



Research Paper

Growth and Biochemical Responses of Sadough Quinoa
(*Chenopodium quinoa*) under Lead Stress

Shahla Hashemi Shahraki*

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

Received: 29/10/2025, Accepted: 08/12/2025

Abstract

Lead is a heavy and toxic metal that can enter soil and water through industrial activities, chemical fertilizers, and urban pollution, ultimately being absorbed by plants. The aim of this study was to investigate the effects of different lead concentrations on growth, protein content, and ascorbate peroxidase activity in quinoa (*Chenopodium quinoa*) cv. Sadough. Quinoa plants were treated with 0, 400, and 600 μM lead. After harvest, root and shoot length, fresh weight, total phenolic content, protein content, and ascorbate peroxidase activity were measured. The results showed that increasing lead concentrations in the growth medium had a significant negative effect on all measured parameters. Root and shoot length, as well as fresh weight, were significantly reduced, indicating impaired plant growth and decreased accumulation of organic matter. In addition, the reduction in protective compounds such as phenolics reflected a weakened plant defense mechanism against stress. Moreover, protein content and ascorbate peroxidase activity decreased in a concentration-dependent and significant manner compared to the control group, indicating the harmful effects of lead on vital biochemical processes and the plant's antioxidant defense systems. The findings of this study demonstrate that the presence of lead in the growth medium substantially disrupts plant growth and biochemical health. These results emphasize the importance of controlling metal pollution in the environment to maintain plant performance and resilience.

Keywords: Lead, Quinoa, Plant growth, Protein content, Ascorbate peroxidase, Metal contamination

Citation: Hashemi Shahraki S, Growth and Biochemical Responses of Sadough Quinoa (*Chenopodium quinoa*) under Lead Stress. *Quality and Durability of Agricultural Products and Food Staffs*, 2025;5(2): 61-71.

DOI: <https://doi.org/10.71516/qafj.2025.1222724>



© The Author(s) **Publisher:** Islamic Azad University of Kerman, Iran

* **Corresponding author:** Shahla Hashemi Shahraki, **Email:** shahlahashemi15@science.usb.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

Heavy metals are among the most important soil and water pollutants due to their high chemical stability, non-degradability in the environment and ability to bioaccumulate. These metals gradually enter natural ecosystems through industrial, agricultural, mining and fossil fuel activities and accumulate especially in agricultural soils. Among these metals, lead (Pb) is one of the most toxic non-essential elements that has no biological role in plant growth and development, but its presence even at low concentrations can cause serious disturbances in the physiological and biochemical processes of plants. By entering plant cells, lead disrupts the ionic balance, prevents the absorption of essential elements such as calcium, iron and magnesium, and induces oxidative stress, causing the production of reactive oxygen species (ROS) including hydrogen peroxide (H_2O_2). If left unchecked, these species damage vital macromolecules such as lipids, proteins and DNA, leading to impaired photosynthesis, reduced cell division and ultimately plant growth arrest. In contrast, plants naturally have antioxidant defense systems that include enzymes such as ascorbate peroxidase (APX), catalase and superoxide dismutase (SOD) as well as non-enzymatic compounds such as phenols, flavonoids and ascorbate. APX plays a key role in the ascorbate-glutathione cycle and prevents the accumulation of H_2O_2 in the cell by reducing it to water. However, under conditions of severe lead stress, this defense system may become paralyzed and unable to protect the cell from oxidative damage.

In recent years, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) has attracted global attention as a cereal-like plant with high nutritional value and relative tolerance to non-salinity stresses. It has been proposed as a strategic option for future food security due to its complete protein, fiber, vitamins, and minerals, as well as its ability to be cultivated under adverse conditions (such as saline or arid soils). However, there is limited information on how indigenous quinoa cultivars especially the cultivar 'Sadooq' cultivated in Iran, respond to heavy metal stress such as lead. Previous studies have mainly focused on foreign cultivars such as 'Puno' or 'Titicaca' and have shown that the physiological responses of quinoa to lead differ between cultivars. Therefore, investigating the behavior of the cultivar 'Sadooq' under lead stress conditions will not only help to better understand the mechanisms of tolerance or sensitivity of this cultivar, but also may provide guidance for agricultural decisions in contaminated areas. In this study, the effect of different lead concentrations on growth, protein content, photosynthetic pigments, APX enzyme activity, and phenolic compounds in Sadouq quinoa was investigated to evaluate the role of these biochemical indicators in response to lead stress.

Methods

The experiment was conducted under greenhouse conditions in a completely randomized design with three biological replications. Quinoa plants of the Sadouq cultivar were grown in perlite medium and lead treatments (as lead nitrate) were applied at three concentrations of 0 (control), 400 and 600 μM . Also, the protective effects of β -carotene, gallic acid and NaCl were investigated separately and in combination with lead. After the end of

the growth period, traits including root and stem length and fresh weight, chlorophyll and carotenoid content, total protein content, APX enzyme activity, total phenol content and antioxidant capacity (by DPPH method) were measured. Data were analyzed using SPSS software and one-way ANOVA test and comparison of means based on Duncan's test at 5% level.

