Research Article

Nova Biologica Reperta 10(4): 86-99 (2023)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI:

مقاله پژوهشی

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۱۰، شماره ۴، صفحات ۸۶ الی ۹۹ (۱۴۰۲)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

تاثیر شرایط خلا شبیه سازی شده فضا بر برخی از پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی کینوا

فاطمه موسوی*

گروه فیزیولوژی هوافضایی، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

moosavi@ari.ac.ir *

چکیده. بذر کینوا (*Chenopodium quinoa*) به دلیل محتوای پروتئینی غنی و فعالیت آنتی اکسیدانی بالا به عنوان یک منبع غذایی بی نظیر مطرح می باشد. در مطالعه حاضر با هدف انتخاب بذر این گونه برای ارسال به فضا، پاسخ محتوای پروتئینی، فنل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی و شاخص جوانه زنی بذر آن به شرایط خلا شبیه سازی شده فضا مورد سنجش قرار گرفت. نتایج افزایش معنی دار شاخص جوانه زنی بذر را برای گروه تحت تیمار خلا نسبت به گروه کنترل نشان داد. محتوای فنل و فلاونوئید کل در بذرهای تحت تیمار خلا نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. شرایط خلا موجب افزایش معنی دار ظرفیت آنتی اکسیدانی بذرهای کینوا شد. محتوای پروتئین کل بذر در گروه تحت تیمار خلا و کنترل به ترتیب ۲۵ و ۳۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. نیمرخ پروتئینی بذر ۱۳ باند پروتئینی مشخص در محدوده وزن مولکولی ۱۵ تا ۷۰ کیلودالتون نشان داد. شدت باندهای پروتئینی بین گروه های تیمار خلا و کنترل به طرز معنی دار تفاوت داشت. تغییرات ساختاری در پوسته بذر و همچنین خروج آب و روغن از بذرها تحت شرایط خلا می تواند از علل پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متفاوت بذرهای کینوا در مطالعه حاضر باشد.

واژه های کلیدی: پروتئین، خلا، فضای خارج از جو، ظرفیت آنتی اکسیدانی، کشاورزی فضایی

The effect of simulated space vacuum conditions on some biochemical and physiological responses of quinoa

Fateme Mousavi*

* Air and Space Physiology Research Group, Aerospace Research Institute (ARI), Ministry of Science, Research and Technology (MSRT), Tehran, Iran

* moosavi@ari.ac.ir

Quinoa seed (*Chenopodium quinoa* Willd.) is considered a unique food source due to its rich protein content and high antioxidant activity. In the present study, the response of protein content, phenol, flavonoid, antioxidant capacity, and the germination index of its seeds to simulated vacuum conditions of space was evaluated with the aim of selecting the quinoa seeds to send to space. The results showed a significant increase in the seed germination index of the vacuum-treated group compared to the control group. Total phenolic and flavonoid content was higher in vacuum-treated seeds compared to the control group. Vacuum conditions significantly increased the antioxidant capacity of quinoa seeds. The total seed protein content in the vacuum-treated and control groups was 25 and 35 mg/ml, respectively. The seed protein profile showed 13 distinct protein bands in the molecular weight range of 15 to 70 kilodaltons. The intensity of protein bands was significantly different between vacuum treatment and control groups. Extraction of water and oil from the seeds under vacuum conditions and structural changes in the seed coat can be the causes of different biochemical and physiological responses of quinoa seeds in the present study.

Keywords: antioxidant capacity, outer space, protein, Space farming, vacuum

Received 16.06.2023/ Revised 02.09.2023/ Accepted 09.09.2023/ Published 20.12.2023

دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۶/ اصلاح: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱/ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۸/ انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

مقدمه

تاسیسات زمینی برای شبیه‌سازی شرایط فراسیاره‌ای، سیستم‌های با ارزش و مقرون به صرفه ای برای ارزیابی تاثیر محیط فضا بر ارگانیسم ها هستند (Ponessa et al., 2022). خلا یا بی اکسیژنی فضا از جمله شرایط محیطی مهم محیط های فراسیاره ای است و علی رغم نام آن یک فضای کاملا خالی نیست. محیط خلا فضا حاوی ذرات با چگالی کم، عمدتا پلاسمای هیدروژن و همچنین میدان های مغناطیسی، تشعشعات الکترومغناطیسی و نوترینوها است (Da Silva et al., 2011). محفظه ها یا سیستم های شبیه ساز خلا در روی زمین قادر به شبیه سازی محیط خلا فضا برای مطالعات زیست فضا هستند. این محفظه ها سطح خلا دلخواه را برای یک مدت زمان مشخص ایجاد نموده و این میزان خلا را در سرتاسر مدت زمان انجام آزمایش حفظ می کنند (Dekoulis, 2018).

گیاهان عالی جز اصلی اکوسیستم ها از جمله اکوسیستم های فضایی محسوب می شوند. آن ها ۵ نقش کلیدی را ایفا می کنند: تولید مواد غذایی و مولکول های فعال زیستی، تولید اکسیژن، کاهش دی اکسیدکربن، مدیریت آب و بازیافت زباله های متابولیکی. یکی از اهداف کشاورزی فضایی، توسعه سیستم های تولید غذا تازه، ایمن و پایدار است. سیستم های رشد گیاه در مدار LEO طی ۵۰ سال گذشته بر روی سکوهای متعدد شامل Salyut، شاتل فضایی، میر، و ISS به کار گرفته شدند تا اثرات محیط فضا را بر فیزیولوژی گیاه مورد بررسی قرار بدهند. اصطلاح ((غذای فضایی)) برای اولین بار در سال ۱۹۲۶ توسط دانشمند روسی Konstantin Tsiolkovsky مطرح شد (Abderrahim et al., 2015). متعاقبا، Willy Ley در سال ۱۹۸۴ و Jack Myers و همکاران در طول دهه ۱۹۵۰ (Harvey et al., 2011) دریافتند رشد گیاهان در طی سفرهای فضایی طولانی مدت نه تنها برای تامین غذا بلکه برای تامین اکسیژن برای فضانوردان ضروری به نظر می رسد.

