علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دهم/ شماره سوم/ ۱۴۰۲ (۹۳ - ۸۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2023.7676

تاثیر پرایمینگ بذر کینوا رقم گیزا ۱ (*Chenopodium quinoa* L. var. Giza 1) با اسید آسکوربیک در افزایش تحمل به شوری

منیژه جهان‌تیغی[۱]، پرتو روشندل[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۸

چکیده

برای ارزیابی تاثیر پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک بر افزایش تحمل به شوری گیاه کینوا رقم گیزا ۱ در طول دوره رشد رویشی، تحقیق حاضر در قالب آزمایش فاکتوریل (اسید آسکوربیک در سه سطح صفر، ۲۰ و ۶۰ میلی‌مولار و NaCl در دو سطح صفر و ۴۰۰ میلی‌مولار) و بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. صفات اندازه گیری‌شده در این آزمایش شامل وزن‌تر و خشک، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و مالون دی آلدئید (MDA) و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بود. آنالیز داده‌ها نشان داد تیمار NaCl (۴۰۰ میلی‌مولار) باعث کاهش معنی‌دار وزن‌خشک (۵۱/۴ درصد) و وزن‌تر (۵۶/۶ درصد)، غلظت کلروفیل کل (۵۵/۸ درصد) شد. علاوه براین، شوری باعث افزایش محتوای MDA (۲/۳ برابر)، H_2O_2 (۲/۵ برابر) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) شد. با این‌وجود، پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک در بهترین غلظت (۲۰ میلی‌مولار)، با افزایش وزن‌تر (۴۴/۷ درصد)، وزن‌خشک (۵۱/۴ درصد) و حفاظت از انسجام غشاهای سلولی و فعالیت فتوسنتزی، تاثیر نامطلوب تنش شوری را در این رقم تخفیف داد. علاوه براین، استفاده از اسید آسکوربیک با تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش محتوای H_2O_2 از اثرات مخرب تنش اکسیداتیو در این رقم تحت تنش شوری کاست. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت پرایمینگ بذر این رقم با غلظت ۲۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک می‌تواند بر کشت موفقیت‌آمیز آن در درجات بالای شوری موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: پیش‌تیمار بذر، تنش اکسیداتیو، کینوا، ویتامین C، هالوفیت

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. manizhe_jahantighi@yahoo.com
۲- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. roshandelparto@gmail.com
*نویسنده مسئول: roshandelparto@gmail.com

مقدمه

کینوا (*Chenopodium quinoa*) به‌عنوان گونه‌ای هالوفیت – گیاهی یکساله از تیره آمارانتاسه است. دانه‌های خوراکی این گیاه حاوی مقادیر زیادی ویتامین (A، B_1، B_2، B_9، E)، مواد معدنی (کلسیم، منیزیم، آهن، مس، روی و لیتیوم) و اسیدهای آمینه ضروری (حتی بیشتر از بسیاری از غلات) است. این دانه همچنین منبع ارزشمندی از کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب ضروری برای تغذیه انسان است (González *et al*., 2015; Eisa *et al*., 2017). همچنین ژنوتیپ‌های مختلف این گونه سازگاری قابل‌توجهی با شرایط محیطی مختلف از جمله شوری، خشکی، یخبندان و خاک‌های ساحلی نشان داده اند (El-Harty *et al*., 2021). در سال‌های اخیر، به‌دلیل سازگاری و ارزش غذایی گسترده، کشت ارقام مختلف این گونه از آمریکای جنوبی به حدود ۷۰ کشور در آمریکای شمالی، اروپا، آفریقا و آسیا گسترش یافته است. در ایران، تاکنون سطح زیر کشت ارقام مختلف کینوا تا ۱۴۰ هکتار، به‌ویژه در استان های کرمان (https://www.tebna.ir/news/190347)، یزد (https://www.irna.ir/news/84937045) و قزوین (https://38346218.khabarban.com) توسعه داده شده است. واریته‌های مختلف گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) به‌عنوان گیاهان هالوفیت و متحمل به تنش شوری در نظر گرفته می‌شوند زیرا می‌توانند در سطوح مختلف شوری از میزان کم تا شوری بیش از ۴۰ درصد آب دریا مراحل نموی خود را کامل کنند (Eisa *et al*., 2017). براین‌اساس، توجه به کشت ارقام مختلف گیاه کینوا در مناطقی با اقلیم خشک یا نیمه‌خشک که کشاورزان با تنش‌هایی مانند شوری آب یا خاک مواجه هستند، می‌تواند به کشاورزی پایدار در شرایط محیطی سخت کمک کند. امروزه در اثر تغییرات آب و هوایی همچون کم‌شدن نزولات آسمانی در مناطق خشک و نیمه‌خشک، آبیاری نامناسب و شور شدن بیش از پیش زمین‌های زراعی، لازم است علاوه بر استفاده از گونه‌ها و واریته‌های هالوفیت در کشاورزی، از روش‌های ساده و مقرون به‌صرفه (مانند پرایمینگ بذر) نیز استفاده کرد تا مقاومت این گروه از گیاهان در شوری‌های بسیار بالا نیز تقویت شود. اگرچه پرایمینگ بذر یک روش شناخته شده برای جوانه‌زنی سریعتر و همچنین یکنواختی استقرار دانه رست‌ها است. با این وجود، گزارش‌ها حاکی از آن است که کاربرد این روش حتی می‌تواند از رشد دانه‌رست‌ها در شرایط تنش حمایت کند. به‌عبارت دیگر، رشد و نمو گیاه را در شرایط سخت محیطی تضمین نماید (Rasheed *et al*., 2022). به‌این ترتیب، در تحقیق حاضر، فرضیه اخیر مورد ارزیابی قرار گرفت. گفته می‌شود پرایمینگ بذر با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (مانند اسید اسکوربیک) می‌تواند نقشی حیاتی در حفاظت از گیاه در شرایط تنش‌زا ایفا نماید (Gallie, 2013). اسید اسکوربیک یکی از قوی‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان است و همچنین به‌عنوان کوآنزیم در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله تقسیم‌سلولی، تنظیم رشد، تمایز و متابولیسم گیاه در شرایط شور عمل می‌کند (Khan *et al*., 2011; Hossain *et al*., 2017). گزارش‌های مختلفی در مورد اثرات مثبت پرایمینگ بذر با اسید اسکوربیک در گیاهانی که تحت تنش‌های محیطی قرار داشته اند، ارائه شده است. به‌عنوان مثال، افزایش تحمل به خشکی درگندم نان (Farooq *et al*., 2013)، کاهش سمیت کادمیوم در ذرت (Zhang *et al*., 2019)، افزایش تحمل به شوری ناشی از NaCl در گیاهانی مانند برنج (Farooq *et al*., 2006)، گندم نان (Khan and Ashraf, 2008)، گندم دوروم (Fercha *et al*., 2011)، کدو (Rafique *et al*., 2011)، کلزا (Bybordi, 2012)، خارمریم (Ekmekçi and Karaman, 2012)، باقلا (Azooz *et al*., 2013)، جو معمولی (Agami, 2014)، فلفل دلمه‌ای (Al-Othaimen, 2015).

