	12	879.88	60.01	0.73	0.02	0.007

ns: غیر معنی‌دار و * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

Ns: non-significant and * and **: significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

ادامه جدول ۳- تجزیه واریانس صفات زراعی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه کینوا تحت ۳ تیمار آبیاری و دو سطح گلایسین بتائین در دو سال

Continued table 3- Analysis of variance of agronomy, biochemical and physiological traits of quinoa plant under three levels of irrigation treatments and two levels of glycine betaine in two years

منابع S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean squares				
		فلاونوئید کل Total flavonoid	آنزیم کاتالاز Catalase	آنزیم آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	آنزیم پراکسیداز Peroxidase	آنزیم پلی فنل اکسیداز Poly phenol oxidase
سال Year	1	0.00007^{ns}	0.001^{ns}	0.0004^{ns}	0.003^{ns}	0.000004^{ns}
(سال) تکرار Rep. (Y)	4	0.01	0.004	0.001	0.02	0.004
تیمار آبیاری Irrigation treatment	2	0.54**	2.38**	5.84**	5.72**	2.81**
تیمار آبیاری × سال Y × I	2	0.0005^{ns}	0.002^{ns}	0.0002^{ns}	0.008^{ns}	0.000003^{ns}
(سال) تیمار آبیاری × تکرار Rep. × I (Y)	8	0.005	0.004	0.001	0.005	0.004
گلایسین بتائین Glycine Betaine	1	0.28**	1.25**	0.32**	6.96**	0.60**
گلایسین بتائین × تیمار آبیاری I × GB	2	0.03**	1.52**	0.60**	0.12**	0.03**
گلایسین بتائین × سال Y × GB	1	0.0001^{ns}	0.000002^{ns}	0.0001^{ns}	0.007^{ns}	0.000001^{ns}
گلایسین بتائین × تیمار آبیاری × سال Y × I × GB	2	0.00004^{ns}	0.000003^{ns}	0.0002^{ns}	0.004^{ns}	0.000005^{ns}
خطا Error	12	0.001	0.005	0.001	0.009	0.003

ns: غیر معنی‌دار و * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

Ns: non-significant and * and **: significant at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

محتوای پرولین

محتوای پرولین تحت هر دو تنش آبی (آبیاری تا شروع مرحله خمیری (تنش ملایم) و آبیاری تا شروع مرحله گل‌دهی (تنش شدید)) در هر دو سطح گلایسین بتائین (عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین) افزایش نشان داد. بیشترین مقدار آن ۷/۵۲ میکرومول بر گرم وزن تر تحت شرایط تنش آبی شدید و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین مشاهده شد. بیشترین افزایش محتوای پرولین تحت شرایط تنش آبی شدید در هر دو سطح گلایسین بتائین به دست آمد (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار آبیاری و گلایسین بتائین بر محتوای پرولین و فنل و فلاونوئید کل در گیاه کینوا

Table 4- Mean comparison of irrigation treatment and glycine betaine interaction on proline and total phenol and flavonoid contents in quinoa plant

تیمار آبیاری Irrigation treatments	گلایسین بتائین Glycine betaine	پرولین Proline (µmol/g FW)	فنل کل Total phenol (mg GA/g FW)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg Q/g FW)
آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل Irrigation to the full maturity stage	عدم کاربرد Non-application	4.388^{e}	4.448^{e}	0.948^{f}
	کاربرد application	4.114^{f}	5.254^{d}	1.207^{d}
آبیاری تا شروع مرحله گلدهی Irrigation to the beginning of the flowering stage	عدم کاربرد Non-application	6.469^{b}	6.550^{b}	1.467^{b}
	کاربرد application	7.524^{a}	6.998^{a}	1.533^{a}
آبیاری تا شروع مرحله خمیری irrigation to the beginning of the development stage	عدم کاربرد Non-application	4.965^{d}	5.295^{d}	1.143^{e}
	کاربرد application	5.963^{c}	5.481^{c}	1.350^{c}

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means with a same letter are not significantly different at 5% level of probability according to the LSD test.

افزایش محتوای پرولین تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا توسط سایر محققین مشابه با نتایج ما گزارش شده است (Lin and Chao Sadak *et al*., 2019; Elewa *et al*., 2017; 2021). پرولین می‌تواند تحت تنش خشکی به پروتئین‌ها متصل شود تا از پروتئین‌ها در برابر تجزیه شدن ناشی از کمبود آب محافظت کند و هم‌چنین وضعیت ساختار سلولی را تثبیت می‌کند. پرولین به سرعت تحت تنش تجمع می‌یابد و به عنوان یک ماده مهم تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان عمل می‌کند (Fang and Xiong, 2015). هم‌چنین پرولین نقش حیاتی در تثبیت و محافظت از آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و غشاها از اثرات مخرب تنش‌های خشکی- اسمزی دارد (Ashraf and Foolad, 2007). افزایش محتوای پرولین تحت تنش خشکی در سایر گیاهان نظیر فلفل (Korkmaz *et al*., 2015) و ذرت (Sahafiq *et al*., 2021) نیز مشاهده شده است.

