

بررسی اثر تنش خشکی و پیش تیمار بذر بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی کینوا (*Chenopodium quinoa*)

صبا داشاب^۱ و حشمت امیدی^{۲*}

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

(۲) دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: omidi@shahed.ac.ir

این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۱

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی اثر پیش تیمار بذر بر ویژگی‌های کمی و کیفی گیاهچه‌های کینوا تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۸ اجرا گردید. در این آزمایش پیش تیمار بذر در دو سطح هیدروپرایمینگ به مدت ۱۲ ساعت و بیوپرایمینگ با باکتری (*Bacillus subtilis*) به مدت ۲۴ ساعت و تنش خشکی در پنج سطح ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲- مگاپاسکال با پلی اتیلن گلایکول بود. نتایج نشان داد اثر پیش تیمار بر تمامی صفات مورد بررسی بجز محتوای مالون دی آلدئید و پایداری غشاء معنی دار شد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد منجر به بهبود شاخص‌های گیاهچه کینوا از قبیل محتوای وزن تر اندام هوایی (۲۹ گرم)، محتوای کلروفیل (۴۰/۶۵ میکروگرم بر گرم)، کاروتنوئید (۲۱۷۹/۳ میکروگرم بر گرم)، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز (۱۶/۶۰ میلی گرم بر پروتئین) و کاتالاز (۳/۰۷ میلی گرم بر پروتئین)، فنول کل (۵۲ مول بر گرم)، میزان فلاونوئید (۶۲/۶۵ مول بر گرم) شدند. افزایش تنش خشکی منجر به کاهش وزن تر اندام هوایی، محتوای کارتنوئید، قند کل و محتوای پروتئین شده، اما محتوای کلروفیل، پرولین، فنول کل، فلاونوئید و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش پیدا کرد. هم‌چنین برهم‌کنش دوگانه پیش تیمار در تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a معنی دار شد و بیشترین محتوای کلروفیل (۲۸/۰۵ میکروگرم بر گرم) در تنش ۲- مگاپاسکال و بیوپرایمینگ حاصل شد. بنابراین، بیوپرایمینگ با باکتری برای دستیابی به بیشترین مقدار وزن تر اندام هوایی، آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه کینوا توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پلی اتیلن گلایکول، فلاونوئید و کینوا.

مقدمه

امنیت غذای جهانی با چالش‌های رشد جمعیت و کمبود منابع آب در دهه‌های آینده مواجه است. خشکسالی و تغییرات آب و هوایی آینده، ثبات منابع آبی و زمین‌ها را تهدید می‌کند و شرایط رشد محصول را بدتر می‌کند (Hamidy, 2016). گیاهان اغلب با شرایط نامساعد محیطی مواجه هستند که رشد و باروری آن‌ها را مختل می‌کند. از بین تنش‌های زیستی مختلف، خشکی عامل اصلی محدودیت تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان می‌باشد (Tardieu *et al.*, 2014). یکی از راهکارهای مقابله با مسئله تنش خشکی تغییر الگوی کشت به سمت کشت گیاهان متحمل به شرایط سخت آب و هوایی و تنش‌های محیطی مثل خشکی و شوری به جای گیاهان با نیاز آبی و حساس است (سپهوند و شیخ، ۱۳۹۱). کینوا^۱ از خانواده اسفناجیان^۲ است. گیاهی یکساله، سه‌کربنه و هالوفیت اختیاری است که جزء شبه غلات دسته‌بندی می‌شود. این گیاه بومی مناطق آمریکای جنوبی و کوه‌های آند در بولیوی، شیلی و پرو است که سازگاری گسترده‌ای دارد و مهم‌ترین تولیدکنندگان این گیاه بولیوی، پرو و اکوادور است (Bazile *et al.*, 2015). برای تولید مواد غذایی باید با اتخاذ رویکردهای مختلف مدیریتی مانند آبیاری با آب کم و کشت محصولات مقاوم مانند کینوا افزایش یابد (Hamidy, 2016). خشکی موجب تأخیر در جوانه‌زنی و کاهش عملکرد کمی و کیفی و بنیه بذر گیاهان می‌شود (Ansari *et al.*, 2012). یکی از موثرترین و اقتصادی‌ترین راهکارها برای کاهش اثر ناشی از تنش خشکی، استفاده از راهکارهای مناسب در مراحل مختلف نمو گیاه می‌باشد (Wojtyla *et al.*, 2016). اصلاح برای تحمل به تنش خشکی همواره با تنگناهای خاص خود روبرو بوده است. استفاده از تکنیک‌های مناسب برای آماده‌سازی بذر در مقابل شرایط نامطلوب، به‌عنوان راهکاری جهت کاهش اثرهای منفی تنش‌های محیطی بر گیاه و بهبود عملکرد به شمار می‌رود. یکی از روش‌هایی که امروزه توجه ویژه‌ای به آن شده، تکنیک پیش‌اندازی یا پرایمینگ بذر است (Cavusoglu and Kabar, 2010). پرایمینگ بذر دارای مزایای زیادی می‌باشد. استفاده از پیش تیمار پرایمینگ می‌تواند از طریق بروز فعل و انفعالات مطلوب بیوشیمیایی بذر سبب بهبود ویژگی‌های مرفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهچه شود (امیدی و همکاران، ۱۳۹۳). باکتری‌های جنس *باسیلیوس* به دلیل حضور گسترده در خاک، تحمل تغییرات دمایی، اسیدیته، شوری محیط و تولید فرم مقاوم به‌صورت اندوسپور به‌عنوان عوامل مناسبی در کنترل بیولوژیک مطرح هستند (امتی و همکاران، ۱۳۸۲). کاربرد و تلقیح بهره‌مندی توأم باکتری‌های محرک رشد با بذور در کشت خطی نسبت به غرقاب اثرهای بیش‌تر و سودمندتری بر ویژگی‌های جوانه‌زنی، رشد و عملکرد دانه گیاهان در مقایسه با کاربرد جداگانه آن‌ها دارند (مظفری و همکاران، ۱۳۹۴). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که بیوپرایمینگ اثر افزایش و مثبت بر سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی بذر، سبز شدن گیاهچه و صفات