در تحقیق حاضر، این فرضیه مورد بررسی قرار گرفت که آیا پرایمینگ بذر با اسید اسکوربیک می‌تواند برای افزایش تحمل به شوری در گیاه کینوا رقم گیزا ۱ (*Chenopodium quinoa* L. var. Giza 1) تحت غلظت‌های بالای NaCl موثر باشد. زیرا اگرچه به‌طور طبیعی، بقای گیاهان هالوفیت نسبت به گیاهان زراعی در درجات بالاتری از شوری میسر می‌باشد ولی میزان این تحمل نیز محدود است. به‌این ترتیب اگر به‌کمک تکنیک‌های ساده و مقرون به‌صرفه (مانند پرایمینگ بذر)، درگیاهان هالوفیت تحمل به NaCl افزایش داده شود می‌توان کاشت این گروه از گیاهان را در مواجهه با درجات بالای شوری موفقیت آمیز نمود. علاوه بر این، اثرات محافظتی اسید اسکوربیک برای مدیریت تنش اکسیداتیو ناشی از شوری (از طریق حمایت از پایداری غشاء، حفظ

رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش غلظت H_2O_2 و تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی)، به‌عنوان مکانیسمی برای کاهش اثرات مضر NaCl، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه کینوا رقم گیزا ۱ (*Chenopodium quinoa* L. var. Giza 1) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (کرج) تهیه شد. ابتدا بذرها برای دو دقیقه با اتانل ۷۰ درصد استریل و پس از آن با آب دوبار تقطیر شستشو و سپس روی کاغذ صافی در دمای اتاق خشک شدند. این آزمایش در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه شهرکرد انجام شد. برای ارزیابی اثرات پرایمینگ بذر اسید آسکوربیک بر رشد گیاهان کینوا رقم گیزا ۱ تحت تنش شوری، آزمایش به‌صورت فاکتوریل (اسید آسکوربیک در سه سطح صفر، ۲۰ و ۶۰ میلی‌مولار و شوری ناشی از کلرید سدیم در دو سطح صفر و ۴۰۰ میلی‌مولار) و بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در این آزمایش ابتدا بذرها برای انجام پرایمینگ به‌مدت هشت ساعت در دمای 25 ± 1 °C و شرایط تاریکی، در غلظت‌های مورد نظر از محلول اسید آسکوربیک (شرکت سیگما، آلمان) خیسانده شدند. پس از آن بذرها (اعم از تیمار شده یا شاهد) در گلدان‌هایی با قطر ۳۲ سانتی‌مترکاشته شدند که هر کدام حاوی نیمی خاک و نیمی ماسه بود. در هر گلدان ۱۵ عدد بذر کاشته شد. از آنجایی که هدف از انجام این آزمایش بررسی نقش پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک بر افزایش مقاومت به شوری این رقم در طی رشد رویشی آن بود لذا اجرای تنش شوری بر روی دانه رست‌های ۱۰ روزه انجام گرفت و به‌مدت دو ماه در گلخانه مرکزی دانشگاه شهرکرد (۸ ساعت تاریکی، ۲۵ °C / ۱۶ ساعت روشنایی، ۳۴°C) ادامه داشت. تیمارها عبارت بودند از الف) شاهد (بدون تیمار)؛ ب) پرایمینگ بذر با ۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک؛ ج) ۴۰۰ میلی‌مولار NaCl به‌عنوان تیمار شوری (بدون پرایمینگ)؛ د) پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک (۲۰ و ۶۰ میلی‌مولار) همراه با تیمار شوری (۴۰۰ میلی‌مولار). در پایان آزمایش با برداشت گیاهان ۷۰ روزه، تغییرات مربوط به وزن‌تر و خشک، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئیدها)، غلظت H_2O_2، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و چگونگی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) در رقم گیزا ۱ تحت تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفت. به کمک ترازوی دیجیتال ۰/۰۰۰۱± وزن‌تر و خشک رقم گیزا ۱ اندازه‌گیری شد. از آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس برای خشک کردن نمونه‌ها استفاده شد. با به‌کارگیری استون ۸۰٪ به‌عنوان حلّال، غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در طول موج های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر ثبت شد (Lichtenthaler and Buschmann, 2001). براساس اندازه‌گیری محتوای MDA، شدت پراکسیداسیون لیپیدی در اندام‌های هوایی رقم گیزا ۱ مورد ارزیابی قرار گرفت (Ksouri *et al.*, 2007). با اندازه‌گیری میزان جذب کمپلکس نارنجی رنگ تیتانیوم- هیپراکسید در طول موج ۴۱۰ نانومتر، محتوای H_2O_2 در بخش‌های هوایی رقم گیزا اندازه‌گیری شد (Nag *et al.*, 2000). برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) موجود در اندام‌های هوایی رقم گیزا ۱ از روش ناروال و همکاران (Narwal *et al.*, 2009) استفاده شد.

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون LSD در سطح یک درصد انجام گرفت.

نتایج

تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای شوری و پرایمینگ (۲۰ میلی‌مولار یا ۶۰ میلی‌مولار اسید اسکوربیک) به‌طور جداگانه تأثیر معنی‌داری بر وزن‌تر و خشک، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، غلظت H_2O_2 وMDA و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در رقم گیزا ۱ در سطح ۱٪ (جدول ۱ و ۲) داشتند. همچنین اثر متقابل شوری و پرایمینگ بر این صفات در هر دو سطح (۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار) معنی‌دار بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار NaCl) وزن‌تر رقم گیزا ۱ را به‌میزان ۶۵/۶ درصد نسبت به شاهد کاهش داد ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۱، الف). استفاده از پرایمینگ اسید اسکوربیک (در هر دو سطح ۲۰ میلی‌مولار و ۶۰ میلی‌مولار) باعث افزایش قابل توجه وزن‌تر تحت تنش شوری به میزان ۴۱/۱ درصد در مقایسه با شوری تنها شد ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۱، الف). در غیاب تنش