Results and Discussion

The results showed that increasing lead concentration led to a significant decrease in fresh weight and length of roots and stems, with roots being more affected than stems. The growth reduction was accompanied by a decrease in chlorophyll a, b, and carotenoid content, indicating damage to chloroplast structure and the photosynthetic system. Also, the total protein content in aerial tissues was significantly reduced. The activity of the APX enzyme which plays a key role in the removal of hydrogen peroxide was also significantly lower in lead-stressed plants than in the control. In contrast, the total phenol content and antioxidant activity (DPPH) in lead-treated plants slightly increased, probably indicating the activation of secondary defense mechanisms. β -carotene and gallic acid treatments were able to partially reduce these negative effects, so that both plant growth was improved and the levels of antioxidant enzymes and pigments were maintained. The findings of this study are consistent with previous studies that have shown that lead inhibits plant growth by inducing oxidative stress and disrupting nutrient uptake. The decrease in APX in the Sadouq cultivar indicates that the antioxidant system of this cultivar is easily paralyzed by high concentrations of lead unlike some foreign cultivars in which APX was increased in other studies. This difference could be due to the unique

genetic characteristics of the cultivars. On the other hand, the positive effect of β -carotene and gallic acid in modulating lead stress highlights the importance of using natural antioxidant compounds in managing plant cultivation in contaminated soils. These compounds probably protect cellular structures by neutralizing reactive oxygen species or activating defense genes.

Conclusion

Lead significantly impairs the growth and physiological performance of quinoa cv. Sadooq. These damages are mainly due to the disruption of the antioxidant system and the reduction of the activities of key enzymes such as APX. However, the use of antioxidant compounds such as β -carotene and gallic acid can be used as a practical strategy to reduce the toxic effects of lead under field conditions. These findings not only contribute to a better understanding of the mechanisms of tolerance/sensitivity in Sadooq, but also can be used in future planning for plant cultivation in areas contaminated with heavy metals.

Keywords

Lead, Quinoa, Plant growth, Protein content, Ascorbate peroxidase, Metal contamination

Funding

There was no external funding in this study.

Conflict of interest

The author declares that there are no competing interests.



مقاله پژوهشی

پاسخ‌های رشد و بیوشیمیایی کینوا (رقم صدوق) در شرایط تنش سرب

شهلا هاشمی شهرکی*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۰۷ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۷

چکیده

سرب، فلزی سنگین و سمی است که می‌تواند از طریق فعالیت‌های صنعتی، کودهای شیمیایی و آلودگی‌های شهری وارد خاک و آب شود و در نهایت توسط گیاهان جذب گردد. هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلف سرب بر رشد، محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) رقم صدوق بود. گیاهان کینوا تحت تیمار با غلظت‌های ۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار سرب قرار گرفتند. پس از برداشت، طول ریشه و ساقه، وزن تر، محتوای فنول کل، محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت سرب در محیط کشت تأثیر منفی و معنی‌داری بر تمام پارامترهای مورد بررسی داشت. طول ریشه و ساقه و وزن تر به‌طور قابل توجهی کاهش یافت، که نشان‌دهنده اختلال در رشد گیاه و کاهش تجمع مواد آلی است. علاوه بر این، کاهش محتوای ترکیبات حفاظتی مانند فنول‌ها بیانگر تضعیف مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش بود. همچنین، محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌طور وابسته به غلظت و به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافتند، که نشان‌دهنده اثرات زیان‌بار سرب بر فرآیندهای بیوشیمیایی حیاتی و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که حضور سرب در محیط کشت به‌طور قابل توجهی رشد و سلامت بیوشیمیایی گیاه را مختل می‌کند. این یافته‌ها اهمیت کنترل آلودگی‌های فلزی در محیط زیست برای حفظ عملکرد و مقاومت گیاهان را تأکید می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: سرب، کینوا، رشد گیاه، محتوای پروتئین، آنزیم آسکوربات پراکسیداز، آلودگی فلزی

استناد: شهلا هاشمی شهرکی، پاسخ‌های رشد و بیوشیمیایی کینوا (رقم صدوق) در شرایط تنش سرب، کیفیت و ماندگاری تولیدات کشاورزی و مواد غذایی، (۱۴۰۴)، دوره ۵، شماره ۲، صفحات: ۶۱-۷۱.