1- *Chenopodium quinoa* Willd2- *Chenopodiaceae*

فیزیولوژیکی گیاهان دارد (لطیفی و امیدی، ۱۳۹۸). میکروارگانیزم‌ها می‌توانند نقش مهمی را در راهکارهای سازگاری ایفا کنند و تحمل به تنش‌های غیرزنده را در گیاهان زراعی افزایش دهند (عباسی سیه‌جانی، ۱۳۹۷). برخی باکتری‌های محرک رشد از طریق تولید موادی مانند سیتوکینین و آنتی‌اکسیدانت از تجمع آبسزیک اسید ممانعت و موجب تخریب گونه‌های اکسیژن فعال می‌شوند (Ansari et al., 2015). این آزمایش با هدف بررسی اثر پیش‌تیمار بر صفات رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شبه غله کینوا در شرایط تنش خشکی در گلخانه اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و هشت دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۴ دقیقه شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۱۹۰ متر، میانگین بارندگی ۲۱۶ میلی‌متر و میانگین دما ۱۷/۱ درجه سلسیوس در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. فاکتورهای آزمایش شامل پرایمینگ با دو سطح (هیدروپرایمینگ و بیوپرایمینگ) و تنش خشکی با پنج سطح (کنترل (۰)، ۰/۵-، ۱-، ۱/۵- و ۲- مگاپاسکال با پلی‌اتیلن گلیکول) در سه تکرار بودند. بذره‌های کینوا رقم گیزاوان یا گیزا ۱^۱ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. ابتدا بذره‌های کینوا با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر سه بار شسته شدند. اعمال تیمار پرایمینگ شامل هیدروپرایمینگ (بذرها به مدت ۱۲ ساعت و در دمای ۴ درجه سلسیوس در آب مقطر) و بیوپرایمینگ (تلقیح بذر با باکتری^۲ به مدت ۲۴ ساعت در محیط مرطوب و دمای ۴ درجه سلسیوس درون محلول با غلظت ۰/۰۱ در یک لیتر آب مقطر) بود. سوسپانسیون مایه باکتری آنتاگونیست *B. Subtilis* از آزمایشگاه پاستور اهواز (آزمایشگاه میکروبی‌شناسی) روی پتری‌دیش حاوی محیط کشت PDA تکثیر شد. تحت شرایط استریل به هر پتری‌دیش حاوی پرگنه ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه و توسط یک میله شیشه‌ای سرکج سترون و حرکت آرام آن روی سطح پرگنه، اسپورها از پرگنه جدا شده و سوسپانسیونی از آن شکل گرفت. سوسپانسیون حاصل از پارچه ملامل دو لایه سترون عبور داده شد. جهت شمارش اسپورها و تعیین غلظت آن‌ها در سوسپانسیون از دام گلبول و سلول شمار (هماسیتومتر) استفاده گردید. غلظت ($9/8 \times 10^7$) اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر واحد تشکیل دهنده کلون (CFU/ml) تهیه شد (Becking, 2006). پس از خشک شدن بذرها (در دمای اتاق و به مدت ۲۴ ساعت)، ۵۰ عدد بذر در داخل هر پتری‌دیش روی کاغذ صافی واتمن کشت شدند و به هر پتری‌دیش آب مقطر اضافه شد. پس از ۱۰ روز جوانه‌ها به محیط کشت هوگلند انتقال داده شدند. تعداد ۴۰ گلدان با محیط کشت هوگلند آماده شد. در هر تکرار از تیمار، پنج گیاهچه در هر ظرف قرار گرفت و به هر ظرف محلول غذایی کامل هوگلند همراه با آب مقطر افزوده شد. محلول هوگلند از کود

1- Giza1

2- *Bacillus subtilis*

هیدروپونیک با فرمول هوگلند و اشنايدر شامل کود استوک مایع A و استوک مایع B تهیه شد. پس از استقرار و رشد کامل گیاهچه‌ها (مرحله ۶ تا ۸ برگی) سطوح خشکی (پنج سطح) اعمال شد. دمای گلخانه ۲۵-۲۲ درجه سلسیوس و شدت نور با ترکیبی از لامپ‌های فلورسنت و تنگستن تأمین شد. از ظروف پلاستیکی با حجم ۵۰۰ سی‌سی به‌عنوان مکان رشد گیاه استفاده شد. جهت هوادهی محلول هیدروپونیک نیز از پمپ آکواریوم استفاده شد. برای آماده‌سازی ظروف به عنوان بستر کشت، بر روی درب ظرف‌ها ۵ سوراخ به قطر ۲ سانتی‌متر تعبیه گردید، سپس ابرهای اسفنجی با همین قطر بر روی آن‌ها قرار گرفت. شکاف‌هایی بر روی ابرها تعبیه شد و سپس گیاهچه‌ها از داخل شکاف عبور داده به‌طوری‌که ریشه‌چها در داخل محلول غذایی غوطه‌ور گردند. در هنگام تهیه محلول هوگلند بر اساس نوع تیمار، نسبت‌ها و غلظت محلول کنترل و اعمال شد. سطوح خشکی مورد نظر با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول^۱ ۶۰۰۰ در پنج سطح پتانسیل آب ۰/۵، -۱، -۱/۵ و -۲ مگاپاسکال به ترتیب مقدار پلی‌اتیلن گلیکول مصرف شده برابر با ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در ۱۰۰۰ سی‌سی آب استفاده گردید (Michael and Kaufman, 1976). محلول هوگلند همه مواد مغذی ضروری برای رشد گیاه را فراهم می‌کند و برای رشد انواع زیادی از گونه‌های گیاهی مناسب است. پس از تهیه محلول استوک‌ها، در بطری‌های در بسته و در جای تاریک و خنک همراه با برچسب مخصوص نگهداری شد (Hoagland and Snyder, 1933).

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی (در مرحله ۶-۸ برگی گیاهچه)

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۵ گرم بافت تازه برگ را با ۲۰ سی‌سی استن ۸۰ درصد به‌طور کامل عصاره‌گیری نموده، سپس به‌وسیله اسپکتروفوتومتر میزان کلروفیل در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و میزان کاروتنوئید در طول موج ۴۸۰ نانومتر قرائت شد و بر اساس رابطه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ برآورد شدند (Arnon, 1949; Gu et al., 2008):

$$\text{Ca} = 12.7 (A663) - 2.69 (A645) \times V/100W \quad \text{رابطه ۱:}$$

$$\text{Cb} = 22.9 (A645) - 2.69 (A663) \times V/100W \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$\text{CT} = 20.2 (A645) + 8.02 (A663) \times V/100W \quad \text{رابطه ۳:}$$

$$\text{Carotenoid} = 7.6 (A480) - 14.9 (A510) \times VD/100W \quad \text{رابطه ۴:}$$

که در رابطه‌های بالا A میزان جذب نوری، C میزان غلظت، V حجم عصاره، D نسبت رقت و W وزن نمونه است. برای اندازه‌گیری محتوای پرولین بافت برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. از لایه فوقانی حاوی تولوئن و پرولین، برای اندازه‌گیری محتوای پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر در برابر شاهد تولوئن خالص استفاده گردید.

