مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال دوم، شماره دوم، بهار و تابستان ۱۳۹۱ (۱۴-۱)

Crop Biotech.
Vol.2, No. 2, Spring and Summer 2012

پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه برنج تحت شرایط تنش شوری

آمنه‌سادات هاشمی[۱]*، قربانعلی نعمت‌زاده[۲]، قاسم حسینی سالکده[۳]، سید عبداله حسینی[۴] و محمدرضا حاجی‌رضایی[۵]
۱، ۲، دانشجوی دکتری و استاد دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۳، استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران و پژوهشگاه رویان، ۴، کارشناس‌ارشد پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران ، ۵، مؤسسه ژنتیک گیاهی و تحقیقات علوم زراعی (IPK) گترزلبن، آلمان
(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱ - تاریخ تصویب: ۹۰/۱۲/۲)

Physiological and Metabolic Responses in Rice under Salt Stress

A. HASHEMI[1]*, GH. NEMATZADEH[2], GH. HOSSEINI SALEKDEH[3], S. A. HOSSEINI[4] AND M. R. HAJIREZAEI[5]
1, 2, Ph.D. Student and Professor of Agronomy Science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 3, Assistant Professor, Department of Genomics, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj and Department of Molecular Systems Biology, Royan Institute, Tehran, Iran, 4, Senior Expert of Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran, 5, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany
(Received: Jan. 21, 2012 - Accepted: Feb. 21, 2012)

چکیده

دو ژنوتیپ برنج IR29 و FL478 با حساسیت‌های متفاوت به شوری تحت تنش شوری با ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl برای پاسخ‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی مورد بررسی قرار گرفتند. به این ترتیب وزن خشک، وزن‌تر وطول ریشه و اندام‌هوایی گیاهان و همچنین میزان یون‌های سدیم و پتاسیم، مقدار اسیدهای آمینه و برخی قندها و قند-الکل‌ها در ریشه و اندام‌هوایی گیاهان در شرایط کنترل و تنش ارزیابی شدند. بعد از ۱۲ روز از تنش، سطح یون سدیم به‌خصوص در اندام‌هوایی IR29 افزایش معنی‌داری داشت درحالی‌که یون پتاسیم بیشترین افزایش را در ژنوتیپ FL478 نشان داد. از طرف دیگر تغییرات متابولیکی در پاسخ به تنش‌های شوری در بین دو ژنوتیپ متفاوت بود، یعنی گیاهان IR29 در مقایسه با FL478 بیشترین سطح تغییرات را در اسیدهای آمینه به‌خصوص آسپارژین، گلوتامین، پرولین و GABA نشان دادند، این امر می‌تواند نشانگر خسارت و پیری سلول‌ها در گیاه حساس باشند، درحالی‌که قندها و قند-الکل‌ها که به عنوان مواد محافظتی در سلول، تحت شرایط تنش در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت، اما مقدار آن‌ها در ژنوتیپ متحمل FL478 بیشتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده در بین دو ژنوتیپ در پاسخ به تنش شوری ممکن است تا حدوی به تفاوت‌های مشاهده شده در سطح متابولیت‌ها نسبت داده شود.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، متابولومیکس، اسیدآمینه، قند، قند- الکل

Abstract

Two rice lines, IR29 and FL478, which differed in salinity tolerance, were studied for physiological and metabolic responses under salt condition (100mM NaCl). Length, fresh and dry weight, sodium and potassium content as well as accumulation of amino acids, sugars and sugar-alcohols in root and shoot under control and salt conditions in two genotypes were taken into consideration. After 12 days of stress, Na^+ level, especially in IR29 shoot increased significantly while K^+ increased more in FL478. On the other hand, metabolic changes in response to stress were different between the two lines. More specifically, IR29 plants in comparison with those of FL478 showed more changes in amino acid levels i.e. asparagine, glutamine, proline and GABA, indicating cell injury and senescence in the sensitive line. The amount of sugars and sugar-alcohol as osmo-protectant increased in the tolerant line; FL478, under salt stress. Our results revealed that the differences found between the two genotypes in response to stress could be attributed, at least to some extent, to the observed metabolites level differences.