در مطالعه حاضر، محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین سبب افزایش محتوای پرولین در شرایط آبیاری تنش ملایم و شدید شد. محتوای پرولین به میزان ۱۶/۷۳ و ۱۴/۰۲ درصد به ترتیب تحت شرایط تنش آبی ملایم و شدید با محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین در مقایسه با عدم محلول‌پاشی افزایش نشان داد (جدول ۴).

گلایسین بتائین یکی از محلول‌های سازگاری است که نه تنها به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی عمل می‌کند، هم‌چنین ساختارها و فعالیت‌های آنزیم‌ها و کمپلکس‌های پروتئینی را تثبیت می‌کند و یکپارچگی و پایداری غشاها را بر علیه اثرات مخرب تنش خشکی در گیاهان حفظ می‌کند (Sakamoto and Murata, 2002).

افزایش پرولین با کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشدی مختلف توسط سایر محققین مشابه با نتایج ما مشاهده شده

اســـت. در مطالعه‌ای تجمع محتوای پرولین با محلول‌پاشـــی اســـمولیت پرولین در گیاه کینوا تحت هر دو شـــرایط تنش و غیرتنش کمبود آب مشـاهده شـد (Elewa *et al.*, 2017). در مطالعـه دیگری نیز در گیـاه فلفـل افزایش محتوای پرولین بـا محلول‌پاشی گلایسین بتائین به دست آمد (Korkmaz *et al.*, 2015). این افزایش ممکن اسـت به نقش محافظتی گلایســین بتائین بر روی برخی از آنزیم‌های کلیدی نسـبت داده شـود که نقش فعالی در بیوسنتز قندهای محلول و پرولین آزاد دارند.

افزایش محتوای پرولین با محلول‌پاشی گلایسین بتائین در گیاهان مختلف نشـان‌دهنده نقش مثبت این ترکیب در افزایش تحمل به تنش خشـــکی از طریق تنظیم مکانیزم‌های درگیر در رشـد و تولید عملکرد تحت شـرایط تنش اسـت (Shehzadi *et al.*, 2019).

محتوای فنل و فلاونوئید کل

محتوای فنل و فلاونوئید کل تحت هر دو تنش آبی (آبیاری تا شـروع مرحله خمیری (تنش ملایم) و آبیاری تا شـروع مرحله گل‌دهی (تنش شـدید)) در هر دو سـطح گلایسـین بتائین (عدم محلول‌پاشـی و محلول‌پاشـی با گلایسـین بتائین) افزایش نشـان دادند. بیشـــترین مقادیر آن‌ها به ترتیب، ۷/۰۰ میلی‌گرم گالیک اسـید در گرم وزن تر و ۱/۵۳ میلی‌گرم کوئرسـتین در گرم وزن تر تحت شـرایط تنش آبی شـدید و محلول‌پاشـی با گلایسـین بتائین مشاهده شد. بیشترین افزایش این ترکیبات تحت شرایط تنش آبی شـدید در هر دو سـطح گلایسـین بتائین به دسـت آمد (جدول ۴).

ســـیســـتم دفاعی آنتی‌اکســـیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی (فنلیک‌ها، کاروتنوئیدها، آسکوربیک اسید و توکوفرول‌ها) منجر به حفظ سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو می‌شود (Akram *et al.*, 2017). مشابه با نتایج ما افزایش محتوای فنلیک‌ها در گیاه کینوا تحت شرایط تنش خشـکی مشاهده شـده اسـت (Elewa *et al.*, 2017). افزایش در محتوای فنلیک‌ها در پاسـخ به تنش خشـکی در گیاه کینوا ممکن اسـت به این دلیل باشـد که این متابولیت‌ها در مهار گونه‌های فعال اکســـیژن عمدتا از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکســـیداتیو نقش دارند. در مطالعه دیگری نیز تنش خشکی منجر به افزایش محتوای فنلیک کل در گیاه کینوا گردیـد (Aziz *et al.*, 2018). افزایش محتوای فنلیـک‌هـا و فلاونوئید تحت شـرایط تنش خشـکی در سـایر گیاهان مانند گز روغنی (Abd Elhamid *et al.*, 2021) و ذرت (Shafiq *et al.*, 2021) نیز گزارش شده است.

در مطالعه حاضـر، محلول‌پاشـی گیاهان با گلایسـین بتائین سـبب افزایش محتوای فنل و فلاونوئید کل در هر سـه شـرایط آبیاری شد. محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین سبب تجمع محتوای فنـل کـل بـه میزان ۱۵/۳۴، ۳/۳۹ و ۶/۴۰ درصـــد و محتوای فلاونوئید کل به میزان ۲۱/۴۶، ۱۵/۳۶ و ۴/۳۱ درصـد به ترتیب در شـرایط کنترل، تنش آبی ملایم و تنش آبی شـدید در مقایسه با عدم محلول‌پاشی گردید (جدول ۴).