DOI: <https://doi.org/10.71516/qafj.2025.1222724>

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، ایران

© نویسندگان



* نویسنده مسئول: شهلا هاشمی شهرکی، پست الکترونیک: shahlahashemi15@science.usb.ac.ir

مقدمه

فلزات سنگین عناصری هستند که به صورت طبیعی در پوسته زمین و در غلظت‌های بسیار پایین وجود دارند، اما به دلیل غیرقابل تجزیه بودن و پایداری بالا در محیط، به مرور زمان در اکوسیستم تجمع می‌یابند (۱). فلزات سنگین به دلیل پایداری بالای خود و اثرات سمی، تهدید جدی برای سلامت گیاهان، جانوران و انسان‌ها محسوب می‌شوند. برخی از این فلزات مانند روی و مس در غلظت‌های محدود برای فرآورده‌های متابولیکی گیاه ضروری بوده و به آن‌ها «عناصر ضروری» گفته می‌شود (۲). در مقابل، گروه دیگری از فلزات مانند سرب و کادمیم هیچ نقش بیولوژیکی در رشد گیاه ندارند و به عنوان «عناصر غیرضروری» طبقه‌بندی می‌شوند (۳). سرب یکی از شناخته‌شده‌ترین فلزات غیرضروری است و ویژگی‌هایی مانند چگالی بالا، شکل‌پذیری آسان و مقاومت در برابر خوردگی دارد. استفاده گسترده از سرب در صنایع باتری‌سازی، رنگ‌های ضدزنگ، سوخت‌های فسیلی و حتی لوازم آرایشی موجب ورود آن به محیط زیست شده است. این فلز پس از ورود به اکوسیستم از طریق آب، خاک و هوا وارد زنجیره غذایی می‌شود و اثرات مخربی بر موجودات زنده دارد (۴). وجود غلظت‌های بالای فلزات سنگین مانند سرب در محیط رشد گیاهان معمولاً باعث تغییراتی در فرآورده‌های فیزیولوژیکی آن‌ها می‌شود؛ این تغییرات می‌تواند شامل کاهش جذب آب و مواد مغذی، کاهش فتوسنتز و آسیب به ساختار سلولی باشد (۵). در نتیجه، رشد و توسعه گیاه به شدت مختل شده و در موارد شدید ممکن است به مرگ گیاه منجر شود. بنابراین، مدیریت و کاهش ورود فلزات سنگین به خاک اهمیت ویژه‌ای برای حفظ پایداری اکوسیستم‌های کشاورزی و سلامت عمومی دارد. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش میزان سرب در محیط رشد گیاهان تأثیر منفی قابل توجهی بر فرآورده‌های رشد آن‌ها دارد. به عنوان مثال، بررسی‌ها روی گیاه *Jatropha carx* نشان داده است که با افزایش غلظت سرب، درصد جوانه‌زنی بذر، طول ریشه و ساقه، سطح برگ و ارتفاع کلی گیاه به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۶). همچنین، ذرت در حضور سرب در محیط رشد، کاهش شدید رشد ریشه و ساقه را نشان داده و منطقه‌ای که ریشه‌های فرعی منشعب می‌شوند کوتاه‌تر

و تراکم ریشه‌های جانبی افزایش می‌یابد (۷). علائم مسمومیت با سرب در گیاهان معمولاً با کوتاهی رشد، زرد شدن برگ‌ها (کلروز) و تیره یا سیاه شدن سیستم ریشه همراه است (۸). حتی مقادیر کم سرب می‌تواند رشد ریشه و ساقه را محدود کند و با افزایش غلظت، اثرات مخرب بیشتری بر گیاهان ظاهر می‌شود. در سطوح بالاتر، سرب می‌تواند ذخیره پروتئین در سلول‌های گیاهی را کاهش دهد. بنابراین، حضور سرب در محیط رشد گیاهان نه تنها رشد و توسعه آن‌ها را محدود می‌کند، بلکه می‌تواند باعث کاهش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی شود. علاوه بر اثرات رشد، تنش سرب فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربات پراکسیداز (APX) را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۸). این آنزیم نقش حیاتی در محافظت گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن دارد. با توجه به اهمیت ثبات پروتئین‌ها و مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی برای سلامت و عملکرد گیاه، بررسی اثرات سرب بر محتوای پروتئین و فعالیت آسکوربات پراکسیداز ضروری است (۵). از سوی دیگر، گیاه کینوا به دلیل ارزش غذایی بالا و کاربردهای متعدد در صنایع غذایی و دارویی، طی سال‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۹). این گیاه غنی از پروتئین، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها و مواد معدنی بوده و به عنوان منبع غذایی سالم و مغذی برای انسان شناخته می‌شود. کینوا همچنین به عنوان یک محصول مهم در کشاورزی مطرح است، زیرا نسبت به شرایط محیطی نامساعد مقاومت نسبی داشته و توانایی رشد در خاک‌های فقیر را دارد. با وجود این ویژگی‌ها، پژوهش‌های انجام‌شده درباره اثر فلزات سنگین بر کینوا محدود است و عمدتاً بر ارقام غیرایرانی مانند «Puno» انجام شده است (۱۰-۱۲). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که سرب موجب تغییرات بیوشیمیایی مهم در کینوا می‌شود. Iftikhar و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که تنش سرب باعث افزایش تجمع آب‌اکسیژنه، کاهش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز و آسیب فتوسنتزی در کینوا رقم Puno می‌شود. همچنین Bamagoos و همکاران (۲۰۲۲) اختلاف قابل توجهی در میزان جذب و انتقال سرب بین دو رقم Puno و Titicaca مشاهده کردند که نشان‌دهنده تفاوت پاسخ ارقام مختلف کینوا به سرب است. این نتایج به روشنی بیانگر اثر منفی سرب بر

مسیرهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی کینوا است، اما همچنان تنها به چند رقم محدود شده‌اند و نمی‌توان آن‌ها را به تمام ارقام تعمیم داد (۱۱). با وجود ارزش غذایی و زراعی بالای رقم بومی «صدوق»، تاکنون هیچ مطالعه مستقلی واکنش‌های رشدی و بیوشیمیایی این رقم را تحت تنش منفرد سرب بررسی نکرده است. بیشتر پژوهش‌های موجود یا بر ارقام غیرایرانی تمرکز داشته‌اند یا شرایط تنش ترکیبی را بررسی کرده‌اند. این موضوع یک شکاف دانشی مهم ایجاد می‌کند، زیرا تفاوت‌های ژنتیکی میان ارقام می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان تحمل یا حساسیت به فلزات سنگین داشته باشد. نوآوری پژوهش حاضر در این است که برای نخستین بار، اثر تنش منفرد سرب بر شاخص‌های رشد، محتوای پروتئین، ترکیبات فنولی و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم صدوق کینوا بررسی می‌شود. نتایج این مطالعه می‌تواند به شناسایی سازوکارهای بیوشیمیایی مرتبط با تحمل یا حساسیت رقم صدوق کمک کرده و در مدیریت خاک‌های آلوده و انتخاب ارقام مقاوم برای کشت در مناطق آلوده نقش مؤثری داشته باشد.

روش کار

در این پژوهش از گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) رقم «صدوق» استفاده شد. بذرها پیش از کشت به‌منظور

ضدعفونی سطحی به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰.۵ درصد قرار داده شده و سپس چندین بار با آب مقطر استریل شست‌وشو شدند. پس از آن، بذرها در ظروف پلاستیکی یک‌بار مصرف با قطر ۱۲ سانتی‌متر، حاوی پرلیت به‌عنوان بستر کشت، کاشته شدند. در هر ظرف ۵ بذر کشت شد و پس از سبز شدن، گیاهچه‌ها به ۳ گیاه یکنواخت در هر ظرف تنک گردیدند. گیاهان در شرایط گلخانه‌ای با دمای 24 ± 2 درجه سانتی‌گراد در طول روز و 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد در شب و رطوبت نسبی حدود ۵۰ درصد نگهداری شدند. شدت نور حدود ۴۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم شد. آبیاری گیاهان به‌طور منظم با آب مقطر انجام گرفت و محلول غذایی هوگلند با نصف غلظت، هفته‌ای یک‌بار به گیاهان داده شد. چهارده روز پس از کاشت و در مرحله ۱۴ روزگی گیاهان، تیمارهای سرب اعمال گردید. برای این منظور، نیتрат سرب با غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار در محلول غذایی تهیه و به مدت ۱۴ روز متوالی استفاده شد. در پایان دوره تیمار و در سن ۲۸ روزگی گیاهان، نمونه‌برداری به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- شرایط رشد و نگهداری گیاهان کینوا در گلخانه

گیاه	بستر کشت	دمای روز	دمای شب	رطوبت نسبی	دوره نوری	شدت نور
کینوا رقم «صدوق»	پرلیت	24 ± 2 درجه سانتی‌گراد	20 ± 2 درجه سانتی‌گراد	۵۰ درصد	۱۶ ساعت روشنایی / ۸ ساعت تاریکی	۴۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه

استخراج و تعیین مقدار پروتئین

پروتئین از بافت‌های هوایی گیاه استخراج شد. یک گرم بافت تازه در هاون با ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی ۱ میلی‌مول EDTA، ۱ میلی‌مول PVP و ۱٪ آسیاب شد. مخلوط حاصل در $14,000\text{ g}$ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی برای آزمایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تعیین مقدار پروتئین جمع‌آوری شده و در لوله‌های اپندورف نگهداری شد. غلظت پروتئین با روش

Bradford (۱۹۷۶) تعیین شد. ۰.۱ میلی‌لیتر از عصاره پروتئین با ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد مخلوط و فوراً ورتکس شد. جذب نوری پس از ۲ دقیقه و در بازه زمانی یک ساعت در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۳).

و ورتکس شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها در تاریکی به مدت ۱۰ دقیقه، جذب نوری محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. به‌عنوان شاهد، مخلوط اتانول و DPPH بدون عصاره استفاده شد.