Keywords: Salt stress, Metabolomics, Amino acids, Sugar, Sugar-alcohol

* نویسنده مسئول: آمنه سادات هاشمی
E-mail: a_hashemi2004@yahoo.com

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین غذاها، برای جمعیت زیادی از مردم دنیا به‌خصوص آسیا محسوب می‌شود. گیاه برنج به‌عنوان یک مدل در غلات با توالی ژنومی تعیین‌شده (Eckardt. 2000)، برای بررسی مطالعه و تغییرات متابولیتی در تنش‌های محیطی مثل تنش شوری دارای اهمیت به‌سزایی است. شوری یکی از معمول‌ترین عوامل تنش‌های محیطی است که در رشد، توسعه و باروری گیاهان به‌خصوص برنج، به‌عنوان حساس‌ترین غلات به شوری اثر مخربی دارد (Munns and Tester. 2008).

متابولومیکس در تکمیل مطالعات ژنومیکس و پروتئومیکس می‌تواند ابزار مهمی در شناسایی اجزای اولیه درک علائم تنش‌ها باشد و برخی از این اجزا قبل از تغییرات بیان‌ژن و پروتئین قابل ردیابی هستند(Shulaev *et al*. 2008). متابولیت‌های گیاهی که شامل قند–الکل‌ها، قندها و اسیدهای‌آمینه هستند و به‌عنوان اسمولیت یا اسموپروتکتانت در مقابل تنش شوری از گیاه محافظت می‌کنند، در محصولاتی مانند جو (Widodo *et al*. 2009)، گندم (Kovács *et al*. 2011)، تنباکو (Zhang *et al*. 2011) و آرابیدوپسیس (Kim *et al*. 2007) مورد بررسی قرار گرفتند و برخی از آن‌ها تغییرات چشمگیری را تحت این شرایط نشان دادند. برنج نیز به‌عنوان یک گیاه حساس به شوری تغییرات عمده‌ای را در پارامترهای فیزیولوژیکی و متابولیتی نشان می‌دهد (Cha-um *et al*. 2009; Fumagalli *et al*. 2009; Thu Hoai *et al*. 2003). نتایج به‌دست‌آمده کمک بسیار زیادی به شناسایی ارقام حساس و متحمل و طبقه‌بندی آن‌ها نموده است.

هر یک از اسیدهای‌آمینه به‌عنوان پیش‌سازهای پروتئین‌ها نقش‌های مختلفی در گیاهان تحت تنش مانند تأخیر در پژمردگی (Thakur and Rai. 1985)، افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی (Sakr *et al*. 2012)، محدودیت در جذب یون سدیم و افزایش نسبت K^+/Na^+، (Abd El-Samad *et al*. 2011; Cuin and Shabala. 2007) و ممانعت از بازشدن روزنه‌ها، ایفا می‌کنند. به‌علاوه برخی از آن‌ها باعث بازشدن روزنه‌ها شده (Rai and Sharma. 1991) و سپس این اسیدهای‌آمینه به‌عنوان پیش‌سازهای مسیر متابولیکی برخی دیگر از متابولیت‌ها مثل پلی‌آمین‌ها (Kusano *et al*. 2008) یا تبدیل‌شدن به اسیدآبسیزیک (Rai and Sharma. 1991) موجب بسته‌شدن مجدد روزنه‌ها می‌گردند (Alcázar *et al*. 2010; Yamaguchi *et al*. 2007). بنابراین اثرات متقابل عملکرد این اسیدهای‌آمینه منجر به تعادل وضعیت گیاه در شرایط بحرانی می‌گردند. متابولیسم کربوهیدرات‌ها برای تولید قندها و قند–الکل‌ها نیز تحت تأثیر تنش‌های محیطی دچار تغییر و اختلال می‌گردد (Ray *et al*. 2011). این متابولیسم که با تولید انرژی نقش مهمی در رشد و توسعه گیاه ایفا می‌کند، به‌عنوان مولکول‌های علامت‌دهنده و ایجادکننده شیب اسمزی نیز حائز اهمیت است (Williams *et al*. 2000). قندها در ارگان‌های فتوسنتزکننده ساخته می‌شود و سپس به ارگان‌های مصرف‌کننده منتقل می‌گردند (Lemoine. 2000). اغلب گیاهان تراریخت با سطوح بالای تولید قندها و قند–الکل‌ها در مقابل استرس‌های مختلف تحمل بالاتری را نسبت به گیاهان غیرتراریخت نشان دادند هرچند ممکن است عملکرد برخی از آن‌ها تحت تأثیر قرار گیرد (Chan *et al*. 2011; Liu *et al*. 2008). در این مطالعه آنالیز متابولیت‌های اولیه دو ژنوتیپ حساس (IR29) و متحمل (FL478) به شوری در شرایط کنترل و تنش شوری با کلریدسدیم مورد بررسی قرار گرفته است. این آنالیز شامل تعیین مقادیر اسیدهای‌آمینه، قندها و قند–الکل‌ها و تغییرات آن‌ها تحت شرایط شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، تیمار شوری و پارامترهای فیزیولوژیکی

