

اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن بر میزان فعالیت آنزیمی و تجمع اسیدهای آمینه در ریشه گیاهچه‌های ژنوتیپ‌های مختلف برنج (*Oryza sativa* L.)

سیده‌ویدا حیدرقلی‌زاده حسنگلا، نادعلی باقری*، نادعلی باباییان جلو دار و سیدکمال کاظمی تبار

گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۱۸)

چکیده

تنش خشکی عامل محدودکننده رشد برنج در مناطق برنج کاری است یکی از رویکردهای مقابله با اثرات منفی تنش در تولید محصول استفاده از رقم‌های متحمل به خشکی است. این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسیدهای آمینه در تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج انجام شد. در این پژوهش تعداد شش ژنوتیپ برنج به همراه رقم‌های شاهد متحمل (بینام) و حساس (IR64) در مرحله گیاهچه‌ای به صورت آزمایش کرت‌های خردشده در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار و چهار سطح خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (صفر (بوشیدا)، ۰/۵، -۱ و -۱/۵ بار) در محیط کشت هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس تأثیر معنی‌داری خشکی روی میزان فعالیت آنزیم‌ها را در بین ژنوتیپ‌های مختلف برنج نشان داد. بگونه‌ای که با افزایش شدت تنش، میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز ۲۶/۵۳ درصد، گایاکول پراکسیداز ۱۹/۷۳ درصد، کاتالاز ۱۴/۱۵ درصد و سوپراکسید دیسموتاز ۴۱/۵۰ درصد افزایش یافت و ژنوتیپ‌های مانند دانش و LP8 که نسبت به خشکی متحمل تر بودند، میزان فعالیت آنزیمی بالاتری داشتند. میزان افزایش فعالیت در ژنوتیپ‌های متحمل بیشتر از ارقام حساس بود. در بررسی پروفایل اسیدآمینه‌ای ژنوتیپ‌های معرفی شده فوق با افزایش شدت تنش خشکی، میزان فعالیت اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، آلانین، آرژنین، لوسین و لیزین به مقدار قابل توجهی افزایش یافت. درحالی‌که در ژنوتیپ حساس IR64 تحت تنش تجمع معنی‌داری از نظر اسیدهای آمینه مشاهده نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تجمع اسیدهای آمینه ارتباط نزدیکی با تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های متحمل دارد.

کلمات کلیدی: اسیدهای آمینه، برنج، پراکسیدازها، پلی اتیلن گلیکول، پرولین

مقدمه

تغییر کارایی مصرف آب، ماده خشک تولیدی گیاه کاهش می‌یابد. گیاهان در مواجهه با تنش خشکی واکنش‌هایی از خود نشان می‌دهند که بسته به شدت تنش، طول مدت تنش، ژنوتیپ، سن و مرحله نموی گیاه در زمان وقوع تنش متفاوت است (خاکشور مقدم، ۱۳۸۹). بنابراین گونه‌های گیاهی دامنه وسیعی از سازوکارهای مقاومت به خشکی را نشان می‌دهند که

خشکی یک رویداد هواشناختی است که به دلیل عدم وقوع بارندگی در یک دوره زمانی اتفاق می‌افتد. با وقوع تنش خشکی، آب قابل دسترس خاک کاهش یافته ولی تلفات آب از طریق تبخیر و تعرق به‌طور مداوم افزایش می‌یابد. در شرایط تنش خشکی به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها در طول دوره تنش،

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: bagherinadali@yahoo.com

منجر به ایجاد سازگاری‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌گردد (Ahmed *et al.*, 2013). توسعه ارقام زراعی متحمل به خشکی یکی از روش‌های مقابله با خشکی است. بنابراین در گیاهان زراعی فهم سازوکارهای مقاومت به خشکی بسیار مهم است. گیاهان در زمان مواجهه با تنش خشکی نیاز به سازوکارهای دارند که بتوانند پاسخ مناسبی به تنش بدهند. یکی از این سازوکارهای مقابله با خشکی تنظیم اسمزی است، که نوعی واکنش سازگاری به تنش خشکی است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها، می‌تواند به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین منجر شود (اردلانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ صمدی دیزجی، ۱۴۰۰) در گیاهان سازوکار تنظیم اسمزی به واسطه تجمع متابولیت‌های اولیه‌ای همچون گلايسين، پرولين، بتائين و مانیتول حاصل می‌شود که به عنوان متابولیت‌های سازگار شناخته می‌شوند زیرا در واکنش‌های عادی متابولیکی گیاه مداخله نمی‌کنند. به‌طور طبیعی به عنوان متابولیت سازگار در گیاهان مقاوم به تنش تجمع می‌یابند. این ترکیبات علاوه بر مشارکت در حفظ تورم سلولی، در پایداری آنزیم‌ها اهمیت بالایی دارند (Showler and castro, 2010؛ اکبرزاده لکامی، ۱۳۹۹). متابولیسم اسیدهای آمینه نقش مهمی را در تحمل گیاهان به تنش دارد. بسیاری از محققان بر این باورند که در شرایط تنش خشکی میزان اسیدهای آمینه نسبت به شاهد افزایش بیشتری دارد (زاللی و همکاران، ۱۳۹۵).

در بین اسیدهای آمینه، پرولين منبع انرژی، نیتروژن و کربن است که برای بازگشت گیاه به شرایط قبل از اعمال تنش خشکی بعد از رفع تنش مورد توجه قرار گرفته است (Singh *et al.*, 1973). پرولين همراه با قندها، اسیدهای آمینه و آنزیم‌های دیگر در تصفیه رادیکال‌های آزاد که باعث فروپاشی و تخریب غشاءها در شرایط تنش می‌شود نقش دارد و همچنین باعث پایداری ساختمان پروتئین‌ها نیز می‌شود. پرولين در گیاهان نقش بسیار مهمی در تحمل به شرایط تنش خشکی ایفا می‌کند، در شرایط کمبود آب بین درصد بقاء و افزایش سطح پرولين همبستگی قوی وجود دارد (Karagozler *et al.*,

2005). در گزارشی Good و Zaplachinski (۱۹۹۴)، بیان کردند که غلظت اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، لوسین و ایزولوسین در شرایط اعمال تنش خشکی ۵ برابر افزایش یافت درحالیکه در سایر اسیدهای آمینه این روند افزایشی کمتر بود. در بررسی ژنوتیپ‌های مختلف جو تحت تنش خشکی Ahmed و همکاران (۲۰۱۳)، بیان کردند که محتوای تمامی اسیدهای آمینه (بجز متیونین) در شرایط خشکی افزایش معنی‌داری را نسبت به شرایط بدون تنش از خود نشان دادند. این افزایش در ژنوتیپ‌های متحمل بیشتر بود. یکی از راهکارهای بسیار مهم گیاهان در مقابله با اکسیژن فعال و آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از آن، استفاده از مکانیسم دفاعی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. یکی از تغییراتی که در زمان مواجهه گیاه با تنش رطوبتی حادث می‌شود، تولید گونه‌های ROS (اکسیژن فعال) مانند رادیکال‌های هیدروکسی، پراکسید هیدروژن H_2O_2 ، رادیکال سوپراکسید و رادیکال‌های آلکوکسی است. رادیکال‌های سوپراکسید سمی نیمه‌عمر کمتر از یک ثانیه دارند و به‌طور معمول به سرعت توسط سوپراکسید به H_2O_2 تبدیل می‌شوند. محصولی که نسبتاً پایدار است و توسط کاتالاز و پراکسیدازها سم‌زدایی می‌شود. این متابولیسم‌ها برای مقابله با رادیکال‌های آزاد سوپراکسید تولیدشده در شرایط تنش یک دفاع اولیه مهم از سلول‌ها را تشکیل می‌دهند (Manivannan *et al.*, 2008؛ اعلم، ۱۳۹۰). در تحقیقی بر روی گیاهچه‌های گندم تحت تنش خشکی و فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تقوی (۱۳۹۵) و اسفندیاری و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند، با افزایش شدت تنش اسمزی، میزان فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی نیز افزایش یافت. به علاوه در تمامی رقم‌ها در سطوح بالای تنش اسمزی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاهش یافت، اما با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم‌های دیگر در سایر رقم‌های مورد بررسی روند افزایشی از خود نشان دادند. در تحقیقی تحت تنش شوری روی گیاه برنج میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته و ارتباط مستقیمی بین میزان آنزیم‌ها و تنش شوری وجود داشت (Liu

منجر به ایجاد سازگاری‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌گردد (Ahmed *et al.*, 2013). توسعه ارقام زراعی متحمل به خشکی یکی از روش‌های مقابله با خشکی است. بنابراین در گیاهان زراعی فهم سازوکارهای مقاومت به خشکی بسیار مهم است. گیاهان در زمان مواجهه با تنش خشکی نیاز به سازوکارهای دارند که بتوانند پاسخ مناسبی به تنش بدهند. یکی از این سازوکارهای مقابله با خشکی تنظیم اسمزی است، که نوعی واکنش سازگاری به تنش خشکی است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها، می‌تواند به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین منجر شود (اردلانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ صمدی دیزجی، ۱۴۰۰) در گیاهان سازوکار تنظیم اسمزی به واسطه تجمع متابولیت‌های اولیه‌ای همچون گلايسين، پرولين، بتائين و مانیتول حاصل می‌شود که به عنوان متابولیت‌های سازگار شناخته می‌شوند زیرا در واکنش‌های عادی متابولیکی گیاه مداخله نمی‌کنند. به‌طور طبیعی به عنوان متابولیت سازگار در گیاهان مقاوم به تنش تجمع می‌یابند. این ترکیبات علاوه بر مشارکت در حفظ تورم سلولی، در پایداری آنزیم‌ها اهمیت بالایی دارند (Showler and castro, 2010؛ اکبرزاده لکامی، ۱۳۹۹). متابولیسم اسیدهای آمینه نقش مهمی را در تحمل گیاهان به تنش دارد. بسیاری از محققان بر این باورند که در شرایط تنش خشکی میزان اسیدهای آمینه نسبت به شاهد افزایش بیشتری دارد (زاللی و همکاران، ۱۳۹۵).

