

بررسی ویژگی‌های مولکولی و بیوشیمیایی واریته‌های کینوا (*Chenopodium quinoa*)

اعظم راسخی کازرونی^۱، محمد رضا زمانی^۲، فاطمه حیدریان نائینی^{۳*}، اسما راسخی کازرونی^۳، علیرضا منصوریان^۴ و سعید سلامی^۵

^۱ ایران، اصفهان، میمه، مؤسسه آموزش عالی نور دانش میمه، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، گروه زیست‌فناوری مولکولی گیاهی

^۳ ایران، شیراز، دانشگاه شیراز، بخش علوم و صنایع غذایی

^۴ ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی مالک اشتر

^۵ ایران، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۹

چکیده

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd) به عنوان محصولی با ارزش، دارای مقاومت طبیعی به شرایط خشکی، گزینه مناسبی برای بهبود امنیت و کیفیت غذایی، مقاوم به استرس و از خانواده تاج خروسیان بوده که از هفت هزار سال پیش در مناطق آند کشت گردیده است. دانه‌های کینوا منابع غنی از پلی‌فنلها بوده که قادرند، اجزای سلولی را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت نموده و خطر بروز انواع بیماریهای وابسته به تنش اکسیداتیو را کاهش دهند. در این مطالعه، پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی واریته‌های کینوای کشت‌شده در شرایط اقلیمی میمه اصفهان شامل محتوای فنل کل، اسیدآمینو آزاد کل، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، پروتئین محلول کل، SDS-PAGE پروتئین محلول و مشاهدات کروموزومی سنجیده شد. میکروسکوپ نوری ابزار مناسبی برای مطالعه کروموزومهای کینوا نبود. از ۵ واریته کینوا، محتوای فنل کل به طرز معنی‌داری در Q₂₉ (۱۲/۹۰±۲/۶۲) میکروگرم گالیک‌اسید بر میلی‌گرم دانه، بیشتر بود. آنالیز واریانس محتوای اسیدآمینو کل، تفاوت‌های معنی‌داری بین واریته‌ها نشان داد (p<0.05). فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (۰/۱۴۴±۰/۰۰۱) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ تازه) و اسیدآمینو آزاد کل (۳۱/۴۴±۲/۷۲) میلی‌گرم گلیسین بر گرم برگ تازه) در Q₁₈ کمتر از سایرین بود. واریته‌های Q₁₈ (۲/۶۲±۰/۳۱) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)، Q₂₉ (۲/۳۶±۰/۱۹) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه) و Q₂₂ (۲/۲۰±۰/۸۵) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه) به ترتیب دارای بیشترین میزان پروتئین محلول کل بودند. هر ۵ واریته، دارای باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۳۵، ۵۵، ۶۰ و ۱۷۰ کیلودالتون، بودند که باند ۱۷۰ کیلودالتونی برای نخستین بار در کینوا رؤیت شد.

واژه‌های کلیدی: سوپر اکسیددیسموتاز، *Chenopodium quinoa*، کروموزوم، SDS-PAGE، اسیدآمینو آزاد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۳۰۴۰۲۸۴، پست الکترونیکی: mansoorian271@yahoo.com

مقدمه

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd) به عنوان محصولی با ارزش، دارای مقاومت طبیعی به شرایط خشکی، گزینه مناسبی برای بهبود امنیت و کیفیت غذایی، مقاوم به استرس و از خانواده تاج خروسیان بوده که از هفت هزار سال پیش در مناطق آند کشت گردیده است. دانه‌های کینوا منابع غنی از پلی‌فنلها بوده که قادرند، اجزای سلولی را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت نموده و خطر بروز انواع بیماریهای وابسته به تنش اکسیداتیو مانند سرطان، بیماری قلبی-

همانند مرحله قبل انجام شد با این تفاوت که عصاره‌گیری توسط ۵ میلی‌لیتر استون ۷۰ درصد صورت گرفت. پس از ترکیب نمودن عصاره حاصل از مرحله اول (عصاره متانولی) با عصاره حاصل از مرحله دوم (عصاره استونی)، عصاره نهایی تا زمان اندازه‌گیری پلی‌فنل کل در تاریکی و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۶ و ۴۸). میزان پلی‌فنل کل بر اساس روش فولین-سیوکالته چنانچه سلمانیان و همکاران (۱۳۹۳) بیان نموده‌اند، اندازه‌گیری شد (۹). اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. به طور خلاصه در این روش، ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره درون لوله آزمایش با ۱/۱۶۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالته مخلوط شدند. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول بی‌کربنات سدیم (۲۰ درصد وزنی- حجمی) به محتوای لوله آزمایش افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن، درون حمام آب با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. میزان پلی‌فنل کل با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میکروگرم گالیک اسید بر میلی‌گرم دانه بیان گردید (۹).

اندازه‌گیری محتوای اسیدهای آمینه آزاد: ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۱۰ درصد ساییده و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از صاف نمودن هموژن حاصل توسط کاغذ صافی، برای تعیین میزان اسیدهای آمینه آزاد، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده برداشته و به آن ۱ میلی‌لیتر بافر استیک اسید-استات سدیم، ۳ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۰/۱ میلی-لیتر، آسکوربیک اسید ۳ درصد اضافه شد. محلول فوق به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن، حجم محلول فوق با اتانول ۶۰

عروقی و پوکی استخوان را کاهش دهند. با وجود معضل کم‌آبی در کشور، با توجه به مزایای تغذیه‌ای این گیاه، مقاومت آن به خشکی و همچنین کم‌سابقه بودن کشت آن در ایران (۵، ۸، ۱۹، ۳۱، ۴۸ و ۶۱)، انجام بررسیهای بیوشیمیایی، سلولی و مولکولی واریته‌های مختلف آن با هدف پی‌بردن به مکانیسمهای مقاومت گیاه و نیز گزینش واریته‌های مناسب با توجه به اهداف مختلف، ضروری است.

مواد و روشها

مواد مورد استفاده: مواد شیمیایی شرکت‌های Merck و Sigma-Aldrich مورد استفاده قرار گرفتند.

بذرهای ۵ واریته کینوا (Q18، Q22، Q29، Titicaca، RedCarina) از مؤسسه بذر و نهال کرج تهیه شد. در مزرعه نور دانش میمه از اواخر اردیبهشت ۹۶ تا اوایل شهریور ۹۶ کشت گردید و آبیاری هر نه روز یک بار انجام شد. برای کینوا آبیاری هر سه روز یک مرتبه آبیاری مناسب و آبیاری هر نه روز یک بار تنش شدید آبی محسوب می‌گردد (۱۷). پس از برداشت، برگها بلافاصله درون کیسه‌های پلاستیکی جمع‌آوری سپس در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده، نگهداری شد.