ژنوتیپ IR29 به‌عنوان ژنوتیپ حساس و FL478 به‌عنوان ژنوتیپ متحمل به شوری در گلخانه در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار کشت شدند. پس از ۲۱ روز رشد در محلول یوشیدا (Yoshida *et al*. 1976) تنش شوری با اضافه‌کردن ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به نیمی از نمونه‌ها اعمال گردید. ریشه و اندام‌هوایی بعد از ۱۲ روز از تنش شوری، برداشت و برای اندازه‌گیری متابولیت‌ها در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و پس از پودرکردن کامل، لیوفیلیز[1] شدند.

ریشه و اندام‌هوایی نمونه‌ها از هر تیمار و ژنوتیپ‌ها با سه تکرار برای پارامترهای فیزیولوژیکی شامل وزن‌تر، وزن‌خشک و طول‌ریشه و اندام‌هوایی برداشت گردیدند. برای به‌دست‌آوردن وزن‌خشک، نمونه به‌مدت ۲۴ ساعت در ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. برای اندازه‌گیری میزان یون‌های سدیم (Na^+) و پتاسیم (K^+) نیز ۳۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های پودرشده به ۱۰ میلی‌لیتر اسیدنیتریک (HNO_3) ۵۰۰ میلی‌مولار اضافه شدند و مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مقادیر یون‌های سدیم و پتاسیم بعد از فیلترکردن عصاره‌های استخراج‌شده با دستگاه فلیم فتومتر[2] قرائت گردیدند (Dooki *et al*. 2006).

اندازه‌گیری اسیدهای‌آمینه، قندها و قند-الکل‌ها

برای اندازه‌گیری مقدار اسیدهای‌آمینه به ۵ میلی‌گرم از نمونه‌های پودر لیوفیلیزشده از هر تیمار و ژنوتیپ با ۳ تکرار، ۷۵۰ میکرولیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه و سپس مقادیر اسیدهای‌آمینه با استفاده از AccQ Taq مطابق با دستورالعمل (Rolletschek *et al*. 2002) استخراج شدند. مقادیر اسیدهای‌آمینه با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با دستگاه HPLC (Waters 2795)، شوینده‌های A (شامل ۱۴۰ میلی‌مولار سدیم استات، pH برابر با ۵/۸ و ۷ میلی‌مولار تری‌اتانول‌آمین)، B (استونیتریل) و C (آب) و ردیاب فلورسنس (طول‌موج ورودی ۳۰۰ نانومتر و خروجی ۴۰۰ نانومتر) قرائت گردیدند (Abbasi *et al*. 2009) برای اندازه‌گیری قندهای محلول نیز عصاره استخراج‌شده با اتانول ۸۰ درصد، استفاده شد و برای قرائت جذب و تعیین مقادیر آن‌ها به صورت فتومتری، قندهای گلوکز، فروکتوز و ساکاروز به‌ترتیب آنزیم‌های هگزوکیناز، فسفوگلوکوایزومراز و بتافروکتوزیداز به‌کار گرفته شد. به‌علاوه تعیین غلظت قند-الکل‌ها با استفاده از عصاره استخراج‌شده و سیستم یون کروماتوگرافی ICDionex انجام و برای جداسازی اجزای آنیونی مطابق با روش Schneider *et al*. (2006)، از CarboPacMA1column استفاده شدند.

آنالیز آماری

نتایج با مقادیر F به‌دست‌آمده از روش یک‌طرفه ANOVA با استفاده از نرم‌افزار JMP 4.0.4 تجزیه و تحلیل شد. بعد از تجزیه معنی‌داری واریانس، تفاوت بین مقدار میانگین‌های تیمارهای مختلف نیز با آزمون چنددامنه‌ای دانکن[3] در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شدند.