کربوهیدرات‌های محلول از روش Paquin و Lechasseur (۱۹۷۹) انجام شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره الکلی با ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده مخلوط گردید. سپس این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد تا واکنش انجام و رنگی شود. میزان جذب محلول را با اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت و مقدار قندهای محلول محاسبه شد. میزان پروتئین محلول گیاهچه به روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. برای تهیه محلول برادفورد ۲۵ میلی‌گرم از کوماسی بریلیانت بلو در ۱۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد. ۲۵ میلی‌لیتر اسید اتوفسفریک ۸۸ درصد غلیظ به آن اضافه گردید. سپس ۱۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد و حجم نهایی آن را با آب مقطر به ۲۵۰ سی‌سی رسانده و بعد از کاغذ صافی عبور داده شد. غلظت پروتئین (جذب ۵۹۵ نانومتر) بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) انجام گرفت. فسفات پتاسیم با اسیدیته ۷/۸ که شامل $400 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ میلی-مولار در ۵۰ سی‌سی و $400 \text{ K}_2\text{HPO}_4$ میلی‌مولار در ۵۰ سی‌سی آب مقطر تهیه شد. ۲۵ سی‌سی از فسفات پتاسیم با اسیدیته ۷/۸، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، NBT ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۲ میکرومولار و EDTA ۰/۱ میلی‌مولار به حجم ۲۵۰ سی‌سی رسید. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر دنبال گردید. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (۱۹۸۴) انجام گرفت. فسفات پتاسیم ۰/۵ مولار با اسیدیته ۷ که شامل $400 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ میلی‌مولار در ۱۰۰ سی‌سی و $400 \text{ K}_2\text{HPO}_4$ میلی‌مولار در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر تهیه شد. ۳۰ سی‌سی از فسفات پتاسیم با اسیدیته ۷ به حجم ۳۰۰ سی‌سی رسید. تجزیه H_2O_2 با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر دنبال گردید و به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد. سنجش پراکسیداسیون لیپید با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم از بافت برگ تازه در پنج میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد کاملاً هموژنیزه گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با دو میلی‌لیتر از محلول TCA به همراه TBA ۰/۵ درصد اضافه شد. سپس مخلوط به حمام آب گرم در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه منتقل، و بعد از طی این زمان بلافاصله به درون یخ انتقال داده شد. میزان جذب نوری توسط دستگاه نانودراپ^۱ در طول موج ۵۳۲ نانومتر و برای اصلاح کدورت نامشخص در محلول، جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر نیز اندازه‌گیری شد و از عدد جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر کم شد. محتوای مالوندی‌آلدئید با استفاده از ضریب خاموشی $\mu = \epsilon (155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})$ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی برگ، یک گرم از نمونه برگ در داخل لوله آزمایش حاوی ۱۰ سی‌سی آب مقطر قرار داده شد. سپس لوله آزمایش در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. هدایت الکتریکی نمونه توسط دستگاه EC متر خوانده شد (ECI). دوباره نمونه

درون ۱۰ سی سی آب مقطر درون لوله ریخته شده سپس لوله در حمام آب با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. هدایت الکتریکی نمونه دوباره به وسیله دستگاه EC متر خوانده شد (EC2) و از طریق رابطه ۵ درصد شاخص پایداری غشا محاسبه گردید (Azizpour *et al.*, 2010).

$$\text{رابطه ۵:} \quad \text{درصد شاخص پایداری غشاء} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

اندازه گیری محتوای فنول تام بافت برگ از روش Meda و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد. برای اندازه گیری محتوای فنول کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین - سیوکالچو^۱ (۵۰ درصد) اضافه شد. جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. محتوای فنول کل عصاره‌ها بر اساس میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد. سنجش محتوای فلاونوئید، ۰/۱ گرم نمونه منجمد شده با ۳ میلی لیتر محلول متانول اسیدی در هاون ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفوژ قرار گرفت. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن توسط اسپکتروفتومتر در ۳ طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدها، از ضریب خاموشی ۱M-1-cm ۳۳۰۰۰ استفاده شد (Krizek *et al.*, 1993). تجزیه و تحلیل داده‌ها، محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.1 و Excel صورت گرفت و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

وزن تر اندام هوایی و ریشه

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر ساده پرایمینگ و خشکی بر صفات وزن تر اندام هوایی و ریشه معنی دار شدند (جدول ۱). کاربرد بیوپرایمینگ باعث شد گیاهچه‌های کینوا وزن تر اندام هوایی (۲۹/۰۳ گرم) و ریشه (۶/۶۰ گرم) بیش تری داشت که در مقایسه با هیدروپرایمینگ افزایشی حدود ۱۰/۷ و ۱۰/۶ درصد نشان دادند (جدول ۲). افزایش سطوح خشکی منجر به کاهش وزن تر اندام هوایی و ریشه شد، به طوری که وزن تر اندام هوایی (۳۴/۳۴ گرم) و ریشه (۷/۲۰ گرم) در عدم تنش خشکی دارای بیشترین مقدار بودند. در ابتدا تنش ۰/۵ - مگاپاسکال باعث کاهش چشمگیر وزن تر اندام هوایی (۲۰/۸ گرم) و ریشه (۵/۲ گرم) گیاهچه کینوا شد و در ادامه با افزایش سطوح تنش افزایش نسبی و تدریجی قابل مشاهده می‌باشد (جدول ۳). تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد که صفات کمی و کیفی گیاهان را تحت اثر قرار می‌دهد و موجب محدودیت رشد گیاهان در این مناطق می‌شوند. گیاهچه‌های

حاصل از تلقیح بذر با باکتری *باسیلوس سوبلیتیس* نسبت به هیدروپرایمینگ افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی نشان دادند. در پژوهشی نشان داده شد که تلقیح بذور گوجه‌فرنگی با باکتری محرک رشد *باسیلیوس سابتیلیس* سبب افزایش معنی‌دار تجمع عناصر غذایی در برگ شد (Markus et al., 2004). هم‌چنین در بررسی دیگر تلقیح باکتری‌های محرک رشد به‌طور معنی‌داری وزن تر و خشک را در شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش داد (لطیفی و امیدی، ۱۳۹۸). Jaleel و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند تحت شرایط تنش، پارامترهای رشدی مانند وزن تر و خشک گیاه کاهش می‌یابد اما در گیاه *Catharanthus roseus* تحت تنش خشکی گزارش کردند زمانی که با باکتری‌های محرک رشد گیاه تلقیح شد وزن تر و خشک گیاه افزایش یافت. نتایج حاصل از اکثر مطالعه‌های انجام‌گرفته بر روی رشد غلات و گراس‌ها، به‌خصوص گندم تلقیح شده با آروسپریلیوم حاکی از افزایش شاخص‌های رشد رویشی و زایشی می‌باشد. آزادبخت و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی تنش بر روی ارقام گلرنگ بیان کردند با افزایش شدت تنش، وزن خشک گیاهچه گیاهان مورد مطالعه کاهش یافت. لذا عمل هیدرولیز مواد ذخیره‌ای، جهت تولید بافت‌های گیاهچه‌ای با مشکل مواجه شده و وزن خشک کاهش می‌یابد.

کلروفیل a, b و کل

اثر پرایمینگ و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a, b و کلروفیل کل معنی‌دار شد و اثرهای متقابل پرایمینگ و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱). محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل به‌ترتیب با میانگین‌های (۲۱/۱۴ میکروگرم بر گرم) و (۴۰/۶۵ میکروگرم بر گرم) در کاربرد بیوپرایمینگ افزایش یافتند و در هیدروپرایمینگ محتوای کلروفیل b (۲۰/۱۴ میکروگرم بر گرم) و کلروفیل کل (۳۸/۶۵ میکروگرم بر گرم) با کاهش روبرو شدند (جدول ۲). کاربرد پرایمینگ باعث افزایش کلروفیل a در شرایط تنش ۲- مگاپاسکال شد و در عدم تنش خشکی کم‌ترین میزان کلروفیل a در هر دو سطح هیدروپرایمینگ (۱/۰۶ میکروگرم بر گرم) و بیوپرایمینگ (۹/۴۳ میکروگرم بر گرم) مشاهده شد. هرچه سطح تنش بیش‌تر می‌شد افزایش در میزان کلروفیل برگ نیز در تیمار بیوپرایمینگ در تمامی سطوح تنش مشهود بود (شکل ۱).