اندازه‌گیری پلی‌فنل کل: دانه‌ها ابتدا پودر شده و از الک با اندازه مش ۶۰ عبور داده شدند. ۰/۱۲۵ گرم از نمونه‌های پودر شده با ۵ میلی‌لیتر از حلال استخراج (ترکیبی از متانول، هیدروکلریک اسید ۰/۱۶ مولار و آب به ترتیب به نسبت‌های ۸: ۱: ۱)، مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۲ ساعت در تاریکی نگهداری شده؛ آنگاه با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه در دمای محیط و در تاریکی توسط شیکر بهم زده، سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط، با سرعت ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ و مایع رویی به تیوب دیگری منتقل شد. رسوب حاصل مجدداً عصاره‌گیری شد. این مرحله نیز

روشنایی لامپ ۴۰ وات، بلافاصله واکنش آغاز شد. پس از ۱۰ دقیقه جذب نمونه در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم، نیاز به شاهد روشنایی است. شاهد روشنایی شامل ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (فاقد آنزیم) و ۹۰۰ میکرولیتر محلول واکنش بود. همچنین از ترکیب واکنشی کامل دیگری به عنوان نمونه بلانک استفاده شد که حاوی عصاره آنزیمی بود و از ابتدا در تاریکی مطلق قرار گرفت. به این ترتیب میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه‌ها در مقایسه با شاهد روشنایی سنجیده شد. به دلیل عدم وجود آنزیم در شاهد روشنایی، احیاء NBT در حضور نور به طور صد درصد انجام گرفته و تمام NBT موجود در محلول واکنش به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب این شاهد در طول موج ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده صد درصد احیاء نوری NBT است و نیمی از آن، معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد. بنابراین یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیاء نوری NBT می‌گردد. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی در طول موج ۵۶۰ نانومتر، نشان‌دهنده مهار احیاء نوری NBT در حضور آنزیم سوپراکسید دیسموتاز موجود در نمونه می‌باشد. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه شده و فعالیت ویژه آنزیم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (بر حسب میلی-گرم) در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره بیان گردید (۱، ۲ و ۲۹). درصد ممانعت‌کنندگی از احیاء NBT در هر نمونه از طریق رابطه ۱ محاسبه شد که Z بیانگر تعداد واحد آنزیمی بر حسب میکرولیتر و Y بیانگر میزان ممانعت‌کنندگی بر حسب درصد می‌باشد (رابطه ۲). عدد ۱۰۰ در واقع حجم عصاره آنزیمی است.

$$Z = \frac{100 \times X}{Y} \quad \text{(رابطه ۱) جذب نمونه}$$

Y = میزان ممانعت‌کنندگی بر حسب درصد

درصد به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده و جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. میزان اسیدهای آمینه آزاد با استفاده از منحنی استاندارد گلیسین بر حسب میکروگرم گلیسین بر گرم برگ تازه، بیان گردید (۱۲ و ۶۳).

اندازه‌گیری پروتئین محلول کل: ۱ گرم از بافت برگ تازه در حضور بافر استخراج (پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷) له شد. برای عصاره‌گیری، مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۸۹۹۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شد. پروتئین محلول کل مطابق روش بردفورد (۱۹۷۹) اندازه‌گیری شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده را با ۲۰۰ میکرولیتر معرف رنگی بردفورد و ۷۹۰ میکرولیتر آب مقطر ترکیب و جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. میزان پروتئین محلول کل با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی بر حسب میلی‌گرم بر گرم برگ تازه بیان شد (۱۰ و ۲۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: ۱ گرم از نمونه برگ در ۲ میلی‌لیتر فسفات بافر در هاون ساییده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۸۹۹۰ g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم به کمک سنجش توانایی آن در جلوگیری از احیاء نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام گرفت. برای این منظور ابتدا محلول بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۸ تهیه شد. به منظور تهیه محلول واکنش، ترکیبات EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، NBT ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و ریبوفلاوین ۲ میکرومولار، به ترتیب به یکدیگر اضافه و محلول حاصل در تاریکی نگه داشته شد. از هر نمونه عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر در هر ویال ریخته و ۹۰۰ میکرولیتر از محلول واکنش به آن اضافه گردید؛ با قرار گرفتن نمونه تحت

Z = تعداد واحد آنزیمی بر حسب میکرولیتر

$$Y = \frac{OD\ sample - OD\ control}{OD\ control} \quad (\text{رابطه ۲})$$

ODsample = جذب نمونه دارای عصاره آنزیمی

ODcontrol = جذب نمونه فاقد عصاره آنزیمی

مشاهده کروموزومها: مراحل جوانه‌زنی بذرها، پیش تیمار، تثبیت، هیدرولیز و رنگ‌آمیزی به منظور تهیه لام به شرح زیر انجام شد. برای استفاده از مریستم انتهایی ریشه، تعدادی بذر روی کاغذ صافی مرطوب در پتری دیش قرار داده شد. بدون ضدعفونی کردن بذرها پیش از ریشه‌زایی، بدون هیچ مشکلی ریشه‌زایی رخ داد. پتری دیشها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. وقتی طول ریشه‌ها به ۱ سانتیمتر رسید عمل قطع ریشه انجام شد (۴، ۱۵ و ۱۶). ریشه‌ها به محلول حاوی ۸- هیدروکسی کینولین ۰/۰۰۲ مولار و دی‌متیل-سولفوکسید ۰/۰۳ درصد منتقل شده و به مدت ۳ الی ۵ ساعت در تاریکی در یخچال نگهداری شدند. در این مرحله ریشه‌ها در محلول کارنوی I (اتانول- استیک‌اسید (۱:۳)) در یخچال به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. سپس ریشه‌ها به الکل ۷۰ درصد انتقال داده شد و تا زمان استفاده از آنها، در یخچال نگهداری شدند. قبل از رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها ۲ بار به مدت ۵ دقیقه توسط آب مقطر شستشو داده شده، سپس توسط سیترات بافر ۰/۰۱ مولار به مدت ۳۰ دقیقه تیمار شد. ریشه‌ها به مدت ۴ ساعت در پکتیناز ۱ درصد و سلولاز (۵۰ میلی‌گرم سلولاز و ۱ میلی‌لیتر پکتیناز رقیق شده در ۱۰ میلی‌لیتر سیترات بافر ۰/۰۱ مولار با ۴/۸- pH=۴/۵) و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد، سپس به مدت ۱۱ دقیقه در هیدروکلریک‌اسید ۱ نرمال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز شدند. رنگ‌آمیزی به روش فولژن یعنی قرار گرفتن ریشه‌ها در محلول استوکارمن ۱ درصد به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس ریشه‌ها روی لام قرار

گرفت و پس از افزودن استیک‌اسید ۴۵ درصد، عمل اسکواش انجام شد (۳۲).

بررسی پروتئینها به روش SDS-PAGE: برای استخراج پروتئین‌های محلول، قطعات برگ با کمک ازت مایع کاملاً به صورت پودر درآمدند. سپس بافت نرم شده به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل و به نسبت ۱ گرم بافت برگ به ۳ میلی لیتر بافر استخراج با pH=۷ (Tris-HCl ۵۰ میلی مولار، PMSF ۱ میلی مولار، EDTA ۲ میلی مولار و مرکاپتواتانول ۱ میلی مولار) به لوله‌ها افزوده گردید. سپس لوله‌های حاوی محلول به مدت ۳ الی ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۳۳۹۶۵ g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پس از آن محلول رویی جمع‌آوری و توسط استون سرد (۱ حجم نمونه به ۳ حجم استون) رسوب داده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریزر به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. پس از آن مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۳۹۶۵ g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. در این مرحله محلول رویی به آرامی خالی گردید و رسوب حاصله در دمای اتاق کاملاً خشک و پس از آن به این رسوب مقدار کمی از بافر استخراج (حدوداً ۳۰۰ میکرولیتر) افزوده شده، با دقت رسوب موجود حل گردید و مجدداً به مدت ۵ دقیقه با ۳۳۹۶۵ g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و برای بررسی پروتئینها به روش SDS-PAGE استفاده شد (۳۷). به منظور انجام SDS-PAGE از دستگاه الکتروفورز عمودی (شرکت پایا پژوهش پارس، ایران) استفاده شد. ژل آکریل‌امید ۱۲/۵ درصد در شرایط احیایی بر اساس روش Laemmli ساخته شده و باندهای پروتئینی با رنگ‌آمیزی کوماسی بریلیانت بلو R250 ظاهر شدند (۷ و ۳۸).