جدول ۱- تجزیه واریانس برای برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان ۷۰ روزه رقم گیزا ۱

Table 1. Analysis of variance for some physiological and biochemical traits of 70-day-old plants of giza 1 variety

S.O.V	منبع تغییرات	درجه‌آزادی df	وزن‌تر Fresh weight	وزن‌خشک Dry weight	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids
Ascorbic acid priming	پرایمینگ اسید آسکوربیک	2	0.4673**	0.13135**	7.903**	7.74**
Salt stress	تنش شوری	1	6.802**	1.84**	7.28**	16.51**
Priming × Stress	پرایمینگ × شوری	2	0.4783**	0.0059**	0.08**	1.901**
Error	خطا	12	0.02183	0.000202	0.00281	0.0409
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)	-	1.21	1.106	1.143	5.088

**نشانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** shows significant difference at levels of 1%

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی از صفات بیوشیمیایی گیاهان ۷۰ روزه رقم گیزا ۱

Table 2. Analysis of variance for some biochemical traits of 70-day-old plants of giza 1 variety

S.O.V	منبع تغییرات	درجه‌آزادی df	سطح پراکسید هیدروژن H_2O_2 level	محتوای مالون دی آلدئید MDA content	فعالیت کاتالاز CAT activity	فعالیت آسکوربات پراکسیداز APX activity	فعالیت گایاکول پراکسیداز GPX activity
Ascorbic acid priming	پرایمینگ اسید آسکوربیک	2	5.421**	0.00071**	0.0097**	0.5113**	0.146**
Salt stress	تنش شوری	1	13.58**	0.03751**	0.01541**	2.1**	0.107**
Priming × Salt stress	پرایمینگ × شوری	2	28.62**	0.00068**	0.07703**	0.68**	0.2261**
Error	خطا	12	14.56	0.000023	0.000443	0.0014	0.00203
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)	-	17.14	3.95	1.45	0.463	2.57

** نشانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد

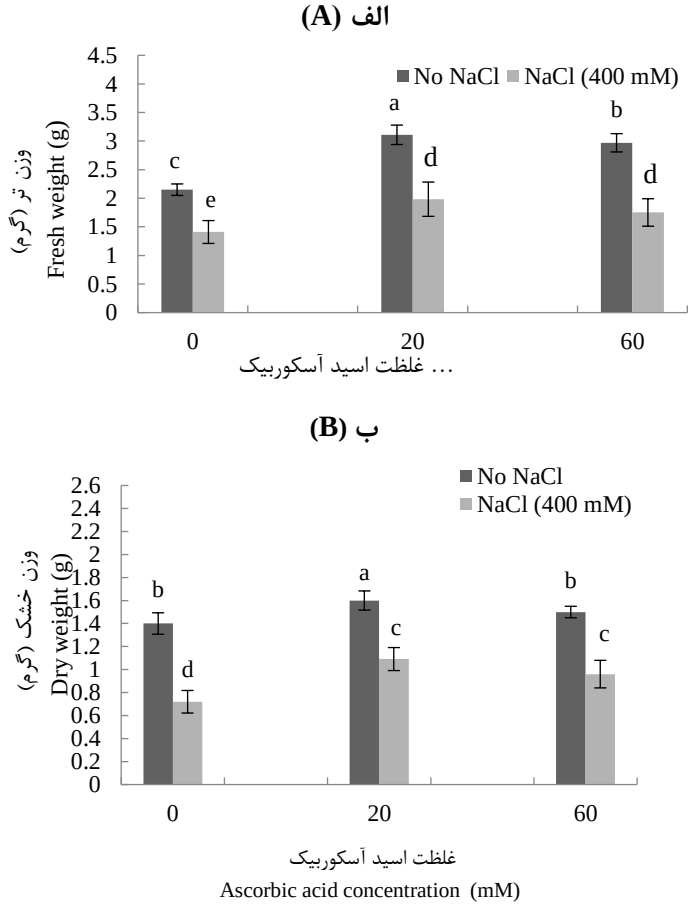
** shows significant difference at levels of 1%

شوری، پرایمینگ با اسید اسکوربیک در هر دو سطح باعث افزایش معنی‌دار وزن‌تر رقم گیزا ۱ (تا ۴۴/۷ درصد) نسبت به شاهد شد ($p <$ ۰/۰۱). دراین مورد، اثر پرایمینگ با ۲۰ میلی‌مولار به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از تاثیر اسید اسکوربیک ۶۰ میلی‌مولار بود. تحت تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار)، وزن‌خشک این گیاهان ۵۱/۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۱، ب). پرایمینگ اسید اسکوربیک در هر دو سطح ۲۰ میلی‌مولار و ۶۰ میلی مولار میزان وزن‌خشک گیاهان تحت تنش شوری را در مقایسه با شوری تنها به‌ترتیب ۵۱/۴ درصد و ۳۳/۳ درصد در تیمار اسید آسکوربیک ۲۰ و ۶۰ میلی‌مولار افزایش داد. در شرایط عادی، پرایمینگ با ۲۰ میلی‌مولار اسید اسکوربیک توانست مقدار وزن‌خشک را ۱۴/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش دهد ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۱، ب). اما در سطح ۶۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که غلظت کلروفیل کل در گیاهان تحت تنش تا ۵۵/۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۲، الف). پرایمینگ با اسید اسکوربیک باعث افزایش قابل‌توجهی در غلظت کلروفیل کل (۶۹/۸+ درصد در ۲۰ میلی‌مولار و ۴۷/۵ درصد در ۶۰ میلی مولار) در گیاهان تحت تنش رقم گیزا ۱ حاصل از دانه‌های پرایم‌شده در مقایسه با تنش شوری تنها شد. دراین مورد، اثر ۲۰ میلی‌مولار اسید اسکوربیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از ۶۰ میلی‌مولار بود ($p <$ ۰/۰۱). در غیاب تنش شوری، اسید اسکوربیک در هر دو غلظت ۲۰ میلی‌مولار و ۶۰ میلی مولار سطح این صفت را افزایش داد – به‌ترتیب - ۲۸/۵ درصد و ۱۴/۵ درصد نسبت به تنش شوری تنها. بااین وجود، اثر مثبت ۲۰ میلی‌مولار اسید اسکوربیک در مقایسه با سطح ۶۰ میلی‌مولار معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تنش شوری غلظت کاروتنوئیدها را در این گیاهان به‌میزان ۴۶/۵ درصد