روند افزایش در محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل در سطوح بالاتر تنش خشکی در گیاهچه‌های کینوا مشهود است. به‌طوری‌که بیش‌ترین محتوای کلروفیل b در تنش ۲- مگاپاسکال به‌دست آمد. تیمار عدم تنش خشکی کم‌ترین میزان را داشت (جدول ۳). محتوای کلروفیل کل نیز در تیمارهای عدم تنش و تنش ۲- مگاپاسکال به ترتیب دارای کم‌ترین (۲۰/۱۲ میکروگرم بر گرم) و بیش‌ترین (۵۰/۷۶ میکروگرم بر گرم) محتوای کلروفیل کل بود (جدول ۳). احتمال تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو در بافت‌های فتوسنتزی به‌علت دسترسی بیش‌تر به اکسیژن نسبت به بافت‌های غیر فتوسنتزی افزایش می‌یابد (Jiang et al., 2016). کلروپلاست اولین رنگدانه جذب‌کننده نور در برگ، نقش اساسی در

اعمال بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه چون سنتز آمینواسیدها، اسیدهای چرب، نشاسته و بسیاری از ترکیبات متابولیکی ثانویه علاوه بر فتوسنتز و هم‌چنین نقش اساسی در پاسخ به تنش ایفا می‌کند (کدخدایی، ۱۳۹۲). تغییر در محتوای کلروفیل برگ به‌عنوان یک واکنش کوتاه مدت به تنش و یکی از عوامل مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تولید ماده خشک در شرایط خشکی مطرح می‌باشد (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). Mohsenzadeh و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که کاهش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در شرایط تنش در گیاه آفتابگردان می‌تواند ناشی از بین رفتن کلروپلاست باشد. وقوع تنش خفیف میزان سطح برگ را کاهش می‌دهد و به‌دلیل وجود سلول‌های بیش‌تر در واحد وزن برگ، محتوی کلروفیل افزایش می‌یابد (کدخدایی، ۱۳۹۲). در این بررسی در اثر تنش خشکی، میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید به شدت کاهش یافت. کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به‌واسطه کاهش سنتز کلروفیل و هم‌چنین ناشی از تخریب آن باشد. تخریب مولکولی کلروفیل به‌علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا آنزیم کلروفیل‌لاز صورت می‌گیرد (Parvaiz and Satyawati, 2008). در همین خصوص پژوهشگران اظهار داشتند تنش خشکی باعث کاهش محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید (عباسی سه‌جانی و همکاران، ۱۳۹۷؛ Movludi *et al.*, 2014).

کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده اثر معنی‌دار خشکی و پرایمینگ در سطح احتمال یک درصد بر محتوای کاروتنوئید برگ بود (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید گیاهچه‌های کینوا در شرایط افزایش تنش خشکی از میانگین کم‌تری برخوردار بود، با اعمال سطوح کم‌تر تنش خشکی ابتدا با کاهش جزئی روبرو شد و در ادامه کاهش ۵۰ درصدی نسبت به شاهد داشت. بیش‌ترین محتوای کاروتنوئید در سطح شاهد (آب مقطر) با میانگین ۲۶۳۲/۵۲ میکروگرم برگرم و کم‌ترین مقدار آن در سطح ۲- مگاپاسکال با میانگین ۱۸۱۹/۲۱ میکروگرم برگرم حاصل شد (جدول ۳). کاهش مقدار رنگیزه‌ها نتیجه سنتز آهسته یا تخریب، تغییرات در سطح رونوشت برداری و تغییرات پس ترجمه ناخواسته آنزیم‌های مسیر سنتزی (به مانند تخریب آنزیم آمینولولنیک اسید دهیدروژناز) یا شکستن سریع آن‌ها و تخریب کلروپلاست‌ها، طی بروز تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیرزیستی یا زیستی نظیر خشکی است (Ranjan *et al.*, 2017). گزارش شده است که تنش خشکی منجر به کاهش محتوای کاروتنوئید ارقام گندم شد (سرافراز اردکانی، ۱۳۹۸).

پرولین و کربوهیدرات محلول

اثر خشکی در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پرولین معنی‌دار شد (جدول ۱). افزایش سطوح تنش خشکی موجب افزایش محتوای پرولین بافت برگ شد. در تنش خشکی سطح ۲- مگاپاسکال بیش‌ترین (۶/۰۷ میکرومول بر گرم

وزن تر) و سطح کنترل (عدم تنش) کمترین میزان پرولین با میانگین (۱/۱۲ میکرومول بر گرم وزن تر) روبرو شد (جدول ۳). تجمع پرولین در برگ به منظور حفظ فشار تورژانس سلول‌های گیاهی قسمتی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش رطوبتی است. تجمع پرولین در بافت‌های تنش دیده گیاه خرفه نیز مشاهده شد (Mahdi Nezhad *et al.*, 2019) که مطابق با نتایج این آزمایش می‌باشند. محتوای قند کل تحت اثر تنش خشکی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). محتوای قند کل تحت تنش خشکی نشان داد که بیشترین میزان مربوط به عدم تنش خشکی با میانگین ۳۳/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود. کمترین مقدار محتوای کربوهیدرات ۱/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مربوط به سطح تنش ۱- مگاپاسکال بود (جدول ۳). در گیاهان پتانسیل اسمزی بستگی به تعداد مولکول‌های ماده محلول دارد و تنظیم اسمزی از مسیر تبدیل پلی‌ساکاریدهایی نامحلول مانند نشاسته و فروکتان به قندهای محلول مانند اولیگوساکاریدها، ساکارز و گلوکز تنظیم می‌شود (Heidari and Karami, 2013). فتوسنتز و رشد گیاه هر دو تحت اثر تنش خشکی قرار می‌گیرد، اما رشد گیاه بیش تر تحت اثر تنش خشکی قرار گرفته و با توقف رشد میزان محصولات فتوسنتزی افزایش می‌یابد (Maali-Amiri *et al.*, 2007). در طی بروز تنش خشکی حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی فشار جهت فعال نگه داشتن فتوسنتز و ادامه رشد از طریق افزایش غلظت املاح محلول سلول به وجود می‌آید. کربوهیدرات‌ها و پرولین مهم‌ترین این ترکیبات هستند، در این بین پرولین به‌عنوان یک شاخص برای مقاومت به تنش به کار می‌رود. پرولین آزاد بسیاری از گیاهان در پاسخ به تنش کم‌آبی مثل خشکی و شوری به مقدار زیاد تجمع می‌یابد. افزایش محتوای پرولین ۳۰۰-۳ برابر در ارقام و تیمارهای مختلف گزارش شده است (Amini *et al.*, 2019).