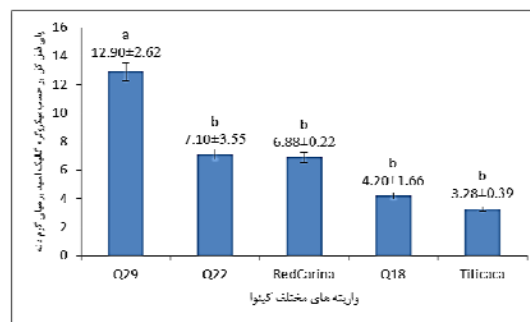
تجزیه و تحلیل داده‌ها: پژوهش حاضر بر اساس یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار برای هر آنالیز انجام شد. نتایج به صورت میانگین \pm تغییرات انحراف استاندارد بیان شدند و

بیشترین میزان اسیدهای آمینه آزاد برگ متعلق به واریته Titicaca و کمترین میزان، متعلق به واریته Q18 بود که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌داری بود ($p < 0.05$). پس از واریته Titicaca ($42/68 \pm 1/25$) میلی‌گرم گلیسین بر گرم برگ تازه)، میزان اسیدهای آمینه آزاد برگ به ترتیب در واریته‌های Q29 ($39/41 \pm 1/27$) میلی‌گرم گلیسین بر گرم برگ تازه)، RedCarina ($38/33 \pm 2/74$) میلی‌گرم گلیسین بر گرم برگ تازه)، Q22 ($35/07 \pm 9/24$) میلی‌گرم گلیسین بر گرم برگ تازه) و Q18 ($31/44 \pm 2/72$) میلی‌گرم گلیسین بر گرم برگ تازه) بیشتر بود (شکل ۲). واریته‌های Q29، RedCarina و Q22 از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. بین این سه واریته با واریته Titicaca و نیز بین این سه واریته با واریته Q18 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ هرچند که واریته‌های Titicaca و Q18، خود در دو سطح آماری مختلف قرار داشتند. در زمان کمبود آب، پتانسیل نگهداری آب برای رشد پیوسته و یکنواخت گیاه، ضروری است و این امر از طریق سازوکارهای تنظیم اسمزی ناشی از تجمع مواد محلول سازگار در سیستم امکانپذیر می‌باشد (۵۶). برخی گیاهان از قبیل هالوفیتها در پاسخ به کمبود آب، اسمولیت‌های رقابتی مانند اسیدهای آمینه آزاد و قندهای الکلی را به مقادیر زیاد در سلولهای خود تجمع می‌سازند. اثبات شده است که اسمولیت‌های رقابتی با واکنشهای بیوشیمیایی معمول هیچگونه تداخلی ندارند و تنها به عنوان اسمولیت‌های محافظتی در حین تنش اسمزی عمل می‌کنند (۱۷). در شرایط تنش خشکی، میزان فتوسنتز به دلیل بسته شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد. با پیشرفت خشکی، به دلیل تغییرات بیوشیمیایی در کلروپلاست، تثبیت گاز دی‌اکسید کربن کاهش بیشتری پیدا کرده و در چنین شرایطی کاهش تثبیت گاز دی‌اکسید کربن موجب احیای شدید زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و نشت الکترون به مولکول اکسیژن و در نتیجه تشکیل انواع اکسیژن فعال (ROS) می‌گردد. در غلظتهای زیاد، اکسیژن‌های فعال از طریق تخریب اکسیداتیو لیپیدها،

برای تحلیل داده‌ها از آنالیز ANOVA و آزمون دانکن با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد.

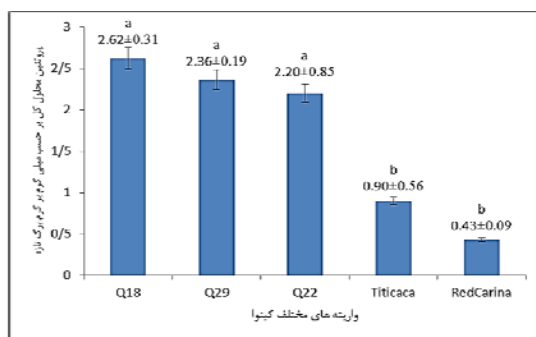
نتایج و بحث

از نظر میزان پلی‌فنل کل دانه، واریته Q29 ($12/90 \pm 2/62$) میکروگرم گالیک اسید بر میلی‌گرم دانه) در مقایسه با سایر واریته‌ها دارای بیشترین مقدار بود که این اختلاف از نظر آماری کاملاً معنی‌دار شد ($p < 0.05$). میزان پلی‌فنل کل در واریته Q29 تقریباً ۴ برابر پلی‌فنل کل دانه در واریته Titicaca ($3/28 \pm 0/39$) میکروگرم گالیک اسید بر میلی‌گرم دانه) بود (شکل ۱). ژنوتیپ‌های مختلف هر محصول کشاورزی خاص از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی با یکدیگر متفاوت هستند (۶۴، ۶۵ و ۶۶). بین محتوای پلی‌فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه‌ای خطی برقرار است و با افزایش محتوای پلی‌فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دانه‌ها افزایش می‌یابد (۳۴، ۳۹، ۴۰ و ۶۷). وجود این ارتباط قوی بین محتوای پلی‌فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حاکی از آن است که محتوای پلی‌فنل کل، شاخص پیش‌بینی‌کننده مناسبی برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی دانه‌ها در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. دانه‌های کینوا به واسطه وجود ترکیبات فنلی، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که خطر ابتلا به آن دسته از بیماریها را که با افزایش رادیکالهای آزاد ارتباط مستقیم دارند، کاهش می‌دهد (۴۸). بنابراین واریته Q29 از این نظر به سایر واریته‌ها ترجیح داده می‌شود.



شکل ۱- مقایسه پلی‌فنل کل در واریته‌های کینوا. حروف a و b بیانگر تفاوت‌های معنی‌دار بین واریته‌هاست ($p < 0.05$).

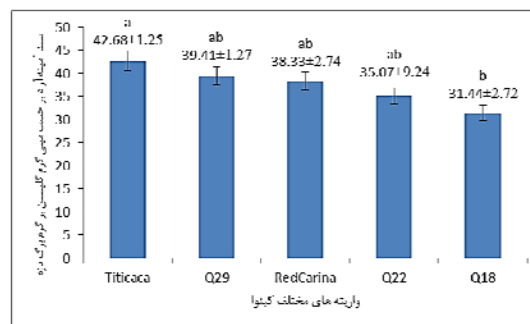
تمام ارقام کاهش می‌یابد اما تفاوت معنی‌داری بین ارقام وجود ندارد (۳). در بررسی اثرات تنش خشکی و ژنوتیپ بر عملکرد دانه نخود در شرایط مزرعه در مرحله زایشی، تنش خشکی، میزان پروتئین محلول برگ را از ۱۷/۵ به ۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کاهش داد، اما در مجموع رابطه-ای بین میزان پروتئین محلول برگ و مقاومت به خشکی مشاهده نشد (۱۱). تنش آبی سطوح پروتئینی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و نتایج ضد و نقیضی را به همراه داشته است به طوری که برخی کاهش و گروهی افزایش در سطوح پروتئینی را تحت تنش آبی گزارش کرده‌اند (۵۰ و ۵۷).