افزایش متابولیت‌های ثانویه مانند فنل و فلاونوئید کل با کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشـدی مختلف توسـط سـایر محققین مطابق با نتایج ما گزارش شـــده اســـت. در مطالعه‌ای تجمع محتوای فنلیک‌ها با محلول‌پاشـــی اســـمولیت پرولین در گیـاه کینوا تحـت هر دو شـــرایط تنش و غیرتنش کمبود آب مشاهده شد (Elewa *et al.*, 2017). در مطالعه دیگری افزایش معنی‌دار فنلیک‌ها و فلاونوئیدها تحت کاربرد خارجی گلایســین بتائین در غلظت‌های مختلف در گیاه گز روغنی گزارش شـــده اســـت (Abd Elhamid *et al.*, 20121). افزایش فنلیک‌ها در گیـاه ذرت تحـت شـــرایط تنش و غیرتنش کمبود آب بـا محلول‌پاشـی گیاهان با گلایسـن بتائین نیز مشـاهده شـده است (Shafiq *et al.*, 2021).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تنش آبی ملایم (آبیاری تا شـروع مرحله خمیری) و شـدید (آبیـاری تـا شـــروع مرحلـه گـل‌دهی) ســـبـب افزایش فعـالیـت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پلی فنل اکسـیداز در هر دو سـطح گلایسـین بتائین به غیر از فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح عدم محلول‌پاشی گلایسین بتائین شد. بیشترین فعالیت هر چهار آنزیم به ترتیب به میزان ۲/۴۰۷، ۲/۴۵۳، ۳/۶۳۱ و ۱/۸۹۹ تحت شـــرایط تنش آبی شـــدید و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین ثبت شد (جدول ۵).

تنش منجر به تولید گونه‌های فعال اکســـیژن در گیاهان می‌شـود. بنابراین گیاهان مکانیزم دفاعی را برای کاهش آسـیب گونه‌های فعال اکسیژن به سلول و تثبیت ساختار سلولی توسعه داده‌اند. مکانیزم دفاعی شـــامل آنزیم‌های آنتی‌اکســـیدان مانند

سوپر اکساید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز می‌باشد (Chao and Hsueh, 2019). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همراه با مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی از غشاهای سلولی و اندامک‌ها در برابر اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند و به حفظ یکپارچگی و پایداری آن‌ها در شرایط تنش خشکی کمک می‌کنند (Arora *et al.* 2002).

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا مطابق با نتایج ما گزارش شده است. در مطالعه‌ای افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکساید دیسموتاز و پراکسیداز تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا گزارش شد (Aziz *et al.*, 2017). در مطالعه دیگری نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکساید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تحت شرایط تنش کمبود آب در گیاه کینوا مشاهده شد (Lin and Chao, 2021). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش خشکی در گیاه ذرت نیز مشاهده شده است (Shafiq *et al.*. 2021).

در مطالعه حاضر محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین منجر به افزایش فعالیت هر چهار آنزیم آنتی‌اکسیدان در هر سه شرایط آبیاری به غیر از فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط عدم تنش آبی (کنترل) شد (جدول ۵). مطابق با نتایج ما افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکساید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز به وسیله گلایسین بتائین در گیاه کینوا مشاهده شده است (Maqsood *et al.*, 2021). در سایر گیاهان نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با کاربرد خارجی گلایسین بتائین مانند برنج (Farooq *et al.*, 2010)، فلفل (Korkmaz *et al.* 2015) و یولاف (Shehzadi *et al.*, 2019) گزارش شده است.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار آبیاری و گلایسین بتائین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کینوا

Table 5- Mean comparison of irrigation treatment and glycine betaine interaction on antioxidant enzymes activity in quinoa plant

تیمار آبیاری Irrigation treatments	گلایسین بتائین Glycine betaine	کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	پلی فنل اکسیداز Poly phenol oxidase
		unit/mg protein			
آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل Irrigation to the full maturity stage	عدم کاربرد Non-application	1.349^{d}	1.112^{e}	1.497^{f}	0.723^{f}
	کاربرد application	1.177^{e}	0.930^{f}	2.213^{d}	1.065^{d}
آبیاری تا شروع مرحله گلدهی Irrigation to the beginning of the flowering stage	عدم کاربرد Non-application	1.229^{e}	2.378^{b}	2.821^{c}	1.748^{b}
	کاربرد application	2.407^{a}	2.453^{a}	3.631^{a}	1.899^{a}
آبیاری تا شروع مرحله خمیری irrigation to the beginning of the development stage	عدم کاربرد Non-application	2.088^{c}	1.269^{d}	1.843^{e}	0.985^{e}
	کاربرد application	2.197^{b}	1.951^{c}	2.955^{b}	1.265^{c}

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means with a same letter are not significantly different at 5% level of probability according to the LSD test.