در بین اسیدهای آمینه، پرولين منبع انرژی، نیتروژن و کربن است که برای بازگشت گیاه به شرایط قبل از اعمال تنش خشکی بعد از رفع تنش مورد توجه قرار گرفته است (Singh *et al.*, 1973). پرولين همراه با قندها، اسیدهای آمینه و آنزیم‌های دیگر در تصفیه رادیکال‌های آزاد که باعث فروپاشی و تخریب غشاءها در شرایط تنش می‌شود نقش دارد و همچنین باعث پایداری ساختمان پروتئین‌ها نیز می‌شود. پرولين در گیاهان نقش بسیار مهمی در تحمل به شرایط تنش خشکی ایفا می‌کند، در شرایط کمبود آب بین درصد بقاء و افزایش سطح پرولين همبستگی قوی وجود دارد (Karagozler *et al.*,

et al., 2008؛ شاکری، ۱۳۹۲) در سایر مطالعات تحت تنش خشکی نیز افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گزارش شده است (Huseyniva, 2012؛ زالی، ۱۳۹۴) در مقابل این نتایج، Huang و Jiang (۲۰۰۱) در گراس‌های تحت تیمار تنش کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز گزارش کردند. نتایج بسیاری از تحقیقات نشان می‌دهد که در بسیاری از گونه‌های گیاهی میزان فعالیت آنزیم‌ها در برگ‌های ژنوتیپ متحمل و حساس به تنش شوری افزایش می‌یابد. اگرچه افزایش میزان فعالیت آنزیم در ارقام حساس به شوری کمتر از ارقام متحمل گزارش شده است (Moradi and Ismaili, 2007). از لحاظ فیزیولوژی تنش و اصلاح ژنتیکی ارقام، مطالعه متابولیت‌های اولیه در ریشه تحت شرایط تنش و نرمال مهم است، زیرا منجر به رفع محدودیت‌های فیزیولوژی تولید در شرایط تنش خشکی می‌گردد. در این مطالعه بررسی سطوح اسیدهای آمینه آزاد در چهار ژنوتیپ برنج شامل بینام (شاهد متحمل)، IR64 (شاهد حساس) و دو ژنوتیپ منتخب شامل دانش و LP8 در شرایط کنترل و تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای برخی از ژنوتیپ‌های برنج در سطوح مختلف خشکی حاصل از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG) مطالعه‌ای در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۴۰۰ انجام گرفت. در این مطالعه تعداد هشت ژنوتیپ برنج شامل جلودار، دانش، چهار لاین امیدبخش (LH1, LE1, LT1, LP8) به همراه ارقام شاهد متحمل بینام (تقوی و همکاران، ۱۳۹۶) و حساس IR64 (Liu and Bennett, 2011) (جدول ۱) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به صورت طرح کرت‌های خردشده در سه تکرار و چهار سطح خشکی (ناشی از پلی اتیلن گلیکول) صفر (یوشیدا)، ۰/۵، ۱، ۱/۵- بار (Mishel and Kaufmann, 1973) در محیط کشت هیدروپونیک به اجرا در آمد. بذور به مدت ۱۰ دقیقه با قارچ‌کش ویتاواکس تیرام با غلظت یک در هزار و هیپوکلریت

سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی و پس از آن سه بار با آب مقطر استریل و در داخل ظروف پتری‌دیش و روی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. پس از آن به دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به منظور جوانه‌زنی منتقل شدند. برای کشت هیدروپونیک از ظرف‌هایی با حجم ۴ لیتر و صفحه‌های یونولیت حاوی سوراخ ۲×۲ سانتی‌متری استفاده شد. بذرها در داخل هر سوراخ و روی شبکه توری با سوراخ‌های ریز که در زیر یونولیت نصب شده بود (جهت عبور ریشه‌ها به داخل آب) انتقال داده شدند. در داخل هر منفذ یونولیت یک بذر جوانه‌زده قرار داده شد. سپس به مدت یک هفته در آب مقطر بدون محلول غذایی و پس از آن به مدت دو هفته به محیط کشت یوشیدا انتقال داده شدند. pH محیط هر روز کنترل شد و در ۵/۵ ثابت نگه داشته شد. محلول غذایی یوشیدا (Yoshida et al., 1976) هر چهار روز تعویض شد. متوسط دمای محیط رشد گیاهچه‌ها در روز ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در شب ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. به مدت دو هفته گیاهچه‌های برنج در دو شرایط کشت (محلول غذایی نرمال و سطوح پلی اتیلن گلیکول) قرار گرفتند. مقدار پلی اتیلن گلیکول براساس روش Mishel و Kaufmann (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. پس از دو هفته که گیاهچه در شرایط تنش و بدون تنش بودند، هر محیط به طور جداگانه از ژنوتیپ‌های مختلف برنج جهت بررسی، نمونه‌برداری صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری پرولین در مرحله گیاهچه‌ای (مرحله ۱۹ براساس مقیاس BBCH) از آخرین برگ توسعه‌یافته بعد از دو هفته اعمال تنش استفاده شد، ۰/۵ گرم بافت تر گیاهی را توزین و درون یک فالكون ۱۵ میلی‌متری ریخته، سپس ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالسیلیک را به آن اضافه کرده و حدود ۱۰ دقیقه ورتکس شده است. سپس فالكون‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. و سپس نمونه‌ها را با استفاده از کاغذ صافی شماره ۲ واتمن صاف نموده و از محلول هر نمونه ۲ میلی‌لیتر برداشته و درون فالكون ۱۵ میلی‌متری جدید

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد بررسی برنج

منشاء	ژنوتیپ	ردیف
بومی (محلی)	بینام (شاهد متحمل)	۱
IRRI	IR64 (شاهد حساس)	۲
اصلاحی	LE1 (بینام / دانش)	۳
اصلاحی	LH1 (دانش / 229R)	۴
اصلاحی	LT1 (بینام / جلودار)	۵
اصلاحی	LP8 (229R / جلودار)	۶
اصلاحی	دانش	۷
اصلاحی	جلودار	۸

برای اندازه‌گیری اسیدهای آمینه، مقدار ۰/۳ گرم بافت خشک ریشه درون ویال ۱/۵ میلی‌متری در پیچ‌دار انتقال داده شد و به آن ۱ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه شد در ادامه ویال‌ها به مدت یک ساعت به ترمومیکسر (بن‌ماری شیکردار) با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از آن نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز رویی محلول برداشته شد و به ویال جدید ۲ میلی‌متری انتقال یافت. در ادامه محلول با سرنگ مخصوص، به دستگاه HPLC با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، تزریق شد. غلظت‌های مختلف هر یک از اسیدهای آمینه تزریق شد، محاسبه مساحت سطح زیر منحنی هر یک از غلظت‌های داده شده به دستگاه و تعیین رابطه غلظت و سطح زیر منحنی، منحنی استاندارد رسم شده و مقادیر کمی هر یک از اسیدهای آمینه محاسبه شد (Manivannan *et al.*, 2008).