تحلیل آماری

آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. برای هر تیمار، ۳ تکرار بیولوژیکی در نظر گرفته شد و هر تکرار بیولوژیکی شامل یک گیاه در هر گلدان بود. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ تحلیل شدند. برای بررسی تفاوت بین تیمارها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورت معنی‌دار بودن اثر تیمار ($p < 0.05$)، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SE) گزارش شدند.

نتایج

اثر سرب بر طول و وزن تر ریشه و ساقه

اثر سرب در غلظت‌های ۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار بر وزن تر ریشه و ساقه بررسی شد. وزن تر ریشه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری به‌صورت وابسته به غلظت نشان داد، در حالی که وزن تر ساقه در غلظت ۴۰۰ میکرومولار تغییر قابل توجهی نداشت اما در غلظت ۶۰۰ میکرومولار کاهش چشمگیری مشاهده شد (شکل ۱). طول ریشه در هر دو غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و بین دو تیمار سرب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). به‌طور مشابه، طول ساقه با افزایش غلظت سرب به‌طور پیوسته کاهش یافت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

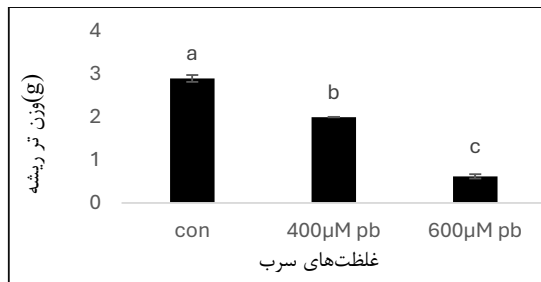
فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از مخلوط واکنش شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر پتاسیم فسفات، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربات، ۰/۱۵ میلی‌مولار آب اکسیژنه، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تعیین شد. کاهش جذب نوری در طول موج ۲۹۰ نانومتر، ناشی از اکسیداسیون آسکوربات، ۲ دقیقه پس از شروع واکنش اندازه‌گیری شد (۱۴).

تعیین محتوای فنول کل

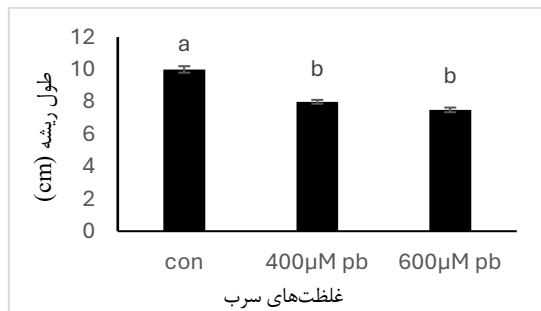
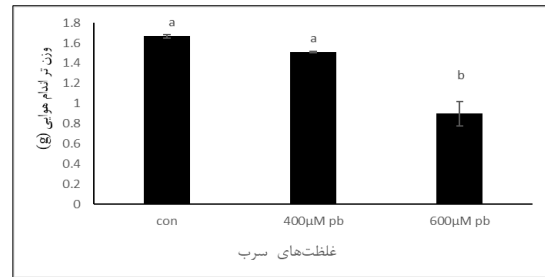
برای تعیین محتوای فنول کل، از روش Ainsworth و Gillespie (۲۰۰۰) استفاده شد (۱۵). ابتدا ۰/۱ گرم برگ‌های منجمد در هاون سرد با ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ آسیاب شد. پس از سانتریفیوژ عصاره به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، محلول رویی جدا شده و برای اندازه‌گیری فنول کل استفاده شد. برای انجام واکنش، ۳۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۲۰ میکرولیتر کربنات سدیم و ۱۵۰ میکرولیتر معرف Folin-Ciocalteu مخلوط شد و پس از ۳۰ دقیقه قرارگیری در تاریکی، جذب نوری آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تعیین فعالیت رادیکال آزاد DPPH

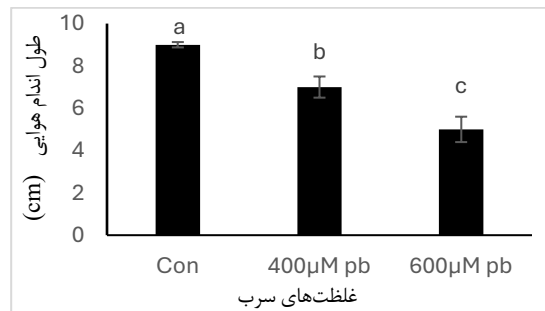
برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی، ابتدا ۰/۱ گرم برگ تازه به‌طور کامل آسیاب و در ۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ هم‌وزن شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. عصاره به‌دست‌آمده در دمای 4°C نگهداری شد. محلول تازه DPPH با غلظت ۱۰۰ میلی‌میکرومولار آماده شد و ۱ میلی‌لیتر از آن با ۱ میلی‌لیتر عصاره گیاه و ۳ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ مخلوط



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر وزن تر ساقه (a) و ریشه (b)