میزان پروتئین

کاهش سرعت فتوسنتز خالص تحت شرایط تنش خشکی، موجب صدمه زدن به فرآیندهای بیوشیمیایی و عوامل غیرروزنه‌ای گیاه می‌شود، از جمله باعث ایجاد تغییر در ساختمان پروتئین می‌گردد. به نظر می‌رسد کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی در واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسیدهای آمینه آزاد می‌باشد (Ranjan *et al.*, 2017). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که پرایمینگ و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر میزان پروتئین بافت برگ اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثر پرایمینگ، بیوپرایمینگ منجر به افزایش ۱۰/۷ درصدی میزان پروتئین در مقایسه با کاربرد هیدروپرایمینگ شد (جدول ۲). در بین سطوح تنش خشکی، عدم تنش خشکی (کنترل) بیشترین محتوای پروتئین را داشت و افزایش تنش موجب کاهش میزان پروتئین شد به طوری که در سطح تنش خشکی ۲- مگاپاسکال کمترین محتوای مشاهده شد (جدول ۳). گیاهان جهت مقابله با تنش‌های اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال

اکسیژن، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند. آنزیم سوپراکسیددسموتاز موجب تبدیل رادیکال سوپراکسید به هیدروژن پراکسید می‌شود و توسط آسکوربات پراکسیداز در کلروپلاست تبدیل به آب می‌شود (Omidi, 2010). طی بررسی تحقیقات پژوهشگران تنش خشکی باعث کاهش محتوای پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز گیاه بالنگو شد (Ahmadi and Omidi, 2019). در این آزمایش نیز این نتایج اثبات شد که افزایش سطوح تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را افزایش و محتوای پروتئین را در بافت برگ گیاهچه‌های کینوا را کاهش داد (جدول ۳).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز و آنزیم کاتالاز

گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی دارند. رادیکال سوپراکسید ممکن است به‌وسیله آنزیم سوپراکسید دسموتاز تبدیل به پراکسید اکسیژن شود و سپس به‌وسیله آسکوربات پراکسیداز در کلروپلاست تبدیل به آب شود. هم‌چنین پراکسید اکسیژن منتشر شده به قسمت بیرونی کلروپلاست به‌وسیله آنزیم کاتالاز در سلول‌های برگ پاک‌سازی می‌شود (افشار محمدیان و همکاران، ۱۳۹۵). در وضعیت خشکی به‌دلیل محدود شدن جذب و تثبیت دی‌اکسیدکربن و افزایش فعالیت اکسیژنازی آنزیم روبیسکو، تنفس نوری افزایش می‌یابد که این امر نیز افزایش تولید پراکسید اکسیژن را به‌همراه خواهد داشت (Miller *et al.*, 2010). اثر پرایمینگ و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز اثر معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). کاربرد بیوپرایمینگ موجب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز با میانگین $16/60$ میلی‌گرم پروتئین شد که در مقایسه با هیدروپرایمینگ افزایش $10/7$ درصدی داشت (جدول ۲). فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز با افزایش تنش خشکی افزایش نشان داد به‌طوری که سطح 2 - مگاپاسکال و عدم تنش به‌ترتیب دارای بیش‌ترین ($19/2$) میلی‌گرم پروتئین و کم‌ترین ($14/3$) میلی‌گرم پروتئین) میزان فعالیت این آنزیم بودند (جدول ۳). گزارش شده است که با افزایش سطوح خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددسموتاز و گایاکول‌پراکسیداز در بافت برگ گیاهان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Bahrampour *et al.*, 2019).

پرایمینگ و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۱). کاربرد بیوپرایمینگ موجب افزایش بیش‌تر فعالیت آنزیم کاتالاز با میانگین $2/07$ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه شد که در مقایسه با کاربرد هیدروپرایمینگ افزایش $10/6$ درصدی نشان داد (جدول ۲). در پژوهش حاضر میزان فعالیت کاتالاز با شدت یافتن تنش خشکی افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرد. به‌نظر می‌رسد فعالیت آنزیم کاتالاز از این جهت افزایش یافت تا به‌عنوان اسمولیت سازگار و آنزیم آنتی‌اکسیدان، ضمن محافظت از ماکرومولکول‌ها و غشاهای سلول، آسیب‌های ناشی از رادیکال

آزاد که در اثر تنش خشکی به وجود آمده را خنثی کند (Chowdhury *et al.*, 2009). کمترین فعالیت این آنزیم مربوط به عدم تنش خشکی بود و با افزایش تنش خشکی در سطح ۲- مگاپاسکال فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت (جدول ۳). آنزیم کاتالاز واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد را متوقف و با حذف پراکسید هیدروژن از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند. افزایش آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش خشکی در گونه‌های مختلف زراعی گزارش شده است (Bhardwaj and Yadav, 2012). نقش این آنزیم در دفع خسارات سلولی ناشی از شرایط نامساعد محیطی مانند تنش خشکی حائز اهمیت است (Chugh *et al.*, 2011). زمانی که گیاهان در مزرعه و در شرایط تنش خشکی رشد می‌کنند، فعالیت گونه‌های آنتی‌اکسیدانی در آن‌ها افزایش می‌یابد، در حالی که اگر گیاهان رشد یافته در شرایط شاهد، در معرض تنش ناگهانی و کوتاه مدت خشکی قرار بگیرند، فعالیت آنزیمی آن‌ها کاهش می‌یابد (Ahmadi and Omid, 2019). طی بررسی تحقیقات پژوهشگران تنش خشکی و کاربرد باکتری‌های محرک رشد باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه برنج (لطیفی و امید، ۱۳۹۸) شدند و تنش خشکی نیز در گیاه ذرت موجب افزایش آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات و پراکسیداز شد (خلیل‌وند بهروزیار و همکاران، ۱۳۹۸).

مالون دی‌آلدئید و نشتی غشاء

تنش خشکی بر محتوای مالون دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). محتوای مالون دی‌آلدئید تحت تنش خشکی با افزایش روبرو شد و در عدم تنش (کنترل) با میانگین ۳/۴۱ نانومول بر لیتر کمترین محتوای مالون دی‌آلدئید را داشت و با افزایش تنش خشکی به ۲- مگاپاسکال افزایش یافت (جدول ۳). طی بررسی نتایج تجزیه واریانس، تنش خشکی بر نشتی غشاء در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تنش خشکی در سطح ۲- مگاپاسکال موجب افزایش نشتی غشاء با میانگین ۷۴/۹ درصد شد که در مقایسه با عدم تنش افزایش ۳۶ درصدی داشت (جدول ۳). افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید تحت شرایط تنشی مختلف نشان داد که تنش خشکی توسط گونه‌های فعال اکسیژن باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شود (Moussa and Abdel-Aziz, 2008). در تایید نتایج این پژوهش، میزان تولید مالون دی‌آلدئید در گیاهچه‌های گندم تحت تنش خشکی افزایش یافت (Sharifi and Mohammadkhani, 2017). گزارش شده است که تیماردهی نمونه‌های تحت تنش با نیترات پتاسیم، با حذف رادیکال‌های آزاد، تا حد زیادی از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند و میزان مالون دی‌آلدئید را کاهش می‌دهد (نورسته‌نیا و فرجادی، ۱۳۹۵).