در این آزمایش تجزیه واریانس با نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های صفات مورد بررسی نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار تنش خشکی و اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ روی میزان فعالیت آنزیم‌ها و اسیدآمینه پرولین در مرحله گیاهچه‌ای است (جدول ۲). این نتایج تحت تنش خشکی در

ریخته و سپس به هر یک از لوله‌های حاوی عصاره گیاه ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاشیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین افزوده و سپس با دقت ورتکس گردید. نمونه‌ها رابه مدت یک ساعت با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد و پس از آن محلول‌ها در حمام یخ جهت قطع واکنش قرار داده شد تا لوله‌های فالكون سرد شوند و به آن‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و لوله‌ها به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس و سپس با ثابت نگه داشتن لوله‌ها دو فاز جدا از هم تشکیل گردید که از فاز رنگی (روی) که حاوی پرولین و تولوئن بود برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. مقدار معینی از این بخش جدا شده به منظور تعیین میزان جذب در دستگاه اسپکتوفتومتر (Cary 300, USA) در طول موج‌های ۵۲۰ نانومتر مقدار جذب خوانده شد (Bates *et al.*, 1973).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها از آخرین برگ توسعه یافته در مرحله گیاهچه‌ای بعد از اعمال تنش به مدت دو هفته استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به روش Beauchamp و Fridavich (۱۹۷۱) و در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (۱۹۸۴)، در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش Mahely و Chanes (۱۹۹۶)، در طول موج ۴۷۰ به مدت یک دقیقه ثبت شد و فعالیت آنزیم آکوربات پراکسیداز به روش Asada و Nakano (۱۹۸۷) انجام شد.

جدول ۲- تجزیه وازینانس صفات بیوشیمیای مورد بررسی ژنوتیپ‌های برنج تحت تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز
خشکی	۳	۰/۰۲۳**	۱۱۰۵۸/۶۱**	۱۷۱۷۷/۱۵**	۸/۰۷**
خطا	۸	۰/۰۰۰۰۰۶۹۵۱	۳۰۷۱۶/۴۶	۹۶/۵۳	۰/۰۱۹
ژنوتیپ	۷	۰/۰۰۵**	۴۷۰۷۲/۵۵**	۲۴۹۱/۶۲**	۴/۰۲۷**
خشکی × ژنوتیپ	۲۱	۰/۰۰۵**	۳۰۱۰۹/۴۸**	۱۸۸۸/۴۲**	۰/۷۴۹**
خطای آزمایشی	۵۶	۰/۰۰۰۰۰۹۵	۶۴۱۱۵/۶۹	۱۵۳/۷۵	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات (%)		۴/۱۵	۹/۷۳	۱۶/۵۳	۴/۵۰
					۴/۸۸

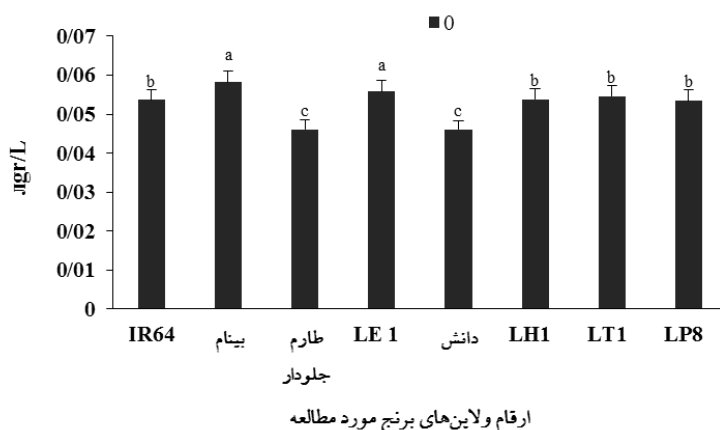
* و **: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای بیانگر وجود تنوع ژنتیکی است. در بررسی تحمل ارقام برنج نسبت به تنش خشکی، صفایی چایی کار و همکاران (۱۳۸۶) و نیک‌سیر و همکاران (۱۳۹۲) اثر متقابل خشکی در ژنوتیپ را معنی دار گزارش نمودند.

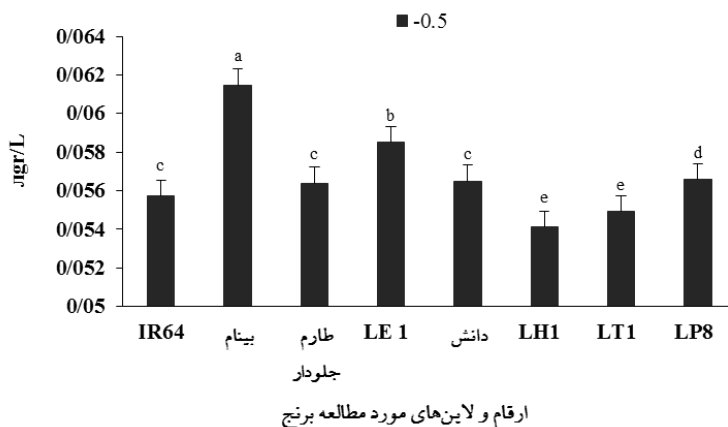
مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ در سطوح تنش خشکی (شکل ۱، ۲، ۳ و ۴) نشان داد، که روند تغییرات میزان پرولین از سطح شاهد تا سطح ۱/۵- بار در تمامی ژنوتیپ‌ها به صورت افزایشی است، بیشترین میزان پرولین برگ (۰/۰۹۱۱) میکروگرم بر لیتر عصاره) مربوط به رقم دانش و کمترین میزان پرولین (۰/۰۵۴۱) میکروگرم بر لیتر عصاره) مربوط به ژنوتیپ LT1 بود. در سطح ۰/۵- بیشترین میزان پرولین (۰/۰۶۳۲) میکروگرم بر لیتر عصاره) مربوط به ژنوتیپ بینام و کمترین میزان پرولین مربوط به ژنوتیپ LT1 بود (شکل ۲). بیشترین میزان پرولین برگ در سطح ۱- (شکل ۳) به ترتیب مربوط به ژنوتیپ بینام، دانش و (LE1، ۰/۰۶۳۱، ۰/۰۶۱۸ و ۰/۰۶۱۴) میکروگرم بر لیتر عصاره) بوده است. در سطح ۱/۵- بیشترین میزان فعالیت پرولین (۰/۰۷۴۴) میکروگرم بر لیتر) مربوط به ژنوتیپ دانش و کمترین میزان پرولین مربوط به ژنوتیپ IR64 بود (شکل ۴).

افزایش میزان پرولین در برگ ناشی از افزایش مقدار پلی اتیلن گلیکول را می‌توان چنین توجیه کرد که میزان

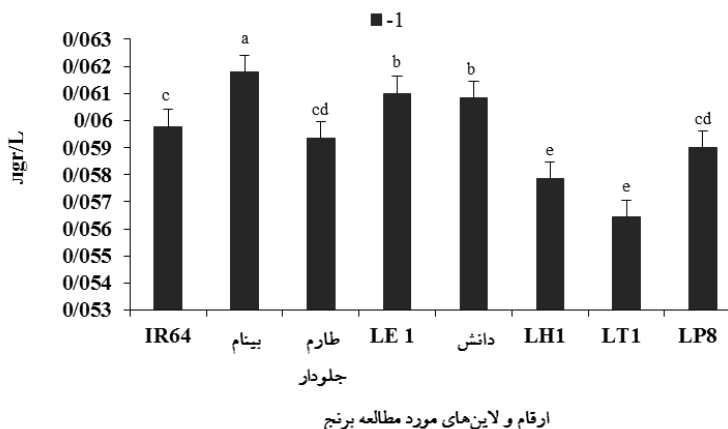
آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش خشکی فعال شده و سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا خشکی باعث تحریک ژن‌های سنتزکننده این آنزیم خواهد شد. بعد از پایان یافتن تنش ممکن است، شکستن پرولین تأمین‌کننده عوامل مورد نیاز تولید ATP و فسفریل‌اسیون اکسیداتیو میتوکندریایی برای ترمیم صدمات ناشی از تنش خشکی باشد (حاجی رضانی، ۱۳۹۷). در گزارشی Ketchum و همکاران (۱۹۹۱) و Singh و همکاران (۱۹۹۵)، بیان کردند که در شرایط تنش خشکی میزان غلظت پرولین در سیتوزول به طور غالب افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه پرولین در تنظیم اسمزی عامل مهمی است. همچنین پرولین علاوه بر نقش تنظیم اسمزی، به عنوان یک محافظ در مقابل تنش خشکی عمل می‌کند. بدین ترتیب که با ماکرومولکول‌ها به طور مستقیم یا غیرمستقیم اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ ساختار و شکل طبیعی آنها تحت شرایط تنش کمک می‌کند (پورمحمد تقی و همکاران، ۱۳۹۱). به عقیده Kuk و همکاران (۲۰۰۳)، آنزیم گایاکول پراکسیداز پس از آنزیم کاتالاز در درجه دوم اهمیت در حذف پراکسید هیدروژن به عنوان اکسیژن فعال اصلی تولیدشده در جریان تنش ایفای نقش می‌نماید. بنابراین برقراری ارتباط بین افزایش این آنزیم با تحمل بیشتر در برابر تنش دور از انتظار نخواهد بود. نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد که میزان فعالیت این آنزیم در سطوح مختلف خشکی در ژنوتیپ‌های



شکل ۱- روند فعالیت پراکسیداز در سطح برگ در ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای



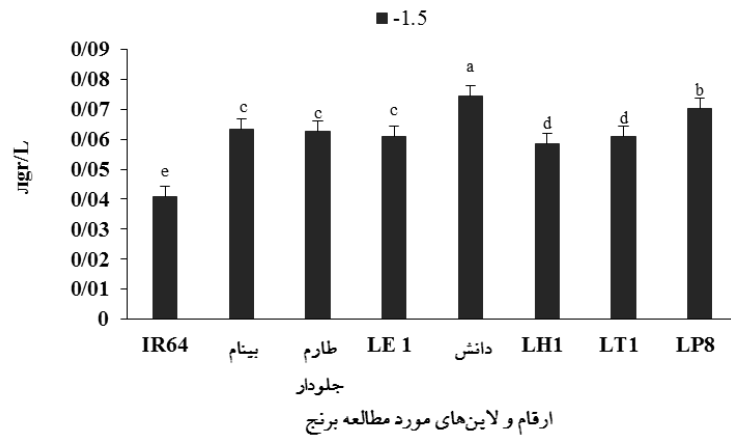
شکل ۲- روند فعالیت پراکسیداز در سطح برگ در ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای



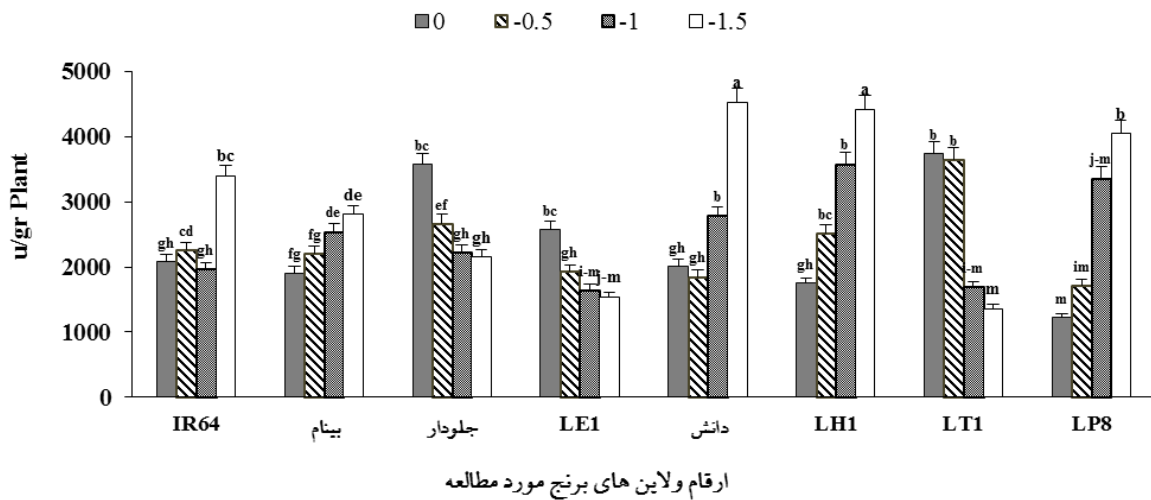
شکل ۳- روند فعالیت پراکسیداز در سطح برگ در ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای

به‌طورکلی ژنوتیپ‌های که میزان فعالیت آنزیم گلیکول پراکسیداز تا سطح ۱/۵- بار پلی‌اتیلن گلیکول روند افزایشی داشتند شاید بتوان نتیجه گرفت در مرحله گیاهچه‌ای جزء

مورد مطالعه روند متفاوتی داشته است. پنج ژنوتیپ روند افزایشی را نشان دادند که بیشترین میزان فعالیت به ترتیب مربوط به ژنوتیپ LH1 و LP8 و دانش است (شکل ۵).



شکل ۴- روند فعالیت پرولین برگ در سطح ۱/۵- خشکی در ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای



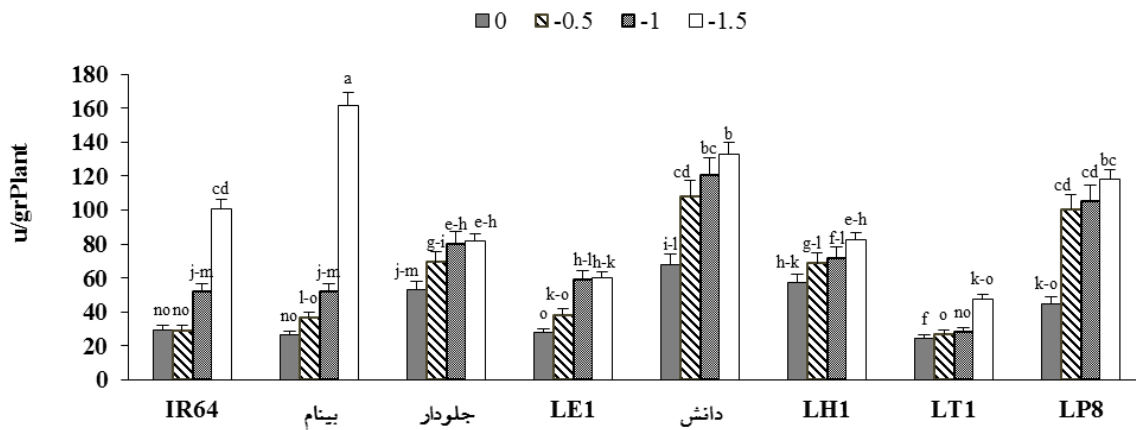
شکل ۵- روند فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

کاهش هیدروژن پراکسید به آب عمل می‌کند. مهمترین نشانه برای تحمل به خشکی افزایش آنزیم آسکوربات پراکسیداز است (شاکری، ۱۳۹۲). مطالعات انجام شده توسط Ghobadi و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاه جو در شرایط تنش در مقایسه با شرایط بدون تنش معنی‌دار نبود.

نتایج نشان می‌دهد میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در طی تنش خشکی رو به افزایش بوده است. بیشترین میزان فعالیت بعد از ژنوتیپ بینام که شاهد متحمل به خشکی است مربوط به ژنوتیپ‌های دانش، LP8 و طارم جلودار بوده و کمترین میزان فعالیت را ژنوتیپ LH1 را دارا بوده است (شکل ۷). در تحقیقی Adamis و همکاران (۲۰۰۴)،

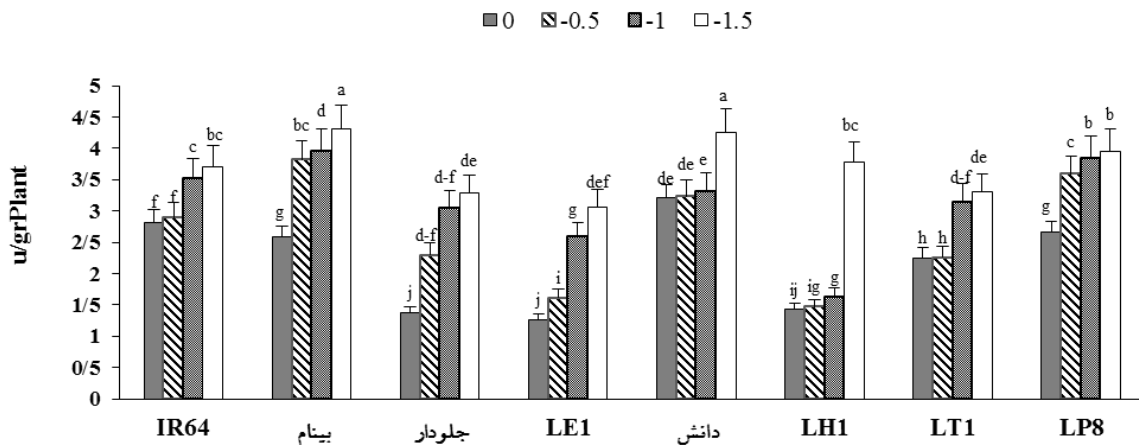
ژنوتیپ‌هایی بودند که توانستند خشکی را تحمل کنند و از بین نروند میزان افزایش فعالیت در ژنوتیپ حساس بیشتر از ژنوتیپ حساس بوده است. در سایر مطالعات نیز افزایش در فعالیت گایاکول پراکسیداز در گیاهان تحت تنش گزارش شده است (Bor et al., 2003).

مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شاهد و تنش خشکی نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در سطوح تنش خشکی نسبت به بدون تنش افزایش یافته است (شکل ۶) ولی میزان فعالیت آن در شرایط اعمال تنش در ژنوتیپ‌های دانش و LP8 بیشتر از سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بوده است. آسکوربات در سلول‌های گیاهی مهمترین جزء برای رفع سمیت H_2O_2 است و آسکوربات برای



ارقام و لاین های برنج مورد مطالعه

شکل ۶- روند فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ های مورد برنج مطالعه



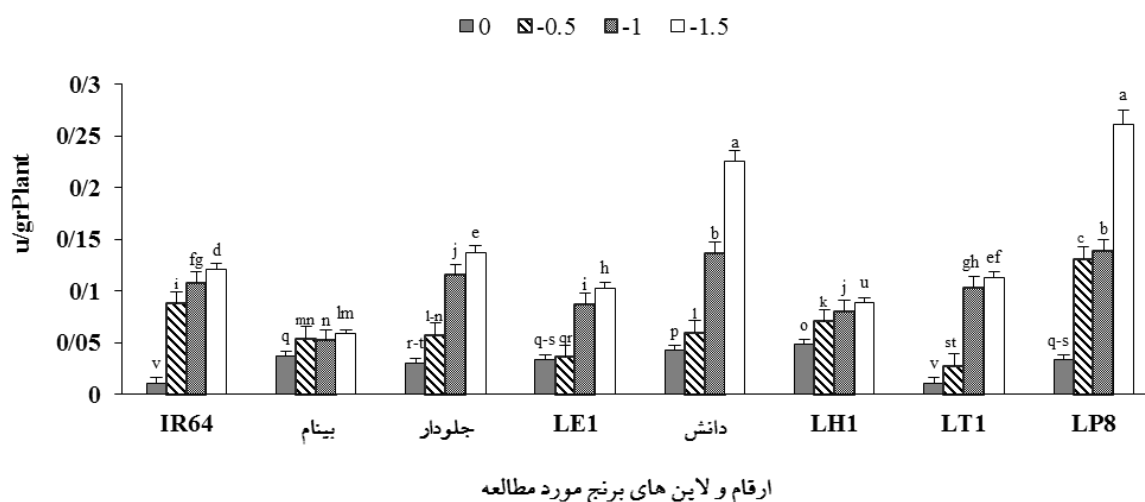
ارقام و لاین های برنج مورد مطالعه

شکل ۷- روند فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ های مورد مطالعه

که در شرایط تنش افزایش میزان فعالیت این آنزیم در دو ژنوتیپ دانش و LP8 بیشتر است (شکل ۸). که این امر نشان دهنده مقابله گیاه با تنش وارده و تلاش برای ایجاد تطابق با شرایط محیطی است. روند افزایشی آنزیم کاتالاز در این ژنوتیپ ها می تواند نشان دهنده آمادگی در برابر تنش خشکی باشد. در تحقیقی تحت تنش شوری Liu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند، فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش می یابد، بین تنش شوری و میزان این آنزیم ها یک همبستگی وجود دارد. در تنش شوری افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می تواند به عنوان یک

بیان داشتند با افزایش سن گیاه و افزایش تنش خشکی مقدار آنزیم سوپراکسید افزایش معنی داری را نشان می دهد. روند افزایشی مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ های متحمل نخود، پنبه، گوجه فرنگی و ... در مقایسه با ژنوتیپ های حساس می تواند دلیلی برای نقش مهم این آنزیم برای مقابله با تنش باشد (Mittova et al., 2004).

از مهم ترین آنزیم های آنتی اکسیدانی موجود در گیاه کاتالاز است که نقش مهمی در سمیت زدایی H₂O₂ ایفا می کند (زالی و همکاران، ۱۳۹۵). نتایج نشان می دهد فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط اعمال تنش نسبت به شاهد روند افزایشی داشته است



شکل ۸- روند فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

متیونین، لیزین، لوسین و فنیل آلانین در ژنوتیپ IR64 بیشتر از ژنوتیپ بینام بود و غلظت اسیدهای آمینه آرژنین، ترئونین، پرولین، آلانین و ایزولوسین در ژنوتیپ بینام بیشتر از ژنوتیپ IR64 مشاهده شد. از طرفی در شرایط تنش گیاهچه‌ای، محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ بینام (۱۱۲۴۲۲/۴۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه) کمتر از ژنوتیپ IR64 (۱۲۵۰۵۵/۳۷۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه) بوده است. در شرایط تنش در مرحله گیاهچه‌ای، در مجموع محتوای اسیدهای آمینه در تنش گیاهچه‌ای بیشتر از شرایط بدون تنش است. بسیاری از محققان بر این باورند که میزان اسیدهای آمینه در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش بیشتری دارند (Ahmed *et al.*, 2013; Drossopoulos *et al.*, 1985). گیاهان گزارشات مختلفی در مورد اثر تنش خشکی بر روی محتوای اسیدهای آمینه مختلف بدست آمده است که نشان می‌دهد، تحت تأثیر تنش رطوبتی به طور معنی‌داری محتوای کل اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد (زالی و همکاران، ۱۳۹۵).

در ژنوتیپ حساس IR64 هفت اسید آمینه ضروری گلیسین، آرژنین، متیونین، لیزین، ایزولوسین، فنیل آلانین روند افزایشی داشته و دو اسید آمینه هیستیدین و والین در شرایط تنش نسبت به شاهد روند کاهشی داشتند (جدول ۳). در ژنوتیپ متحمل بینام (جدول ۳)، از بین اسیدهای آمینه ضروری تنها اسید آمینه لیزین، ایزولوسین و لوسین روند

راهکار مؤثر در بالا بردن مقاومت برنج باشد (Vaidyanathan *et al.*, 2003) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در مقابل این نتایج، Huang و Jiang (۲۰۰۷)، گزارش کردند میزان فعالیت کاتالاز در گراس‌های تحت تیمار تنش کاهش معنی‌داری داشت.

اسیدهای آمینه مهم‌ترین متابولیت‌های گیاهی هستند که نقش مهمی در تحمل به تنش‌های محیطی و تنظیم فعالیت‌های درونی ایفاء می‌کنند (زالی و همکاران، ۱۳۹۵). به‌طور کلی روند تغییرات غلظت هر یک از اسیدهای آمینه به تنهایی نشان داد که بین ژنوتیپ‌های بینام و IR64 تفاوت معنی‌داری از نظر تغییر در غلظت اسیدهای آمینه وجود دارد (جدول ۲). غلظت اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، ترئونین، پرولین، تیروزین، والین، متیونین، لوسین و فنیل آلانین در شرایط بدون تنش در ژنوتیپ IR64 بیشتر از بینام بود و غلظت اسیدهای آمینه گلیسین، هیستیدین، آرژنین، آلانین، سیستئین، لیزین و ایزولوسین در ژنوتیپ بینام بیشتر از ژنوتیپ IR64 دیده شد. در شرایط بدون تنش محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ بینام (۱۰۸۶۸۸/۳۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه)، کمتر از ژنوتیپ IR64 (۱۱۱۸۱۵/۰۵۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه) است. در شرایط تنش در مرحله گیاهچه‌ای، غلظت اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، سرین، گلوتامیک اسید، گلیسین، آلانین، سیستئین، تیروزین، والین،

جدول 3- مقایسه میانگین غلظت‌های اسیدهای آمینه (میلی گرم در کیلوگرم) در سطوح بدون تنش و تنش خشکی PEG در ژنوتیپ‌های IR64 و بینام

تنش خشکی		بدون تنش		نوع اسید آمینه
بینام	IR64	بینام	IR64	
13649/0.6 ^a	16440/43 ^a	13875/56 ^a	14144/58 ^a	1- اسپارتیک اسید
4260/843 ^{bc}	5653/985 ^{bc}	4371/961 ^c	5441/222 ^{ab}	2- سرین
18327/83 ^a	19155/94 ^a	17017/92 ^a	17404/42 ^a	3- گلوتامیک اسید
4496/511 ^{bc}	4373/88 ^{bc}	4705/315 ^c	3878/935 ^{cd}	4- گلیسین*
2059/695 ^d	1711/894 ^c	2243/025 ^d	2004/467 ^{cd}	5- هیستیدین
7266/454 ^b	6882/455 ^b	7380/584 ^b	6483/831 ^b	6- آرژینین
5100/098 ^{bc}	4644/845 ^{bc}	3996/585 ^{dc}	5235/565 ^{ab}	7- ترئونین*
6221/054 ^b	5665/058 ^{bc}	4947/377 ^{bc}	6787/758 ^b	8- پرولین
11296/04 ^a	12436/5 ^a	10752/07 ^a	9501/381 ^c	9- آلانین
1250/485 ^d	1604/424 ^c	1596/429 ^d	1301/191 ^e	10- سیستئین
1987/304 ^d	2593/338 ^c	2369/069 ^d	2906/854 ^d	11- تیروزین
3830/502 ^c	4680/776 ^{bc}	4271/627 ^c	5252/141 ^{ab}	12- والین*
1472/198 ^d	2270/969 ^c	1591/861 ^d	1873/232 ^{cd}	13- متیونین*
9931/743 ^b	8698/625 ^a	7725/661 ^b	7520/76 ^b	14- لیزین*
3819/629 ^c	3600/766 ^c	3568/14 ^{dc}	2970/448 ^d	15- ایزولوسین*
18651/02 ^a	15041/5 ^a	14426/44 ^a	15507/36 ^a	16- لوسین*
3767/275 ^c	4634/718 ^{bc}	3848/703 ^{dc}	3645/906 ^{cd}	17- فنیل آلانین
49602/886	55159/085	47666/213	42238/441	مجموع اسیدهای آمینه ضروری
62819/586	69896/287	61022/114	69621/61	مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری
112422/472	125055/372	108888/327	111860/051	مجموع اسیدهای آمینه

*: اسیدهای آمینه ضروری

در هر ردیف میانگین‌های که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری به هم ندارند.