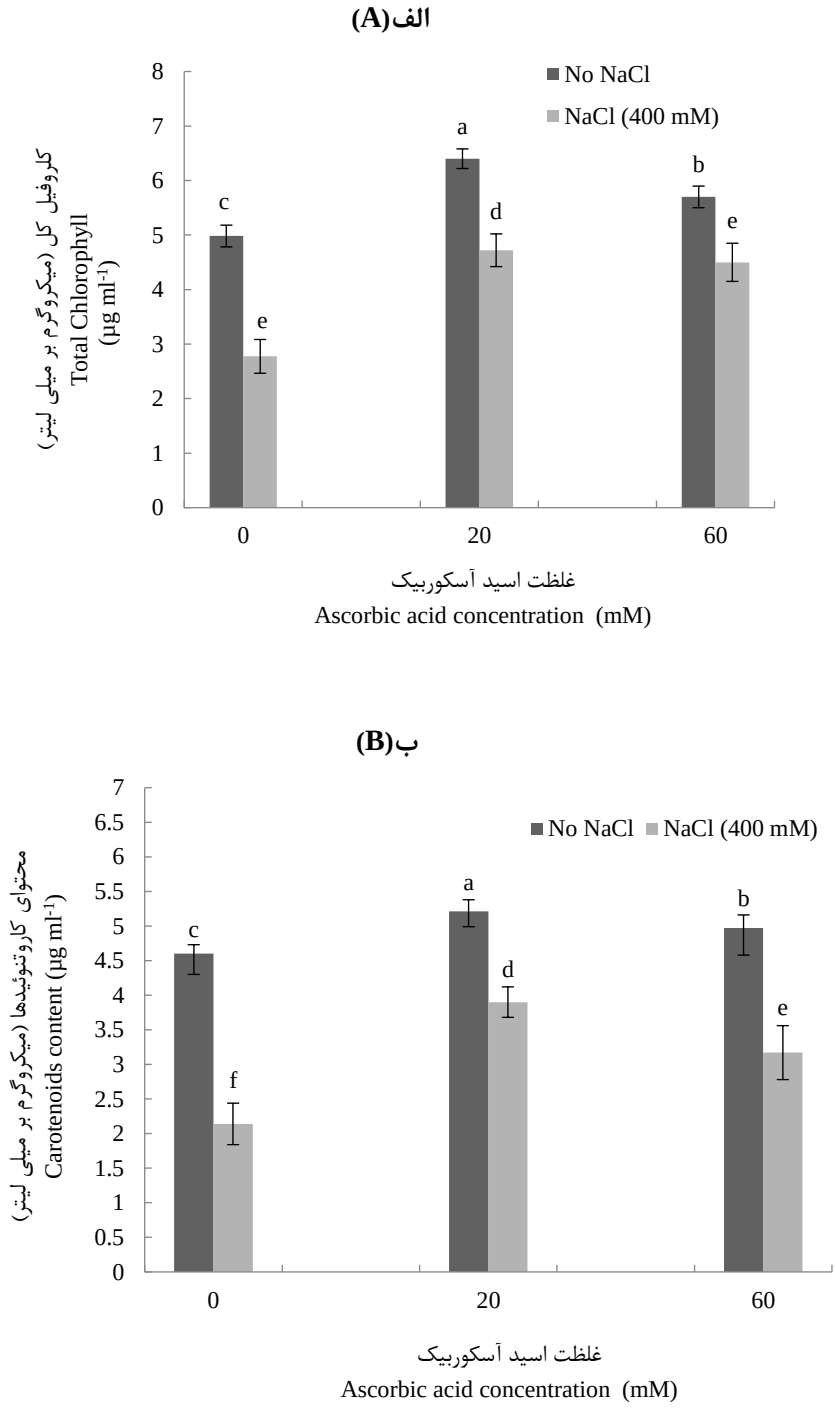
نسبت به شاهد کاهش داد ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۲، ب). پیش-تیمار بذر رقم گیزا ۱ با اسید آسکوربیک در هر دو سطح ۲۰ و ۶۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌داری در این صفت نسبت به شوری تنها شد. با این حال، این افزایش در اسید اسکوربیک ۲۰ میلی‌مولار به‌طور قابل توجهی متفاوت بود.

داده ها نشان داد که در غلظت ۴۰۰ میلی‌مولار NaCl، مقدار H_2O_2 به‌طور قابل توجهی (۲/۵ برابر) نسبت به شاهد افزایش یافت ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۳، الف). پرایمینگ اسید اسکوربیک در هر دو سطح ۲۰ میلی‌مولار و ۶۰ میلی‌مولار این صفت را به‌ترتیب ۲۷/۲ و ۱۱/۲ درصد نسبت به تیمار شوری تنها کاهش داد. در این حالت پرایمینگ در سطح ۲۰ میلی‌مولار در کاهش میزان H_2O_2 در بخش‌های هوایی تحت تنش موثرتر بود. در غیاب تنش شوری، غلظت H_2O_2 در گیاهان رشد یافته از دانه‌های پرایم شده، با گیاهان شاهد تفاوتی نداشت. اندازه‌گیری غلظت MDA (به‌عنوان نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی) نشان داد که شدت پراکسیداسیون لیپیدی در رقم گیزا ۱ تحت تنش شوری افزایش می‌یابد، به‌طوری که غلظت این ترکیب شیمیایی تا ۲/۳ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۳، الف). غلظت این ماده شیمیایی به‌طور معنی‌داری (۲۸/۷ درصد در ۲۰ میلی‌مولار و ۸/۳ درصد در اسید اسکوربیک ۶۰ میلی‌مولار) در بخش‌های هوایی رقم گیزا ۱ تحت تنش ، رشد یافته از دانه‌های پرایم شده در مقایسه با شوری تنها کاهش یافت. اثر پیش‌تیمار اسید اسکوربیک ۲۰ میلی‌مولار در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ۶۰ میلی‌مولار بود.