عملکرد بیولوژیک و دانه

تنش آبی ملایم (آبیاری تا شروع مرحله خمیری) و شدید (آبیاری تا شروع مرحله گل‌دهی) در هر دو سطح تیمار گلایسین بتائین منجر به کاهش عملکرد بیولوژیک و دانه شد. بیشترین عملکرد بیولوژیک و دانه به ترتیب به میزان ۱۱۲۲/۰۶ و ۲۵۹/۹۰ گرم در متر مربع در شرایط عدم تنش آبی (کنترل) و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین مشاهده شد. کمترین آن‌ها به ترتیب ۶۴۸/۱۵ و ۱۳۲/۸۲ گرم در متر مربع در شرایط تنش آبی شدید و عدم محلول‌پاشی با گلایسین بتائین به دست آمد. میزان کاهش عملکرد دانه تحت شرایط تنش آبی ملایم در

سطح عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین به ترتیب ۱۶/۸۵ و ۲۰/۰۴ درصد بود. تنش آبی شدید عملکرد دانه را به میزان ۳۴/۱۹ و ۴۵/۳۷ درصد به ترتیب در سطح عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با گلایسین بتائین کاهش داد (جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار آبیاری و گلایسین بتائین بر عملکرد بیولوژیک و دانه در گیاه کینوا

Table 6- Mean comparison of irrigation treatment and glycine betaine interaction on biological and seed yield in quinoa plant

تیمار آبیاری Irrigation treatments	گلایسین بتائین Glycine betaine	عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد دانه Seed yield
		g/m²	
آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل Irrigation to the full maturity stage	عدم کاربرد Non-application	944.5[c]	201.9[b]
	کاربرد application	1122.1[a]	259.9[a]
آبیاری تا شروع مرحله گلدهی Irrigation to the beginning of the flowering stage	عدم کاربرد Non-application	648.2[f]	132.8[d]
	کاربرد application	687.0[e]	142.0[d]
آبیاری تا شروع مرحله خمیری irrigation to the beginning of the development stage	عدم کاربرد Non-application	867.7[d]	167.9[c]
	کاربرد application	1005.3[b]	207.8[b]

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means with a same letter are not significantly different at 5% level of probability according to the LSD test.

مطابق با نتایج ما کاهش پارامترهای رشدی و صفات مرتبط با عملکرد دانه تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا توسط سایر محققین نیز گزارش شده است. در مطالعه‌ای کاهش عملکرد دانه تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا مشاهده شد (Fischer *et al.*, 2013). در مطالعه دیگری نیز کاهش ارتفاع، قطر ساقه، وزن هزار دانه، تعداد دانه در گیاه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه در گیاه کینوا گزارش شد (Mohammadi *et al.*, 2021). تأثیر منفی تنش خشکی بر روی پارامترهای رشدی و عملکرد دانه در سایر گیاهان مانند آفتابگردان (Iqball *et al.*, 2008) و گز روغنی (Abd Elhamid *et al.*, 2021) نیز گزارش شده است.

یکی از واکنش‌های گیاهان به تنش خشکی بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد که در نتیجه آن جذب دی اکسید کربن کاهش پیدا کرده و در نهایت منجر به کاهش فتوسنتز می‌گردد (Mohammadi *et al.*, 2021). تنش خشکی سرعت فتوسنتز و تجمع ماده خشک را کاهش می‌دهد و تعادل متابولیسم کربوهیدرات را مختل می‌کند که منجر به کاهش تعداد سنبله گردیده و بر پر شدن دانه تأثیر می‌گذارد و در نتیجه عملکرد کاهش می‌یابد (Alqudah *et al.*, 2011). هم‌چنین تنش خشکی باعث عقیم‌سازی دانه‌های گرده و اختلال در گرده‌افشانی، فتوسنتز و انتقال ذخایر ساقه به سنبله، کاهش تعداد دانه در سنبله و در نتیجه کاهش عملکرد دانه می‌شود (Richars *et al.*, 2001).

محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین منجر به افزایش عملکرد بیولوژیک و دانه در هر سه تیمار آبیاری شد. میزان افزایش عملکرد بیولوژیک به وسیله محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین، ۱۵/۸۲، ۱۷/۷۷ و ۵/۶۶ درصد به ترتیب در شرایط کنترل، تنش ملایم و تنش شدید آبی در مقایسه با عدم محلول‌پاشی بود. محلول‌پاشی گیاهان با گلایسین بتائین عملکرد دانه را به میزان ۲۲/۳۴، ۱۹/۲۱ و ۶/۴۵ درصد به ترتیب تحت شرایط کنترل، تنش ملایم و تنش شدید آبی نسبت به عدم محلول‌پاشی افزایش داد (جدول ۶).