گیاهان ارگانیسم های هوازی اجباری هستند. اکسیژن به عنوان گیرنده الکترون پایانی در مسیر فسفوریلاسیون اکسیداتیو ضروری است و اکثریت قریب به اتفاق ATP را برای متابولیسم سلولی از طریق بازسازی NADP از NADH فراهم می آورد. اکسیژن در چندین مسیر مهم سلولی از جمله بیوسنتز استرول ها و اسیدهای چرب مورد نیاز است (Geigenberger, 2003). در دسترس بودن اکسیژن برای جوانه زنی بذر بسیار مهم است و انرژی لازم را برای بسیاری از واکنش های بیوشیمیایی در طول جوانه زنی فراهم می آورد. بنابراین بیشتر بذرها برای جوانه زدن به اکسیژن نیاز دارند اگرچه برخی از گونه ای گیاهی ممکن است به صورت بی هوازی جوانه بزنند (van Dongen & Licausi, 2015; Yasin & Andreasen, 2016). در شرایط خشک، ترمیم آنزیمی نمی تواند رخ دهد که این امر منجر به تجمع آسیب ها در طول ذخیره سازی بذر شده و در نهایت منجر به از دست دادن زنده مانی آن می گردد (Groot et al., 2012; Groot et a.l, 2015). برخی مطالعات نشان داده اند افزایش سطوح اکسیژن در طول ذخیره سازی بذرهای خشک منجر به انحرافات کروموزومی بیشتر در طول تقسیم سلولی احتمالا از طریق القا تجمع اکسیداسیون DNA در طول دوره ذخیره سازی می شود (Abdalla & Roberts, 1968). برای مثال، ذخیره بذرهای *Vicia faba*، به مدت ۴ هفته در فشار اکسیژن ۳ یا ۶ مگاپاسگال منجر به افزایش نقایص کروموزومی در بذرها شد (Groot et al., 2015; Moutschen- Dahmen et al, 1959). همچنین ثابت شده است اتمسفرهای کم اکسیژن برای محافظت از کیفیت بذر در بسیاری از گونه ها در طول ذخیره سازی موثر هستند (Abadia et al., 2022).

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) متعلق به تیره Chenopodiaceae می باشد که حدود ۲۵۰ گونه از این تیره در سرتاسر جهان وجود دارد. این گیاه بومی آمریکای جنوبی است و به دلیل محتوای پروتئینی غنی و الگوی متعادل اسیدآمینه های ضروری، از آن به عنوان یک گیاه مقدس و منبع غذایی بی نظیر یاد می شود (Jancurová et

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

al., 2009). آلبومین ها و گلوبولین ها به ترتیب با ۳۵ و ۳۷ درصد، پروتئین های ذخیره ای اصلی بذر کینوا را تشکیل می دهند. به هر حال، پرولامین ها در غلظت های پایین وجود دارند (James, 2009). کینوا دارای محتوای بالایی از لیزین (از ۲,۴ تا ۷,۸ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین)، متیونین (۰,۳-۹,۱ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین) و ترئونین (۲,۱-۸,۹ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین) است (Dini et al., 2005). این منبع مغذی حاوی مقادیر قابل توجهی فیبر و مواد معدنی نظیر کلسیم و آهن است (Ando et al., 2002)رو سرشار از آنتی اکسیدان هایی نظیر پلی فنول ها می باشد (Hirose et al., 2010). یکی از فعالیت های اصلی که برای بذرهای کینوا به اثبات رسیده است فعالیت آنتی اکسیدانی است که با محتوای بالای ترکیبات فنلی آن ها مرتبط است (Abderrahim et al., 2015). بیش از ۲۰ ترکیب فنلی در بذر کینوا یافت شده است که عمدتا اسیدهای فنولیک هستند که از اسیدهای وانیلیک و فرولیک و مشتقات آن ها و همچنین فلاونوئیدهای کورسیتین، کامپفرول و گلیکوزیدهای آن های تشکیل شده اند (Yao Tang et al., 2015; Yao Tang et al., 2016). در همین راستا، سازمان ملل متحد به دلیل خواص کینوا و ارزش غذایی آن و در نتیجه اهمیت آن در برنامه امنیت غذایی، سال ۲۰۱۳ را به نام سال جهانی کینوا نامگذاری کرد (Bazile et al., 2016).

گونه کینوا مقاوم به تنش است. این گیاه، به سرما، شوری، خشکی و شرایط آب و هوایی شدید مقاوم است و در مناطق کوهستانی و ارتفاعات نیز قابل کشت است (Vega- Gálvez et al., 2010). کینوا هزاران سال است که در منطقه آند به عنوان یک منبع بسیار مغذی کشت می شود جایی که در آن رشد محصول به دلیل خشکسالی، یخبندان، شوری خاک، تگرگ، برف، باران، سیل و گرما بسیار دشوار است. این گونه تحمل غیرمعمول بالایی را نسبت به نمک نشان می دهد و دارای درجه بالایی از مقاومت در برابر سرما است و بسته به فاز فنولوژیکی و نوع واریته آن می تواند تا ۴ ساعت در دمای ۸- درجه سانتی گراد زنده بماند (Derbali et al., 2021; Hinojosa et al., 2018; Jacobsen et al., 2003). همچنین کینوا به عنوان گونه ای محبوب برای کشت در فضا به دلیل خواص بی‌شمار و دوره رشد سریع آن مطرح می باشد (Romero & Shahriari, 2011). مطالعه حاضر با هدف بررسی پاسخ محتوای پروتئینی، فنل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی و رویش بذر کینوا به شرایط خلا شبیه سازی شده فضا انجام شد.

مواد و روش ها

به منظور شبیه سازی شرایط خلا محیط فضا، بذرهای خشک کینوا درون شبیه ساز خلا سامانه های فضایی واقع در پژوهشگاه فضایی ایران قرار داده شدند. فشار داخل محفظه 10^{-4} میلی بار و دمای محیط در زمان اعمال خلا ۲۵+ درجه سانتی گراد بود. ابتدا فشار هوا داخل محفظه صفر بود و به تدریج به مقدار 10^{-4} میلی بار رسانده شد. نمونه ها به مدت یکساعت تحت شرایط خلا ایجاد شده قرار گرفتند. سپس فشار درون محفظه به تدریج به صفر رسانده شد (Mousavi, 2023).