جدول ۱: تجزیه واریانس بررسی تغییرات کمی و کیفی کینوا تحت اثر سطوح پرایمینگ و تنش خشکی در شرایط کنترل شده

میانگین مربعات																
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	کلروفیل a (میکروگرم بر گرم)	کلروفیل b (میکروگرم بر گرم)	کلروفیل کل (میکروگرم بر گرم)	کارتنوئید (میکروگرم بر گرم)	پرولین (میکروگرم بر گرم)	قند کل (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	کاتالاز (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	سوپراکسید دسموتاز (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	پروتئین (میکرومول بر وزن تر)	مالون دی-آلدئید (نانومول بر لیتر)	نشئی غشاء (درصد)	فنول کل (مول بر گرم)	فلاونوئید (مول بر گرم)
پرایمینگ	۱	۹۶/۷۰*	۵/۰۱*	۱۰۵/۹**	۱۹۵/۴**	۵۵۰/۷**	۱۳۵۳۳۴۸/۴**	۰/۱۸ ^{ns}	۵/۲۵ ^{ns}	۲۷/۵۰**	۳۱/۶۰**	۰/۴۹**	۴/۱۳ ^{ns}	۶۷/۶۰ ^{ns}	۰/۰۱*	۰/۰۴*
تنش خشکی	۴	۲۱۴/۲۰**	۶/۳۳**	۴۴۱/۵**	۱۰۶/۹**	۷۶۶/۹**	۴۳۲۲۸۵/۳**	۳۳/۴۰**	۳۱۵/۲*	۱۶/۷۰**	۳۳/۷۰**	۰/۵۲**	۱۲/۹۰**	۳۲۷/۵۰*	۰/۰۰۶*	۰/۰۰۳*
پرایمینگ × تنش	۴	۰/۶۸ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۱۰۶/۰**	۲/۱ ^{ns}	۵۵/۲ ^{ns}	۳۱۷۷۹/۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}
درجه خطا	۳۰	۱۳/۴۰	۰/۷۴	۴/۷۰	۹/۱۱	۲۳/۷	۷۶۶۲۲/۰	۶/۲۲	۱۰۲/۶۰	۲/۷۷	۲/۷۸	۰/۰۴	۱/۵۳	۱۲۵/۹۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۹
ضریب تغییرات (%)		۱۳/۳۲	۱۳/۷۷	۱۰/۵۶	۱۴/۱۱	۱۱/۶۵	۱۳/۰۲	۲۱/۳۰	۲۱/۳۰	۱۱/۳۵	۱۰/۶۲	۱۰/۶۲	۲۱/۸۱	۱۶/۹۰	۸/۶۱	۱۵/۵۰

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت اثر پیش تیمار بذر در شرایط کنترل شده

پیش تیمار	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	کلروفیل کل (میکروگرم بر گرم)	کلروفیل b (میکروگرم بر گرم)	کارتنوئید (میکروگرم بر گرم)	پروتئین (میکرومول بر گرم وزن تر)	سوپراکسید دسموتاز (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	کاتالاز (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	فنول (مول بر گرم)	فلاونوئید (مول بر گرم)
هیدروپرایمینگ	^b ۲۵/۹۲	^b ۵/۹۰	^b ۳۸/۶۵	^b ۲۰/۱۴	^b ۱۹۴۶/۶	^b ۱۳/۸۴	^b ۱۴/۸۲	^b ۱/۸۵	^b ۵۱/۰۶	^b ۶۲/۵۸
بیوپرایمینگ	^a ۲۹/۰۳	^a ۶/۶۰	^a ۴۰/۶۵	^a ۲۱/۱۴	^a ۲۱۷۹/۳	^a ۱۵/۵۰	^a ۱۶/۶۰	^a ۲/۰۷	^a ۵۲	^a ۶۲/۶۵

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری با هم ندارند.

جدول ۳: مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت اثر سطوح تنش خشکی در شرایط کنترل شده

تنش خشکی (مگاپاسکال)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	کلروفیل b (میکروگرم بر گرم)	کلروفیل کل (میکروگرم بر گرم)	کارتنوئید (میکروگرم بر گرم)	پرولین (میکروگرم بر گرم)	قند کل (میلی-وزن تر برگ)	پروتئین (میکرومول بر گرم وزن تر)	سوپر اکسید دسموتاز (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	کاتالاز (میلی گرم بر گرم پروتئین در دقیقه)	نشئی غشاء (درصد)	مالون دی-آلدئید (نانومول بر لیتر)	فنول (مول بر گرم)	فلاونوئید (مول بر گرم)
شاهد	^a ۳۴/۳	^a ۷/۲	^d ۱۰/۴	^d ۲۰/۱	^a ۲۶۳۲/۵	^a ۳۲/۵	^a ۶/۱	^a ۱۷/۲	^b ۱۴/۳	^b ۱۳/۶	^b ۵۹/۷	^a ۶/۱	^a ۵۲/۰	^a ۶۲/۶
-۰/۵	^c ۲۰/۸	^c ۵/۲	^c ۱۵/۸	^c ۳۲/۲	^{ab} ۲۵۲۷/۴	^{ab} ۲۲/۸	^{ab} ۴/۱	^b ۱۵/۱	^b ۱۴/۶	^a ۱۷/۰	^{ab} ۶۶/۹	^a ۶/۱	^b ۵۱/۷	^b ۶۲/۵
-۱	^c ۲۴/۱	^{bc} ۵/۶	^b ۲۱/۱	^b ۴۲/۲	^b ۲۴۴۱/۴	^b ۱۵/۶	^c ۱/۱	^c ۱۳/۸	^b ۱۴/۶	^b ۱۳/۷	^{ab} ۶۹/۵	^a ۶/۱	^a ۵۱/۹	^a ۶۲/۶
-۱/۵	^b ۲۸/۳	^b ۶/۱	^a ۲۵/۵	^b ۴۷/۹	^c ۲۰۹۱/۶	^a ۲۷/۸	^{bc} ۱/۵	^c ۱۳/۷	^b ۱۵/۵	^b ۱۵/۱	^a ۷۴/۹	^b ۳/۴	^a ۵۲/۰	^a ۶۲/۶
-۲	^b ۲۹/۷	^a ۷/۱	^a ۲۶/۴	^a ۵۰/۷	^d ۱۸۱۹/۲	^{ab} ۲۳/۷	^{bc} ۲/۳	^c ۱۳/۶	^a ۱۹/۲	^b ۱۳/۷	^b ۶۰/۳	^a ۶/۴	^a ۵۲/۰	^a ۶۲/۶

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

فنول کل و فلاونوئید

پرایمینگ و تنش خشکی اثر معنی‌داری بر محتوای فنول کل در سطح احتمال ۵ درصد نشان دادند (جدول ۱). براساس مقایسه میانگین اثر پرایمینگ، کاربرد بیوپرایمینگ موجب افزایش جزیی در محتوای فنول نسبت به سطح هیدروپرایمینگ شد (جدول ۲). محتوای فنول کل در ابتدا در مواجهه با تنش ۰/۵- مگاپاسکال (۵۱/۷ مول بر گرم) کاهش یافت و در تنش ۲- مگاپاسکال (با میانگین ۵۲ مول بر گرم) افزایش یافت (جدول ۳). طی بررسی نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده پرایمینگ و تنش خشکی بر محتوای فلاونوئید در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱). بیوپرایمینگ (۶۲/۶۵ مول بر گرم) منجر به افزایش محتوای فلاونوئید در مقایسه با سطح هیدروپرایمینگ (۶۲/۵۸ مول بر گرم) شد (جدول ۲). در بین سطوح خشکی نیز محتوای فلاونوئید افزایش یافت (جدول ۳). در گیاهان مختلف همانند این پژوهش با افزایش تنش خشکی، میزان تولید فلاونوئیدها افزایش یافت (Watkinson *et al.*, 2006). آنتی‌اکسیدان‌های فلاونوئیدی اثر محافظتی طی تنش خشکی دارند. بسیاری از فلاونوئیدها جزء فعالی از گیاهان دارویی بوده و خواص دارویی دارند. آن‌ها به عنوان ترکیب‌های فعالی فیزیولوژیک، عوامل محافظت کننده در مقابل تنش و به عنوان جذب کننده‌ها نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند (Tattini *et al.*, 2004). در گیاهان مختلف مانند گندم دوروم (Naeemi *et al.*, 2018) و ذرت (Nasrollahzade asl *et al.*, 2017) همانند این پژوهش با افزایش تنش خشکی، میزان فلاونوئید افزایش یافت. آنتی‌اکسیدان‌های فلاونوئیدی اثر محافظتی طی تنش خشکی دارند. بسیاری از فلاونوئیدها به عنوان ترکیب‌های فعال فیزیولوژیکی، عوامل محافظت کننده در مقابل تنش و به عنوان جذب کننده‌ها نقش مهمی در مقاومت گیاهان دارند (Guidi *et al.*, 2008).