مطابق با نتایج ما افزایش قابل قبول در عملکرد گیاه کینوا مشاهده شد، وقتی‌که دانه‌های آن با گلایسین بتائین تیمار

شـــدند (Maqsoud *et al.*, 2021). افزایش عملکرد دانه به وســـیله کاربرد خارجی گلایســـین بتائین در گیاه آفتابگردان (Iqball *et al.*, 2008) و ذرت (Shafiq *et al.*, 2021) نیز مشاهده شده است. گلایسین بتائین محلول‌پاشی شده بر روی گیاهان می‌تواند به راحتی توســـط برگ‌ها جذب شـــود و به اندام‌های دیگر منتقل شود، جایی که می‌تواند با افزایش توانایی سلول‌های گیاهی برای تنظیم اسمزی و حفظ ثبات و یکپارچگی غشای سلولی، به بهبود تحمل به تنش کمک کند (Korkmaz *et al.*, 2015). در مطالعه دیگری نیز گزارش شـــده اســـت که تیمار خارجی گلایســـین بتائین رشـــد گیاه گز روغنی را تحت شرایط نرمال افزایش دادند و تحمل به تنش خشکی را از طریق افزایش پارامترهای رشـــدی بهبود دادند (Abd Elhamid *et al.*, 2021).

گلایســین بتائین می‌تواند اثرات زیان‌آور تنش خشــکی را از طریق افزایش پارامترهای رشـــدی، اجزای رنگیزه‌ها، محتوای محافظ‌های اســمزی و تثبیت پروتئین‌های ضــروری خنثی کند (Liaqat *et al.*, 2020). هم‌چنین گزارش شده است که بهبود عملکرد دانه به وسیله محلول‌پاشی با گلایسین بتائین مربوط به تجمع اسمولیت‌ها و اسیدهای آمینه ضروری و افزایش سیستم دفاعی آنزیمی می‌باشـــد (Shafiq *et al.*, 2021). در مطالعه حاضـر نیز به نظر می‌رسـد که گلایسـین بتائین از طریق بهبود عملکرد بیولوژیک و ســیســـتم دفاعی آنتی‌اکســیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی (تجمع پرولین و فنل و فلاونوئید کل) ســبب افزایش عملکرد دانه در هر دو شرایط تنش و غیرتنش شده است.

شاخص برداشت

اثر گلایســین بتائین و اثر متقابل تیمار آبیاری و گلایســین بتائین بر روی شـاخص برداشـت معنی‌دار نبود. اثر تیمار آبیاری بر روی این صفت معنی‌دار بود که مقایسه میانگین آن در جدول ۷ آورده شـده اسـت. تنش آبی ملایم و شـدید سـبب کاهش این صفت شـد. بیشـترین شـاخص سـطح برداشـت در شـرایط کنترل (۲۲/۲۹ درصـــد) ثبت گردید. طبق نتایج ما کاهش شـــاخص برداشت تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا مشاهده شده است (Mohammadi *et al.*, 2021).

جدول ۷- مقایسه میانگین شاخص برداشت گیاه کینوا در تیمارهای مختلف آبیاری

Table 7- Mean comparison for harvest index of quinoa plant in different irrigation treatments

تیمار آبیاری Irrigation treatments	شاخص برداشت Harvest index %
آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل Irrigation to the full maturity stage	22.29[a]
آبیاری تا شروع مرحله گلدهی Irrigation to the beginning of the flowering stage	21.56[b]
آبیاری تا شروع مرحله خمیری irrigation to the beginning of the development stage	20.54[c]

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means with a same letter are not significantly different at 5% level of probability according to the LSD test.

نتیجه‌گیری کلی

عملکرد بیولوژیک و دانه تحت هر دو شرایط تنش آبی در هر دو سطح تیمار گلایسین بتائین کاهش و محتوای پرولین و فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش داشتند که نشان‌دهنده اثرات مخرب این تنش بر روی پارامترهای رشدی و عملکرد بود. افزایش تجمع متابولیت‌ها (پرولین و فنل و فلاونوئید کل) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز) در شرایط تنش به ترتیب نشان‌دهنده پاسخ‌های دفاعی غیرآنزیمی و آنزیمی به تنش اکسیداتیو است. کاربرد گلایسین بتائین در هر سه شرایط آبیاری (کنترل و تنش ملایم و شدید آبی) منجر به بهبود عملکرد بیولوژیک و دانه و صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شد. بنابراین گلایسین بتائین سبب جبران اثرات نامطلوب تنش آبی بر روی رشد و تولید عملکرد از طریق سیستم دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی شده است. از این رو، کاربرد خارجی گلایسین بتائین می‌تواند برای افزایش تحمل به تنش آبی در گیاه کینوا استفاده شود.

