

Biochemical changes and activity of some ROS–scavenging enzymes in response to salt stress in quinoa

Seyedeh Sanaz Ramezani 

*Corresponding Author: Associate professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email address: ramezanpours@gau.ac.ir

Hassan Soltanloo 

Associate professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email address: sultanlooh@gau.ac.ir

Seyed Ebrahim Seifati 

Assistant professor, Department of Arid Land and Desert Management, School of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran. Email address: seifati@yazd.ac.ir

Sahar Sadat Hosseini 

PhD, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email address: hosseini.ss70@yahoo.com

Abstract

Objective

Quinoa (*Chenopodium quinoa*) is a halophyte that can survive in saline conditions. In this study, some physiological and biochemical responses of a commercial and widely used variety of quinoa to different levels of seawater salinity stress were studied and new information is provided to reduce the negative effects of salinity stress on growth and functional characteristics and to use this information in breeding programs of this plant.

Materials and Methods

In order to investigate accumulation of some osmolytes (glycine betaine and proline), the amount of hydrogen peroxide (H₂O₂) and malondialdehyde (MDA) and the activity of some antioxidant enzymes involved in salt stress, Titicaca genotype was cultivated under two salinity levels 6.9 dSm⁻¹ and 13.8 dSm⁻¹ along with the control in four repetitions. The experiment was a factorial

experiment under a completely randomized design. After applying the salinity treatment, leaf samples were prepared at intervals of six hours to eight days.

Results

According to the results, hydrogen peroxide accumulation at the 13.8 dSm-1 salinity level is much higher than the 6.9 dSm-1 salinity level ($P \leq 0.001$). Following the increase of superoxide and ROS production, the amount of lipid peroxidation also increased followed by an increase in malondialdehyde index in both salinity ($P \leq 0.001$).

Conclusion

The results showed that quinoa can prevent oxidative stress and damage to the plant under salt stress conditions by increasing the accumulation of osmolytes and the activity of antioxidant enzymes. Quinoa was able to cope with the stress by activating biochemical and enzymatic responses, and by establishing cell homeostasis, it can prevent further damage from salinity stress.

Keywords: Antioxidant, Proline, Titicaca, Salinity, Quinoa.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Ramezanpour SS, Soltanloo H, Seifati SE, Hosseini SS (2024) Biochemical changes and activity of some ROS-scavenging enzymes in response to salt stress in quinoa. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (1), 119-140.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (1), 119-140. DOI: 10.22103/gpb.2024.23068.1003

Received: January 8, 2024.

Received in revised form: March 12, 2024.

Accepted: March 13, 2024.

Published online: April 6, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.



© the authors

تغییرات بیوشیمیایی و فعالیت برخی آنزیم‌های مهارکننده ROS در پاسخ به تنش شوری در

گیاه کینوا

سیده ساناز رمضانپور 

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

گرگان، ایران. رایانامه: ramezanpours@gau.ac.ir

حسن سلطانلو 

دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

رایانامه: soltanlooh@gau.ac.ir

سید ابراهیم سیفتی 

استادیار، گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران. رایانامه:

seifati@yazd.ac.ir

سحر سادات حسینی 

دانش آموخته دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

گرگان، ایران. رایانامه: hosseini.ss70@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۳

چکیده

هدف: کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa* گیاهی هالوفیتی است که توانایی زنده ماندن در شرایط شور را دارد. در این مطالعه با بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی یک رقم تجاری و پرکاربرد کینوا نسبت به سطوح مختلف تنش شوری آب دریا اطلاعات نوینی در جهت کاهش اثرات منفی تنش شوری بر خصوصیات رشدی و عملکردی و استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های به نژادی این گیاه ارائه شده است.

مواد و روش‌ها: به جهت بررسی تجمع برخی اسمولیت‌ها (گلیسین بتائین و پرولین)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت دخیل در تنش شوری شامل کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز، ژنوتیپ تیتیکاکا کینوا تحت تاثیر دو سطح شوری $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ و $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ به همراه شاهد در چهار تکرار با استفاده

از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی کشت و پس از اعمال تیمار شوری، در بازه‌های زمانی از شش ساعت تا هشت روز، نمونه برگ‌ی تهیه شد.

نتایج: بر اساس نتایج حاصله میزان تجمع پراکسید هیدروژن در شوری $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ به مراتب بالاتر ($P \leq 0.001$) از $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ بود. به دنبال افزایش سوپراکسید هیدروژن و تولید ROS، میزان پراکسیداسیون لیپیدها نیز افزایش یافت و شاخص مالون‌دی‌آلدئید نیز در هر دو سطح شوری طی روزهای تنش افزایش ($P \leq 0.001$) نشان داد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه کینوا با افزایش تجمع اسمولیت‌ها و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند از بروز تنش اکسیداتیو و ایجاد خسارت به گیاه در شرایط تنش شوری جلوگیری نماید. گیاه کینوا قادر است با فعال نمودن پاسخ‌های بیوشیمیایی و آنزیمی با تنش شوری مقابله نموده و با برقراری هموستازی سلولی مانع خسارات بیشتر تنش شوری شود.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدانت، پرولین، تیتیکاکا، شوری، کینوا.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: رمضانپور سیده ساناز، سلطانلو حسن، سیفتی سید ابراهیم، حسینی سحر سادات (۱۴۰۳) تغییرات بیوشیمیایی و فعالیت برخی آنزیم‌های مهارکننده ROS در پاسخ به تنش شوری در گیاه کینوا. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۱۱(۱)، ۱۴۰-۱۱۹.



Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman
and Iranian Genetics Society

© the authors

مقدمه

بر اساس پیش‌بینی‌ها، جمعیت جهان تا سال ۲۰۲۵ به بیش از ۹ میلیارد نفر رسیده و تقاضا برای غذا ۷۰ تا ۱۰۰ درصد افزایش خواهد یافت که این امر تاثیر زیادی بر تولید مواد غذایی خواهد داشت (Godfray et al. 2010). کینوا (*Chenopodium quinoa*) گیاه زراعی است که استفاده از آن به‌عنوان منبع غذایی در سرتاسر جهان در حال افزایش است. این گیاه به دلیل داشتن ترکیبات فیتوشیمیایی، متحمل به تنش بوده و از ارزش غذایی بالایی برخوردار است. وجود مواد مغذی ماکرو و میکرو در این گیاه از قبیل لیپیدها، آمینواسیدها و کربوهیدرات‌ها و همچنین متابولیت‌های ثانویه سبب شده است تا کینوا در تغذیه انسان و دام مورد توجه قرار گیرد (Alandia et al. 2020). ترکیبات فنلی، گلاسیسین‌بتائین‌ها و تری‌ترپنوئیدها (فیتواسترول‌ها و ساپونین‌ها) مهمترین متابولیت‌های ثانویه در کینوا هستند. از سوی دیگر، کمیت و کیفیت پروتئین در کینوا به دلیل بالاتر بودن قابلیت هضم و فقدان گلوتن، بهتر از دانه غلات می‌باشد. به نحوی که محتوی پروتئین کل در گیاه کینوا در مقایسه با غلاتی مثل جو، برنج، ذرت و چاودار

بیشتر بوده و شامل پروتئین‌های ذخیره‌ای همچون آلبومین، گلوبین و مقدار اندکی پرولامین است (Sindhu & Khatkar 2019; Jacobsen et al. 2003).