شکل ۳- مقایسه میزان پروتئین محلول کل در واریته‌های کینوا. حروف a و b بیانگر تفاوت‌های معنی‌دار بین واریته‌هاست ($p < 0.05$).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در واریته RedCarina (0.747 ± 0.118) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ تازه) بیش از سایر واریته‌ها بود که البته این اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$). پس از واریته RedCarina، واریته Titicaca (0.417 ± 0.004) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ تازه) از نظر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بیشترین میزان را داشت (شکل ۴). واریته‌های Q22 (0.163 ± 0.013) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ تازه)، Q29 (0.158 ± 0.001) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ تازه) و Q18 (0.144 ± 0.001) واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ تازه) نیز از نظر آماری در یک سطح قرار گرفتند. وجود رابطه معکوس بین میزان پروتئین محلول کل و میزان فعالیت سوپراکسید

پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک به سازوکارهای طبیعی سلول آسیب می‌رسانند (۲۴، ۲۷، ۴۹ و ۵۳). تحقیقات نشان داده‌اند که در آن دسته از ژنوتیپ‌های کینوا که نسبت به خشکی و تنش کم‌آبی مقاومند، مقدار اسیدهای آمینه آزاد برگ در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس به خشکی و کم‌آبی، بیشتر است. همچنین، در تمام ژنوتیپ‌ها میزان اسیدآمینه آزاد گلوسین در برگ در شرایط کم‌آبی بیش از شرایط معمولی است (۱۷).



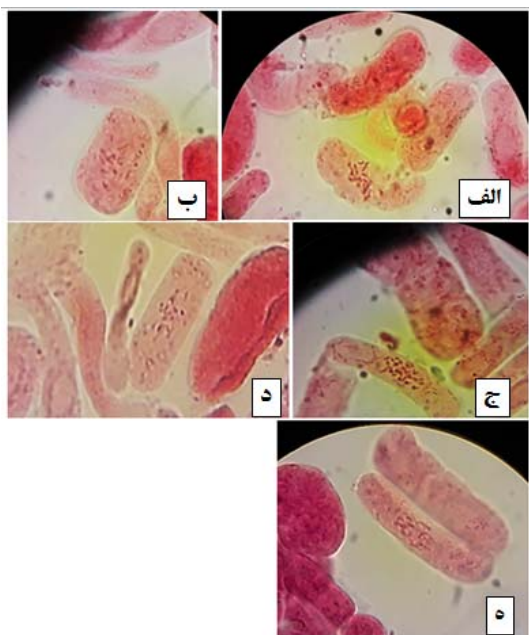
شکل ۲- مقایسه میزان اسیدآمینه آزاد در واریته‌های کینوا. حروف a و b بیانگر تفاوت‌های معنی‌دار بین واریته‌هاست ($p < 0.05$).

میزان پروتئین محلول کل در واریته‌های Q18، Q29 و Q22 بیشتر از دو واریته Titicaca و RedCarina بود. با توجه به نتایج آنالیز آماری (شکل ۳)، واریته‌های Q18 ($2/62 \pm 0/31$) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه)، Q29 ($2/36 \pm 0/19$) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه) و Q22 ($2/20 \pm 0/85$) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه) که به ترتیب دارای بیشترین میزان پروتئین محلول کل بودند، همگی در یک سطح قرار گرفتند ($p < 0.05$). بین واریته‌های Titicaca ($0/90 \pm 0/56$) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه) و RedCarina ($0/43 \pm 0/09$) میلی‌گرم بر گرم برگ تازه) نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعاتی که به منظور بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان به تنش انجام می‌شود، مقدار پروتئین کل یکی از شاخص‌های بیوشیمیایی محسوب می‌گردد. زیتون نیز یکی از گونه‌های متحمل به خشکی است اما پژوهش‌ها نشان داده که ارقام مختلف زیتون، تحمل متفاوتی نسبت به کمبود آب نشان می‌دهند. در شرایط تنش، پروتئین محلول کل در

چای، سازوکارهای آنزیمی و افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی می‌تواند تا حد زیادی خطرها و آسیبهای ناشی از کاهش دما را مرتفع سازد. در برگ چای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر کاهش دما فعالیت خود را با هدف خنثی کردن و به حداقل رسانیدن آسیبهای اکسیداتیو افزایش می‌دهد (۹). افزایش رادیکالهای آزاد مثل سوپراکسید، نتیجه مواجهه گیاه با تنشهای محیطی مانند خشکی است. در این راستا، واکنش بعدی گیاه، سنتز و فعالیت بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در جهت خنثی‌سازی هر چه بیشتر آنیون مخرب سوپراکسید می‌باشد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سلولها در پاسخ به تنشهای مختلف محیطی و تنشهای غیرزیستی مانند شدت نور بالا، شوری و خشکی افزایش پیدا می‌کند. نتایج تحقیقات مؤید این است که همبستگی مثبت و بسیار بالایی بین تحمل تنشهای اکسیداتیو، که به دلیل تنشهای محیطی ایجاد می‌شود و افزایش غلظت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (۱، ۲۰، ۲۲ و ۵۱). حبیبی و همکاران (۲۰۰۴)، در بررسی نحوه فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان در شرایط مزرعه در ۵ رقم آفتابگردان، نشان دادند که در اثر تنش خشکی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد (۳۵). در تحقیق مشابهی که توسط شرما و دوبی (۲۰۰۵)، روی نشاهای برنج انجام شد نیز مشخص گردید که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در اثر تنش خشکی افزایش می‌یابد (۵۴). افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در اثر تنش به وسیله محققین دیگر نیز گزارش شده است. ملازم و بشیرزاده (۱۳۹۶) در بررسی فعالیت آنزیمهای آنتی-اکسیدان در ارقام ذرت (*Zea mays* L.) نشان دادند که تحت تنش شوری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد (۱۳). همان‌طور که نتایج مربوط به اندازه‌گیری اسیدهای آمینه آزاد نشان داده است میزان اسیدآمینه آزاد در برگ واریته Q18 کمتر از سایر واریته‌هاست، با توجه به کمتر بودن میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در این واریته می‌توان استنباط نمود که احتمالاً این واریته در