References

Abd Elhamid, E.M., Sadak, M. Sh, Ezzo, M.I. and Abdalla, A.M., 2021. Impact of glycine betaine on drought tolerance of *maringa oleifera* plant grown under sandy soil. *Asian Journal of Plant Sciences, 20*, pp.578-589. **doi: 10.3923/ajps.2021.578.589**

Akram, N.A., Shafiq, F. and Ashraf, M., 2017. Ascorbic acid a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science, 8*, 613. **doi: 10.3389/fpls2017.00613**

Alqudah, A.M., Samarah, N.H. and Mullen, R.E., 2011. Drought stress effect on crop pollination, seed yield and quality. In *Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation;* Lichtfouse, E., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp.193-213. **doi.10.1007/978_94_007_0186_1_6**

Ardestani, A. and Yazdanparast, R., 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry, 104*, pp.21-29. **doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.066**

Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and antioxidative systems in plants. *Current Science, 82*, pp.1227-1238. **doi: 10.016/j.envexpbot.2005.12.006**

Ashraf, M. and Foolad, M.A., 2007. Improving plant abiotic stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine betaine and proline. *Environmental and Experimental Botany, 59*, pp.206-216. **doi: 1016/j.envexphot.2005.12.006**

Aziz, A., Akram, N.A. and Ashraf, M., 2018. Influence of natural and synthetic vitamin C (ascorbic acid) on primary and secondary metabolites and associated metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) plants under water deficit regimes. *Plant Physiology and Biochemistry, 123*, pp.192-203. **doi: 10.1016/j.plaphy.2017.12.004**

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil, 39*, pp.205-207. **doi: 10.1007/bf00018060**

Beebs, S., Ramirez, J. Javis, A., Rao, I.M., Mosquera, G. and Bueno, J.M., 2011. Genetic improvement of common beans and the challenges of climate change. *Crop Adaptation to Climate Change, 10*, pp.356-369. **doi: 10.1002/9780470960929.ch25**

Beers, G.R. and sizer, I.W., 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Biological Chemistry*, 195, pp.133-140. doi.org/10.1016/s0021_9258(19)50881_x

Chao, Y.Y. and Hsueh, I.E., 2019. Insights into physiological mechanisms of salt stress tolerance in djulis (*Chenopodium formosanum* koidz) sprouts. *Journal of Plant Physiology, 62*, pp.263-273. **doi: 10.1007/s/2374-019-0053-y**

Elewa, T.A., Sadak, M.Sh. and Saad, A.M., 2017. Proline treatment improves physiological responses in quinoa plants under drought stress. *Bioscience Research, 14*, pp.21-33**. doi: 10.1080/00103624.2046036**

Fahad, S., Bajwa, A.A., Nazir, U., Amjum, S.A., Farooq, A., Zohaib, A. et al., 2017. Crop production under drought and heat stress: Plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science, 8*, pp.40-50 **doi: 103389/fpls.2017.01147**

Fang, Y. and Xiong, L., 2015. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance

improvement in plants. *Cell Mol. Life Science, 72*, pp.673-689. **doi: 10.1007/s00018-014-1767-0**

Farooq, M., Wahid, A., Lee, D.J., Cheema, S.A. and Aziz, T., 2010. Drought stress comparative time course action of the foliar applied glycine betaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice. *Journal of Agronomy Crop and Science, 196*, pp.336-345. **doi: 10.1111/j.1439-037x.2010. 00422.x**

Fielding, J.L. and Hall. J., 1978. A biochemical and cytochemical Study of peroxidase activity in root pea. *Journal of Experimental Botany, 29*, pp.978-989. **doi: 10.1093/jxb/29.4.983**

Fischer, S., Wilckens, R., Jara, J. and Aranda, M., 2013. Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Will) subjected to drought stress. *Industrial Crops and Products*, *46*, pp.341-349. **doi: 10.1016/j.indcrop.2013.01/037**

Ghosh, U.K., Islam, M.N., Siddiqui, M.N. and Khan, Md. A. R.,. 2021. Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: a review of potential mechanism. *Plant Signaling and Behavior*, e1*913306*, pp.1-15. **doi: 10.1080/15592324.2021.1913306**

Gorinstein, S. and Lojek, A., 2008. Comparison of composition and antioxidant capacity of some cereals and pseudocereals. *International Journal of Food Science and Technology, 43*, pp.629-637. **doi: 10.1111/j.1365-2621.2007.01498.x**

Hirose, Y., Fujita, T., Ishii, T. and Ueno, N., 2010. Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. *Food Chemistry*, *119*, pp.1300-1306. **doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.008**

Iqbal, N., Ashraf, M. and Ashraf, M.Y., 2008. Glycinebetaine, an osmolyte of interest to improve water stress tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.): water relations and yield. *South African Journal of Botany, 74*, pp.274-281**. doi: 10.1016/j.sajb.2007.11.016**