از طرفی، کینوا می‌تواند به‌عنوان گیاهی که توانایی زنده ماندن در شرایط شور را دارد، مورد توجه قرار گیرد. این گیاه به مناطق اگرواکولوژیکی متعددی سازگار بوده و به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای خود، بهترین گیاه برای کشت در خاک‌هایی که شوری بالاتر از 19 dSm^{-1} دارند، محسوب می‌شود. چرا که در شرایط شوری بالا، جذب آب در گیاه کاهش یافته و تاثیر مستقیم بر جذب CO_2 می‌گذارد، این امر منجر به بسته شدن روزنه‌ها و به دنبال آن کاهش تثبیت کربن خواهد شد (Munns et al. 2006). کاهش تثبیت کربن از طریق چرخه کالوین سبب کاهش اکسیداسیون NADPH شده که در نتیجه آن تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به‌شدت افزایش می‌یابد. به‌طوری که کینوا توانایی رشد و تولید محصول در شرایطی مشابه شرایط شوری آب دریا حتی تا 40 dSm^{-1} را دارد (Flowers 2004).

از سویی، ROSها با ماکرومولکول‌های متعددی واکنش داده و منجر به دناتوره شدن پروتئین، موتاسیون DNA و پراکسیداسیون لیپید می‌شوند (Gill & Tuteja 2010). گیاهان برای کاهش خسارت ROS، پاسخ‌های متعدد آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهند. در گیاه کینوا نیز در این شرایط فعالیت آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی همچون سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) افزایش می‌یابد (Khalofah et al. 2021). آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان اولین سد دفاعی در شرایط تنش، تبدیل یون اکسیژن (O_2^-) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن (O_2) را کاتالیز می‌کند (Gill & Tuteja 2010). سپس پراکسید هیدروژن توسط کاتالاز و پراکسیدازها حذف می‌شود که این مرحله شامل هضم آنزیمی و غیرآنزیمی پراکسید هیدروژن است (Peltzer et al. 2002). کاتالاز سبب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب (H_2O) و اکسیژن می‌شود (Gill & Tuteja 2010)، ولی پراکسیداز با اکسیداسیون همزمان سوبستراهایی مثل ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان‌ها سبب تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Ashraf 2009).

بتائین‌ها نیز به‌عنوان یکی از متابولیت‌های ثانویه مهم در برگ و ساقه کینوا، خصوصیت آنتی‌اکسیدانی دارند (de Oliveira 2019). به نحوی که می‌توانند به‌عنوان اسمولیت عمل نموده و سبب حفاظت فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی در برابر تنش‌های محیطی شوند (Wang et al. 2021). از جهتی، رقم تیتیکاکا به‌عنوان یکی از ۹ رقم ثبت شده کینوا اروپایی (Jacobsen, 2017)، دارای خواصی است که آن را به‌دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و زمان کوتاه تا گلدهی و بلوغ (Reguera et al. 2018) در مقایسه با سایر ارقام موجود در کشور، در کشت شرایط شور ایران قابل توجه نموده است. با این حال این رقم در کشور ایران به‌دلیل این که بیشتر در اراضی لب‌شور و شور کشت می‌گردد، عملکرد بسیار ناهمگنی را ارائه می‌دهد. از این رو، در این مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این رقم تجاری و پرکاربرد کینوا نسبت به سطوح مختلف تنش شوری آب دریا مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان از این یافته‌ها در برنامه‌های به‌نژادی این گیاه برای کاهش اثرات منفی تنش شوری بر خصوصیات رشدی و عملکردی استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه ایستگاه تحقیقات کشاورزی عراقی محله‌ی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان انجام گرفت. بذور ژنوتیپ تیتیکاکا با منشا کشور بولیوی از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه و در گلدان‌هایی با قطر ۲۶ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و خاک لومی (مخلوط شن و هوموس به نسبت ۲:۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار کشت شد. آبیاری با آب معمولی تا انتهای فاز رویشی انجام شد. پس از شروع دوره زایشی و در مرحله پر شدن دانه‌ها، اعمال تیمار شوری در دو سطح شوری $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ (مخلوط ۱:۱ آب دریا و آب مقطر) و $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ (آب دریا) به‌همراه شاهد ($0/9 \text{ dSm}^{-1}$) انجام شده و در بازه‌های زمانی ۶ و ۱۲ ساعت و نیز ۱ تا ۸ روز پس از اعمال تیمار شوری به‌صورت روزانه، نمونه برگی تهیه و پس از انجماد سریع در ازلت مایع، به فریزر -80°C درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

محتوی گلاسیسین‌بتائین بر اساس روش Grattan & Greive (1983) اندازه‌گیری و میزان جذب محلول به دست آمده از این روش در طول موج ۳۶۵ نانومتر با استفاده از نانواسپکتروفتومتر قرائت گردید. مقدار گلاسیسین بتائین با استفاده از منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت صفر، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گلاسیسین بتائین خالص تهیه و نتایج بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک گزارش شد.

میزان پرولین نیز با روش Bates et al. (1973) اندازه‌گیری شد. به این صورت که میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از نانواسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت پرولین موجود در هر نمونه نیز بر حسب میکرومول پرولین بر گرم وزن تازه گیاه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴ و ۲۸ میلی‌گرم بر لیتر پرولین خالص تهیه و کلیه مراحل فوق بر روی هر کدام از نمونه‌ها انجام گرفت.

به‌منظور اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن از دستورالعمل Gniazdowska et al. (2010) استفاده شد. غلظت H_2O_2 در این روش با استفاده از نانواسپکتروفتومتر با جذب اندازه‌گیری شده در طول موج ۳۹۰ نانومتر تعیین شد. مقادیر صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن ۱۰۰ میکرومولار برای تهیه منحنی استاندارد استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری محتوی مالون‌دی‌آلدئید نیز از روش Ohkawa et al. (1979) استفاده شد. بدین صورت که جذب رونشین در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. از محلول تیوباربتوریک اسید و تری کلرواستیک ۲۰ درصد به‌عنوان شاهد در این اندازه‌گیری استفاده شد. مقدار MDA نیز با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

برای ارزیابی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش Minami & Yoshikawa (1979) استفاده گردید. به این صورت که ۵۰ میکرولیتر از عصاره برگ به ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار ($\text{pH}=7/8$)، ریوفلاوین ۱/۳ میکرومولار، EDTA ۷۵ نانومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و نیترو بلوترازولیوم (Nitro Blue tetrazolium)؛

(NBT) ۶۳ میکرومولار اضافه گردید. مخلوط در شرایط نوری ۵۰۰۰ لوکس به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و میزان فعالیت با طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه نانو اسپکتروفوتومتر قرائت گردید.

جهت ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Maehly & Chance (1955) استفاده شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم، ترکیبی از ۱۵ میکرولیتر آب اکسیژنه سه درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی برداشت شده و با استفاده از محلول ۰/۱ مولار بافر فسفات پتاسیم با pH=۷، حجم محلول به ۳ میلی لیتر رسانده شد. سپس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله اسپکتوفوتومتر اندازه گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با روش پیشنهادی Ngo & Lenhoff (1980) انجام شد. به نحوی که ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۲ مولار با pH=۵، ۰/۴ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۱ مولار محلول در الکل ۵۰ درصد با هم مخلوط شدند. سپس ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به مخلوط اضافه گردید و جذب نوری محلول توسط نانو اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید.

برای اندازه گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اساس روش Meng et al. (2008)، ۲ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۲ مولار با pH=۶/۸ و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگال ۰/۰۲ مولار به ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و پس از قرار دادن در حمام آب گرم با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت پنج دقیقه، منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتوفوتومتر قرائت گردید.