برای مقایسه درصد رویش بذر در گروه های کنترل و تیمار خلا، از هر یک از گروه های بذر تعداد ۱۰۰ عدد شمارش و پس از شستشوی بذرها با آب معمولی همراه با یک تا دو قطره توئین۲۰ و سپس سه بار شستشو با آب مقطر استریل، در پلیت های ۸ سانتی متری حاوی کاغذ صافی استریل قرار گرفته و با آب مقطر استریل آبیاری و در شرایط تاریکی در دمای ۳۲ درجه قرار داده شدند. شاخص جوانه زنی در بازه های ۳ و ۵ روزه مطابق با رابطه زیر مورد ارزیابی قرار گرفت (Prado et al., 2000).

$$Seed\ Germination = \frac{\text{Number of germinated seeds}}{\text{Number of total seeds}} \times 100$$

به منظور انجام سنجش های بیوشیمیایی (سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی، محتوای فنل و فلاونوئید کل)، میزان ۱۰۰ میلی گرم از بذرهای خشک به یک میلی لیتر متانول اضافه و سپس یک دقیقه در دستگاه گریندر بر روی یخ به خوبی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

هموژن گردید. پس از ۶۰ دقیقه سانتریفوژ، عصاره از بقایای بذرها جدا سازی و تخلیص گردید. فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از مهار رادیکال آزاد ۲و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی شد. در ابتدا مقادیر مورد نظر از عصاره توزین و سوسپانسیون همگن با کمک ورتکس تهیه گردید . پنجاه میکرولیتر از محلول تهیه شده به پلیت های ۹۶ خانه منتقل شد. آسکوربیک اسید۱۰۰ میلی مولار به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد انتخاب و در پلیت ۹۶ خانه و به صورت جداگانه ریخته شد. سپس به هر چاهک مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از محلول متانول- DPPH (مقدار ۲ میلی گرم از DPPH با متانول به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده می شود) اضافه شد و بعد از مخلوط کردن، جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر گزارش شد. با این روش، پتانسیل مهار ۵۰٪ رادیکال های آزاد عصاره با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شود که تحت عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره بیان می شود(Baliyan et al., 2022).

$$\text{درصد مهار رادیکالی} = \frac{\text{جذب نمونه}-\text{جذب بلانک}}{\text{جذب بلانک}} \times ۱۰۰$$

سنجش فنل کل به روش فولین دنیس انجام شد که در این روش، گالیک‌اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار می گیرد. بدین منظور، به نیم میلی‌لیتر از عصاره متانولی، دو میلی‌لیتر معرف فولین دنیس ۱۰ درصد اضافه و به مخلوط حاصل بعد از پنج دقیقه دو میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات هفت درصد اضافه گردید. یک ساعت بعد از هر نمونه مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر به پلیت ۹۶ خانه منتقل و سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر الایزا ریدر Life BioTech گزارش شد و در نهایت مقدار فنول کل، بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه شد (Sin, 2017).

برای سنجش محتوای فلاونوئید کل، ۵۰۰ میکرو لیتر از همگنای حاصل پس از سانتریفوژ (۱۲۰۰۰rpm ، به مدت ۱۵ دقیقه) با ۵۰۰ میکرو لیتر محلول ۲٪ کلرید آلومینیوم ($AlCl_3.6H_2O$) (۲ گرم در متانول ۸۰٪) مخلوط و به شدت به هم زده شد. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد، از هر نمونه مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر به پلیت ۹۶ خانه منتقل و سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۳۶۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر الایزا ریدر Life BioTech خوانده شد و مقدار فلاونویید کل با استفاده از منحنی استاندارد فلاونویید آپی ژنین محاسبه گردید (Djeridane et al., 2006).

به منظور استخراج پروتئین ها، مقدار ۱۰۰ میلی گرم بذرهای خشک کینوا با استفاده از یک هاون آسیاب شدند. سپس یک میلی لیتر محلول شامل تریس ۰/۰۶۲۵ مولار با pH=8.1، سدیم دودسیل سولفات (SDS) ۲٪، ۲ مرکاپتو اتانول ۵٪ و گلیسرول ۱۰٪ به بذرهای پودر شده اضافه شد و دوبار آسیاب شد تا زمانی که یک همگن (هموژن) یکنواخت حاصل شود. هموژن حاصل در 13000 g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب دور ریخته شد و مایع رویی در منهای ۲۰ درجه سانتی گراد برای انجام الکتروفورز ذخیره شد (Fairbanks et al., 1990).

سنجش کمی پروتئین بذرها به روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد. بدین منظور، پس از افزودن معرف برادفورد به حجم های مساوی از عصاره های تهیه شده، مخلوط به شدت ورتکس شد. جذب نمونه ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. محتوای پروتئین کل بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر وزن نمونه با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی (BSA) گزارش گردید.

به منظور سنجش محتوای کیفی پروتئین های بذر خشک کینوا، از الکتروفورز پروتئین ها به روش SDS-PAGE استفاده شد. بدین منظور SDS-PAGE در ژل آکریلامید ۱۲ درصد انجام شد. به طور خلاصه، مخلوط بافر و عصاره پروتئینی استخراج شده در ترمال سایکلر به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۹ درجه سانتی گراد دناتوره شد و به ازای هر نمونه، در هر چاهک ۱۲ میکرولیتر از این مخلوط (۸۰ میکرولیتر عصاره پروتئنی استخراج شده و ۲۰ میکرولیتر بافر نمونه) بارگذاری شد.

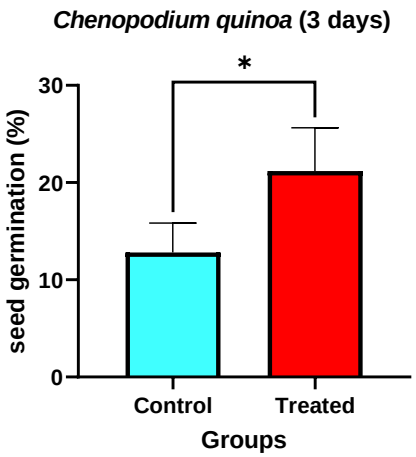
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

پس از رنگ آمیزی ژل توسط کوماسی بلو و سپس رنگ بری آن به منظور شدت سنجی باندهای پروتئینی برای تعیین مقدار پروتئین در هر باند، ، تصویر ژل با استفاده از نرم افزار پردازش تصویر image J آنالیز شد.

نتایج مطالعه با استفاده از برنامه آماری Graphpad Prism نسخه ۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Mousavi, 2019).