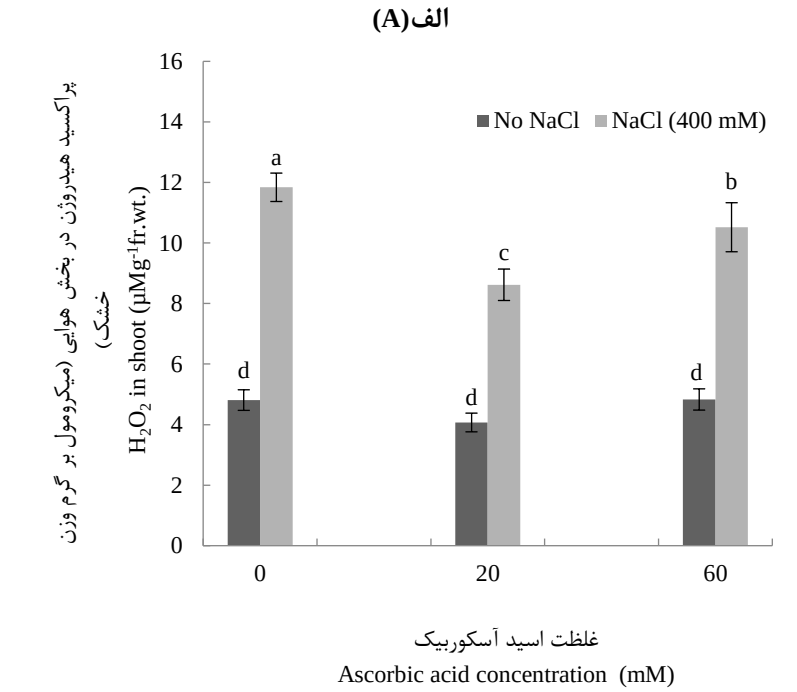
شکل ۱- تاثیر پرایمینگ بذر کینوا رقم گیزا ۱ با اسید آسکوربیک (۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار) بر الف) وزن‌تر و ب) وزن‌خشک در گیاهان ۷۰ روزه رشد یافته تحت تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار). میانگین‌های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در آزمون LSD در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. نوارهای عمودی ± خطای استاندارد را نشان می‌دهد

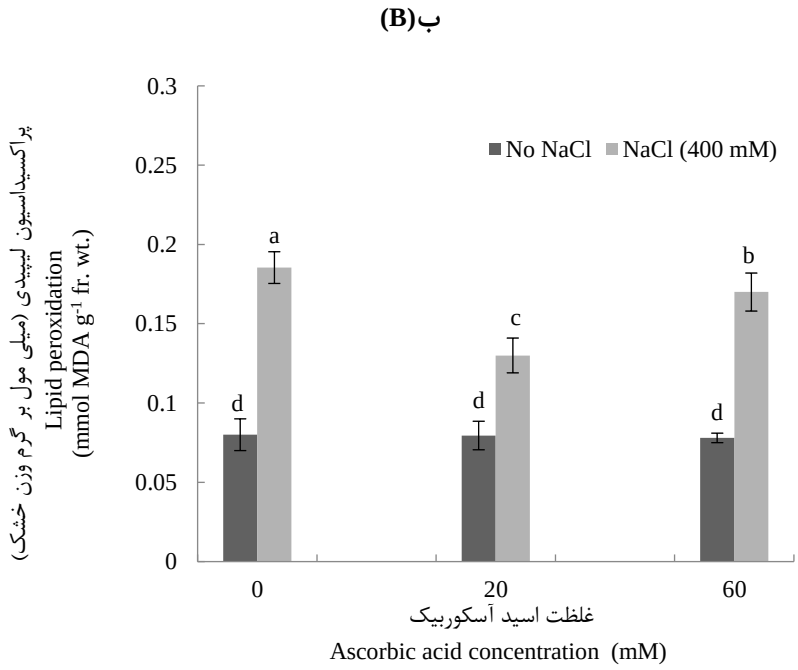
Figure 1. The effect of seed priming of giza 1 variety with ascorbic acid (20 and 60 mM) on (A) fresh weight and (B) dry weight in the 70-day-old plant grown under saline conditions (400 mM). Means (three replicates) with the same letter are not significantly different in LSD test at p<0.01. Bars indicate ±standard error



شکل ۲- تاثیر پرایمینگ بذر کینوا رقم گیزا ۱ با اسید آسکوربیک (۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار) بر الف) غلظت کلروفیل کل و ب) غلظت کاروتنوئیدها در گیاهان ۷۰ روزه رشد یافته تحت تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار). میانگین‌های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در آزمون LSD در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. نوارهای عمودی ± خطای استاندارد را نشان می‌دهد

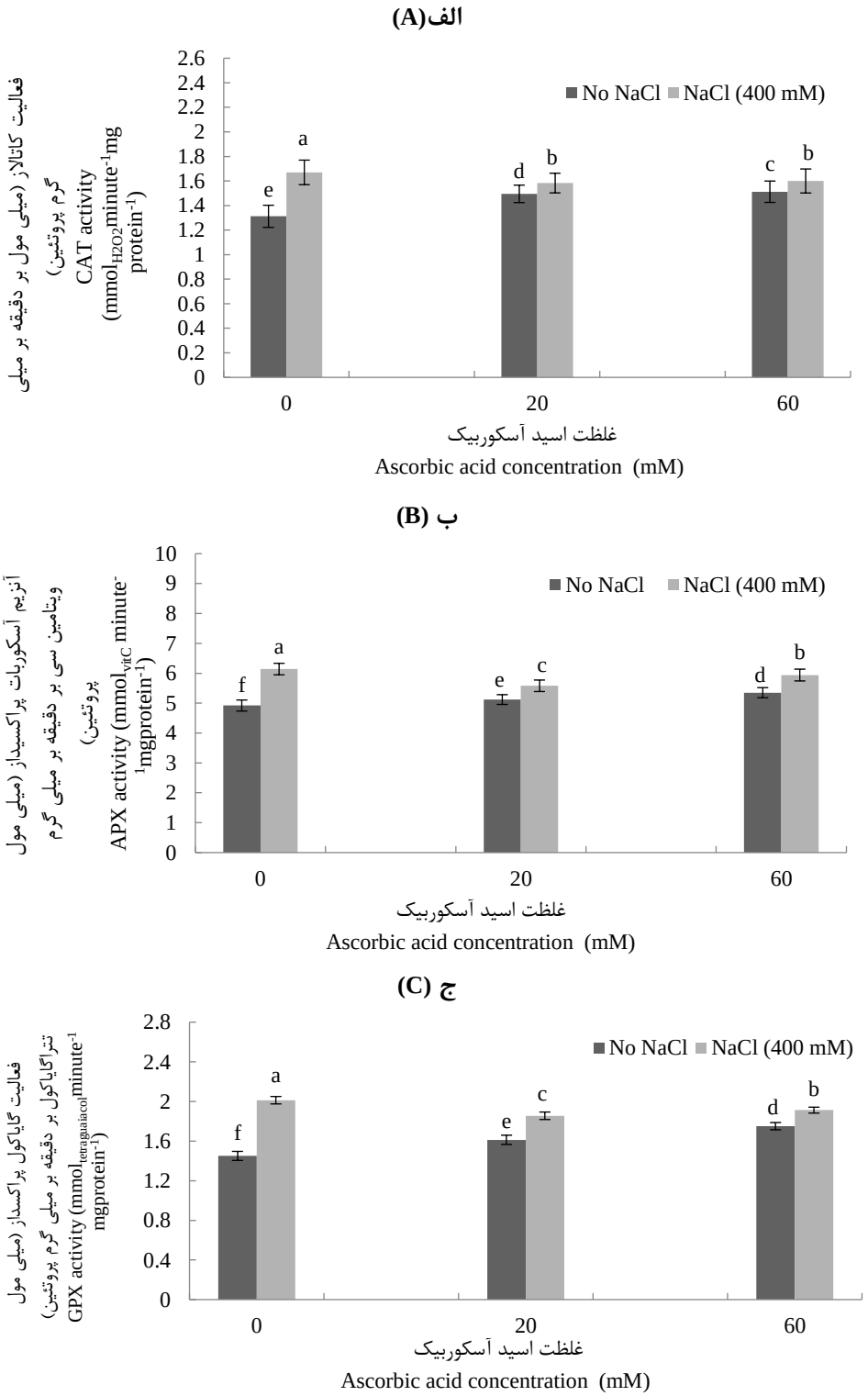
Figure 2. The effect of seed priming of giza 1 variety with ascorbic acid (20 and 60 mM) on (A) Total chlorophyll concentration and (B) Carotenoids concentration in the 70-day-old plant grown under saline conditions (400 mM). Means (three replicates) with the same letter are not significantly different in LSD test at p<0.01. Bars indicate ±standard error