Janovitz-Klapp, A.H., Richard, F.C., Goupy, P.M. and Nicolas, J.J., 1990. Inhibition studies on apple polyphenol oxadase. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, *38*, pp.926–931. **doi: 10.1021/jf00094a002**

Korkmaz, A., Deger, O. and Kocacinar, F., 2015. Alleviation of water stress effects on pepper seedlings by foliar application of glycinebetaine. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural*, *43*, pp.18-31. **doi: 10.1080/0114067.2014.936945**

Liaqat, S., Masroor, A., Ghafoor, F., Magqsood, Z., Tasleem, W. and Ghafoor, A., 2020. Effect of glycine betaine as a growth promoter and stress mitigator in *Brassica oleracea* Var. Italica. *Journal La Lifescience, 1*, pp.31-35. **doi: 10.37899/j0urnallalifesci.v1i4.206**

Lin, M., Han, P., Li, Y., Wang, W., Lai, D. and Zhou, L., 2019. Quinoa secondary metabolites and their biological activities or functions: A review. *Molecules, 24*, pp.22512. **doi: 10.3390/molecules24132512**

Lin, P.H. and Chao, Y.Y., 2021. Different drought-tolerant mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) and djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.) based on physiological analysis. *Plants*, *10*, pp.2279. **doi: 10.3390/plants10112279**

Mahmood, K.T., Mugal, T. and Haq, I.U., 2010. *Moringa oliefera.* A natural gift-A review. *Journal of*

Pharmaceutical Sciences and Research, 2, pp.775-781. **doi: 10.25081/rip. 2014.v14.8807**

Maqsood, M.F., Shahbaz, M., Arfan, M. and Basra, S.M.A., 2021. Presowing seed treatment with glycine betaine confers NaCl tolerance in quinoa by modulating some physiological processes and antioxidant machinery. *Turkish Journal of Botany, 45*, pp.1-14. **doi: 10.3906/bot-2009-13**

Matiacevich, S., Castellion, M., Maldonado, S. and Buera, P., 2006. Water-dependent thermal transitions in quinoa embryos. *Thermochimica Acta, 448*, pp.117-122. **doi: 10.1016/j.tca.2006.06.016**

Mohammadi, F., Maleki, A. and Fathi, A., 2021. Effects of drought stress and humic acid on plant growth, yield quality and its components of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild). *Journal of Crop Nutrition, 7*, pp.11-23. **doi: 10.22059/jci.2021.312419.2469**

Praba, M.L., Cairns, J.E., Babu, R.C. and Laffite, H.R., 2009. Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science, 195*, pp.30-46. **doi: 10.1111/j.1439-037x.2008.00341.x**

Quan, R., Shang, M., Zhang, H., Zhao, Y. and Zhang, J., 2004. Engineering of enhanced glycine betaine synthesis improves drought tolerance in maize. *Plant Biotechnology, 2*, pp.477-486. **doi: 10.1111/j.1467-7652.2004. 00093.x**

Quiroga, G., Erice, G., Aroca, R., Zamarreno, A.M., Garcia-Mina, J.M. and Ruiz-Lozano, A., 2020. Radical water transport in arbuscular mycorrhizal maize plants under drought stress conditions is affected by indol-acetic acid (IAA) application. *Journal of Plant Physiology, 1*, pp.246-247. **doi: 1016/j.jplph.2020.153115**

Rajput, V.D., Harish, H., Singh, R.K., Verma, K.K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F.R., et al., 2021.Recent developments in enzymatic antioxidant defense mechanism in plants with special reference to abiotic stress: A review. *Biology, 10*, 267. **doi: 10.3390/bilogy10040267**

Raza, S.H., Athar, H.R., Ashraf, M. and Hameed, A., 2007. Glycine betaine- induced modulation of antioxidant enzymes activities and ion accumulation in two wheat cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany, 60*, pp.368-376. **doi: 10.1016/j.envexpbot.2006.12.009**

Richards, R.A., Condon, A.G. and Rebetzke, G.J., 2001. Traits to improve yield in dry environments. *Application of Physiology in Wheat Breeding* (CYMMYT.). *240* pp. **doi: 10.3389/fpls.2021.684205**

Sadak, M.S., El-Bassiouny, H.M.S. and Dwood, M.G., 2019. Role of trehalose on antioxidant defense system and some osmolytes of quinoa plants under water deficit. *Bulletin of the National Research Centre, 43*, pp.5-10. **doi: 10.1186/s42269-018-0039-9**

Sakamoto, A. and Murata, M., 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant, Cell and Environment, 25*, pp.163-171.**doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.007**

Schneider, C., 2005. Chemistry and biology of vitamin E. *Molecular Nutrition and Food Research, 49*, pp.7-30. doi: 10.1002/mnfr.200400049