نتایج و بحث

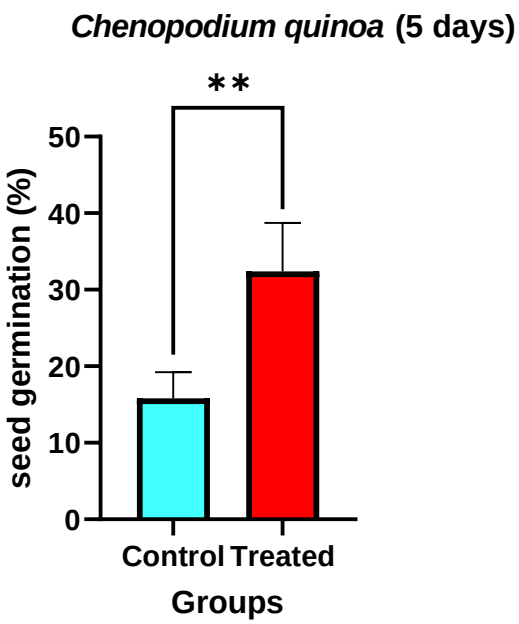
رویش بذر، مرحله ضروری برای رشد گیاه در محیط های فراسیاره ای (مدار LEO و فراتر از آن) است و به عنوان اولین مرحله سازگاری گیاه در نظر گرفته می شود (Repo-Carrasco-Valencia & Serna, 2011). به طور کلی، فشار جزئی O2 به دلیل نقش آن در فرآیند فسفوریلاسیبون اکسیداتیو یک عامل اساسی در رویش بذر است، با این حال برخی از مطالعات نشان داده است رویش بذر و رشد اولیه گیاهچه در فشارهای پایین اتمسفر و در فضا امکان پذیر است (Carillo et al., 2020; Musgrave et al., 1988; Schwartzkopf & Mancinelli, 1991; Sigstad & Prado, 1999). در این رابطه، Tang و همکاران (Yongkang Tang et al., 2014) نشان دادند که گیاهان تک لپه و دولپه به فشار جزئی اکسیژن حداقل ۶ کیلوپاسکال برای رویش بذرشان نیاز دارند. همچنین ناسا، رویش بذرهای برنج را در فشار اتمسفر کاهش یافته (نزدیک به ۳۴ کیلوپاسکال) در وسیله نقلیه فضایی اسکای لب مورد بررسی قرار داد (Paul & Ferl, 2006). در مطالعه حاضر، بذرهای خشک کینوا که تحت فشار اتمسفر شبیه سازی شده فضا قرار گرفتند، نسبت به بذرهای گروه کنترل تفاوت معنی داری را برای درصد رویش بذر نشان دادند. شاخص جوانه زنی در بازه ۳ روزه برای بذرهای تحت تیمار خلا نسبت به بذرهای گروه کنترل افزایش معنی داری را در سطح احتمال $P<0.05$ نشان داد (شکل ۱). به هر حال، در بازه ۵ روزه، اختلاف کاملا مشهود بود و این افزایش در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (شکل ۲). نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعه Halloy و Gonz´alez (Halloy & González, 1993) در رابطه با تاثیر فشار کم بر شاخص جوانه زنی بذر کینوا با مطابقت نداشت. این محققین اثرات فشار کم را بر روی رویش بذر کینوا در شرایط آزمایشگاهی مطالعه کردند و دریافتند با افزایش ارتفاع (شرایط خلا یا بی اکسیژنی) بقا و زیست پذیری بذرها کاهش می یابد. در همین رابطه، Ponessa و همکاران (Ponessa et al., 2022) نیز جوانه‌زنی و پاسخ‌های رشد اولیه بذر کینوا را تحت یک جو استاندارد آزمایشگاهی کنترل‌شده با نوسانات فشار (کم- زیاد) مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند شاخص جوانه زنی در بذرهای تحت تیمار تفاوتی با بذرهای شاهد ندارد. بنابراین مطالعه ما برای اولین بار، تاثیر مثبت شرایط خلا شبیه سازی شده فضا را بر شاخص جوانه زنی بذرهای کینوا نشان داد.



شکل ۱. مقایسه شاخص جوانه زنی بذرهای کینوا در بازه ۳ روز تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۵ تکرار.

Figure 1. Comparison of the germination index of quinoa seeds in a period of 3 days under simulated space vacuum (Treated) and Earth's atmospheric pressure (Control). Average of 5 repetitions.

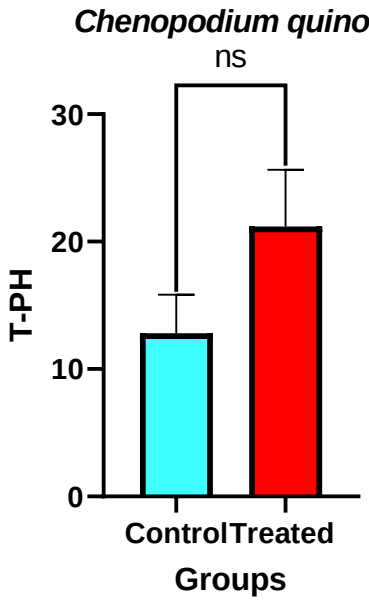
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]



شکل ۲. مقایسه شاخص جوانه زنی بذرهای کینوا در بازه ۵ روز تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۵ تکرار.

Figure 2. Comparison of the germination index of quinoa seeds in a period of 5 days under simulated space vacuum (Treated) and Earth's atmospheric pressure (Control). Average of 5 repetitions.