شکل ۳- تاثیر پرایمینگ بذر کینوا رقم گیزا ۱ با اسید آسکوربیک (۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار) بر (الف) غلظت H_2O_2 و (ب) پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس غلظت MDA در اندام‌های هوایی گیاهان ۷۰ روزه رشد یافته تحت تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار). میانگین‌های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در آزمون LSD در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. نوارهای عمودی ± خطای استاندارد را نشان می‌دهد

Figure 3. The effect of seed priming of giza 1 variety with ascorbic acid (20 and 60 mM) on (A) H_2O_2 concentration and (B) lipid peroxidation based on the MDA concentration in the shoots of 70-day-old plant grown under saline conditions (400 mM). Means (three replicates) with the same letter are not significantly different in LSD test at p<0.01. Bars indicate ±standard error



شکل ۴- تاثیر پرایمینگ بذر کینوا رقم گیزا ۱ با اسید آسکوربیک (۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار) بر (الف) فعالیت کاتالاز، (ب) فعالیت در اندام‌های هوایی گیاهان ۷۰ روزه رشد یافته تحت تنش شوری آسکوربات پراکسیداز و (ج) فعالیت گایاکول پراکسیداز در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار LSD(۴۰۰ میلی‌مولار). میانگین‌های (از سه تکرار) دارای حروف یکسان در آزمون ندارند نوارهای عمودی ± خطای استاندارد را نشان می‌دهد

Figure 4. The effect of seed priming of giza 1 variety with ascorbic acid (20 and 60 mM) on (A) CAT activity; (B) APX activity and (C) GPX activity in the shoots of 70-day-old plant grown under saline conditions (400 mM). Means (three replicates) with the same letter are not significantly different in LSD test at p<0.01. Bars indicate ±standard error

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری‌شده (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) در تیمارهای مختلف اعمال شده، از یک الگوی مشابه پیروی می‌کند. به‌طوری که تحت ۴۰۰ میلی‌مولار NaCl، فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به شاهد به‌طور معنی داری افزایش یافت ($p <$ ۰/۰۱) (شکل ۴). از سوی دیگر، فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان تحت تنش رشد یافته از دانه‌های پرایم شده با اسید اسکوربیک ۲۰ یا ۶۰ میلی‌مولار کاهش یافت، اگرچه در مقایسه با شاهد بیشتر بود. دراین مورد، فعالیت این آنزیم‌ها عمدتاً در گیاهان رشد یافته از دانه‌های پرایم شده با اسید اسکوربیک ۲۰ میلی‌مولار کمتر از فعالیت آن‌ها در پرایمینگ ۶۰ میلی‌مولار بود.

بحث

شرایط شوری، نه‌تنها بر روی جوانه‌زنی بذر گیاه تاثیر می‌گذارد، بلکه حتی پس از جوانه‌زنی نیز اثرات مضر NaCl رشد و نمو طبیعی گیاه را به‌مخاطره می‌اندازد. سمیت یونی به‌دلیل تجمع یون‌های سدیم در بافت‌های گیاهی، متابولیسم طبیعی گیاه را مختل می‌کند و در نتیجه زیست-توده گیاه کاهش می‌یابد. از جمله اختلالات متابولیک ناشی از تنش شوری، افزایش انواع اکسیژن واکنشگر است که به ماکرومولکول‌های حیاتی، ساختارهای سلولی، غشاهای سیتوپلاسمی و فرآیند فتوسنتز آسیب می‌رساند. اسید اسکوربیک به‌طور گسترده در گیاهان مختلف وارد واکنش-های شیمیایی می‌شود و با اهدای الکترون در واکنش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی نقش دارد. این آنتی‌اکسیدان برای پاکروبی انواع اکسیژن واکنشگر، در طی تنش شوری تولید می‌شود. افزایش محتوای اسید اسکوربیک بذر از طریق کاربرد برون‌زا می-تواند برای جوانه‌زنی برخی گونه‌ها به‌ویژه در شرایط تنش شوری مفید و موثر باشد (Khān *et al.*, 2006). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک باعث بهبود کمیت زیست‌توده، یکپارچگی غشا، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش سطح H_2O_2 در گیاهان تحت تنش رقم گیزا ۱ شد. این یافته‌ها با تحقیقات قبلی که نشان می‌داد گیاهان تیمار شده با اسید اسکوربیک با سطوح پایین‌تر انواع اکسیژن واکنشگر و نشت الکترولیت، نسبت به تنش شوری مقاوم‌تر هستند، مطابقت دارد (Jafar *et al.*, 2012; Al- Othaimen, 2015; Hossain *et al.*, 2017).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) نقش مهمی در از بین بردن سمیت انواع اکسیژن واکنشگر و محافظت از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو دارند (Santoyo *et al.*, 2016). آسکوربات پراکسیداز در قسمت‌های مختلف سلول گیاهی که در آن تولید H_2O_2 اتفاق می‌افتد، وجود دارد و نقش مهمی در پاکروبی غلظت‌های بالای H_2O_2، در هر دو شرایط عادی و تنش دارد (Madhusudhan *et al.*, 2003; Farooq *et al.*, 2008). گایاکول پراکسیدازها پروتئین‌های حاوی هِم هستند که ترجیحاً مولکول‌های اهداکنندگان الکترون آروماتیک (مانند گایاکول و پیراگالول) را با هزینه H_2O_2اکسید می‌کنند (Sharma *et al.*, 2012). این آنزیم‌ها به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان آنزیم‌های تنش پذیرفته شده‌اند و با بسیاری از فرآیندهای بیوسنتزی مهم و دفاع در برابر تنش‌های غیرزیستی و زیستی مرتبط هستند. کاتالاز نیز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی مهم در گیاهان است که درون پراکسی زوم‌ها قرار دارد (Johkan *et al.*, 2011). کاتالاز مستقیماً در پاکروبی H_2O_2 شرکت دارد و برای حذف H_2O_2 که در شرایط تنش شوری بیش ازحد تولید شده است، بسیار مهم است (Keskitalo *et al.*, 2005). زمانی که گیاهان تحت تنش شوری هستند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد. و میزان این افزایش به سطح تحمل گیاه به تنش شوری مربوط می‌شود (Mittler, 2002; Guo *et al.*, 2018). نتایج تحقیق حاضر با این یافته مطابقت داشت. یعنی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده، افزایشی را در رقم گیزا ۱ تحت تنش شوری نشان داد. در این راستا، در گیاهان بدون تنش که از دانه‌های پرایم شده رشد کرده بودند فعالیت این آنزیم‌ها نسبت به شوری تنها کاهش یافت که بیانگرکاهش تولید H_2O_2 در این گیاهان بود.