پس از بررسی نرمالیتی داده ها با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس ها از طریق آزمون بارتلت-لون (Bartlett-Levene)، داده های به دست آمده، توسط نرم افزارهای آماری SAS و SPSS و میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ مورد آنالیز و بررسی قرار گرفت. همچنین تمامی نمودارها از طریق نرم افزار Excel 2016 رسم گردید.

نتایج و بحث

الف- شاخص های بیوشیمیایی

۱- گلايسين بتائين

با افزایش زمان پس از اعمال تنش شوری، تجمع گلايسين بتائين در هر دو سطح شوری افزایش معنی داری نشان داد (جدول ۱ و شکل ۱). همچنین اثر متقابل بین روزهای اعمال تنش و سطوح شوری معنی دار بود و بر این اساس بیشترین میزان تجمع گلايسين بتائين، مربوط به روز ۸ و غلظت $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ شوری بود. کمترین میزان تجمع گلايسين بتائين (پس از شاهد) در زمان ۶ ساعت پس از تنش شوری در تیمار $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ م مشاهده شد (جدول ۱). تجمع گلايسين بتائين در گیاهانی که در معرض تنش

شوری قرار گرفته‌اند، منجر به تنظیم اسمزی و حفظ فعالیت آنزیمی گیاه تحت تنش شوری می‌شود (Mirmohammadi Meybodi & Ghareyazi 2002). در مطالعه Olmos et al. (2024) گزارش شد که گلایسین بتائین، متابولیتی است که بیشترین تغییر را در شرایط تنش شوری کینوا ایجاد نمود و همانند مطالعه حاضر، یک هفته پس از تنش، میزان افزایش معنی‌داری در کلیه ارقام مورد مطالعه نشان داد.

جدول ۱. تجزیه واریانس ۸ شاخص بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی در مطالعه دو سطح شوری در زمان‌های

مختلف در رقم تیتیکا کینوا

Table 1. Analysis of variance on 8 biochemical and antioxidant characteristics under two salinity level in different times in Quinoa (Titicaca)

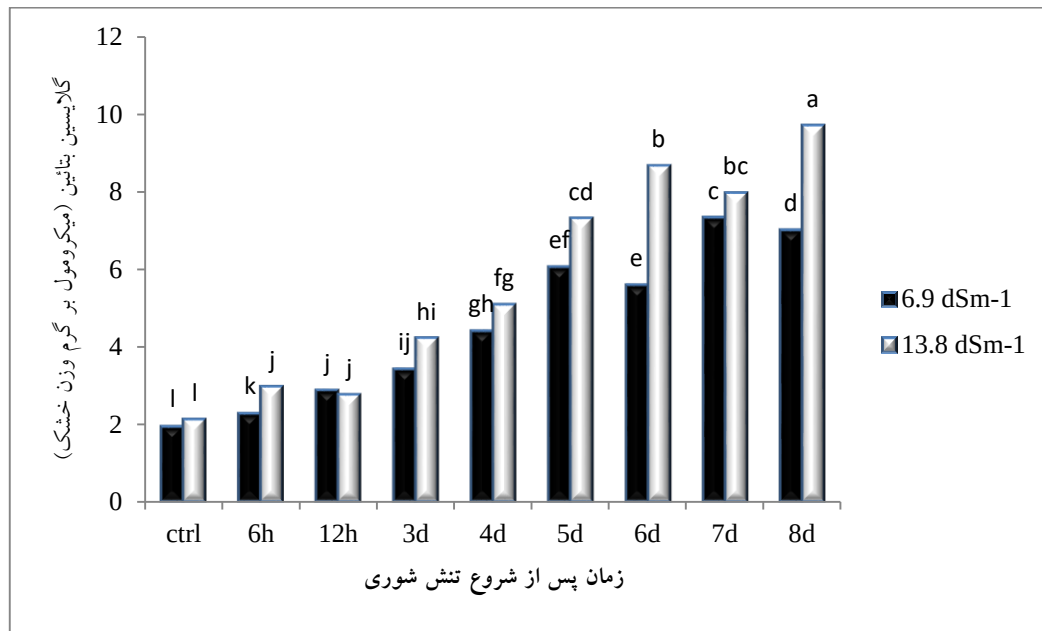
منبع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی df	گلایسین بتائین GB	پروکلین Pr	پراکسید هیدروژن H ₂ O ₂	مالون دی‌آلدئید MDA	پراکسیداز POX	پلی فنل اکسیداز PPO	کاتالاز CAT	سوپراکسید دیسموتاز SOD
زمان Time	8	23.13**	6.83**	13.96**	1.85**	0.30**	0.16*	0.63**	1.28**
تنش Stress	1	10.65**	0.88 ns	64.35**	0.23 ns	0.40**	0.11 ns	0.45*	0.48**
زمان*تنش Time*Stress	5	1.19**	0.15 ns	5.38**	0.03 ns	0.05 ns	0.06 ns	0.06 ns	0.18**
خطای آزمایشی Experimental Error	18	0.14	0.20	0.39	0.13	0.02	0.03	0.04	0.03
کل Total	35	5.94	1.73	64.57	0.50	0.01	0.07	0.19	0.36
ضریب تغییرات Coefficient of Variation (CV%)		7.38	5.53	9.54	7.54	11.51	11.88	11.34	10.9

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و NS به معنی عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

۲- پروکلین

تجمع پروکلین در سیتوپلاسم به‌عنوان یک اسمولیت در حفاظت ساختمان ماکرومولکول‌ها در شرایط عدم تعادل هموستازی یونی عمل می‌کند (Nayyar 2003). طبق شکل ۲، با افزایش روزهای تنش شوری، تجمع پروکلین روند صعودی و معنی‌داری (جدول ۱) را نشان داد که نمایانگر تلاش گیاه برای مقابله با تنش شوری بود. تجمع پروکلین در این مطالعه از روز ششم اگرچه نسبت به روزهای ۳، ۴ و ۵ افزایش معنی‌داری ($P \leq 0.001$) نشان داد اما در مقایسه با روزهای هفتم و هشتم به‌طور غیرمعنی‌داری ($P > 0.05$) ثابت ماند. که این می‌تواند بیانگر رسیدن گیاه به تعادل و در نتیجه تحمل تنش وارده باشد. نکته قابل توجه در این

مطالعه این که در غلظت 13.8 dSm^{-1} شوری، روند افزایش غلظت پرولین به صورت خطی نبوده و با افزایش شدت تنش، به تدریج در برخی از روزها از غلظت پرولین کاسته شده است (شکل ۲). این امر احتمالاً به دلیل اعمال تنش شوری شدید و یا تداوم تنش شوری است که باعث می شود متابولیسم گیاه دچار اختلال شده و گیاه نتواند ساز و کار مناسبی از خود نشان دهد.



شکل ۱. میزان گلايسين بتاين در نمونه برگي کينوا تحت تیمار تنش شوری سطوح 6.9 dSm^{-1} و 13.8 dSm^{-1} .

میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

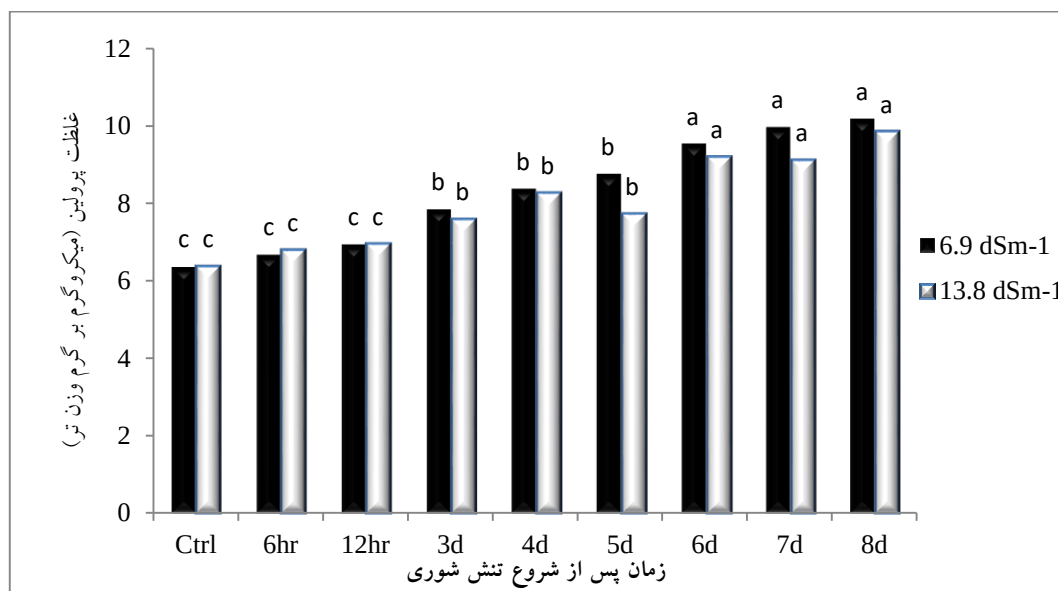
Figure 1. Glycine-betaine content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm^{-1} and 13.8 dSm^{-1} is. The averages of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

۳- پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

اکسیژن برای حیات سلول ضروری بوده و کاهش آن منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود (Asada 1999). گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط بدون تنش در غلظت‌های کم در سلول وجود داشته (Polle 2001) و علاوه بر القا سازگاری نسبی گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده، به عنوان مولکول‌های سیگنالی در فرایند تنظیم بیان ژن و سنتز پروتئین نیز درگیر می‌باشند (Larkindale et al. 2005). این مولکول‌های سیگنالی، در شرایط تنش، بیش از حد تولید شده و سبب ایجاد تنش اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شوند (Golden et al. 2002).

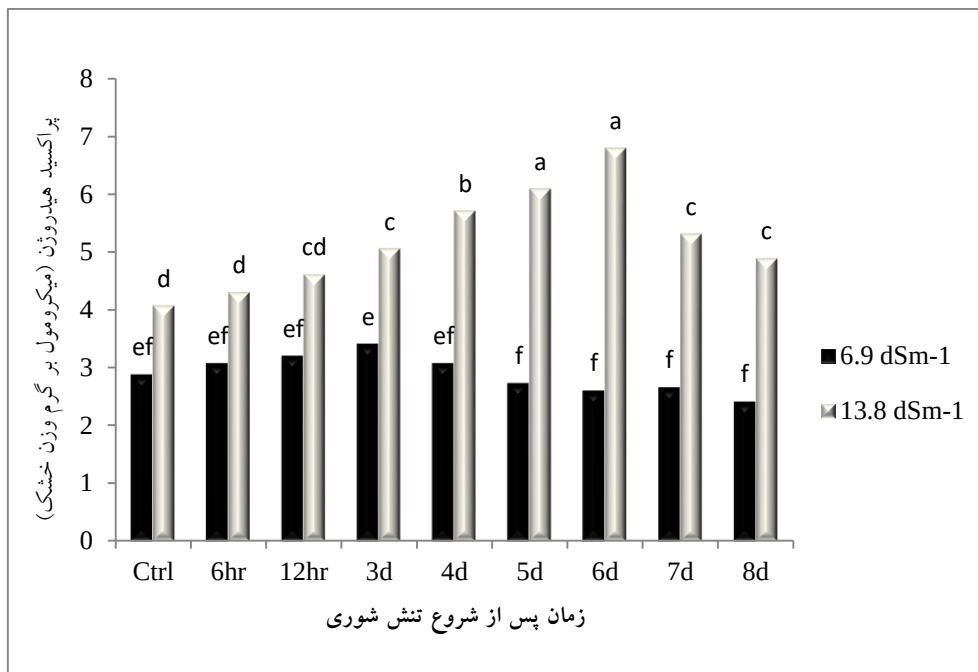
براساس نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن، در سطح 6.9 dSm^{-1} شوری، ابتدا روند افزایشی در مقایسه با

شاهد مشاهده شد اما در روزهای پایانی اندازه‌گیری، نمودار روند کاهشی به خود گرفت. دلیل این افزایش و کاهش احتمالاً به عملکرد پراکسید هیدروژن بر می‌گردد. پراکسید هیدروژن در گیاهان می‌تواند نقشی دوگانه داشته باشد به‌طوری که این ترکیب در مقادیر پایین به‌عنوان یک پیام حدواسط جهت تولید سالیسیلیک اسید و اتیلن عمل می‌نماید و سبب تطابق بیشتر با شرایط تنش‌زا می‌شود (Hu et al. 2009) و در مقادیر بالاتر منجر به پاسخ آنزیم‌های پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده و از میزان تجمع آن کاسته می‌شود (Kiamoghadam & Bagherieg-Najjar 2012). نکته حائز اهمیت اینکه با افزایش غلظت شوری از $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ به $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ میزان تجمع پراکسید هیدروژن در سلول افزایش می‌یابد. اما از روز ششم به بعد این مقدار ثابت و سپس روند نزولی به خود می‌گیرد (شکل ۳). نتایج حاصله از تجزیه واریانس نیز موید اختلاف معنی‌دار بین اثر متقابل زمان اعمال تنش و دو سطح شوری اعمال شده بود. به‌طوری که بیشترین میزان تولید پراکسید هیدروژن در غلظت $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ و در روز ششم و کمترین میزان تجمع، در غلظت $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ و مربوط به روزهای ششم و هفتم بود.



شکل ۲. میزان پرولین در نمونه برگ گی کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ و $13/8 \text{ dSm}^{-1}$. میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 2. Proline content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm^{-1} and 13.8 dSm^{-1} is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.



شکل ۳. میزان پراکسید هیدروژن در نمونه برگ کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح ۶/۹ و ۱۳/۸ dSm⁻¹.