اسیدهای آمینه مقدار این افزایش کمتر گزارش شده است (Good and Zaplachinski, 1994).

در شرایط بدون تنش ژنوتیپ دانش (جدول 4)، غلظت اسیدهای آمینه اسپارتیک اسید، گلیسین، هیستیدین، آرژینین، آلانین، متیونین، لیزین، ایزولوسین و فنیل آلانین کمتر از غلظت بینام بوده است و غلظت اسیدهای آمینه سرین، گلوتامیک اسید، ترئونین، پرولین، سیستئین، تیروزین، والین و لوسین بیشتر از ژنوتیپ بینام دیده شده است. در شرایط بدون تنش

افزایش چشمگیری داشتند و اسید آمینه‌های ضروری چون گلیسین، هیستیدین، آرژینین، والین، متیونین و فنیل آلانین روند کاهشی را نشان دادند. از مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری در این ژنوتیپ اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، پرولین، آلانین روند افزایشی داشته‌اند و اسیدهای آمینه سیستئین، اسپارتیک اسید، تیروزین و سرین روند کاهشی را نشان دادند. در تحقیقی تحت شرایط تنش خشکی غلظت اسیدهای آمینه لوسین، اسپارتیک اسید و ایزولوسین پنج برابر افزایش یافته و در سایر

جدول ۴- مقایسه میانگین غلظت‌های اسیدهای آمینه (میلی گرم در کیلوگرم) در سطوح بدون تنش و تنش خشکی PEG در ژنوتیپ دانش

نوع اسید آمینه	زمان خواندن RT(min)	غلظت شاهد (کنترل) (mg/kg)	غلظت -۱ بار (خشکی) (mg/kg)	درصد افزایش (+) یا کاهش (-)
۱- اسپارتیک اسید	۱۲/۷۵	۱۳۳۱۵/۹۱ ^a	۱۵۱۳۱/۵۴ ^a	+۱۱/۶۳
۲- سرین	۱۳/۸۹	۴۷۸۹/۴۰۶ ^{bc}	۴۴۹۸/۲۵۷ ^{bc}	-۱۱/۴۷
۳- گلوتامیک اسید	۱۴/۴۴	۱۸۱۰۷/۳۲ ^a	۲۰۱۷۹/۱۲ ^a	+۱۱/۴۴
۴- گلايسين*	۱۵/۶۶	۴۰۶۷/۴۲ ^{bc}	۴۷۷۱/۹۵۵ ^{bc}	+۱۷/۳۱
۵- هیستیدین	۱۸/۱۴	۱۶۰۹/۹۷۹ ^d	۲۵۲۸/۸۳۷ ^c	+۱۷/۰۷
۶- آرژینین	۱۹/۵۱	۷۰۸۶/۷۳۹ ^b	۶۵۷۶/۵۲۲ ^{bc}	-۹/۸۰
۷- ترئونین*	۲۱/۳۵	۴۸۹۲/۴۷ ^{bc}	۴۴۱۹/۶۲۳ ^{bc}	-۹/۳۳
۸- پرولین	۲۴/۰۶	۵۳۷۱/۶۷۹ ^{bc}	۵۸۱۷/۶۷۲ ^{bc}	+۱۰/۳۰
۹- آلانین	۲۴/۴۷	۱۰۵۶۲/۴۳ ^b	۱۱۷۸۹/۹۸ ^b	+۱۱/۶۲
۱۰- سیستئین	۲۷/۱۷	۱۷۲۵/۵۰۳ ^d	۱۸۷۶/۵۵۵ ^c	+۱/۷۵
۱۱- تیروزین	۲۷/۵۳	۲۴۳۸/۳۴۳ ^d	۲۲۷۷/۸۱۲ ^c	-۳/۴۱
۱۲- والین*	۲۸/۵۱	۴۳۷۵/۵۶۲ ^{bc}	۴۶۲۳/۹۶ ^{bc}	+۱۵/۶۷
۱۳- متیونین*	۲۹/۱۳	۱۳۷۷/۵۳۵ ^d	۸۱۰۸/۳۱۷ ^b	+۵۸/۸۱
۱۴- لیزین*	۳۱/۸۶	۷۱۳۴/۵۲۹ ^b	۹۱۰۸/۳۱۷ ^b	+۱۷/۶۶
۱۵- ایزولوسین*	۳۲/۸۱	۳۲۸۴/۹۹۶ ^c	۲۷۶۹/۳۳۹ ^c	-۸/۳۰
۱۶- لوسین*	۳۳/۳۹	۱۶۶۸۰/۳۵ ^a	۱۷۶۰۸/۵۶ ^a	+۱۵/۵۶
۱۷- فنیل آلانین	۳۴/۶۷	۳۳۰۵/۱۶۸ ^c	۴۲۳۱/۹۰۷ ^{bc}	+۱۱/۰۱

در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

بوده است. در ژنوتیپ دانش در سطح خشکی از مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری ۱۲ آمینواسید روند افزایشی نشان دادند. در بررسی ژنوتیپ‌های مختلف گندم تحت تنش رطوبتی وزیرزاده (۱۳۹۷) و Vaidyanathan (۲۰۰۳) گزارش کردند که غلظت اسیدهای آمینه سرین، گلوتامیک اسید، لوسین، اسپارتیک اسید، گلوتامین، پرولین، اسپارژین، آلانین در برگ و خوشه ارقام گندم به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. افزایش معنی‌دار غلظت اسیدهای آمینه فنیل آلانین، گلايسين، والین و اورنیتین نیز در ژنوتیپ‌های مختلف جو در تنش خشکی از سوی Singh و همکاران (۱۹۹۵)، گزارش شده است.

محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ دانش (۱۱۰۱۲۵/۹۸۳) میلی‌گرم بر کیلو گرم وزن تر ریشه) بیشتر از ژنوتیپ بینام است. روند تغییرات در شرایط اعمال تنش خشکی در ژنوتیپ دانش بدین صورت است که غلظت اسیدهای آمینه اسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، گلايسين، هیستیدین، پرولین، آلانین، سیستئین، والین، متیونین، لیزین، لوسین و فنیل آلانین نسبت به سطح بدون تنش ژنوتیپ دانش و همچنین ژنوتیپ بینام روند افزایشی چشمگیری داشته است و غلظت اسیدهای آمینه سرین، آرژینین، ترئونین، تیروزین و ایزولوسین در شرایط اعمال تنش نسبت به سطح شاهد روند کاهشی داشته است. محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ دانش (۱۲۰۵۲۹/۸۹۹) میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه) بیشتر از سطح بدون تنش

جدول ۵- مقایسه میانگین غلظت‌های اسیدهای آمینه (میلی گرم در کیلوگرم) در سطوح بدون تنش و تنش خشکی PEG در ژنوتیپ LP8

نوع اسید آمینه	زمان خواندن RT(min)	غلظت شاهد (کنترل) (mg/kg)	غلظت ۱- بار (خشکی) (mg/kg)	درصد افزایش (+) یا کاهش (-)
۱- اسپارتیک اسید	۱۲/۷۵	۱۴۶۶۷/۶۹ ^a	۱۳۹۷۹/۲۵ ^{ab}	-۵/۳۰
۲- سرین	۱۳/۸۹	۴۲۱۹/۲۴۳ ^{bc}	۵۴۰۰/۲۹۳ ^c	+۱۲/۹۹
۳- گلوتامیک اسید	۱۴/۴۴	۱۵۳۱۶/۶ ^a	۲۰۶۰۹/۴۶ ^a	+۱۴/۵۵
۴- گلیسین*	۱۵/۶۶	۴۱۹۶/۱۵۴ ^{bc}	۴۸۲۹/۹۸۶ ^{bc}	+۱۵/۰۸
۵- هیستیدین	۱۸/۱۴	۱۵۴۲/۱۸۳ ^d	۲۴۹۵/۵۶ ^d	+۱۱/۸۰
۶- آرژینین	۱۹/۵۱	۵۶۵۸/۴۷۳ ^{bc}	۸۹۶۷/۴۶۵ ^b	+۱۸/۴۸
۷- ترئونین*	۲۱/۳۵	۴۷۰۲/۹۸۳ ^{bc}	۴۸۰۲/۰۷۱ ^{bc}	+۱۰/۱۲
۸- پرولین	۲۴/۰۶	۵۲۷۳/۰۹۲ ^{bc}	۶۱۰۹/۲۵ ^c	+۱۱/۸۵
۹- آلانین	۲۴/۴۷	۹۳۲۲/۴۹ ^b	۱۲۳۵۰/۲۹ ^{ab}	+۳۲/۴۸
۱۰- سیستئین	۲۷/۱۷	۱۳۸۱/۵۴۵ ^d	۱۴۷۶/۸۰۴ ^e	+۶/۸۷
۱۱- تیروزین	۲۷/۵۳	۱۹۸۱/۳۲۲ ^d	۲۸۰۵/۴۸۹ ^d	+۱۱/۵۹
۱۲- والین*	۲۸/۵۱	۳۵۵۲/۱۹۸ ^c	۴۴۶۰/۷۷۲ ^{bc}	+۱۵/۵۶
۱۳- متیونین*	۲۹/۱۳	۱۳۴۷/۷۵۳ ^d	۱۷۳۱/۶۱۷ ^c	+۲۸/۵۰
۱۴- لیزین*	۱۳/۸۶	۷۴۴۱/۲۴۸ ^b	۹۱۲۵/۵۹۷ ^b	+۲۲/۶۳
۱۵- ایزولوسین*	۳۲/۸۱	۲۹۷۲/۶۷۶ ^c	۲۹۷۶/۵۳۲ ^d	+۹/۱۳
۱۶- لوسین*	۳۳/۳۹	۱۳۳۵۱/۳۶ ^a	۱۷۰۴۶/۳۹ ^{ab}	+۲۷/۶۷
۱۷- فنیل آلانین	۳۴/۶۷	۳۱۶۲/۲۸۹ ^c	۳۵۲۱/۵۹۶ ^d	+۱۱/۳۵