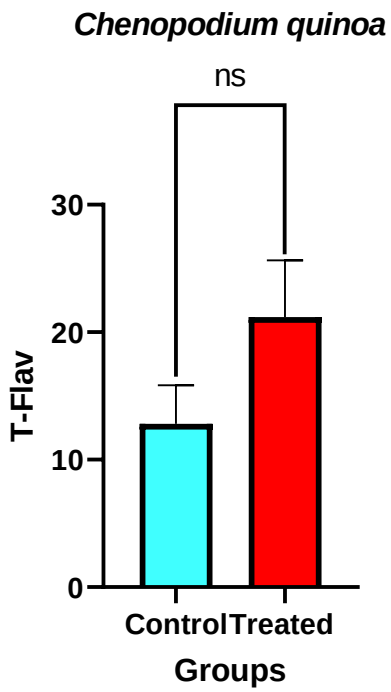
ظرفیت جوانه زنی بذر همبستگی مثبتی با محتوای فنل کل آن دارد. افزایش غلظت این ترکیبات به دنبال پراکندگی بذر نشان دهنده این است که ترکیبات فنلی در حفظ زیست پذیری بذر نقش مهمی را ایفا می کنند (Boughalleb et al., 2020; Pukacka & Ratajczak, 2007). بنابراین در مطالعه حاضر، محتوای فنل و فلاونوئید کل در بذرهای تحت تیمار خلا نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. به هر حال، این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نبود (شکل های ۳ و ۴). مطالعات پیشین در رابطه با تاثیر نگهداری طولانی مدت بذر و زوال آن بر محتوای فنل کل نتایج متناقضی را نشان داده است. در واقع، محتوای فنل کل در بذرهای زوال یافته *Periploca angustifolia* و *Fagus sylvatica* کاهش قابل توجهی را نشان داد (Abdellaoui et al, 2013; Pukacka & Ratajczak, 2007). مطالعه Wołosiak و همکاران (Wołosiak et al., 2018) نیز نشان داد که ذخیره طولانی مدت بذرهای لوبیا باعث کاهش قابل توجه محتوای فنل کل می شود. برعکس، عدم تغییر محتوای فنل کل و حتی افزایش آن در طی ذخیره طولانی مدت بذرهای *گونه Calicotome villosa* گزارش شد (Boughalleb et al., 2020).



شکل ۳. مقایسه محتوای فنل کل در بذرهای خشک کینوا تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۳ تکرار.

Figure 3. Comparison of total phenolic content in dry quinoa seeds under simulated space vacuum (Treated) and Earth atmospheric pressure (Control). Average of 3 repetitions.

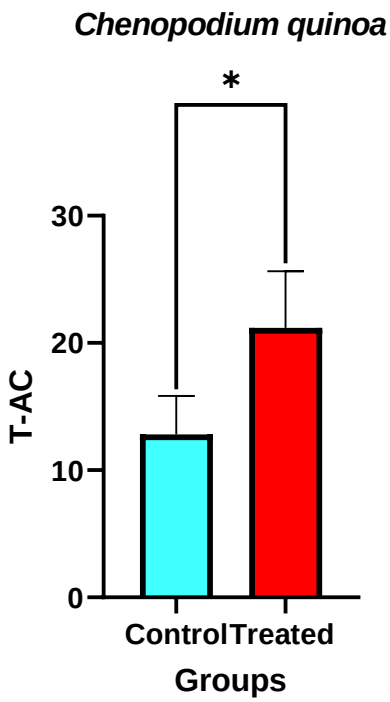
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]



شکل ۴. مقایسه محتوای فلاونوئید کل در بذرهای خشک کینوا تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۳ تکرار.

Figure 4. Comparison of total flavonoid content in dry quinoa seeds under simulated space vacuum (Treated) and Earth atmospheric pressure (Control). Average of 3 repetitions.

مقایسه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بذرهای تحت تیمار خلا و کنترل نشان داد شرایط خلا موجب افزایش معنی دار فعالیت آنتی اکسیدانی بذرهای کینوا می شود ($P<0.05$) (شکل ۵). در رابطه با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی بذر علی رغم افزایش سن بذر و احتمال بیشتر زوال آن، یافته های Wołosiak و همکاران (Wołosiak et al., 2018) نیز نشان داد بذرهای لوبیای ذخیره شده به مدت ۱۲ ماه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی تا حدی بالاتر نسبت به بذرهایی بودند که تنها ۴ ماه ذخیره شده بودند.



شکل ۵. مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی در بذرهای خشک کینوا تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۳ تکرار.

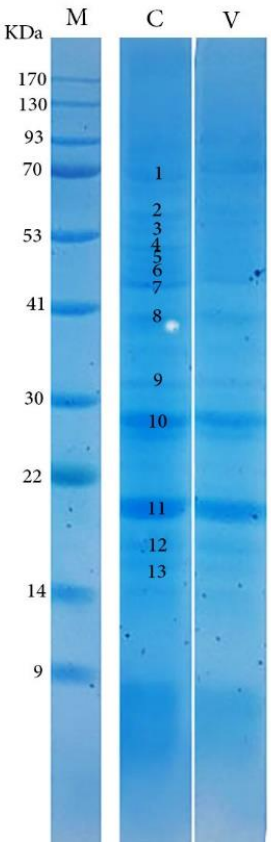
Figure 5. Comparison of antioxidant capacity in dry quinoa seeds under simulated space vacuum (Treated) and Earth atmospheric pressure (Control). Average of 3 repetitions.

محتوای پروتئین کل بذر در گروه تحت تیمار خلا و کنترل به ترتیب ۲۵ و ۳۵ میلی گرم بر میلی لیتر بود. به طور کلی، شواهدی وجود دارد که نشان می دهد زمانی که بذرها در معرض خلا فضای خارج از جو قرار می گیرند در ساختار بیولوژیکی خود دچار تغییراتی می شوند، به عنوان مثال، مولکول های آب و روغن از بذرها خارج می شوند و در نتیجه این تغییرات می توانند بر محتوای پروتئوم بذر تاثیر بگذارند (Visscher et al., 2016). در همین رابطه، مطالعه Ponessa و همکاران (Ponessa et al., 2022)، تغییرات ساختاری (چروکیدگی) در پوسته بذر کینوا را تحت تیمار فشار کم-زیاد (10^{-2} تا 10^{-7}تور[1]) نشان داد. بر اساس نیمرخ پروتئینی بذر با استفاده از روش ژل الکتروفورز، ۱۳ باند