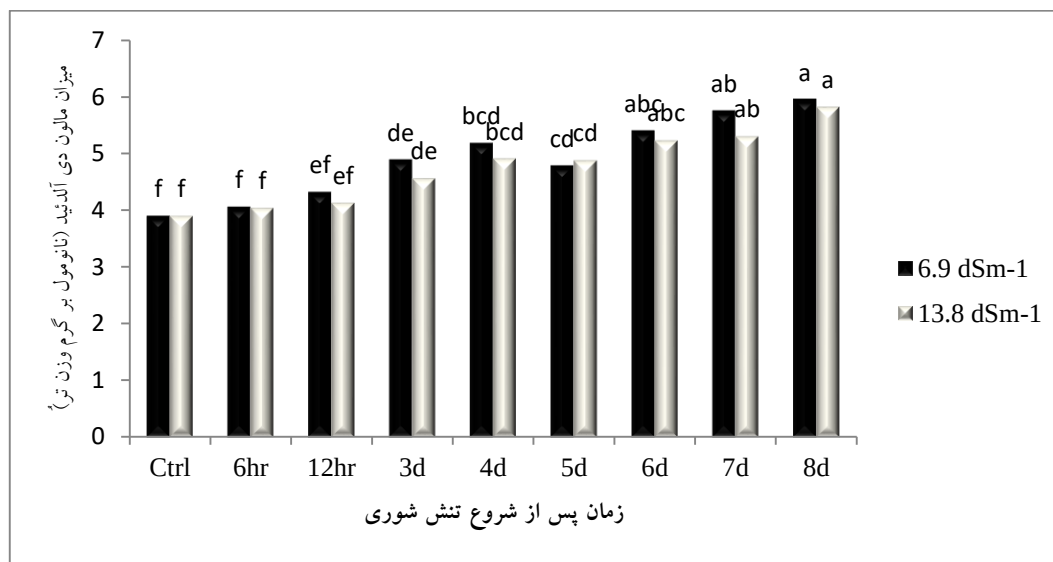
میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 3. Hydrogen peroxide content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm⁻¹ and 13.8 dSm⁻¹ is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

۴- مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

مالون‌دی‌آلدئید محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدهاست. از سطح پراکسیداسیون لیپید به عنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشای سلولی تحت شرایط تنش استفاده می‌شود. بنابراین مالون‌دی‌آلدئید به عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشا در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین افزایش این شاخص بر اثر تنش حاکی از افزایش تولید انواع اکسیژن فعال و وقوع تنش اکسیداتیو در گیاه است (Jaleel et al. 2007; Katsuhara et al. 2005). طبق نتایج حاصله، در هر دو سطح شوری، با افزایش زمان اعمال تنش، میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید روند صعودی و در سطح یک درصد معنی‌داری شد، اما اختلاف معنی‌داری بین دو سطح شوری و نیز اثر متقابل زمان و غلظت شوری مشاهده نشد (شکل ۴). دلیل افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید را می‌توان مرتبط با افزایش رادیکال‌های آزاد موجود در سلول دانست. افزایش نمک باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌ها و پدید آمدن اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شود. این تنش ثانویه به علت ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژنی است که در درون سلول تولید می‌شود (Sofa et al. 2004). رادیکال‌های آزاد موجود در سلول باعث صدمه به لیپیدها و

اسیدهای چرب غشا شده و رادیکال‌های لیپید، پراکسی و هیدروپراکسی تولید می‌کنند. رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند به واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها سرعت بخشند.



شکل ۴. میزان مالون‌دی‌آلدئید در نمونه برگ‌ی کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح ۶/۹ و ۱۳/۸ dSm⁻¹.

میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

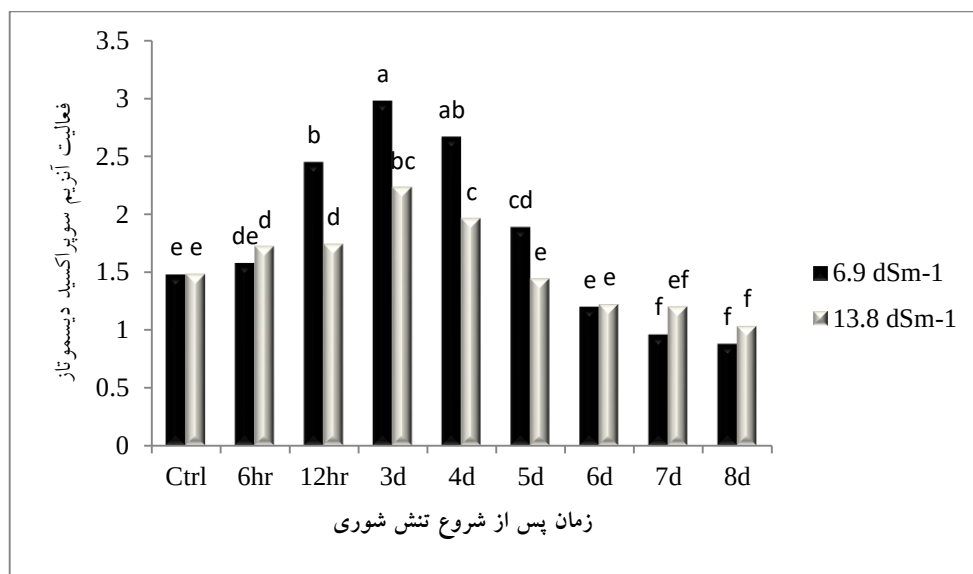
Figure 4. Malondialdehyde content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm⁻¹ and 13.8 dSm⁻¹ is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

ب- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در جریان تنش شوری

۱- سوپراکسیددیسموتاز

در داخل سلول، سوپراکسیددیسموتاز اولین آنزیم برای تبدیل یون اکسیژن (O_2^-) به پراکسید هیدروژن و اکسیژن است. بر روی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نشان داد در روزهای ابتدایی اعمال تنش، میزان فعالیت این آنزیم افزایش داشت که احتمالاً به دلیل حضور ناگهانی و سریع سوپراکسید در سلول بوده است به‌طوری‌که در روز سوم میزان این آنزیم به حداکثر مقدار خود رسید. از روز سوم به بعد از میزان این آنزیم کاسته شد. براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز هم در سطوح مختلف تنش و هم در روزهای پس از اعمال تنش معنی‌دار بود به‌نحوی که اثرات متقابل سطوح در زمان نیز معنی‌دار شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در غلظت ۶/۹ dSm⁻¹ در روز سوم (تقریباً دو برابر شاهد) و کمترین میزان آن در روز هشتم مشاهده شد (شکل ۵). محققین گزارش نمودند هنگامی که گیاه در معرض نمک قرار

می‌گیرد، با ثبات تنش در گیاه، به دلیل کاهش موضعی میزان یون سدیم (Na^+) در برگ، کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در رقم مقاوم نسبت به رقم حساس مشاهده می‌شود (Vaidyanathan et al. 2003). همچنین براساس مطالعات Mirmohammadi meybodi & Ghareyazi (2002) با افزایش میزان شوری، سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه فعال شده و با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارات ناشی از تنش شوری مقاومت می‌نماید اما این فرایند تنها تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولید شده در گیاه باشد، ادامه می‌یابد و سپس کاهش خواهد یافت.



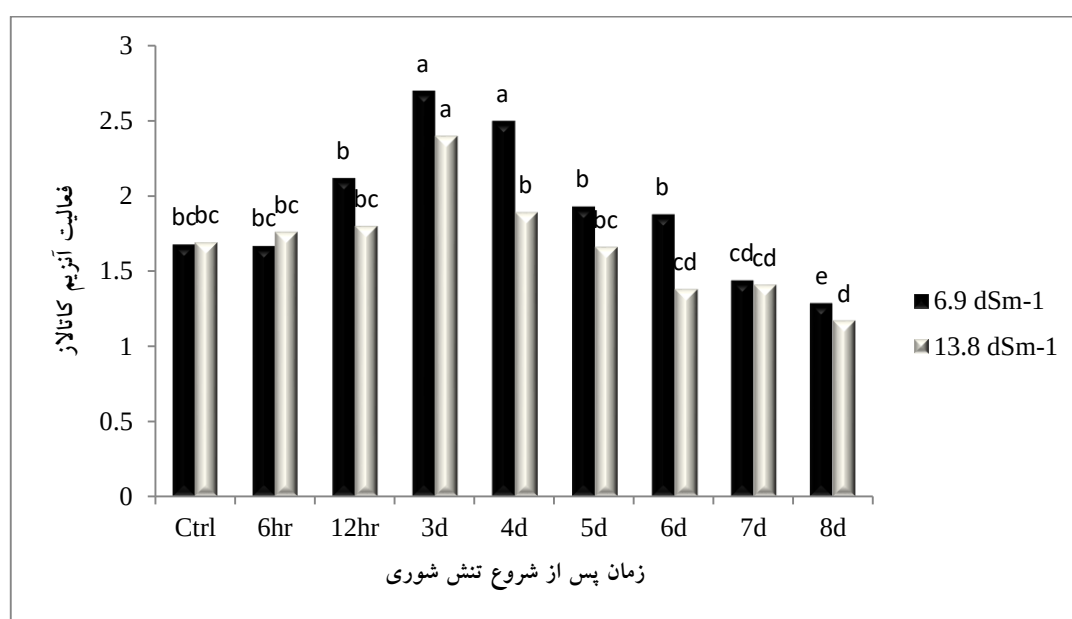
شکل ۵. میزان سوپراکسیددیسموتاز در نمونه برگ کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح ۶/۹ و dSm^{-1} و ۱۳/۸. میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 5. Superoxide dismutase content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm^{-1} and 13.8 dSm^{-1} is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