گزارش‌های قبلی نشان می‌دهد که سطح موثر اسید اسکوربیک در افزایش مقاومت به شوری، وابسته به نوع گونه گیاهی است و در بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. به‌عنوان مثال، سطح بهینه اسید اسکوربیک برای افزایش مقاومت به تنش شوری در گیاه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica*) ۴۰ میلی‌مولار تشخیص داده شده است (Sheykh-Abolhasani *et al.*, 2018)، در حالی که غلظت ۱۰ میلی‌مولار اسید اسکوربیک موثرترین غلظت برای گیاه *Phragmites karka* گزارش

شده است (Zehra *et al.*, 2012). علاوه براین، اذعان شده است که استفاده از اسید اسکوربیک اثرات مضر تنش شوری را در *Atriplex stocksii* و *Suaeda fruticose* کاهش می‌دهد، ولی تأثیر معنی‌داری بر *Aeluropus lagopoides*، *Arthrocnemum macrostachyum* و *Haloxylon stochsii* ندارد (Khan *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، از داده‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک (۲۰ میلی‌مولار) می تواند روشی مفید برای افزایش تحمل گیاه کینوا رقم گیزا ۱ در شرایط بسیار شور باشد. اسید اسکوربیک از طریق کاهش اثرات مضر تنش اکسیداتیو ناشی از شوری یعنی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدی، تحمل به شوری را در گیاه کینوا رقم گیزا ۱ افزایش می‌دهد. علاوه بر این، اسید اسکوربیک می‌تواند در شرایط تنش شوری، با کاهش تخریب کلروفیل‌ها منجر به افزایش رشد رقم گیزا ۱ در سطوح بالای NaCl شود و به‌این ترتیب، از فرآیند فتوسنتز محافظت نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند، ابراز نمایند.

منابع

Agami, R.A. 2014. Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stress in barley seedlings. Biologia Plantarum, 58(2): 341-347. **(Journal)**

Al-Othaimen, H.S. 2015. Improve the salinity stress by using ascorbic acid on germination, growth parameters, water relations, organic and inorganic components of Sweet Paper (*Capsicum annum* L.) Plant. Journal of Advances in Agriculture, 4(1): 331-349 **(Journal)**

Azooz, M.M., Alzahrani, A.M. and Youssef, M.M. 2013. The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.). Australian Journal of Crop Science, 7(13): 2091-2100. **(Journal)**

Bybordi, A. 2012. Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity, and fatty acid contents in canola exposure to salt stress. Journal of Integrative Agriculture, 11(10): 1610-1620. **(Journal)**

Eisa, S.S., Eid, M.A., Abd El-Samad, E.H., Hussin, S.A., Abdel-Ati, A.A., El-Bordeny, N.E., Ali, S.H., Al-Sayed, H.M., Lotfy, M.E., Masoud, A.M. and Ebrahim, M. 2017. *'Chenopodium quinoa* 'Willd. A new cash crop halophyte for saline regions of Egypt. Australian Journal of Crop Science, 11(3): 343-351. **(Journal)**

Ekmekçi, B.A. and Karaman, M. 2012. Exogenous ascorbic acid increases resistance to saltof *Silybum marianum* (L.). African Journal of Biotechnology, 11(42): 9932-9940. **(Journal)**

EL-Harty, E.H., Ghazy, A., Alateeq, T.K., Al-Faifi, S.A., Khan, M.A., Afzal, M., Alghamdi, S.S. and Migdadi, H.M. 2021. Morphological and molecular characterization of quinoa genotypes. Agriculture, 11(4): 286. **(Journal)**

Farooq, M., Basra, S.M.A., Khalid, M., Tabassum, R. and Mahmood, T. 2006. Nutrient homeostasis, metabolism of reserves, and seedling vigor as affected by seed priming in coarse rice. Botany, 84(8): 1196-1202. **(Journal)**

Farooq, M., Basra, S.M.A., Rehman, H. and Saleem, B.A. 2008. Seed priming enhances the performance of late sown wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving chilling tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 194(1): 55-60. **(Journal)**

Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I. and Cheema, S.A. 2013. Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. Journal of Agronomy and Crop Science, 199(1): 12-22. **(Journal)**

Fercha, A., Hocine, G. and Mebarek, B. 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 7(1): 27-37. **(Journal)**

Gallie, D.R. 2013. L-ascorbic acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development. Scientifica, 2013: 1-25. **(Journal)**

González, J.A., Eisa, S.S., Hussin, S.A. and Prado, F.E. 2015. Quinoa: an Incan crop to face global changes in agriculture. Quinoa: Improvement and Sustainable Production, 1: 18. **(Journal)**

Guo, Y.Y., Yu, H.Y., Yang, M.M., Kong, D.S. and Zhang, Y.J. 2018. Effect of drought stress on lipid peroxidation, osmotic adjustment and antioxidant enzyme activity of leaves and roots of *Lycium ruthenicum* Murr. seedling. Russian Journal of Plant Physiology, 65(2): 244-250. **(Journal)**