دیسموتاز می‌تواند به علت اثر تنش بر میزان تولید ترکیبات اکسیداتیو و کاهش میزان پروتئین در نتیجه اثر این ترکیبات بر تجزیه پروتئین و نیاز به حضور بیشتر سوپراکسید دیسموتاز جهت رفع اثر این اکسیدانها باشد. این مطلب توسط سی و سه مرده و همکاران (۱۳۹۳) نیز بیان شده است (۱۱). سوپراکسید دیسموتاز یک آنتی‌اکسیدان قوی است که اولین ماده تولید شده از احیای یک ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپراکسید را از بین می‌برد و به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند و در نتیجه باعث پایداری غشاء و سلولهای گیاهی در شرایط خشکی می‌شود، بنابراین سوپراکسید دیسموتاز به عنوان دفاع اولیه در مقابل رادیکالهای آزاد و اکسیژن در نظر گرفته می‌شود (۱۸). توحیدی مقدم و همکاران (۲۰۰۹)، گزارش کردند که در طی بروز تنش خشکی بر میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، افزوده می‌شود (۶۰). افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز که آنزیمی ضد اکسنده است تحت تنش خشکی موجب افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش خشکی شده و از کاهش رشد و عملکرد گیاه جلوگیری می‌نماید (۶). محققان بیان نموده‌اند که در پاسخ به تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، افزایش می‌یابد که میزان آن در شرایط تنش شدید بیش از تنش ملایم است (۵۲). در گیاهان، افزایش سطح آنزیمهای آنتی-اکسیدان و فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، یکی از سازوکارهای دفاعی گیاه برای مقابله با استرس دمایی پایین و یخزدگی است (۴۱). Clare و همکاران (۱۹۸۴) نشان دادند که در گیاه مقاوم به سرمای *Chlorella ellipsoidea* مقدار سوپراکسید دیسموتاز در استرس سرمایی بالا می‌رود (۲۸). در پژوهشی دیگر در باب برگهای جو که یک دوره دمایی زیر صفر را گذرانده بودند، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر استرس یخزدگی افزایش یافت. در واقع افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در فضای بین سلولی در برگ جو از مهم‌ترین سازوکارهای افزایش تحمل یخزدگی در این گیاه است (۴۵). در برگ

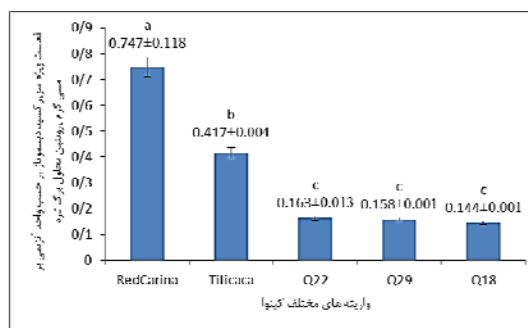
انرژی اتمی (AFM) از کروموزوم‌های کینوا تهیه نمودند تنها قادر به مشاهده و شمارش ۳۲ کروموزوم از ۳۶ کروموزوم شدند. آنها بیان نمودند که این کروموزومها کوچکتر از اندازه طبیعی کروموزوم‌های سایر گونه‌ها می‌باشند. تصاویر حاصل از AFM حاکی از آن بود که ضخامت کروموزوم‌های کینوا، یکنواخت نبوده و بین ۱۶۰ تا ۳۱۰ نانومتر متغیر است. مطابق گزارش آنها طول کروموزوم‌های کینوا بین ۶۰۰ نانومتر تا ۳/۱ میکرومتر بود (۶۴). زیر گونه Barandales کینوا نیز دارای کروموزوم‌هایی به طول ۱/۱۷ تا ۱/۹۶ میکرومتر می‌باشد (۴۷).



شکل ۵- تصویر کروموزوم‌ها با بزرگنمایی $\times 1000$ میکروسکوپ نوری در مرحله متافاز میتوز. الف- واریته Q18 ب- واریته Q22 ج- واریته Red Carina د- واریته Q29 ه- واریته Titicaca.

با توجه به الگوی الکتروفورزی SDS-PAGE پروتئین‌های محلول برگ (شکل ۶) به طور کلی در برگ گیاه کینوا، در هر ۵ واریته، باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۳۵، ۵۵، ۶۰ و ۱۷۰ کیلودالتون، مشاهده شد که احتمالاً پروتئین‌های اختصاصی کینوا می‌باشند.

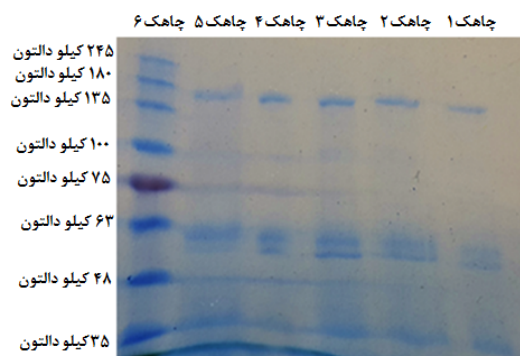
مقایسه با سایر واریته‌ها توان کمتری در مقابله با شرایط خشکی و کم‌آبی و سرما دارد.



شکل ۴- مقایسه واریته‌های کینوا از نظر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. حروف a، b و c تفاوت‌های معنی‌دار بین واریته‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

شکل ۵ سلول‌های مریستم نوک ریشه را در مرحله متافاز تقسیم میتوز نشان می‌دهد. در هر ۵ واریته مورد مطالعه، کروموزوم‌ها از نظر اندازه بسیار کوچک و فاقد بازوی مشخص بوده که تشخیص محل سانترومر را غیر ممکن می‌سازد. در مرحله متافاز میتوز با از بین رفتن غشای هسته، رنگ‌پذیری کروموزوم‌ها میسر شد. در سلول‌هایی که در مرحله متافاز تقسیم میتوز بودند، اغلب کروموزوم‌ها به شکل نقاطی در وسط سلول حضور داشتند. با توجه به ماهیت ظاهری منحصر به فرد کروموزوم‌ها در گونه گیاهی مورد مطالعه، امکان شمارش دقیق کروموزوم‌ها در مرحله متافاز تقسیم میتوز با استفاده از میکروسکوپ نوری حتی در بزرگنمایی $\times 1000$ نیز در هیچ یک از واریته‌ها فراهم نشد. اطلاعات اندکی در مورد سیتوژنتیک کینوا وجود دارد (۶۴). فراتر از این مطلب که تمام واریته‌های *Chenopodium quinoa* دارای $2n=36$ می‌باشند، اطلاعات چندانی در دسترس نمی‌باشد (۲۱، ۲۳، ۳۶ و ۶۲). در مطالعات محققین دیگر نیز گزارش شده است که اندازه‌های کروموزوم‌ها در این گونه بسیار کوچک بوده و کروموزوم‌ها اساساً فاقد پارامترهای افتراقی می‌باشند؛ لذا انجام کاریوتایپ به شکل متداول برای آنها امکان‌پذیر نیست. در تصاویری که این محققان توسط میکروسکوپ