۲- کاتالاز

آنزیم کاتالاز در پراکسی‌زوم، سیتوپلاسم، کلروپلاست و میتوکندری وجود دارد و سبب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود (Mckersie & Leshem 1994). براساس مطالعات، شوری سبب تولید پراکسید هیدروژن درون سلول شده و این امر مانع فعالیت چرخه کالوین در سلول گیاهان می‌شود، از این رو با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت همانند کاتالاز، گیاهان می‌توانند از آثار نامطلوب تشکیل پراکسید هیدروژن بر چرخه کالوین در کلروپلاست سلول جلوگیری کنند (Shen et al.).

(1977). نتایج این بررسی در مورد آنزیم کاتالاز نشان داد که در هر دو سطح شوری، با افزایش ساعات بعد از اعمال شوری، تا روز چهارم بعد از اعمال تنش، میزان سنتز آنزیم کاتالاز افزایش معنی‌داری داشته است که این نتیجه نیز با مطالعات (Mittler 2002) و Rios-Gonzalez et al. (2002) مطابقت داشت و دلیل افزایش آنزیم کاتالاز در ساعات اولیه اعمال تنش، مقابله با اثرات مخرب پراکسید هیدروژن و سایر گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. نتایج جدول ۱ و شکل ۶ در بررسی حاضر نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم از روز چهارم به بعد، کاهش معنی‌داری در هر دو غلظت شوری یافته است. هرچند اثر متقابل زمان و سطح تنش معنی‌دار نبود اما هرکدام از دو سطح شوری و زمان‌های بعد از تنش، اختلاف معنی‌داری به ترتیب در سطح پنج درصد و یک درصد داشتند.



شکل ۶. میزان کاتالاز (CAT) در نمونه برگ‌گی کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح ۶/۹ و ۱۳/۸ dSm⁻¹.

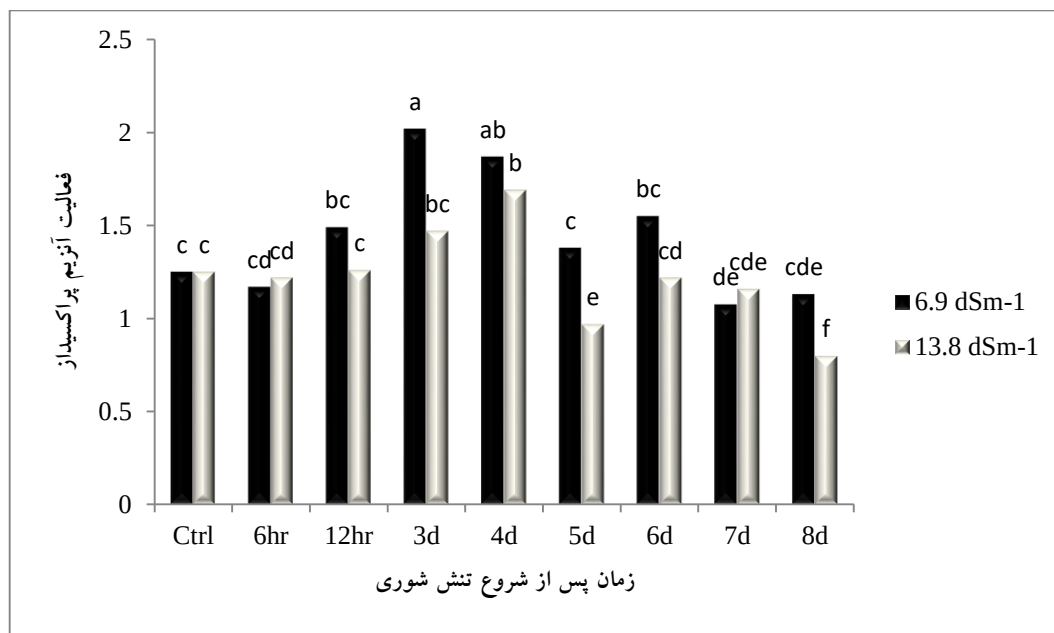
میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 6. Catalase content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm⁻¹ and 13.8 dSm⁻¹ is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

۳- آنزیم پراکسیداز

پراکسیدازها مجموعه‌ای از آنزیم‌های چرخه آسکوربات-گلوتاتیون ردوکتاز هستند که قادرند با حذف پراکسید هیدروژن آن را به آب تبدیل کنند. بسیاری از محققین فعالیت این آنزیم را به‌عنوان عامل کلیدی جهت حفاظت گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی

عنوان نموده‌اند (Meloni et al. 2003). براساس شکل ۷ در هر دو سطح شوری، فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌عنوان راهی برای کاهش تخریب غشای سلولی و آسیب‌دیدگی گیاه در برابر گونه‌های اکسیژن فعال، روند صعودی معنی‌داری با پیشرفت روزهای پس از اعمال تنش شوری نشان داد، اما این افزایش تا روز چهارم پس از اعمال تنش ادامه داشت و پس از آن با برقراری تعادل یونی در سلول و احتمالاً کاهش سیگنال تنش شوری از طرف سلول، از میزان فعالیت آن کاسته شد (Cramer 2002). انتظار می‌رود علت افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز، در طی تنش شوری، افزایش تولید انواع اکسیژن فعال باشد که بسیار واکنش‌گر و سمی بوده و به بیوملکول‌های حیاتی سلول نظیر لیپیدها، DNA و پروتئین‌ها آسیب وارد کرده و در نهایت متابولیسم سلول را مختل می‌نماید که این موجب افزایش فعالیت تنش اکسیداتیو القایی به واسطه سدیم می‌شود و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تولید شده به وسیله سلول‌های گیاهی از جمله پراکسیداز باعث خنثی‌سازی و کاهش گونه‌های اکسیژن فعال و حفاظت از سلول و تحمل در برابر شرایط تنش در گیاه می‌شوند (Sairam & Tyagi 2004).