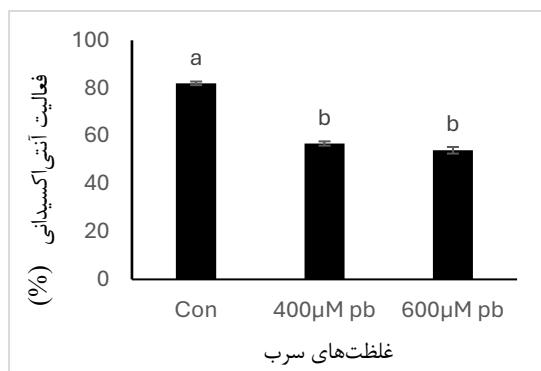
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر طول ساقه (a) و ریشه (b)



اثر سرب بر محتوای فنول کل و فعالیت

آنتی‌اکسیدانی

تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی نشان داد که محتوای فنول کل با افزایش غلظت سرب نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در گیاهان تیمار شده با سرب نسبت به کنترل به‌طور قابل توجهی کاهش یافت؛ با این حال، بین تیمارهای ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴).

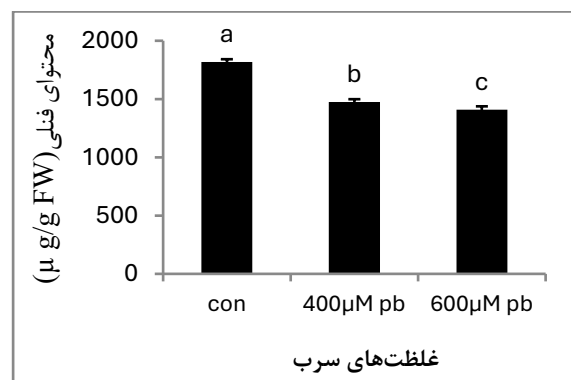


شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اثر سرب بر محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم

آسکوربات پراکسیداز

اثر سرب در غلظت‌های ۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار بر محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز مورد بررسی قرار گرفت. نسبت به گروه کنترل، هر دو پارامتر محتوای پروتئین و فعالیت APX کاهش معنی‌دار و وابسته به دوز نشان دادند. افزایش غلظت سرب باعث کاهش پیوسته این پارامترها شد (شکل‌های ۵ و ۶).

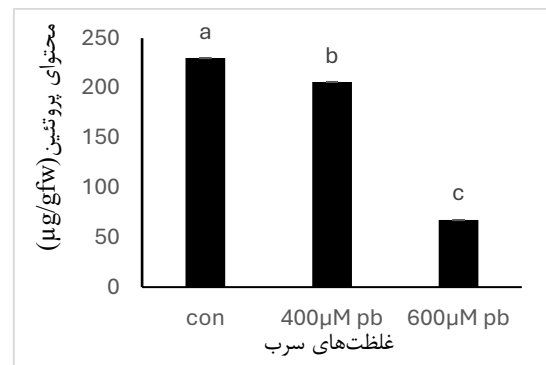


شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر محتوای فنولی

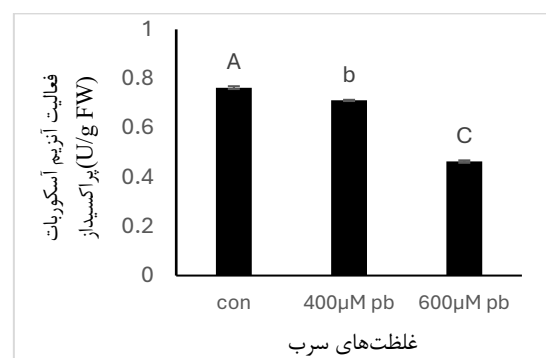
املاح لازم برای رشد است. افزون بر این، سرب با اختلال در زنجیره‌های انتقال الکترون کلروپلاست و میتوکندری و فعال‌سازی آنزیم‌های اکسیداز غشایی موجب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود و تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن ساختارهای پروتئینی، غشایی و ژنتیکی را تخریب می‌کند. (Rahman et al., 2024)

کاهش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز در این پژوهش نشان‌دهنده توانایی رقم صدوق در حذف مؤثر آب‌اکسیژنه است و با یافته‌های Iftikhar و همکاران (۲۰۲۲) و Abbas و همکاران (۲۰۲۴) در مورد کاهش آسکوربات پراکسیداز در رقم Puno تحت تنش سرب هم‌خوانی دارد. با توجه به اینکه آسکوربات پراکسیداز آنزیم کلیدی چرخه آسکوربات-گلوتاتیون محسوب می‌شود، کاهش فعالیت آن می‌تواند موجب تجمع بیشتر آب‌اکسیژنه و تشدید تخریب غشاها و پروتئین‌ها شود. کاهش محتوای پروتئین کل در رقم صدوق نیز نشان‌دهنده تخریب پروتئین‌ها توسط گونه‌های فعال اکسیژن و مهار سنتز پروتئین در اثر آسیب به ریبوزوم‌ها و میتوکندری است؛ چنان‌که Mansoor و همکاران (۲۰۲۳) پایداری پروتئین‌ها را تحت تنش فلزات سنگین به‌طور مستقیم وابسته به شدت استرس اکسیداتیو دانسته‌اند. از سوی دیگر، کاهش محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی بیانگر تضعیف پاسخ دفاعی غیرآنزیمی است. ترکیبات فنولی در کینوا نقش مهمی در خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن دارند و مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که سرب با مهار مسیر فنیل‌پروپانویید و کاهش فعالیت فنیل‌آلانین آمونیا-لیاز از تجمع فنول‌ها جلوگیری می‌کند (Kumar et al., 2023).