در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

آلانین نسبت به سطح شاهد و همچنین نسبت به ژنوتیپ بینام روند افزایشی چشمگیری داشته و تنها در این سطح اسپارتیک اسید روند کاهشی داشته است. در شرایط تنش محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ LP8 (۱۲۲۸۶۸/۴۲۲) میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه)، بیشتر از سطح بدون تنش بوده است. در ژنوتیپ LP8 تحت تنش خشکی پلی‌اتیلن گلیکول از مجموع اسید آمینه‌های مورد بررسی ۱۶ اسید آمینه روند افزایشی نسبت به سطح شاهد داشتند. بدین صورت که از مجموع اسیدهای آمینه افزایشی ۱۰ اسید آمینه ضروری شامل گلیسین، هیستیدین، آرژینین، ترئونین، والین، متیونین، ایزولوسین، لوسین و فنیل‌آلانین بوده و از اسیدهای آمینه غیرضروری سرین، گلوتامیک اسید، پرولین، آلانین، سیستئین،

روند تغییرات ژنوتیپ LP8 (جدول ۵)، در شرایط بدون تنش نشان داد که غلظت اسیدهای آمینه والین، اسپارتیک اسید، پرولین، گلیسین و ترئونین بیشتر از غلظت ژنوتیپ بینام بوده است و غلظت اسیدهای آمینه سرین، گلوتامیک اسید، هیستیدین، آرژینین، آلانین، سیستئین، تیروزین، متیونین، لیزین، ایزولوسین، لوسین و فنیل‌آلانین کمتر از غلظت ژنوتیپ بینام است. در شرایط بدون تنش محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ LP8 (۱۰۰۲۸۷/۲۹۹) میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر ریشه) کمتر از ژنوتیپ بینام بوده است. در شرایط اعمال تنش ژنوتیپ LP8 غلظت اسیدهای آمینه سرین، گلوتامیک اسید، گلیسین، هیستیدین، آرژینین، ترئونین، پرولین، آلانین، سیستئین، تیروزین، والین، متیونین، لیزین، ایزولوسین، لوسین و فنیل-

تیروزین بوده و تنها اسید آمینه آسپارتیک اسید در این ژنوتیپ روند کاهشی را نشان داده است. Ahmed و همکاران (۲۰۱۳)، بیان کردند که در ژنوتیپ مختلف جو در شرایط تنش خشکی، محتوای تمام اسیدهای آمینه (بجز متیونین) در شرایط اعمال تنش در مقایسه با شرایط بدون تنش روند افزایشی معنی داری از خود نشان می دهند مقدار این افزایش در ژنوتیپ متحمل بیشتر است.

در مجموع محتوای اسید آمینه افزایش معنی داری در شرایط تنش خشکی در مرحله گیاهچه ای برنج را نشان دادند. همچنین نتایج نشان می دهد که در ریشه برنج، محتوای اسید آمینه آلانین، گلايسين، پرولين، گلو تامیک اسید، لیزین و لوسین از دیگر اسیدهای آمینه مورد بررسی بیشتر است. از طرفی کمترین مقدار محتوای اسید آمینه در بررسی نمونه های ریشه مربوط به اسیدهای آمینه متیونین، هیستیدین و سیستئین بوده است. به طور کلی تنش خشکی اعمال شده در این تحقیق یک تنش ملایم است. نتایج فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مورد بررسی نیز این مطلب را تأیید می کند. بنابراین هر چند در بسیاری از تحقیقات، محتوای بیشتر اسیدهای آمینه، افزایش معنی داری را نشان دادند (Ahmed *et al.*, 2013; Barnett and Naylor, 1966; Karamanos, 1995).

نتیجه گیری

منابع

- اردلانی، شیوا، سعیدی، محسن، جلالی هنرمند، سعید، قبادی، محمداقبال، و عبدلی، مجید (۱۳۹۳). پاسخ های فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در ژنوتیپ های گندم تحت تنش خشکی پس از گرده افشانی. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه آزاد واحد اهواز، ۲۱، ۴۵-۵۹. DOR: 20.1001.1.2008403.1393.6.21.4.4
- اسفندیاری، عزت اله، محبوب، سلطانعلی، و شکاری، فریبرز (۱۳۸۷). اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال، مکانیسم های محافظتی گیاه و ضرورت توجه به آنها. مقالات کلیدی دهمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج، ایران. DOR: 20.1001.1.2008739.1389.3.3.13.2
- اکبرزاده لکامی، مژده، پهلوانی، محمد هادی، زینلی نژاد، خلیل، مهدوی ماشکی، کیوان، پی ام وبر، آندریاس، و بریل هاوس، دومینیک (۱۳۹۹). پاسخ برخی از متابولیت های اولیه ریشه برنج (*Oryza sativa* L.) به تنش شوری. پژوهشنامه گیاهان زراعی، ۳۴، ۲۱۷-۲۱۰. <https://doi.org/10.29252/jcb.12.34.210>

- ارشم، فاطمه (۱۳۹۰). تأثیر تنش رطوبتی بر رشد و نمو و میزان ماده مؤثره گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum*). پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
- پورمحمدتقی، یونس، نجاتیان، محمدعلی، محمودزاده آگریقاشی، حسن، و خان‌حکمتی، جمشید (۱۳۹۱). بررسی تأثیر شوری کلرور سدیم بر میزان پرولین و مالون دآلدئید ۱۰ رقم پایه انگور. جشنواره ملی انگور، قزوین، تاکستان، ایران.
<https://sid.ir/paper/870331/fa>
- تقوی، سیده‌خدیجه (۱۳۹۵). بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج تحت تنش شوری. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
- تقوی، سیده‌خدیجه، باقری، نادعلی، باباییان جلودار، نادعلی و شریفی‌مهر، سلمان (۱۳۹۶). بررسی صفات مورفولوژیک ژنوتیپ‌های برنج در مرحله زایشی تحت تنش شوری. دومین کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در زراعت و اصلاح نباتات، ۱۲-۱۰.
<https://civilica.com/doc/710603>
- حاجی رضانی، فرهاد (۱۳۹۷). مطالعه اثر محلول‌پاشی گلیسین پتائین و اتانول بر رشد محصول اسپرس تحت تنش خشکی. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
- خاکشورمقدم، زهرا (۱۳۸۹). تأثیر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلاکول بر سطوح پرولین، جوانه‌زنی و رشد رویشی گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.). پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
- رکبار، سمیه (۱۳۹۹). تأثیر پوترسین و قارچ میکوریز بر برخی شاخص‌های رشد و گلدهی ژربرا (*Gerbera jamesonii*) رقم Dune در شرایط هیدروپونیک. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه، ایران.
- زالی، حسن (۱۳۹۴). ارزیابی شاخص‌های مقاومت به خشکی با استفاده از صفات فیزیولوژیک در برخی ژنوتیپ‌های کلزا. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
- زالی، حسن، حسنلو، طاهره، سفالیان، امید، اصغری، علی، و زین‌العابدینی، مهرشاد (۱۳۹۵). اثر تنش خشکی بر پارامترهای فیزیولوژیک و تجمع اسیدهای آمینه در کلزا. پژوهش نامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱۸، ۱۹۱-۲۰۳.
<https://doi.org/10.29252/jcb.8.18.191>
- شاکری، سمیرا (۱۳۹۲). بررسی آنالیز بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری در (*Sesamum indicum* L.). پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
- صفایی چایی‌کار، صنم، ربیعی، بابک، سمیع‌زاده، حبیب‌الله، و اصفهانی، مسعود (۱۳۸۶). ارزیابی تحمل ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.) به تنش خشکی انتهای فصل. مجله علوم زراعی ایران، ۴، ۳۳۱-۳۱۵.
<https://doi.org/10.29252/jcb.10.25.7>
- صفاری‌پور، سعید (۱۳۹۷). اثر برهم‌کنش تغذیه برگ‌گی محرک‌های رشدی بر عملکرد کمی و کیفی کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط تنش کم‌آبی. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه، ایران.
- صمدی دیزجی، حسین (۱۴۰۰). بررسی ویژگی‌های فیزیو-بیوشیمیایی میوه زالزالک بومی اسکو. پایانامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، ایران.
- وزیرزاده، آریا، و مقدس‌زاد، حامد (۱۳۹۷). بهینه‌سازی و میزان چربی و کلروفیل ریز جلبک *Chlorella vulgaris* در سطوح مختلف نیتروژن، فسفر و دوره نوری با استفاده از طراحی مرکب مرکزی. مجله علمی شیلات ایران، ۳، ۸۵-۹۶.
<https://doi.org/10.22092/ISFJ.2018.117018>
- نیک‌سیر، پرهام، نواب‌پور، سعید، صبوری، حسین، و سلطانلو، حسن (۱۳۹۲). بررسی روابط برخی صفات زراعی گیاهچه‌های برنج در شرایط کشت تنش خشکی. اولین همایش بین‌المللی و چهارمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، همدان، ایران.
<https://civilica.com/doc/453668>