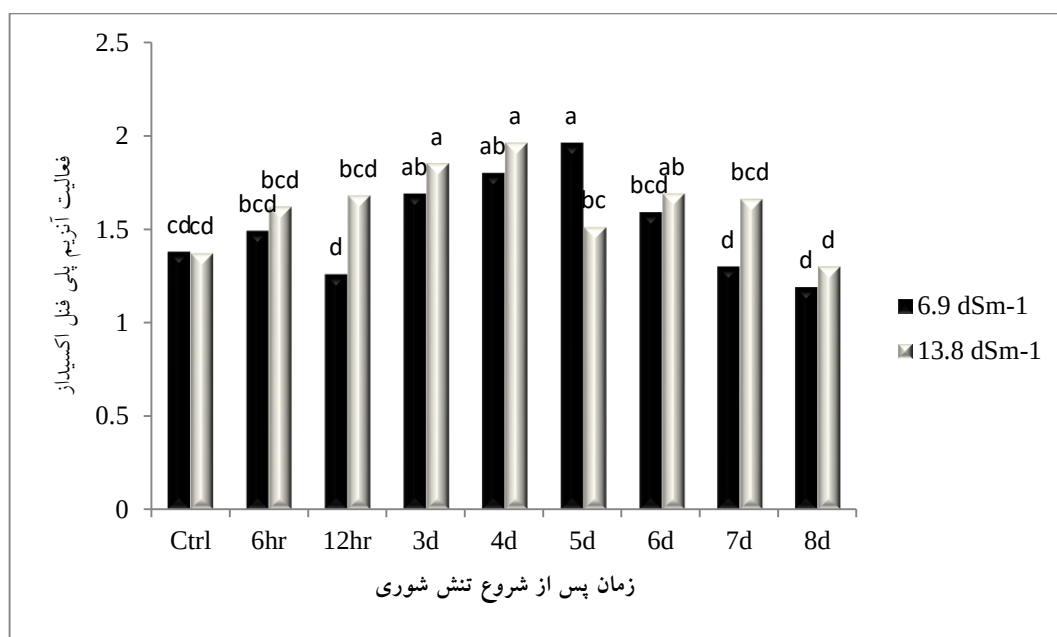


شکل ۷. آنزیم فعالیت پراکسیداز (POX) در نمونه برگ‌گی کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح ۶/۹ و ۱۳/۸ dSm⁻¹. میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 7. Peroxidase content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm⁻¹ and 13.8 dSm⁻¹ is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

۴- آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

پلی‌فنل اکسیداز به‌عنوان یکی از آنزیم‌هایی که در محافظت سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو نقش دارد شناخته شده است و به‌عنوان جزئی از سیستم دفاع آنزیمی محسوب می‌شود (Chisari et al. 2007). نتایج این بررسی نشان داد با افزایش ساعات پس از اعمال تنش شوری، میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تا روز پنجم افزایش معنی‌داری می‌یابد (شکل ۸). علت این افزایش در طی تنش شوری نیز مطابق با نتایج قبلی، احتمالاً به‌دلیل افزایش حضور ROSهایی از قبیل پراکسید هیدروژن بوده است. از روز پنجم میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز کاهش یافت. همانطور که در مورد فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز بحث شد، احتمالاً یکی دیگر از علل کاهش پلی‌فنل اکسیداز، ثابت شدن نسبت K^+/Na^+ باشد که روزهای انتهایی در سلول اتفاق می‌افتد. نکته حائز اهمیت دیگر اینکه با افزایش ساعات تنش، تفاوت معنی‌داری بین سطوح $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ و $13/8 \text{ dSm}^{-1}$ در فعالیت این آنزیم مشاهده نشد (شکل ۸ و جدول ۱). به‌طور کلی آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در آپوپلاست‌ها به‌عنوان مصرف‌کننده پراکسید هیدروژن و آنزیم‌های اکسیدکننده فنل، عمل می‌کند (Kiamoghadam & Bagherieg-Najjar 2012).



شکل ۸. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در نمونه برگ‌گی کینوا تحت تیمار تنش شوری سطوح $6/9 \text{ dSm}^{-1}$ و $13/8 \text{ dSm}^{-1}$. میانگین ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

Figure 8. Polyphenol oxidase content in leaf sample of Quinoa under salinity stress at 6.9 dSm^{-1} and 13.8 dSm^{-1} is. The average of the columns that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

نتیجه گیری کلی: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که میزان تجمع پراکسید هیدروژن در سلول به محض دریافت سیگنال های شوری، افزایش یافت. مطالعه همزمان نمودار مربوط به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین آنزیم سم زدای ROS ها در سلول و نیز نمودار مربوط به پراکسید هیدروژن نیز نشان داد که سلول به محض تولید یون اکسیژن میزان فعالیت آنزیم مذکور را به جهت تبدیل این مولکول به پراکسید هیدروژن افزایش داده است. براین اساس، در مطالعه ما بیشترین میزان تجمع معنی دار پراکسید هیدروژن در روزهای ۴ تا ۶ و تقریباً منطبق با نتایج نمودار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گزارش شد. نتایج همچنین حاکی از خسارت اکسیداتیو بیشتر پراکسید هیدروژن به لیپید های غشایی و پراکسیداسیون لیپیدها با اندازه گیری مالون دی آلدئید به عنوان شاخص سنجش این اتفاق بود. در پژوهش حاضر نمودار میزان تجمع مالون دی آلدئید نیز در روزهای ششم به بعد حداکثر مقدار معنی دار خود را نسبت به شاهد نشان داد به طوری که ممکن است این مقدار ناشی از حداکثر تجمع پراکسید هیدروژن در روزهای ۴ تا ۶ باشد که در روزهای ۷ و ۸ به حداکثر مقدار خود رسید. اما بررسی نمودار آنزیم های حذف کننده پراکسید هیدروژن (آنتی اکسیدانت) در روزهای پایانی این بررسی روند نزولی را طی نمود که احتمالاً به معنای کاهش تولید ROS پس از یک هفته اعمال تنش می باشد. نتایج حاصل از بررسی ما همچنین نشان داد که آنزیم کاتالاز همزمان با افزایش پراکسید هیدروژن تا روز ۴، افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشته و تجمع این مولکول را در سلول کنترل نموده است. مطالعه نمودار آنزیم های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز نیز به عنوان دیگر آنزیم های آنتی اکسیدانت دخیل در حذف مولکول ROS شرایط مشابه آنزیم کاتالاز را نشان داد به طوری که از میزان فعالیت این دو آنزیم نیز در روزهای ۶ به بعد کاسته شد. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش می توان اذعان داشت که رقم تیتیکا کای مورد مطالعه در روزهای اول پس از اعمال تنش شوری با فعال نمودن پاسخ های بیوشیمیایی و آنزیمی نسبت به مقابله با تنش اقدام نموده و در حدود یک هفته پس از تنش به خوبی توانسته است به هموستازی سلولی دست یافته تا از ایجاد خسارت بیشتر به گیاه جلوگیری نماید.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت مالی و پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و همچنین خدمات ارزنده مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان گلستان و فراهم نمودن امکانات مورد نیاز در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می شود.

References

- Alandia, G., Rodriguez, J. P., Jacobsen, S. E., Bazile, D., & Condori, B. (2020). Global expansion of quinoa and challenges for the Andean region. *Global Food Security*, 26, 100429. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100429>
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 601-639.