[1] Tor

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

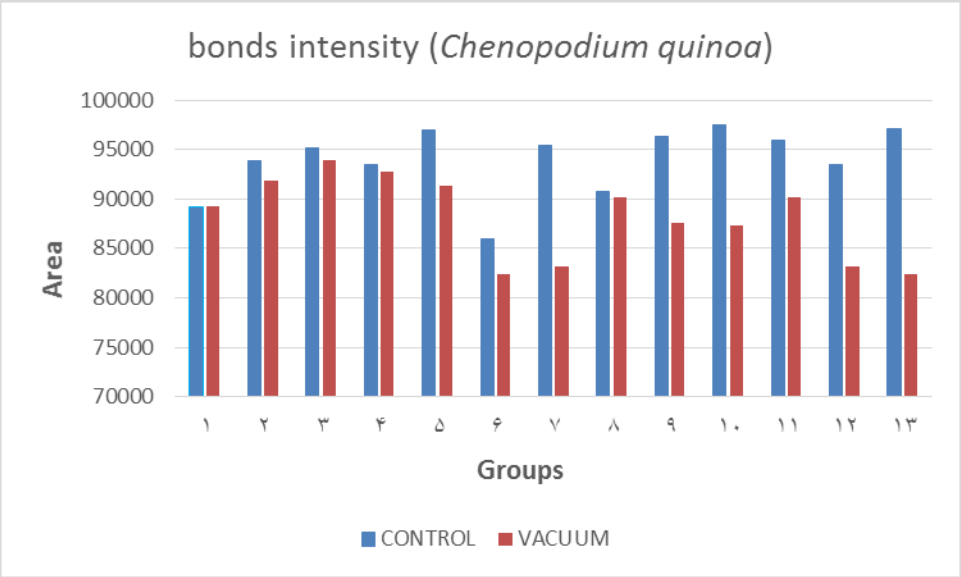
پروتئینی مشخص در محدوده وزن مولکولی ۱۵ تا ۷۰ کیلودالتون قابل مشاهده هستند (شکل ۶). به هر حال تنوع زیادی بین مطالعات مختلف در رابطه با نیمرخ پروتئینی بذر کینوا دیده می شود (El-Hakim et al., 2022; Elsohaimy et al., 2015; Toapanta et al., 2016; Wang et al., 2020) که این اختلاف در تعداد باندها می تواند مربوط به نوع واریته مورد مطالعه و یا شرایط استخراج باشد (Liu et al., 2007). برای مثال تحت شرایط احیا و در حضور بتا مرکاپتواتانول، پروتئین هایی با وزن مولکولی بالا نظیر ۱۳۵ کیلودالتون در نیمرخ پروتئینی بذر کینوا مشاهده نمی شوند (Toapanta et al., 2016). مطابق با Vilcacundo و همکاران (Vilcacundo et al., 2017) باندهای پروتئینی بین ۱۵ تا ۴۰ کیلودالتون مرتبط با ۷s، ۱۱s گلوبولین و ۲s آلبومین می باشند. گلوبولین کینوا متشکل از اجزا اسیدی و بازی به ترتیب با وزن های مولکولی حدود ۳۰ و ۲۰ کیلودالتون است و پپتیدهای با وزن مولکولی کمتر از ۲۰ کیلودالتون مربوط به جز آلبومین می باشند (Brinegar & Goundan, 1993). به هر حال شدت باندهای پروتئینی نیز بین گروه های تیمار خلا و کنترل تفاوت داشت و شدت باندهای پروتئینی ۲ تا ۱۳ در گروه تحت تیمار خلا در مقایسه با گروه کنترل کمتر بود (شکل ۷) و این اختلاف در سطح احتمال یک ده هزارم معنادار بود (شکل ۸). تخریب پروتئین ها در فرآیند پیری یا زوال بذر منجر به کاهش شدت باندهای پروتئینی یا ناپدید شدن آن ها می گردد. در همین راستا، چندین محقق دیگر نیز تخریب پروتئین ها بذر را از نظر کاهش باندها و شدت آن ها با افزایش سن بذر و یا زوال آن گزارش نموده اند (Coello & Vázquez-Ramos, 1996; Sammour, 1989; Vishwanath et al., 2007). نتایج مطالعه قبلی ما در ارتباط با تاثیر شرایط خلا بر محتوای پروتئینی بذر گوجه فرنگی نیز در تطابق با نتایج مطالعه حاضر است و کاهش محتوای کمی و کیفی پروتئین های ذخیره ای بذر گوجه فرنگی تحت شرایط خلا شبیه سازی فضا مشاهده شد (Mousavi, 2023).



شکل ۶. مقایسه پروفایل پروتئینی پروتئین های ذخیره ای بذر کینوا در بذرهای تحت فشار اتمسفر زمین (C) و خلا شبیه سازی شده فضا (V). نشانگر وزن مولکولی (M).

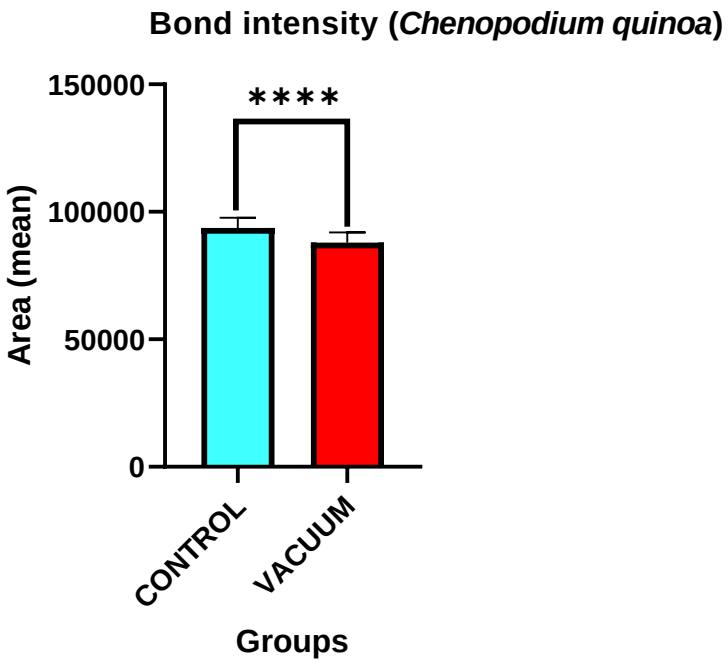
Figure 6. Comparison of the protein profile of quinoa seed storage proteins in seeds under the pressure of earth atmosphere (C) and simulated vacuum of space (V). Molecular weight indicator (M).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]



شکل ۷. مقایسه سطح نسبی (Area) حاصل از دانسیتومتری (شدت سنجی) باندهای پروتئینی ۱ تا ۱۳ بین گروه های کنترل (Control) و تحت تیمار خلا (Vacuum).

Figure 7. Comparison of the relative area (Area) obtained by densitometry (intensity measurement) of protein bands 1 to 13 between the control and vacuum treated groups.



شکل ۸. مقایسه شدت سنجی باندها بین گروه های کنترل (CONTROL) و تیمار خلا (VACUUM) در بذر کینوا. میانگین ۳ تکرار.