پروتئین‌هایی با وزن مولکولی ۶۰ کیلودالتون نیز در تمام pH های مورد آزمایش Toapanta و همکاران (۲۰۱۶) (۵۹)، یافت شده بودند که آنها با توجه به یافته‌های Abugoch و همکاران (۲۰۰۸) (۱۴)، دریافتند که این پروتئینها متعلق به γ S گلوبولین می‌باشد. Elsohaimy و همکاران (۲۰۱۵) (۳۰)، در هیچ یک از pH های مورد مطالعه خود پروتئین با وزن مولکولی ۸۵ کیلودالتون را مشاهده نکردند. Toapanta و همکاران (۲۰۱۶) (۵۹)، نیز در هیچ یک از pH های مورد آزمایش خود در حضور ۲- بتامراکاپتوانانول، پروتئینهای با وزن مولکولی بالا به عنوان مثال، ۱۳۰ کیلودالتونی را مشاهده نکردند. در تحقیقی که توسط Omar و همکاران (۲۰۱۴) (۴۶)، انجام شد در مقایسه پروتئینهای ۵ ژنوتیپ مختلف کینوا به نامهای $Kvlsra_2$, $Kvlsra_3$, $Regolano$, Q_{37} و Q_{52} به روش SDS-PAGE، باندهای پروتئینی مختلفی مشاهده شدند. در واریته $Kvlsra_2$ یک باند منحصراً به فرد با وزن مولکولی ۱۰۳ کیلودالتون، در واریته Q_{37} باندهای منحصراً به فردی با وزنهای مولکولی ۱۰۰، ۸۰، ۷۴، ۶۹، ۶۳ و ۵۲ کیلودالتون و در واریته $Regolano$ دو باند منحصراً به فرد با وزنهای مولکولی ۹۲ و ۸۷ کیلودالتون مشاهده شدند. در هیچ یک از مطالعات انجام شده روی گیاه کینوا، باند پروتئینی با وزن مولکولی ۱۷۰ کیلودالتون گزارش نشده است. در ایالات پارانا، برزیل، پتانسیل بالایی برای تولید محصولات کشاورزی به خصوص تولید محصولاتی از قبیل ذرت و لوبیای سویا وجود دارد. کشت کینوا می‌تواند در فصل آیش با توجه به مدیریت چرخش کشت، به عنوان یک کشت جایگزین مناسب با هدف تولید محصول دانه‌ای در این مزارع به کار رود. با توجه به زودرس بودن کینوا، این کشت می‌تواند به صورت متناوب با ذرت یا لوبیای سویا جایگزین شود (۲۲). پروتئینهای سویا مخلوطی از پروتئینهای گلوبولی از جمله کانگلیسینین (با وزن مولکولی ۱۷۰-۱۴۰ کیلودالتون دارای سه زیر واحد گلیکوزیله شده) و گلیسینین (با وزن مولکولی ۳۷۵-۳۴۰ کیلودالتون) می-



شکل ۶- الگوی الکتروفورزی SDS-PAGE پروتئینهای محلول برگ واریته‌های مختلف کینوا. چاهک ۱: واریته Q22، چاهک ۲: واریته Titicaca، چاهک ۳: واریته Q29، چاهک ۴: واریته Q18، چاهک ۵: واریته RedCarina و چاهک ۶: نشانگر وزن مولکولی

پروتئین ذخیره‌ای غالب در کینوا، گلوبولینهای ۱۱ S و ۷ S هستند. گلوبولینها بر اساس ضریب سدیممتاسیون به دو گروه ۱۱-۱۲ S و ۷-۸ S تقسیم می‌شوند. اخیراً گلوبولین ۱۱ S کینوا به نام کنوپودین نامگذاری شده است. کنوپودین دارای دو زیر واحد، یکی زیر واحد پلی‌پپتید اسیدی، با وزن مولکولی ۳۲-۳۹ کیلودالتون و یک پلی‌پپتید بازی با وزن مولکولی ۲۲-۲۳ کیلودالتون می‌باشد (۵۹). در تحقیق Toapanta و همکاران (۲۰۱۶)، پروتئینهایی با وزن مولکولی ۳۳-۳۶ کیلودالتون در تمام pH های مورد آزمایش، با میزان بیان زیاد قابل مشاهده بود که در واقع همان پلی‌پپتید اسیدی ۱۱ S می‌باشند (۵۹). محققان دیگری نیز پروتئینهای با وزن مولکولی ۲۰-۳۶ کیلودالتون را مشاهده نموده و این پروتئینها را کنوپودین معرفی نمودند (۱۴). در تحقیق دیگری، در تمام pH های مورد آزمایش، پروتئینی با وزن مولکولی ۳۳ کیلودالتون با میزان بیان زیاد یافت شده بود؛ آنها با توجه به یافته‌های Abugoch و همکاران (۲۰۰۸) (۱۴)، پروتئینهای با وزن مولکولی ۳۱-۳۳ کیلودالتون را کنوپودین دانستند (۳۰). پروتئینی با وزن مولکولی ۵۵ کیلودالتون در تمام pH های مورد آزمایش توسط Elsohaimy و همکاران (۲۰۱۵) (۳۰)، مشاهده شده بود که با توجه به یافته‌های سایر محققان (۱۴) دریافتند که این پروتئین، گلوبولین می‌باشد.

۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد، دنا توره می‌شود (۴۳). پروتئین‌های لوبیای سویا توسط حرارت، تشکیل ژل می‌دهند. این خصوصیت برای استفاده از پروتئینها در سیستم‌های غذایی بسیار مهم است. ژل تشکیل شده از گلوبولین S ۱۱ دارای کدورت بوده اما ژل تشکیل شده از گلوبولین S ۷ دارای کدورت کمتری است (۳۳). با توجه به مطالب بالا این احتمال وجود دارد که باند پروتئینی ۱۷۰ کیلودالتون یافت شده در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های محلول کینوا، بتاکانگلیسینین باشد.

باشد. گلوبولین S ۷ و گلوبولین S ۱۱ به ترتیب ۳۷ و ۳۱ درصد از پروتئین‌های سویا را تشکیل می‌دهند. بتاکانگلیسینین در واقع پروتئین گلوبولین S ۷ است که در لوبیای سویا یافت شده است (۴۳). در سایر منابع وزن مولکولی بتاکانگلیسینین ۱۸۰-۱۴۰ کیلودالتون گزارش شده است (۴۴، ۵۵ و ۵۸). این پروتئین در داروسازی و پزشکی به عنوان نشانگر تشخیص واکنش‌های مقاوم آلرژیک نسبت به سویا، قابلیت استفاده دارد. این پروتئین در مقایسه با گلیسینین، مقاومت حرارتی کمتری داشته و در دماهای