Hossain, M.A., Munné-Bosch, S., Burritt, D.J., Diaz-Vivancos, P., Fujita, M. and Lorence, A. 2017. Ascorbic acid in plant growth, development and stress tolerance. Springer. Basel, Switzerland. **(Book)**

Jafar, M.Z., Farooq, M., Cheema, M.A., Afzal, I., Basra, S.M.A., Wahid, M.A., Aziz, T. and Shahid, M. 2012. Improving the performance of wheat by seed priming under saline conditions. Journal of Agronomy and Crop Science, 198(1): 38-45. **(Journal)**

Johkan, M., Imahori, Y., Furukawa, H., Mitsukuri, K., Yamasaki, S., Tanaka, H. and Oda, M. 2011. Effect of ascorbic acid and etiolation on antioxidant enzyme activity and phenylpropanoid metabolism during shoot regeneration from cut ends of tomato stems. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 80(1): 45-51. **(Journal)**

Keskitalo, J., Bergquist, G., Gardestrom, P. and Jansson, S. 2005. A cellular timetable of autumn senescence. Plant Physiology, 139(4): 1635-1648. **(Journal)**

Khan, A. and Ashraf, M. 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. Environmental and Experimental Botany, 63(1-3): 224-231. **(Journal)**

Ḵẖān, M.A. and Weber, D.J. 2006. Ecophysiology of high salinity tolerant plants (Vol. 40). Springer Science and Business Media. **(Book)**

Khan, M.A., Ahmed, M.Z., and Hameed, A. 2006. Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. Journal of Arid Environments, 67(3): 535-540. **(Journal)**

Khan, T., Mazid, M. and Mohammad, F. 2011. A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. Journal of Agrobiology, 28(2): 97-111. **(Journal)**

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C. and Abdelly, C. 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiology and Biochemistry, 45(3-4): 244-249. **(Journal)**

Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 1(1): 13-30. **(Journal)**

Madhusudhan, R., Ishikawa, T., Sawa, Y., Shigeoka, S. and Shibata, H. 2003. Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BY-2 cells. Physiologia Plantarum, 117(4): 550-557. **(Journal)**

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7(9): 405-410. **(Journal)**

Nag, S., Saha, K. and Choudhuri, M.A. 2000. A rapid and sensitive assay method for measuring amine oxidase based on hydrogen peroxide–titanium complex formation. Plant Science, 157(2): 157-163. **(Journal)**

Narwal, S., Bogatek, Z., Sampietre, A. and Vattnone, M. 2009. Plant Biochemistry. Studium press, Lcc, Texas. **(Book)**

Rafique, N., Raza, S.H., Qasim, M. and Iqbal, N.A.E. 2011. Pre-sowing application of ascorbic acid and salicylic acid to seed of pumpkin and seedling response to salt. Pakistani Journal of Botany, 43(6): 2677-2682. **(Journal)**

Rasheed, R., Ashraf, M. A., Hussain, I., Ali, S., Riaz, M., Iqbal, M., Farooq, U., and Qureshi, F. F. 2022. Priming Effect in Developing Abiotic Stress Tolerance in Cereals Through Metabolome Reprograming. In: Omics Approach to Manage Abiotic Stress in Cereals. Springer Nature Singapore, Singapore. pp: 47-71. **(Book)**

Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. and Glick, B.R. 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. Microbiological Research, 183: 92-99. **(Journal)**

Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M.G.H., Saradhi, P.P., Khanna, P.K. and Arora, S. 2012. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 167(8): 2225-2233. **(Journal)**

Sheykh-Abolhasani, F., Roshandel, P. and Fallah, S.A. 2018. The effect of seed priming by ascorbic acid on germination traits and activity of some antioxidant enzymes in moldavian balm *moldavica*

L.) under salt stress. Iranian Journal of Seed Science and Research, 5(2): 47-58. (In Persian)**(Journal)**

Zehra, A., Gul, B., Ansari, R. and Khan, M. A. 2012. Role of calcium in alleviating effect of salinity on germination of *Phragmites karka* seeds. South African Journal of Botany, 78: 122-128. **(Journal)**

Zhang, K., Wang, G., Bao, M., Wang, L. and Xie, X. 2019. Exogenous application of ascorbic acid mitigates cadmium toxicity and uptake in Maize (*Zea mays* L.). Environmental Science and Pollution Research, 26(19): 19261-19271. **(Journal)**

The effect of seed priming of *Chenopodium quinoa* L. var. Giza 1 with ascorbic acid on increasing salt tolerance

Manizhe Jahantighi[1], Parto Roshandel[2]*

Received: September 7, 2023 Accepted: November 29, 2023

Abstract

To evaluate the effect of seed priming with ascorbic acid to increase salt tolerance in *Chenopodium quinoa* var. Giza 1 during the vegetative growth period, the current research was conducted in the form of a factorial experiment (ascorbic acid at three levels of 0, 20 and 60 mM and NaCl at two levels of 0 and 400 mM) and based on a completely randomized design. The traits measured in the experiment were fresh and dry weight, concentration of photosynthetic pigments, hydrogen peroxide (H_2O_2) and malondialdehyde, and the activity of antioxidant enzymes. Data analysis showed salinity resulted in a significant decrease in the amount of dry weight (51.4%), fresh weight (65.6%) and total chlorophyll (55.8%). In addition, salinity increased the content of malondialdehyde (2.3 folds), hydrogen peroxide (2.5 folds) and the activity of antioxidant enzymes (catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase). However, seed priming with ascorbic acid at the best level (20 mM) alleviated the adverse effects of NaCl in this variety by increasing the fresh weight (44.7%), dry weight (51.4%), and protecting membrane integrity and photosynthesis activity. Also, the use of ascorbic acid by changing the activity of antioxidant enzymes and reducing the content of hydrogen peroxide caused a reduction in oxidative stress in in this variety. It can be concluded that seed priming of this variety with 20 mM ascorbic acid can be effective on its successful cultivation in high salinity levels.

Key words: Halophyte; Oxidative stress; Quinoa; Seed pretreatment; Vitamin C

How to cite this article
Jahantighi, M. and Roshandel, P. 2023. The effect of seed priming of *Chenopodium quinoa* L. var. Giza 1 with ascorbic acid on increasing salt tolerance. Iranian Journal of Seed Science and Research, 10(3): 81-93. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2023.7676

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Graduated in MSc *of* Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. manizhe_jahantighi@yahoo.com
2. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran. roshandelparto@gmail.com
*Corresponding author: roshandelparto@gmail.com