- Adamis, P. D., Pereira, M. D., DeMesquita, J. F., CPinto, M. L. C., Panek, A. D., & Eleutherio, E. C. (2004). The effect of superoxide dismutase deficiency on cadmium stress. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, *1*, 12-17. <https://doi.org/10.1002/jbt.20000>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Method enzymology. Journal of National Library of Medicine*, *105*, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmed, I. M., Cao, F., Han, Y., Nadira, U. A., Zhang, G., & Wu, F. (2013). Differential changes in grain ultra-structure, amylase, protein and amino acid profiles between Tibetan wild and cultivated barleys under drought and salinity alone and combined stress. *Journal of Food Chemistry*, *141*, 2743-2750. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.101>
- Asad, K. & Tacahashi, M. (1999). Production and scavenging of active oxygen radicals in photosynthesis. *Journal of Elsevier*, *9*, 28-227. <https://doi.org/10.1104/pp.106.082040>
- Barnett, N. M. & Naylor, A. W. (1966). Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water. *Journal of Plant Physiology*, *41*, 1222-1230. <https://doi.org/10.1104/pp.41.7.1222>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Journal of Plant Science*, *1*, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Journal of Analytical Biochemistry*, *44*, 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Blum, A. (1988). *Plant Breeding for Stress Environments*. CRC Press, Boca Raton, United States of America. <https://doi.org/10.1201/9781351075718>
- Bor, M. O., Zdemir, F., & Turkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and wild beet (*Beta maritima* L.). *Journal of Plant Science*, *164*, 77-84. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00338-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00338-2)
- Breusegem, F. V., Vranova, E., Dat, J. F., & Inze, D. (2001). The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Journal of Plant Science*, *161*, 405-414. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00452-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00452-6)
- Chanes, B. & Mahely, A. C. (1996). Assay of catalase and peroxidase. In: *Methods in Enzymology*. (eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. D.) Pp. 764-791. Academic Press, New York. [http://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](http://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Drossopoulos, J. B., Karamanos, A. J., & Niavis, C. A. (1985). Changes in free amino compounds during the development of two wheat cultivars subjected to different degrees of water stress. *Journal of Annals of Botany*, *54*, 291-305. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087015>
- Ghobadi, M., Taherabadia, C. A., Ghobadi, M. E., Mohammadi, Gh. R., & Jalali-Honarmand, S. (2013). Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. *Journal of Industrial Crops and Products*, *50*, 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.009>
- Good, A. G. & Zaplachinski, S. T. (1994). The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Journal of Plant Physiology*, *90*, 9-14. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1994.tb02185.x>
- Huseynova, I. M. (2012). Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. *Biochimica et Biophysica Acta: Bioenergetics*, *1817*, 1516-1523. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2012.02.037>
- Jiang, Y. & Huang, B. (2001). Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation contribution. *Journal of Crop Science*, *41*, 436-442. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.412436x>
- Karagozler, A., Erdag, B., Emek, Y., & Uygun, D. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Journal of Food Chemistry*, *111*, 400-407. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.089>
- Karamanos, A. J. (1995). The involvement of proline and some metabolites in water stress and their importance as drought resistance indicators. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, *21*, 98-110. <https://doi.org/10.1199/tab.0140>
- Ketchum, R. E. B., Warren, R. C., Klima, L. J., Lopez-Gutierrez, F., & Nabors, M. W. (1991). The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cultures of the halophytic grass (*Distichlis spicata* L.). *Journal of Plant Physiology*, *137*, 368-374. <https://doi.org/10.1016/S0176-1617.11.80147-1>
- Kuk, Y. I., Shin, J. S., Burgos, N. R., Hwang, T. E., Han, O., Cho, B. H., Jung, S., & Guh, J. O. (2003). Antioxidative enzyme offer protection from chilling damage in rice plants. *Journal of Crop Science Society of America*, *43*, 2109-2117. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.2109>
- Liu, J. X. & Bennett, J. (2011). Reversible and irreversible drought-induced changes in the anther proteome of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes IR64 and Moroberekan. *Journal of Molecular Plant*, *4*, 59-69. <https://doi.org/10.1093/mp/ssq039>
- Liu, Z. J., Zhang, X. L., Bai, J. G., Suo, B. X., Xu, P. L., & Wang, L. (2009). Exogenous paraquat changes antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in drought-stressed cucumber leaves. *Journal of Scientia Horticulture*, *2*, 138-1453. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.01.032>

- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2008). Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under tridimefon drenching. *Journal of Comptes Rendus Biologies*, 331, 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.03.003>
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M., & Volokita, M. (2004). Salinity up-regulated the antioxidative system in root mitochondria of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1105-1113. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh113>
- Mishel, B. E. & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Journal of Plant Physiology*, 51, 914. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Moradi, F. & Ismail, A. (2007). Responses of photosynthesis chlorophyll fluorescence and Rosscarenging system to salt stress during seeding and reproductive stages in rice. *Journal of Annals of Botany*, 99, 1161-1173. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm052>
- Nakano, Y. & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; Its activation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Journal of Plant and Cell Physiology*, 1, 131-140. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077268>
- Showler, A. T. & Castro, B. A. (2010). Influence of drought stress on Mexican rice borer (Lepidoptera: Crambidae) oviposition preference in sugarcane. *Journal of Crop Protection*, 28, 722-727. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.07.014>
- Singh, T. N., Paleg, L. G., & Aspinall, D. (1973). Stress metabolism I. nitrogen metabolism and growth in the barley plant during stress. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26, 45-56. <https://doi.org/10.1071/BI973FM>
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R., & Tomas, G. (2003). Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Journal of Plant Science*, 165, 1411-1418. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.08.005>
- Yoshida, S., Forno, D. A., & Cock, J. H. (1976). Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. 3th Ed. Los Banos, Laguna, Philippines.

The effect of drought stress caused by polyethylene on the level of enzyme activity and amino acid accumulation in the roots of seedlings of different genotypes rice (*Oryza sativa* L.)

Seyedeh Vida Heydar GholiZadeh Hsankola¹, Nadali Bagheri^{2*}, Nadali Babaiyan Jelodar³ and Seyed Kamal Kazemi Tabar⁴

Department of Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
(Received: 2023/02/05, Accepted: 2023/06/08)

Abstract

Drought stress is the limiting factor for rice growth in rice fields. One of the approaches to dealing with the negative effects of stress on crop production is the use of drought-tolerant cultivars. This research was conducted to investigate the effect of drought stress on changes in antioxidant enzyme activity and amino acid accumulation in a number of rice genotypes. In this research, the number of 6 rice genotypes along with the tolerant (Binam) and sensitive (IR64) control cultivars at the seedling stage in the form of a completely random basic design in 3 replications and 4 drought levels (from polyethylene glycol 6000) zero (Yoshida), -0.5, -1 and -1.5 times were investigated in hydroponic culture medium. The results of the analysis of variance showed that there is a significant difference between the examined cultivars and the level of enzyme activity also increased, and genotypes such as Danesh and LP8, which were more tolerant to drought, had a higher level of enzyme activity. The increase in activity in tolerant genotypes has been greater than that in sensitive cultivars. In the analysis of the amino acid profiles of the genotypes introduced above, the activity of glutamic acid, alanine, arginine, leucine and lysine increased significantly with the increase in drought stress. While no significant accumulation of amino acids was observed in the sensitive IR64 genotype under stress. Therefore, it can be concluded that the accumulation of amino acids is closely related to the drought tolerance of tolerant genotypes.

Keywords: Amino acid, Rice, Peroxidases, Polyethylene glycol, Proline

Corresponding author, Email: bagherinadali@yahoo.com