- <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601>
- Ashraf, M. J. B. A. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, 27(1), 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.003>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bromham, L. (2015). Macroevolutionary patterns of salt tolerance in angiosperms. *Annals of Botany*, 115(3), 333-341. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu229>
- Chisari, M., Barbagallo, R. N., & Spagna, G. (2007). Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3469-347. <https://doi.org/10.1021/jf063402k>
- Cramer, G. R. (2002). Response of abscisic acid mutant of Arabidopsis to salinity. *Functional Plant Biology*, 29, 561-567. <https://doi.org/10.1071/PP01132>
- De Oliveira Oliveira Junkes, C. F., Neis, F. A., de Costa, F., Yendo, A. C. A., & Fett-Neto, A. G. (2019). Environmental factors impacting bioactive metabolite accumulation in brazilian medicinal plants. *Brazilian Medicinal Plants*, 11, 109-134.
- Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experiment Botany*, 55(396), 307-319. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh003>
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2015). Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of Botany*, 115(3), 327-331. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu267>
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- Gniazdowska, A., Krasuska U., & Bogatek, R. (2010). Dormancy removal in apple embryos by nitric oxide or cyanide involves modifications in ethylene biosynthetic pathway. *Planta*, 232(6), 1397-1407. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1262-2>
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., & Toulmin, C. (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327(5967), 812-818. <https://doi.org/10.1126/science.1185383>
- Golden, T. R., Hinerfeld, D. A., & Melov, S. (2002). Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell*, 1(2), 117-123. <https://doi.org/10.1046/j.1474-9728.2002.00015.x>
- Greive, C. M., & Grattan, S. R. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary-amino compounds. *Plant Soil*, 70, 303-307. <https://doi.org/10.1007/BF02374789>

- Hamanaka, R. B., & Chandel, N. S. (2009). Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(6), 894-899. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.08.005>
- Heidarvand, L., Maali Amiri, R., Naghavi, M. R., Farayed, Y., Sadeghzadeh, B., & Alizadeh, K. H. (2011). Physiological and morphological characteristics of chickpea accessions under low temperature stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 157-163. <https://doi.org/10.1134/S1021443711010080>
- Hosseini, S. S., Ramezanpour, S. S., Soltanloo, H., & Seifati, S. E. (2023). RNA-seq analysis and reconstruction of gene networks involved in response to salinity stress in quinoa (cv.Titicaca). *Scientific Reports*, 13, 7308. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34534-9>
- Hu, Y., Ge, Y., Zhang, C., Ju, T., & Cheng, W. (2009). Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. *Plant Growth Regulation*, 59, 51-61. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9387-7>
- Jacobsen, S. E., Mujica, A., & Jensen, C. R. (2003). The Resistance of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to Adverse Abiotic Factors. *Food Reviews International*, 19(12), 99-109. <https://doi.org/10.1081/FRI-120018872>
- Jacobsen, S. E. (2017). The scope for adaptation of quinoa in Northern Latitudes of Europe. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(6), 603-613. <https://doi.org/10.1111/jac.12228>
- Jaleel, C. A., Gopi, R., Sankar, B., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sridharan, R., & Panneerselvam, R. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South African Journal of Botany*, 73(2), 190-195. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.11.001>
- Katsuhara, M., Otsuka, T., & Ezaki, B. (2005). Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. *Plant Sciences*, 169(2), 369-373. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.03.030>
- Khalofah, A., Migdadi, H., & El-Harty, E. (2021). Antioxidant enzymatic activities and growth response of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd) to exogenous selenium application. *Plants*, 10(4), 719. <https://doi.org/10.3390/plants10040719>
- Kiamoghadam, M. R. & Bagherieg-Najjar, M. B. (2012). Analysis of some physiological and biochemical parameters in AtrecQ14A mutant plants under salinity stress. *Journal of Plant Production Research*, 16, 115-132. <https://doi.org/10.1001.1.23222050.1388.16.1.9.4>
- Larkindale, J., Hall, J. D., Knight, M. R., & Vierling, E. (2005). Heat stress phenotypes of *Arabidopsis* mutants implicate multiple signaling pathways in the acquisition of

- thermotolerance. *Plant Physiology*, 138(2), 882-897. <https://doi.org/10.1104/pp.105.062257>
- Maehly, A. C., & Chance, B. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in enzymology*, 2, 764-775. <https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14>
- Mckersie, D. B., & Leshem, Y. (1994). Stress and stress coping in cultivated plants. *Biologia Plantarum*, 37, 380. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-3093-8>
- Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A., & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reeducates in cotton under salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 15(2), 12-21. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00058-8](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00058-8)
- Meng, X., Li, B., Liu, J., & Tian, S. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and post-harvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106, 501-508. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.012>
- Minami, M., & Yoshikawa, H. (1979). A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clinica Chimica Acta*, 92(3), 337-342. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(79\)90211-0](https://doi.org/10.1016/0009-8981(79)90211-0)
- Mirmohammadi meybodi, A. M., & Ghareyazi, B. (2002). Physiological and genetic aspects of plant salinity stress. Isfahan University of Technology. Iran [In Persian]
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Munns, R., James, R. A., & Läuchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57, 1025-1043. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj100>
- Nayyar, H. (2003). Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water-stressed wheat (*Triticum aestivum*) and maize (*Zea mays*) as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany*, 50(3), 253-264. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(03\)00038-8](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(03)00038-8)
- Ngo, T., & Lenhoff, M. (1980). A sensitive and versatile chromogenic assay for peroxidase and peroxidase-coupled reactions. *Analytical Biochemistry*, 105, 389-397. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90475-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(80)90475-3)
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- Olmos, E., Jimenez-Perez, B., Roman-Garcia, I., & Fernandez-Garcia, N. (2024). Salt-tolerance mechanisms in quinoa: Is glycinebetaine the missing piece of the puzzle? *Plant Physiology*

- and *Biochemistry*, 206, 108276. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108276>
- Peltzer, D., Dreyer, E., & Polle, A. (2002). Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(2), 141-150. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(01\)01352-3](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01352-3)
- Polle, A. (2001). Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. *Plant Physiology*, 126(1), 445-462. <https://doi.org/10.1104/pp.126.1.445>
- Pradedova, E. V., Isheeva, O. D., & Salyaev, R. K. (2011). Classification of the antioxidant defense system as the ground for reasonable organization of experimental studies of the oxidative stress in plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(2), 210-217. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.050526>
- Rios-Gonzalez, K., Erdei, L., & Lips, S. H. (2002). The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Science*, 162(6), 923-930. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00040-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00040-7)
- Reguera, M., Conesa, C.M., Gil-Gómez, A., Haros, C.M., Pérez-Casas, M.Á., Briones-Labarca, V., Bolaños, L., Bonilla, I., Álvarez, R., Pinto, K., & Mujica, Á. (2018). The impact of different agroecological conditions on the nutritional composition of quinoa seeds. *Peer Journal*, 6, e4442.
- Sairam, R. K., & Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86(3), 407-421.
- Shen, B., Jensen, R. G., & Bohnert, H. J. (1997). Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiology*, 115(2), 527-532. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.527>
- Sindhu, R., & Khatkar, B. (2019). Pseudocereals: nutritional composition, functional properties, and food applications. In: *Food Bioactives*. New Jersey: Apple Academic Press, 129–147
- Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., & Masia, A. (2004). Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. *Plant Science*, 166(2), 293-302. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.09.018>
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R., & Thomas, G. (2003). Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oriza sativa* L.) differential response in salt tolerant and sensitive varieties. *Plant Science*, 165, 1411-1418. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.08.005>
- Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Van De Cotte, B., Morsa, S., Ravanat, J. L., Hegie, A., Triantaphylides, C., Shulaev, V., Van Montagu, M. C., & Van Breusegem, F. (2011). Extranuclear protection of chromosomal DNA from oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(4), 1711-1716.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1018359108>

Wang, X., Bai, J., Wang, W., Zhang, G., Yin, S., & Wang, D. (2021). A comparative metabolomics analysis of the halophyte *Suaeda salsa* and *Salicornia europaea*. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(3), 1109–1122. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00569-4>