Shafiq, S., Akram, N.A., Ashraf, M., Garcia-Caparros, P., Ali, O.M. and Latef, A.A.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. **doi: 10.3390/plants10112540**

Shehzadi, A., Akram, N.A., Ali, A. and Ashraf, M., 2019. Exogenously applied glycine betaine induced alteration in some key physio-biochemical attributes and plant anatomical features in water stressed oat (*Avena sativa* L.) plants. *Journal of Arid Land*, *11*, pp.292-305. **doi: 10.1007/s40333-019-0007-8**

Yoshimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S., 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, *123*, pp.223-233. **doi: 10.1104/pp.123.1.223**

Zhang, D.Y., Yao, X.H., Duan, M.H., Wei, F.Y., Wu, G.H. and Li, L., 2015. Variation of essential oil content and antioxidant activity of Lonicera species in different sites of China. *Industrial Crops and Products*, *77*, pp.772-779. **doi: 10.1016/j.indcrop.2015.09.048**

Zeinab, Q., Tanees, C.M., Xiongming, D.U. Lori, H. and Tehseen, M.A., 2021. Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in *Gossipum Hirsutum* L. in response to extreme abiotic conditions. *Journal of Cotton Research*, *4*, pp.1-9. **doi: 10.1186/s42397-021-00086-4**

Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 6, Issue 3, Autumn 2024, P. 139-155

The effect of foliar application of glycine betaine on biochemical, physiological, and agronomic traits of quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Wild.) under different irrigation regimes

Seyyed Fatemeh Mousavi Sardou[1*]

[1] Payame Noor University, Tehran, Iran
[*]Corresponding Author: mfateme604@pnu.ac.ir

Received: 3 June 2024 Accepted: 5 July 2024 **DOI: 10.22034/CSRAR.2024.457698.1417**

Abstract

Introduction: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) is a pseudocereal that is one of the oldest crops in the Americas and a native plant in the Andes region. Compared to other grains, quinoa has more protein and a more balanced amino acid composition with 8-5% lysine and 1.5-2.4% methionine. Drought, heat, salinity, etc. are types of abiotic stresses that reduce plant growth and cause a sharp drop in crop yield due to various changes at the physiological, morphological, and molecular levels. In addition, drought stress may cause the production of reactive oxygen species in plants, which damage lipid and protein structures and cause the cell membrane to lose permeability and selectivity. Leakage of intracellular ions leads to disturbance in metabolism, chloroplast decomposition, and reduction of chlorophyll content.

Glycine betaine not only acts as an osmotic regulator but also stabilizes the structure and activity of enzymes and protein complexes and maintains the integrity of membranes against the damaging effects of drought. Glycine betaine treatment increases the growth, survival, and tolerance of plants to different stress conditions by regulating different metabolic processes, improving the rate of absorption of pure CO2, maintaining proteins, enzymes, and lipids of the photosynthetic apparatus, and maintaining the flow of electrons through thylakoid membranes.

This research was conducted to investigate the effect of glycine betaine foliar application on agronomic, biochemical, and physiological traits of quinoa under water stress conditions.

Materials and Methods: The experiment of split plots based on randomized complete blocks design with three replications was performed at the station of Research in the 2020-2021 and 2021-2022 crop years, Agriculture and Natural Resources Center in Kerman province of Iran. The main factor included three levels of irrigation treatment (irrigation to the full maturity stage (control), irrigation to the beginning of the flowering stage, and irrigation to the beginning of the development stage) and the secondary factor included two levels of glycine betaine (0 and 3 mM). Biological and seed yields and harvest index, biochemical traits including proline and total phenol and flavonoid contents, and physiological traits including the activity of antioxidant enzymes such as catalase, ascorbate peroxidase, peroxidase, and polyphenol oxidase were measured. Variance analysis of all traits and LSD mean comparison test at five percent level was conducted with SAS software version 9.2.

Results and Discussion: The effect of irrigation factor and glycine betaine and their interaction effect on the most measured traits were significant. The highest biological and seed yields were observed in control condition and the application of glycine betaine. The lowest of them were in plants grown under irrigation condition to the beginning of the flowering stage and non-application of glycine betaine. Water stress was increased the content of proline and total phenol and flavonoid and the activity of antioxidant enzymes in both level of glycine betaine. The foliar application of glycine betaine caused an increase in the biological and seed yields and biochemical and physiological traits at all three irrigation conditions.

Conclusion: Under water stress conditions at both glycine betaine levels, the biological and seed yields decreased while the biochemical and physiological traits increased. These results show that the quinoa plant responds to water stress with enzymatic and non-enzymatic defense systems. The application of glycine betaine led to the improvement of biological and seed yields and biochemical

and physiological traits in all three irrigation treatments. So, glycine betaine can be used to compensate for the harmful effects of water stress in quinoa.

Keywords: Antioxidant enzymes, Interaction effect, Proline, Seed yield, Water stress