Figure 8. Comparison of band intensity between CONTROL and VACUUM groups in quinoa seeds. Average of 3 repetitions.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

نتیجه گیری

انتخاب گونه مناسب برای ماموریت های اکتشافی فضا و تامین منبع غذایی بهینه برای فضانوردان از اهمیت اساسی برخوردار است. مطالعه حاضر تاثیر مثبت تیمار خلا را بر شاخص جوانه زنی بذر، محتوای فنل و فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی کینوا نشان داد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر می تواند کاربردهای مهمی در مطالعات آستروبوتانی و استفاده از بذر کینوا به عنوان یک منبع غذایی غنی برای فضانوردان داشته باشد. به هر حال، درک مکانیسم تغییرات در محتوای کمی و کیفی پروتئین های ذخیره ای و همچنین شاخص جوانه زنی و ظرفیت آنتی اکسیدانی بذر کینوا تحت شرایط خلا با استفاده از ابزارهای پروتئومیکس و مطالعه فراساختار بذر در مطالعات آتی ضروری به نظر می رسد.

سپاس گذاری

نویسنده بر خود لازم می داند از زحمات کارشناسان محترم آزمایشگاه خلا حرارتی پژوهشگاه فضایی ایران برای انجام تست خلا قدردانی نماید.

References

Abadia, M.B., San Martino, S., & Bartosik, R.E. 2022. Can anoxic atmospheres protect the quality of maize seeds during storage?. Journal of Stored Products Research 96: 101927.

Abdalla, F., & Roberts, E. 1968. Effects of temperature, moisture, and oxygen on the induction of chromosome damage in seeds of barley, broad beans, and peas during storage. Annals of Botany 32: 119-136.

Abdellaoui, R., Souid, A., Zayoud, D., & Neffati, M. 2013. Effects of natural long storage duration on seed germination characteristics of Periploca angustifolia Labill. African Journal of Biotechnology 12: 1760-1768.

Abderrahim, F., Huanatico, E., Segura, R., Arribas, S., Gonzalez, M. C., & Condezo-Hoyos, L. 2015. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (Chenopodium quinoa Willd.) from Peruvian Altiplano. Food chemistry 183: 83-90.

Ando, H., Chen, Y.C., Tang, H., Shimizu, M., Watanabe, K., & Mitsunaga, T. 2002. Food components in fractions of quinoa seed. Food Science and Technology Research 8: 80-84.

Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R.P., & Chang, C.M. 2022. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of Ficus religiosa. Molecules 27:1-19.

Bazile D, Pulvento C, Verniau A, Al-Nusairi M.S., Ba D, Breidy J, Hassan L, Mohammed M.I., Mambetov O, Otambekova M, Sepahvand N.A. 2016. Worldwide evaluations of quinoa: preliminary results from post international year of quinoa FAO projects in nine countries. Frontiers in plant science 7: 1-18.

Boughalleb, F., Mahmoudi, M., Abdellaoui, R., Yahia, B., Zaidi, S., & Nasri, N. 2020. Effect of long-term storage on phenolic composition, antioxidant capacity, and protein profiles of Calicotome villosa subsp. intermedia seeds. Journal of food biochemistry 44: 1-13.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye intetaction. Anal biochem 72: 248-254.

Brinegar, C., & Goundan, S. 1993. Isolation and characterization of chenopodin, the 11S seed storage protein of quinoa (Chenopodium quinoa). Journal of agricultural and food chemistry 41: 182-185.

Carillo, P., Morrone, B., Fusco, G.M., De Pascale, S., & Rouphael, Y. 2020. Challenges for a sustainable food production system on board of the international space station: A technical review. Agronomy 10: 1-17.

Coello, P., & Vázquez-Ramos, J.M. 1996. Maize DNA polymerase 2 (an α-type enzyme) suffers major damage after seed deterioration. Seed Science Research 6: 1-7.

Da Silva, L.F., Öchsner, A., & Adams, R.D. 2011. Handbook of adhesion technology: Springer Science & Business Media. 375 pp.

Dekoulis, G. 2018. Space Flight: BoD–Books on Demand. 17 pp.

Derbali, W., Manaa, A., Goussi, R., Derbali, I., Abdelly, C., & Koyro, H.W. 2021. Post-stress restorative response of two quinoa genotypes

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

differing in their salt resistance after salinity release. Plant Physiology and Biochemistry 164: 222-236.

Dini, I., Tenore, G.C., & Dini, A. 2005. Nutritional and antinutritional composition of Kancolla seeds: an interesting and underexploited andine food plant. Food chemistry 92: 125-132.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food chemistry 97: 654-660.

El-Hakim, A., Ahmed, F., Mady, E., Abou Tahoun, A.M., Ghaly, M.S., & Eissa, M.A. 2022. Seed quality and protein classification of some quinoa varieties. Journal of Ecological Engineering 23: 24-33.

Elsohaimy, S., Refaay, T., & Zaytoun, M. 2015. Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. Annals of Agricultural Sciences 60: 297-305.

Fairbanks, D., Burgener, K., Robison, L., Andersen, W., & Ballon, E. 1990. Electrophoretic characterization of quinoa seed proteins. Plant Breeding 104: 190-195.

Geigenberger, P. 2003. Response of plant metabolism to too little oxygen. Current opinion in plant biology 6: 247-256.

Groot, S., Surki, A., De Vos, R., & Kodde, J. 2012. Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions. Annals of Botany 110: 1149-1159.

Groot, S.P., de Groot, L., Kodde, J., & van Treuren, R. 2015. Prolonging the longevity of ex situ conserved seeds by storage under anoxia. Plant Genetic Resources 13: 18-26.

Halloy, S., & González, J. 1993. An inverse relation between frost survival and atmospheric pressure. Arctic and Alpine Research 25: 117-123.

Harvey, B., Zakutnyaya, O., Harvey, B., & Zakutnyaya, O. 2011. Orbiting space stations. Russian Space Probes: Scientific Discoveries and Future Missions. 301-374 pp.

Hinojosa, L., González, J.A., Barrios-Masias, F.H., Fuentes, F., & Murphy, K.M. 2018. Quinoa abiotic stress responses: A review. Plants 7: 1-32.

Hirose, Y., Fujita, T., Ishii, T., & Ueno, N. 2010. Antioxidative properties and flavonoid composition of Chenopodium quinoa seeds cultivated in Japan. Food chemistry 119: 1300-1306.