این موضوع توضیح می‌دهد چرا محتوای فنول در رقم صدوق تحت تنش سرب کاهش یافت و چرا توان آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی نیز تضعیف شد. مقایسه رفتار رقم صدوق با ارقام دیگر کینوا نشان می‌دهد که شدت حساسیت در این رقم نسبتاً بالا است. در مطالعات Iftikhar و همکاران (۲۰۲۲) و Abbas و همکاران (۲۰۲۴)، رقم Puno تحت تنش سرب کاهش رشد و آسکوربات پراکسیداز را نشان داد، اما شدت کاهش آسکوربات پراکسیداز در Puno کمتر از آن چیزی است که در رقم صدوق مشاهده شد و این موضوع بیانگر ظرفیت بیشتر Puno در تنظیم چرخه آسکوربات-



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر محتوای پروتئین



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف سرب بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش سرب موجب کاهش چشمگیر رشد ریشه و ساقه، افت وزن‌تر اندام‌ها، کاهش محتوای پروتئین کل، کاهش ترکیبات فنولی و تضعیف فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم صدوق کینوا شد. این الگو با یافته‌های اخیر درباره پاسخ گیاهان به فلزات سنگین مطابقت دارد و می‌توان آن را در چارچوب اختلالات ساختاری، متابولیکی و مولکولی ناشی از سرب تفسیر کرد (۱۶، ۱۷). سرب به‌عنوان یک فلز غیرضروری، با برهم‌زدن سازمان‌دهی میکروتوبول‌ها، تخریب ساختار دیواره سلولی، آسیب به کلروپلاست‌ها و میتوکندری، و مهار تقسیم و طویل‌شدن سلول‌ها باعث کاهش رشد گیاه می‌شود؛ چنان‌که Rani و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کرده‌اند که سرب در مریستم‌های ریشه موجب توقف چرخه سلولی و کاهش طویل‌شدن سلول می‌گردد. کاهش رشد ریشه و ساقه در رقم صدوق نیز احتمالاً نتیجه همین اختلالات ساختمانی و محدودشدن انتقال آب و

دفاعی مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، و عدم ارزیابی بیان ژن‌های مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی. انجام این ارزیابی‌ها در پژوهش‌های آینده می‌تواند تصویر جامع‌تری از سازوکارهای تحمل یا حساسیت رقم صدوق ارائه دهد و زمینه مقایسه دقیق‌تر آن با ارقام مقاوم یا حساس را فراهم سازد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که رقم صدوق کینوا در برابر سرب حساس بوده و کاهش رشد، افت محتوای پروتئین، کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و تضعیف فعالیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی از شاخص‌های اصلی این حساسیت هستند. سرب با ایجاد استرس اکسیداتیو، اختلال در تقسیم و طول‌شدن سلول، مهار سنتز پروتئین و کاهش عملکرد آنزیم‌های دفاعی موجب آسیب گسترده در گیاه می‌شود. با توجه به نبود داده‌های مربوط به تجمع سرب و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده شبکه دفاع اکسیداتیو، مسیرهای مولکولی تنظیم‌کننده آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز، و نحوه توزیع سرب در اندام‌های مختلف رقم صدوق بررسی شود تا سازوکارهای تحمل یا حساسیت این رقم به‌طور کامل مشخص گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