منابع

- ۱- ابریشم چی، پ.، گنجعلی، ع.، ساکنی، ح.، ۱۳۹۱. بررسی صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer irietinum L.*) در شرایط تنش خشکی. نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران ۳ (۲)، ۳۰-۱۷.
- ۲- امینی، ز.، حداد، ر.، ۱۳۹۲. نقش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقابل تنش اکسیداتیو. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۶ (۳)، ۲۶۵-۲۵۱.
- ۳- امینی، ز.، معلمی، ن.، سعادت، ص.، ۱۳۹۳. مقایسه اثر تنش کم آبی بر تغییرات میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سه رقم زیتون (*Olea europaea L.*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۷ (۲).
- ۴- ایمانی، ص.، رهباریان، ر.، معصومی، ع.، خاوری خراسانی، س.، ۱۳۹۳. بررسی سیتوتوکسیک اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی کاسنی (*Cichorium intybus L.*). مجله علمی-پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی ۴ (۷)، ۳۴-۲۵.
- ۵- جمالی، ص.، شریفان، ح.، هزار جریبی، ا.، سپهوند، ن.ع.، ۱۳۹۵. بررسی تأثیر سطوح شوری بر جوانه زنی و شاخص‌های رشد دو رقم گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa Willd.*). نشریه حفاظت منابع آب و خاک، ۶ (۱)، ۹۸-۸۷.
- ۶- حسن‌پور لسکوکلایه، ک.، احمدی، ج.، دانشیان، ج.، حاتمی، ص.، ۱۳۹۴. بررسی تغییرات میزان کلروفیل، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گندم دوروم تحت تنش خشکی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۷ (۱۵).
- ۷- زاهدی، ی.، وریدی، م.، ح.، وریدی، ۱۳۹۴. ارزیابی اثر جنس و نوع عضله بر الگوی پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت شتر
- یک کوهانه ایرانی در مدت زمان ترد شدن. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی ۴ (۲)، ۹۷-۱۱۶.
- ۸- سپهوند، ن.ع.، تواضع، م.، کهبازی، م.، ۱۳۸۹. کینوا گیاهی ارزشمند برای امنیت غذایی و کشاورزی پایدار در ایران. یازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.
- ۹- سلمانیان، ش.، صادقی ماهونک، ع.ر.، اعلمی، م.، قربانی، م.، ۱۳۹۳. ارزیابی ترکیبات تام فنولی، فلاونوئیدی، آنتوسیانینی و فعالیت ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی میوه ولیک. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان ۱۳ (۱)، ۶۶-۵۳.
- ۱۰- سریرری، ر.، رثوفی ماسوله، ع.، بخشی‌خانیک، غ.ر.، ۱۳۹۴. اثر سرما روی تخریب اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ چای شمال ایران. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۲، ۳۱۱-۲۹۸.
- ۱۱- سسی و سه مرده، ع.، غلامی، س.، بهرام نژاد، ب.، کانونی، ه.، صادقی، ف.، ۱۳۹۳. اثر تنش خشکی بر محتوای اسمولیت‌های سازگار، فعالیت آنزیمی و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum L.*). مجله علوم زراعی ایران ۱۶ (۲) ۱۲۴-۱۰۹.
- ۱۲- مراد بیگی، ه.، خارا، ج.، ۱۳۹۰. ارزیابی تغییر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی حاصل از تعامل علف‌کش تریفلورالین و همزیستی میکوریزی با قارچ *Glomus versiforme* در گیاه آفتابگردان (رقم لاکومکا). زیست‌شناسی ایران ۳ (۱۰)، ۷۰-۵۹.
- ۱۳- ملازم، د.، بشیرزاده، علی.، ۱۳۹۶. بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان و پرولین در ارقام ذرت (*Zea mays L.*) تحت تنش

شناسی ایران) ۳۰(۱)، ۸۴-۷۴.

- 14-Abugoch, L.E., Romero, N., Tapia, C.A., Silva, J., Rivera, M. (2008). Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 4745-4750.
- 15-Afshari, F., Ebrahimi, M., Akbari, M., Farajpour, M. (2013). Cytological Investigation and new chromosome number reports in yarrow (*Achillea millefolium* Linnaeus 1753) accessions from Iran. *Comparative Cytogenetics*, 7 (4): 271-277.
- 16-Aksu, N., Inceer, H., Hiyirlioglu Ayaz, S. (2013). Karyotype analysis of six *Achillea* L. (Asteraceae, Anthemideae) taxa from Turkey, *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetic*, DOI: 10.1080/0087114.2013.787205
- 17-Al-Naggar, A.M.M., Abd El-Salam, R.M., Badran, A.E.E., Boulos, S.T., El-Moghazi, M.M.A. (2018). Leaf amino acids and anatomical traits of drought tolerant vs sensitive genotypes of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd) under elevated levels of water stress. *Annual Research and Review in Biology*. 22(4): 1-19.
- 18-Alscher, R.G., Erturk, N., Health, L.S. (2002). Role of superoxide dismutase (SOD) in controlling oxidative stress in plant. *Journal of Experimental Botany*. 153: 1331-1341.
- 19-Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E.K., Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa, buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*. 119: 770-778.
- 20-Badawi, G.H., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, N., Kawano, N., Tanaka, K., Tanaka, K. (2003). Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. *Plant Science*. 166: 919-928.
- 21-Bassett, I.J., and Crompton, C.W. (1982). The genus *Chenopodium* in Canada. *Canadian Journal of Botany*. 60: 586-610.
- 22-Belmonte, C., Soares de Vasconcelos, E., Tsutsumi, C.Y., Lorenzetti, E., Hedges, C., Coppo, J.C., Martinez, A., Pan, R., Brito, T.S. and Inagaki, A.M. (2018). Agronomic and productivity performance for quinoa genotypes in an Agroecological and conventional production system. *American Journal of plant Sciences*, 9,880-891.
- شوری. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست-
23-Bhargava, A., Shukla, S., Ohri, D. (2006). *Chenopodium quinoa*: an Indian perspective. *Industrial Crops and Products*, 23: 73-87.
- 24-Bhattacharjee, S. (2005). Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science*. 98 (7): 1113-1121.
- 25-Bradford, M.M. (1979). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyi binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- 26-Brend, Y., Galili, L., Badani, H., Hovav, R., Galili, S. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of red and yellow quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds as affected by baking and cooking conditions. *Food and Nutrition Sciences*. 3: 1150-1155.
- 27-Chen, T.H.H., and Murata, N. (2000). Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Curr. Opin. Plant Biology*. 5: 250-257.
- 28-Clare, D.A., Rabinowitch, H.D., Fridovich, I. (1984). Superoxide dismutase and chilling injury in *Chlorella ellipsoides*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 231:158-163.
- 29-Dhindsa, R.A., Plump-Dhindsa, P., Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increase levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 126: 93-101.
- 30-Elsohaimy, S.A., Refaay, T.M. and Zaytoun, M.A.M. (2015). Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. *Annals of Agricultural Science*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aos.2015.10.007>
- 31-Fazli, R., Nazarnejad, N.A. and Ebrahimzadeh, M.P. (1392). To evaluate the phenolic antioxidant activity total Flavonoids of beech, hornbeam and spruce. *Journal of the forest and wood products, natural resources of Iran*. Period. Fall, 66(3): 339-349.
- 32-F. Ruas, C., M. Ruas, P., C. Stutz, H., J. Fairbanks, D. (2001). Cytogenetic studies in the genus *Atriplex* (Chenopodiaceae), *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*. 54 (2): 129-145.