نتیجه‌گیری

نتیجه به دست آمده گرچه حاکی از آن بود که کاربرد بیوپرایمینگ باکتری محرک رشد^۱ موجب افزایش وزن تر اندام هوایی و ریشه، فعالیت آنزیم، محتوای فنول و فلاونوئید کل شد. بنابراین، برای تسریع در رشد گیاهچه و افزایش صفات کیفی گیاه کینوا تلقیح بذر با باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* صورت گیرد. هم‌چنین تنش خشکی شدید منجر به افزایش برخی صفات فیزیولوژیک همچون میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز مشاهده شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که استفاده از ترکیبات مختلف به منظور پرایمینگ بذور باعث افزایش شاخص‌های مورفولوژیکی و بهبود صفات فیزیولوژیک در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد.

1- *Bacillus subtilis*

منابع

- امتی، ف.، شریفی تهرانی، ع.، محمدی، م. و حجارود، ق. ۱۳۸۲. تأثیر آنتاگونیستی جدایه‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* روی قارچ *Phytophthora capsici* عامل بوته‌میری فلفل. علوم کشاورزی و منابع طبیعی. ۱۰(۴): ۵۴-۴۵.
- امیدی، ح.، جعفر زاده، ل. و نقدی بادی، ح. ۱۳۹۳. بذر گیاهان دارویی و زراعی، انتشارات دانشگاه شاهد. ۵۴۵ صفحه.
- آزادبخت، ف.، احمدی، خ. و امیدی، ح. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی آخر فصل بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رنگیزه‌های فتوسنتزی ژنوتیپ‌های پایه مادری گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*). نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۸(۳۲): ۷۵-۹۰.
- خلیل‌وند بهروزیار، ا.، یارنیا، م. و قاسمی، ع. ۱۳۹۸. اثر محلول‌پاشی نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد بلال و برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ذرت شیرین (*Zea mays var saccharata*) در شرایط تنش کمبود آب. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۱(۴۳): ۱۰۵-۱۱۸.
- سپهوند، ف. و شیخ، ن. ع. ۱۳۹۱. آشنایی با گیاه جدید کینوا (*Quinoa*). همایش ملی فراورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی، ۶-۵ مهر.
- سرافراز اردکانی، م. ر. ۱۳۹۸. اثر سیتوکینین و براسینواستروئید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام گندم تحت تنش خشکی در مرحله زایشی. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۱(۴۳): ۵-۲۴.
- عباسی سه‌جانی، ا.، یارنیا، م.، فرح‌وش، ف.، خورشیدی بنام، م. ب. و اسدی رحمانی، ه. ۱۳۹۷. اثر باکتری ریزوبیوم فازنولی و قارچ آربوسکولار میکوریزا بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیای قرمز (*Phaseolus vulgaris L.*) تحت تنش کم‌آبی. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۰(۴۰): ۱۹-۳۴.
- کدخدایی، ا. ۱۳۹۲. اثر رژیم آبیاری بر ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های کنجد (*Sesamum indicum L.*). پایان‌نامه دکتری رشته زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
- لطیفی، س. ع. و امیدی، ح. ۱۳۹۸. اثر پرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر و گیاهچه برنج رقم عنبر بو، تحت تنش کم‌آبی. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۱(۴۴): ۵-۲۱.

مظفری، ا.، دانشیان، ج.، حبیبی، د.، شیرانی‌راد، ا.ح. و اصغرزاده، ا. ۱۳۹۴. بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر برخی صفات مرفوفیزیولوژیکی گندم نان تحت شرایط تنش خشکی انتهایی. نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۷ (۲۶): ۵۳-۶۵.

نورسته‌نیا، ا. و فرجادی، م. ۱۳۹۵. برهم‌کنش تنش خشکی و نیترات پتاسیم بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه توتون. نشریه یافته‌های نوین در علوم زیستی. ۲ (۴): ۲۷۱-۲۶۰.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymology* 105: 121-126.

Ahmadi, A. and Ceiocemardeh, A. 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrates, chlorophyll and proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. *Journal Agriculture Science*. 35: 753-763.

Ahmadi, K. and Omidi, H. 2019. Evaluation of morphological characteristics, yield components and catalase enzymes activity of *Lallemantia royleana* Benth. Under drought stress. *Agro ecology*. 11(2): 757-774.

Amini, A., Ajam Noruzi, H., Faraji, A. and Nasiri, M. 2019. Evaluation of morphological, physiological, and photosynthetic responses of sunflower cultivars (*Helianthus annuus* L.) under different irrigation regimes. *Journal of Iranian Plant Eco physiological Research*. 14(54): 32-49.

Ansari, O., Chogazardi, H., Sharifzadeh, F. and Nazarli, H. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale montanum*) as affected by drought stress. *Secretary Agronomic in Moldova* 45(2): 43-48.

Ansari, M.F., Tipre, D.R. and Dave, S.R. 2015. Efficiency evaluation of commercial liquid biofertilizers for growth of *Cicer aeritinum* (chickpea) in pot and field study. *Biocatalyst Agriculture Biotechnology*. 4(1): 17-24.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Poly phenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24(1): 1-150.

Azizpour, K., Shakiba, M.R., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. and Pessaraki, M. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition*. 33: 859-873.

Bahrampour, M., Dehestani-Ardakani, M., Shirmardi, M. and Gholamnezhad, J. 2019. The effect of different media cultures on some growth characteristics of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants under drought stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*. 14(53): 104-116.

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

Bazile, D., Bertero, H.D. and Nieto, C. 2015. State of the art report on quinoa around the world in 2013.

Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 44: 276-287.

Becking, J.H. 2006. The Family Azotobacteraceae. *Prokaryotes*. 6: 759-783.

Bhardwaj, J. and Yadav, S.K. 2012. Comparative study on biochemical parameters and antioxidant enzymes in drought tolerant and a sensitive variety of Horsegram (*Macrotyloma uniflorum*) under drought stress. *American Journal of Plant Physiology*. 7(0): 07-22.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*. 72: 248-254.

Cavusoglu, K. and Kabar, K. 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. *Eurasians Journal of Bio Sciences*. 4: 70-79.

Chowdhury, S., Datta, A.K. and Maity, S. 2009. Cytogenetical and agronomical aspects of radiation induced marker trait mutants in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Indian Journal Science Technology*. 2:58-61.

Chugh, V., Kaur, N. and Gupta, A.K. 2011. Role of antioxidant and anaerobic metabolism enzymes in providing tolerance to maize (*Zea mays* L.) seedlings against waterlogging. *Indian journal of biochemistry and biophysics*. 48(5): 346-52.