گلوکاتایون است. پژوهش Bamagoos و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که رقم Titicaca نسبت به Puno حساسیت بیشتری در رشد ریشه دارد و توانایی محدودتری در کنترل انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی دارد. الگوی کاهش رشد ریشه در رقم صدوق در پژوهش حاضر مشابه الگوی حساسیت بالای Titicaca است. مقایسه این گزارش‌ها با نتایج حاضر نشان می‌دهد که رقم صدوق از نظر افت فنول کل، کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و کاهش رشد ریشه در دسته ارقام حساس قرار می‌گیرد. تفاوت‌های بین‌رقمی در پاسخ به سرب نشان می‌دهد که عوامل ژنتیکی، تنظیم بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و توانایی ترکیبات فنولی در خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان تحمل دارند و لزوم بررسی دقیق‌تر خصوصیات ژنتیکی ارقام ایرانی مانند صدوق را برجسته می‌کند. در سطح مولکولی، مطالعات ترنسکریپتومی اخیر نشان داده‌اند که سرب موجب تغییر در بیان صدها ژن مرتبط با چرخه سلولی، تنظیم هورمونی، مسیرهای آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز ۱ و ۲، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، و متابولیسم گلوکاتایون می‌شود (۱۸، ۱۹). کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و پروتئین کل مشاهده‌شده در رقم صدوق می‌تواند بازتابی از این تنظیم ژنی باشد؛ هرچند در این پژوهش بیان ژن به‌طور مستقیم اندازه‌گیری نشده و بررسی آن در مطالعات آینده ضروری است. با وجود یافته‌های ارزشمند، پژوهش حاضر محدودیت‌هایی نیز دارد؛ از جمله عدم اندازه‌گیری مقدار تجمع سرب در بافت‌ها، بررسی‌نشدن سایر آنزیم‌های

References

1. Mishra S, De A. Various sources of heavy metals contamination, including industrial activities, mining, agriculture, and urbanization. *Heavy Metal Contamination in the Environment*: CRC Press; 2024. p. 71-94.
2. Bhatla SC, Kathpalia R. Essential and functional mineral elements. *Plant physiology, development and metabolism*: Springer; 2023. p. 25-49.
3. Bibi M, Samiullah FB, Saba Afzal S. Essential and non-essential heavy metals sources and impacts on human health and plants. *Pure and Applied Biology (PAB)*. 2023;12(2):835-47.
4. Velayatzadeh M. Heavy metals in surface soils and crops. *Heavy Metals-Recent Advances*: IntechOpen; 2023.

5. Rani M, Vikas, Kumar R, Lathwal M, Kamboj A. Effect and responses of lead toxicity in plants. Lead toxicity mitigation: sustainable Nexus approaches: Springer; 2024. p. 211-41.
6. Shourie A. Effect of Cadmium and Lead Stress on Seed Germination and Seedling Growth of *Jatropha curcas* L. Biosciences Biotechnology Research Asia. 2022;19(3):671-8.
7. Ruiz-Huerta EA, Armienta-Hernández MA, Dubrovsky JG, Gómez-Bernal JM. Bioaccumulation of heavy metals and As in maize (*Zea mays* L) grown close to mine tailings strongly impacts plant development. Ecotoxicology. 2022;31(3):447-67.
8. Jagota N, Singh S, Kaur H, Kaur R, Sharma A. Oxidative stress in lead toxicity in plants and its amelioration. Lead Toxicity Mitigation: Sustainable Nexus Approaches: Springer; 2024. p. 299-333.
9. Ren G, Teng C, Fan X, Guo S, Zhao G, Zhang L, et al. Nutrient composition, functional activity and industrial applications of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Chemistry. 2023;410:135290.
10. Iftikhar A, Abbas G, Saqib M, Shabbir A, Amjad M, Shahid M, et al. Salinity modulates lead (Pb) tolerance and phytoremediation potential of quinoa: A multivariate comparison of physiological and biochemical attributes. Environmental Geochemistry and Health. 2022;44(1):257-72.
11. Bamagoos AA, Alharby HF, Abbas G. Differential uptake and translocation of cadmium and lead by quinoa: A multivariate comparison of physiological and oxidative stress responses. Toxics. 2022;10(2):68.
12. Alharby HF, Al-Zahrani HS, Abbas G. Potassium and silicon synergistically increase cadmium and lead tolerance and phytostabilization by quinoa through modulation of physiological and biochemical attributes. Toxics. 2022;10(4):169.
13. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 1976;72(1):248-54.
14. Chen G-X, Asada K. Ascorbate Peroxidase in Tea Leaves: Occurrence of Two Isozymes and the Differences in Their Enzymatic and Molecular Properties. Plant and Cell Physiology. 1989;30(7):987-98.
15. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. Nature Protocols. 2007;2(4):875-7.
16. El Khattabi O, Lamwati Y, Henkrar F, Collin B, Levard C, Colin F, et al. Lead-induced changes in plant cell ultrastructure: an overview. Biometals. 2025;38(1):1-19.
17. Gupta M, Dwivedi V, Kumar S, Patel A, Niazi P, Yadav VK. Lead toxicity in plants: mechanistic insights into toxicity, physiological responses of plants and mitigation strategies. Plant Signaling & Behavior. 2024;19(1):2365576.
18. Rahman SU, Qin A, Zain M, Mushtaq Z, Mehmood F, Riaz L, et al. Pb uptake, accumulation, and translocation in plants: Plant physiological, biochemical, and molecular response: A review. Heliyon. 2024;10(6).
19. Mansoor S, Ali A, Kour N, Bornhorst J, AlHarbi K, Rinklebe J, et al. Heavy metal induced oxidative stress mitigation and ROS scavenging in plants. Plants. 2023;12(16):3003.