- 33-Fukushima, D. (2009). Structures of plant storage proteins and their functions. *Food Reviews International*, 7(3): 353-381.
- 34-Gorinstein, S., Vargas, O.J.M., Jaramillo, N.O., Salas, I.A., Ayala, A.L.M., Arancibia, A.P., et al. (2007). The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*. 225(34): 321-328.
- 35-Habibi, D., Boojar, M.M.A., Mahmoudi, A., Ardakani, M.R., Taleghani, D. (2004). Antioxidant Enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4th International crop Science congress. 26 sep-1 oct.
- 36-Keener, C.S. (1970). Documented plant chromosome numbers 70:1 Chenopodiaceae. Side 3: 533-536.
- 37-Kim, S.T., Cho, K.S., Jang, Y.S., Kang, K.Y. (2001). Two dimensional electrophoresis of rice protein by polyethylene glycol fractionation for protein arrays. *Electrophoresis*. 22: 2103-2109.
- 38-Laemmli, U.K. (1970) Cleavage of Structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄₀ *Nature*. 227: 680-685.
- 39-Lutza, M., Henri 'quez, C., Escobar, M. (2011). Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24: 49-54.
- 40-Mazandarani, M., Makri, S. and Bajjan, G.R. (2011). Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* rech. F. In golestan province, North of iran *Iranian Journal of plant physiology*. 2(2): 381-388.
- 41-McKersie, B.D.M., Chen, Y., de Beus, M., Bowley, S.R., Bowler, C., Inzé, D., D'Halluin, K. and Botterman, J. (1993). Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology*. 103: 1155-1163.
- 42-Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends in plant Science*. 7: 405-415.
- 43-Nehete, J.Y., Bhambar, R.S, Narkhede, M.R. and R.Gawali, S. (2013). Natural proteins: Sources, isolation, characterization and applications. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14): 107-117.
- 44-Ogawa, T., Bando, N., Tsuji, H., Nishikawa, K., Kitamura, K. (1995). Identification of the soybean allergenic protein, Gly m Bd 30K, with the soybean seed 34-kDa oil-body-associated protein. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 57(6): 1030-1033.
- 45-Olien, C.R. and Clark, J.L. (1995). Freeze-induced changes in carbohydrates associated with hardiness of barley and rye. *Crop Science*. 35:496-502.
- 46-Omar, S.A., Masoud, I.M. and Khalil, R.M.A. (2014). Genetic evaluation of some quinoa genotypes under Ras Suder Condition. *Mansoura Journal of plant production*. 5(11): 1915-1930.
- 47-Palmino, G., Hernández, L.T., Torres, E.C. (2008). Nuclear genome size and chromosome analysis in *Chenopodium quinoa* and *C. berlandieri* subsp. *Nuttalliae*. *Euphytica*, 164: 221-230.
- 48-Paško, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Folta, M., Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols, and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115. 994-998.
- 49-Pinheiro, H. A., F. M. DaMatta, A.R.M. Chaves, E.P.B. Fontes and M. E. Loureiro. (2004). Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science*. 167: 1307-1314.
- 50-Roy-Macaulay, H., Zuily-Fodil, Y., Kidric, M., Pham Thi, A.T., Vieira de silva, J. (1992). Effect of drought stress on proteolytic activities in *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. *Physiologia Plantarum*. 85: 90-96.
- 51-Sairam, R.K., Saxena, D.C. (2000). Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 184: 55-61.
- 52-Salekjalali, M., Haddad, R., Jafari, B. (2012). Effects of soil water shortages on the activity of antioxidant enzymes and the content of chlorophylls and proteins in barley. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental sciences*. 12 (1): 57-63.
- 53-Samaras, Y.R., Bressan, A., Csonka, L.N., Garcia-Rios, M.G., Paino, D., Urzo, M., and Rhodes, D. (1995). Proline accumulation during drought and salinity. In: N. Smirnov (Ed.). *Environment and Plant Metabolism*. Bios. Scientific Publisher, Oxford, p. 161-187.

- 54-Sharma, P., and Dubey, R.S. (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*. 46: 209-221.
- 55-Shattuck-Eidens, D.N., and Beachy, R.N. (1985). Degradation of beta-conglycinin in early stages of soybean embryogenesis. *Plant Physiology*. 78: 895.
- 56-Sofa, A., Dichio, B. Xiloyannis, C and Masiha, A. (2004). Lipoxigenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. *Physiology Plant*. 121: 56-58.
- 57-Svensson, J., Ismail, A.M., Palva, E.T., Close, T.J. (2002). Dehydrins. In: sensing, signaling and celladaptation (eds. Storey, K.B and Storey, J.M.) pp. 155-171. Elsevier Science BV.
- 58-Thanh, V.H., Shibasaki, K. (1977). β -conglycinin from soybean proteins. Isolation and immunological and physicochemical properties of the monomeric forms. *Biochimica et Biophysica Acta*. 490: 370-384.
- 59-Toapanta, A., Carpio, C., Vilcacundo, R., and Carrillo, W. (2016). Analysis of protein isolate from quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 9(2).
- 60-Tohidi-Moghadam, H.R., Shirani-Rad, A.H., Nour-Mohammadi, G. (2009). Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress conditions. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 4 (3): 215-223.
- 61-Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L and Martínez, E.A., (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: a review. *Journal of Science Food agriculture*. 2541-2547.
- 62-Wilson, H.D. (1980). Artificial hybridization among species of *Chenopodium* sect. *Chenopodium*. *Systematic Botany*. 5: 253-263.
- 63-Xiong, Z.T., Chao, L., Bing, G. (2006). Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Ruper. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 64: 273-280.
- 64-Yangquanwei, Z., Neethirajan, S., Karunakaran, C. (2013). Cytogenetic analysis of quinoa chromosomes using nanoscale imaging and spectroscopy techniques. *Nanoscale Research Letters*. 8: 463.
- 65-Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M. (2002). Antioxidant properties of hard winter wheat extracts. *Food Chemistry*. 78: 457-461.
- 66-Yu, L., Zkou, K. (2004). Antioxidant properties of bran extracts from “Platte” wheat grown at different locations. *Food Chemistry*. 90: 311-316.
- 67-Zielinski, H., and Kozłowska, H. (2000). Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2008–2016.

Investigating the molecular and biochemical properties of quinoa varieties

Rasekhi Kazeruni A.¹, Zamani M.R.², Heidaryan Naeini F.¹, Rasekhi Kazeruni A.³, Mansoorian A.R.⁴ and Salami S.⁵

¹ Dept. of Biology, Noor Danesh Institute of Higher Education, Meimeh, Isfahan, I.R. of Iran

² Dept. of Plant Molecular Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, I.R. of Iran

³ Dept. of Food Science & Technology, Shiraz University, Shiraz, I.R. of Iran

⁴ Malek Ashtar University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

⁵ Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R. of Iran

Abstract

As a high value crop with natural tolerance for drought conditions, Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) is an excellent candidate for promoting food safety and quality. It's an Amaranthacean, stress-tolerant plant cultivated along the Andes for the last 7000 years. Quinoa seeds represent potential rich sources of polyphenol compounds; they may protect cell constituents against oxidative damage and, therefore, limit the risk of various degenerative diseases associated with oxidative stress. In the present study, cellular and biochemical parameters including total phenolic content, total free amino acids, superoxide dismutase activity, leaf total soluble protein, Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of proteins and chromosomal observation in quinoa varieties cultivated in the climatic condition of Meymeh, Isfahan province were investigated. Optical microscope did not serve as a good tool for studying quinoa chromosomes. The total phenol content amongst the five quinoa varieties was significantly higher in Q29 ($12.90 \pm 2.62 \mu\text{g GA/mg seed}$). Analysis of variance of total content of free amino acids revealed significant ($p < 0.05$) differences among varieties. Superoxid dismutase activity and total free amino acids in Q18 ($31.44 \pm 2.72 \text{ mg Gly/g FW}$) were the least. Q18 ($2.62 \pm 0.31 \text{ mg/g FW}$), Q29 ($2.36 \pm 0.19 \text{ mg/g FW}$) and Q22 ($2.20 \pm 0.85 \text{ mg/g FW}$) were found to have the highest amount of total soluble protein, sequentially. Besides, all 5 varieties had protein bands with molecular weights of approximately 35, 55, 60 and 170 KDa, the latter detected in quinoa for the first time.

Key Words: Superoxide dismutase, *Chenopodium quinoa*, Chrompsome, SDS-PAGE, Free amino acid