Jacobsen, S.E., Mujica, A., & Jensen, C. 2003. The resistance of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) to adverse abiotic factors. Food reviews international 19:, 99-109.

James, L.E.A. 2009. Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. Advances in food and nutrition research 58: 1-31.

Jancurová, M., Minarovičová, L., & Dandár, A. 2009. Quinoa–a rewiev. Czech Journal of Food Sciences 27: 71-79.

Liu, S., Zhou, R., Tian, S., & Gai, J. 2007. A study on subunit groups of soybean protein extracts under SDS-PAGE. Journal of the American Oil Chemists' Society 84: 793-801.

Mousavi, F. 2019. Effects of Simulated Microgravity on Pollen Germination and Growth of Lily. Technology in Aerospace Engineering 3: 53-58. (In Persian).

Mousavi, F. 2023. Plant germplasm and extreme conditions of outer space. Space Science and Technology 16: 65-71.

Moutschen-Dahmen, M., Moutschen, J., & Ehrenberg, L. 1959. Chromosome disturbances and mutation produced in plant seeds by oxygen at high pressures. Hereditas 45: 230-244.

Musgrave, M.E., Gerth, W.A., Scheld, H.W., & Strain, B.R. 1988. Growth and mitochondrial respiration of mungbeans (Phaseolus aureus Roxb.) germinated at low pressure. Plant physiology 86: 19-22.

Paul, A.L., & Ferl, R.J. 2006. The biology of low atmospheric pressure–implications for exploration mission design and advanced life support. Gravitational and Space Biology 19: 3-18.

Ponessa G.I., Such P., González J.A., Mercado M.I., Buedo S.E., González D.A., Lalla E., Freemantle J., Daly M.G. 2022. Tolerance of high mountain quinoa to simulated extraplanetary conditions. Changes in surface mineral concentration, seed viability and early growth. Acta Astronautica 195: 502-512.

Prado, F.E., Boero, C., Gallardo, M.R.A., & González, J.A. 2000. Effect of NaCl on growth germination and soluble sugars content in Chenopodium quinoa Willd. seeds 41: 27-34.

Pukacka, S., & Ratajczak, E. .2007. Age-related biochemical changes during storage of beech (Fagus sylvatica L.) seeds. Seed Science Research 17:45-53.

Repo-Carrasco-Valencia, R.A.M., & Serna, L.A. 2011. Quinoa (Chenopodium quinoa, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. Food Science and Technology 31: 225-230.

Romero, S., & Shahriari, S. 2011. Quinoa's global success creates quandary at home. The New York Times 19.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]

Sammour, R.H. 1989. Effect of ageing on the major reserve molecules and their related enzyme in natural aged seeds of flax. Journal of Islamic Academy of Sciences 2: 247-251.

Schwartzkopf, S.H., & Mancinelli, R.L. 1991. Germination and growth of wheat in simulated Martian atmospheres. Acta Astronautica 25: 245-247.

Sigstad, E.E., & Prado, F.E. 1999. A microcalorimetric study of Chenopodium quinoa Willd. seed germination. Thermochimica acta 326: 159-164.

Sin, M.H. 2017. Total phenolic content and anti-oxidant potential of Ficus deltoidea using green and non-green solvents. Journal of Pharmaceutical Negative Results 8: 15-19.

Tang, Y., Gao, F., Guo, S., & Li, F. 2014. Effects of hypobaria and hypoxia on seed germination of six plant species. Life Sciences in Space Research 3: 24-31.

Tang Y, Li X, Chen P.X., Zhang B, Hernandez M, Zhang H, Marcone M.F., Liu R., Tsao R. 2015. Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three Chenopodium quinoa Willd. genotypes. Food chemistry 174: 502-508.

Tang, Y., Zhang, B., Li, X., Chen, P.X., Zhang, H., Liu, R., & Tsao, R. 2016. Bound phenolics of quinoa seeds released by acid, alkaline, and enzymatic treatments and their antioxidant and α-glucosidase and pancreatic lipase inhibitory effects. Journal of agricultural and food chemistry 64: 1712-1719.

Toapanta, A., Carpio, C., Vilcacundo, R., & Carrillo, W. 2016. Analysis of protein isolate from quinoa (Chenopodium quinoa Willd). Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 9: 332-334.

Van Dongen, J.T., & Licausi, F. 2015. Oxygen sensing and signaling. Annual Review of Plant Biology 66, 345-367.

Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. A. 2010. Nutrition facts and functional potential of quinoa (Chenopodium quinoa willd.), an ancient Andean grain: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture 90: 2541-2547.

Vilcacundo, R., Barrio, D., Carpio, C., García-Ruiz, A., Rúales, J., Hernández-Ledesma, B., & Carrillo, W. 2017. Digestibility of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) protein concentrate and its potential to inhibit lipid peroxidation in the Zebrafish larvae model. Plant Foods for Human Nutrition 72: 294-300.

Vishwanath, K., Prasanna, K., Gowda, R., Prasad, S.R., Narayanaswammy, S., & Pallavi, H. 2007. Influence of accelerated ageing on total soluble seed protein profiles of tomato. SEED RESEARCH-NEW DELHI 35: 194.

Visscher, A.M., Seal, C.E., Newton, R.J., Frances, A.L., & Pritchard, H.W. 2016. Dry seeds and environmental extremes: consequences for seed lifespan and germination. Functional Plant Biology 43: 656-668.

Wang, X., Zhao, R., & Yuan, W. 2020. Composition and secondary structure of proteins isolated from six different quinoa varieties from China. Journal of Cereal Science 95: 1-26.

Wołosiak, R., Drużyńska, B., Piecyk, M., Majewska, E., & Worobiej, E. 2018. Effect of sterilization process and storage on the antioxidative properties of runner bean. Molecules 23: 1-11.

Yasin, M., & Andreasen, C. 2016. Effect of reduced oxygen concentration on the germination behavior of vegetable seeds. Horticulture, Environment, and Biotechnology 57: 453-461.

*****

How to cite this article:

Mousavi, F.2023**.** The effect of simulated space vacuum conditions on some biochemical and physiological responses of quinoa 10: 86-99. (In Persian).

موسوی، ف. ۱۴۰۲. تاثیر شرایط خلا شبیه سازی شده فضا بر برخی از پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی کینوا. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۰: ۸۶-۹۹.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-07-03]