Gu, Z., Chen, D., Han, Y., Chen, Z. and Gu, F. 2008. Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*. *Learning With Technologies*. 41: 1082-1088.

Guidi, L., Deglinoenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Tattini, M. 2008. Interactions of water stress and solar irradiance on the physiology and biochemistry of *Ligustrum vulgare*. *Tree Physiology*. 28: 873-883.

Hamidy, A. 2016. Quinoa and its potential to grow under water scarcity and salt stress conditions: promising research findings. *Quinoa for Future Food and Nutrition Security in Marginal Environments*. International Quinoa conference. 2016.

Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, *Arch Biochem Biophys*. 125: 189-198.

Heidari, M. and Karami, A.V. 2013. Examine the effects of stress and strains of mycorrhiza on yield, yield components, chlorophyll and biochemical composition of sunflower. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 6(1): 17-26.

Hoagland, D.R. and Snyder, W.C. 1933. Nutrition of strawberry plants under controlled conditions. *Proceeding America Society of Horticultural Science*. 30: 288-294.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11(1): 100-105.

Jiang, X., Li, H. and Song, X. 2016. Seed priming with melatonin effects on seed germination and seedling growth in maize under salinity stress. *Pakistan Journal Botany*. 48(4): 1345-1353.

Krizek, D.T., Kramer, G.F., Upadhyaya, A. and Mirecki, R.M. 1993. UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiology Planetarium*. 88: 350-358.

Lechasseur, P. and Paquin, R. 1979. Observations sur une method dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*. 57: 1851-1854.

Maali-Amiri, R., Goldenkova-Pavlova, I.V., Pchelkin, V., Tsydendambaev, V. D., Vereshchagin, A.G., Deryabin, A.N., Trunova, T.I., Los, D.A. and Nosov, A.M. 2007. Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the $\Delta 12$ -desaturase gene from cyanobacterium. *Russian Journal of Plant Physiology*. 54: 678-685.

Mahdi Nezhad, N., Jamalpour, H., Fakheri, B.A. and Azad, H. 2019. The study of the response of some physiological characteristics and grain yield of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) cultivars to drought stress and foliar application of chelated nano iron. *Journal of Plant Environmental Physiology*. 14(54): 74-89.

Markus, W., Junge, H. and Schnitzler, W.H. 2004. *Bacillus subtilis* as growth promoter in hydroponically grown tomatoes under saline condition. *Vegetable Science*. 10: 363-370.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*. 91: 571-577.

Michael, B.E. and Kaufman, M.R. 1976. The osmotic potential of polyethylenglycol-6000. *Plant Physiology*. 51: 914-916.

Miller, G., Suzuki, N. and Ciftci-Yilmaz, S. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant Cell and Environment*. 33: 453-467.

Mohsenzadeh, S., Malboobi, M.A., Razavi, K. and Farrahi-Ashtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to water deficit. *Environment Experimental Botany*. 56: 314-322.

Moussa, H. and Abdel-Aziz, S.M. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science*. 1: 31-36.

Movludi, A. Ebadi, A. Jahanbakhsh, S. Davari, M. and Parmoon, G. 2014. The effect of water deficit and nitrogen on the antioxidant enzymes activity and quantum yield of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Notulae Botanicae Hortus Agrobotanici Cluj-Napoca*. 42(2): 398-404.

Naeemi, T., Fahmideh, L. and Fakheri, A. 2018. The impact of drought stress on antioxidant enzymes activities, containing of proline and carbohydrate in some genotypes of durum wheat (*Triticum turgidu* L.) at seedling stage. *Journal of Crop Breeding*. 10(26): 22-31.

Nasrollahzade asl, V., Moharramnejad, S. and Yusefi, M. 2017. 'Grain yield, chlorophyll content, osmolyte accumulation, total phenolics and catalase activity in maize (*Zea mays* L.) under drought stress', *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*. 12(46): 1-14.

Omidi, H. 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. *American Journal Plant Physiology*. 5(6): 331-348.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant Soil Environment*. 54: 89-99.

Ranjan, A., Archana, K. and Ranjan, S. 2017. *Gossypium herbaceum* ghcyp1 regulates water-use efficiency and drought tolerance by modulating stomatal activity and photosynthesis in transgenic tobacco. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*. 14(3): 869-880.

Sharifi, P. and Mohammadkhani, N. 2017. 'Physiological responses and anti-oxidative activities in flag leaves and spicules of wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) under drought stress', *Journal of Iranian Plant Eco physiological Research*. 12 (46): 15-30.

Tardieu, F., Parent, B., Caldeira, C. and Welcker, C. 2014. Genetic and physiological controls of growth under water deficit. *Plant Physiology*. 164: 1628-1635.

Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. 2004. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. *New Physiologist*. 163: 547-561.

Watkinson, J.I., Hendricks, L., Sioson, A.A., Vasquez-Robinet, C., Verlyn, S., Heath, L.S., Schuler, M., Bohnert, H.J., Bonierbale, M. and Grene, R., 2006. Accessions of *Solanum toberosum* spp. andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *Plant Science*. 1-14.

Wojtyla, L., Lechowska, K., Kubala, S. and Garnczarska, M. 2016. Molecular processes induced in primed seeds increasing the potential to stabilize crop yields under drought conditions. *Journal of Plant Physiology*. 203:116-126.

Investigation the effect of drought tension and seed pretreatment on physiological and biochemical traits of Quinoa (*Chenopodium quinoa*)

S. Dashab¹ and H. Omid^{2*}

1) M.Sc. Student of Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahed University, Tehran, Iran.

2) Associate Professor of Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahed University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: omidi@shahed.ac.ir.

This article is an excerpt from a master's thesis.

Received date: 21.06.2020

Accepted date: 26.09.2020

Abstract

In the present research in order to investigate the effect of seed pretreatment on quantitative and qualitative characteristics of quinoa seedlings under drought tension, a factorial experiment was conducted in a completely randomized statistical design with three replications in the research greenhouse of Faculty of Agricultural Sciences of Shahed University in 2019. In this experiment, seed pretreatment was performed at two levels of hydro-priming for 12 hours and bio-priming with bacteria (*Bacillus subtilis*) for 24 hours and drought tension at five levels of 0, -0.5, -1, -1.5 and -2 Megapascals with Polyethylene glycol. The results showed the effect of pretreatment on all investigated traits except for malondialdehyde content and membrane stability was significant. Application of growth-promoting bacteria led to improvement of quinoa seedling indices such as fresh weight content of shoots (29 gram), chlorophyll content (40.65 microgram per gram), carotenoid (2179.3 microgram per gram), activity of superoxide dismutase enzymes (16.60 milligram per protein) and catalase (3.07 milligram per protein), total phenol (52 mol per gram), flavonoids content (62.65 mol per gram). Increased drought tension resulted in a decrease in shoot fresh weight, carotenoid content, total sugar and protein content, but increased content of chlorophyll, proline, total phenol, flavonoids and catalase enzyme activity rate under drought tension conditions. Also, the dual interaction of pretreatment in drought tension on chlorophyll a content was significant and the highest chlorophyll content (28.05 microgram per gram) was obtained at -2 Megapascals and bio-priming tension. Therefore, bioprimering with bacteria is recommended to achieve the highest amount of fresh weight of shoots, enzymatic and non-enzymatic antioxidants of quinoa.

Keywords: Antioxidant, Polyethylene glycol, Flavonoids and Quinoa.