نتایج و بحث

اثرات شوری روی پارامترهای فیزیولوژیکی

تجزیه معنی‌داری واریانس پارامترهای فیزیولوژیکی با نرم‌افزار JMP 4.0.4 انجام شد و اثرات تنش شوری بر آن‌ها در دو ژنوتیپ برنج، IR29 (حساس) و FL478 (متحمل) با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه

1. Lyophilized
2. Flame photometer
3. Duncan's multiple range test

و در جدول ۱ نشان داده شده است. وزن‌تر اندام‌هوایی و طول آن در هر دو ژنوتیپ و وزن‌خشک اندام‌هوایی در IR29 کاهش معنی‌دار و وزن‌خشک ریشه و طول ریشه تنها در IR29 افزایش معنی‌داری را در گیاهان تحت تنش نشان داد. این نشان می‌دهد که پارامترهای اندام‌هوایی به شوری حساس‌تر هستند. کاهش در پارامترهای اندام‌هوایی می‌تواند بخاطر بسته‌شدن و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای باشد که منجر به محدودیت در ظرفیت فتوسنتزی گیاهان تحت تنش می‌شود (Kawasaki *et al*. 2001; Moradi and Ismail. 2007).

یکی از مکانیزم‌های تحمل به تنش شوری، محدودیت جذب و انتقال یون‌های سدیم (Na^+) و پتاسیم (K^+) از ریشه به اندام‌هوایی است (Greenway and Munns. 1980). نتایج آزمایش نشان داد که شوری به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر روی میزان یون سدیم و پتاسیم ریشه و اندام‌هوایی اثر می‌گذارد (جدول ۱). میزان یون سدیم در گیاهان تحت تنش نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری در برگ و ریشه هر دو ژنوتیپ بیشتر بود. در این مطالعه IR29 در مقایسه با FL478 در شرایط تنش، سطح NaCl بیشتری را در برگ ذخیره کرده است درحالی‌که نتایج آزمایش در ریشه برعکس بود. همچنین غلظت یون سدیم در ریشه FL478 از اندام‌هوایی بیشتر بود اما این مقدار در IR29 مشابه بودند. این نتایج نشان می‌دهد که محدودیت انتقال سدیم از ریشه یا دفع آن از برگ‌ها (Murillo-Amador *et al*. 2006)، در ژنوتیپ FL478 به‌عنوان یک ژنوتیپ متحمل، کاراتر از ژنوتیپ حساس می‌باشد. میزان سدیم در برگ و ریشه IR29 و اندام‌هوایی FL478 در نتیجه رقابت بین یون پتاسیم و یون سدیم یا به خاطر اثر سدیم روی پروسه‌های انتقال یون پتاسیم (Khan and Panda. 2008) به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. به‌علاوه محاسبه نسبت K^+/Na^+ در این مطالعه نشان‌دهنده افزایش غلظت سدیم در شرایط تنش بود و مقدار این نسبت بجز در ریشه FL478 به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول۱).

نسبت بالای K^+/Na^+ در اندام‌هوایی ژنوتیپ FL478 (۶/۸۵) نسبت به IR29 (۳/۵۱) در شرایط تنش می‌تواند متحمل‌تربودن برگ‌های این ژنوتیپ را نسبت به شوری تأیید کند. مطالعات دیگری نیز

جدول ۱- مقایسه میانگین برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط کنترل و شوری به همراه انحراف استاندارد (SE) با آزمون دانکن

Physiology parameter	IR29		FL478	
	Control (0mM)	Salt stress (100mM)	Control (0mM)	Salt stress (100mM)
Weight of fresh root (g)	$1.65^{b}\pm0.20$	$1.90^{b} \pm 0.08$	$3.21^{a} \pm 0.45$	$2.68^{ab} \pm 0.57$
Weight of dry root (g)	$0.13^{a}\pm0.01$	$0.16^{a} \pm 0.004$	$0.21^{a} \pm 0.03$	$0.20^{a} \pm 0.04$
Weight of fresh shoot (g)	$4.71^{c}\pm0.49$	$2.81^{d} \pm 0.02$	$9.01^{a} \pm 0.21$	$6.50^{b} \pm 0.65$
Weight of dry shoot (g)	$0.80^{b}\pm0.03$	$0.59^{c} \pm 0.01$	$1.51^{a} \pm 0.21$	$1.09^{a} \pm 0.20$
Length of root (cm)	$18.46^{b}\pm1.03$	$22.96^{a} \pm 0.42$	$15.60^{c} \pm 0.47$	$17.08^{bc} \pm 0.62$
Length of shoot (cm)	$45.58^{b}\pm1.83$	$36.56^{c} \pm 0.78$	$69.18^{a} \pm 1.81$	$55.68^{b} \pm 1.84$
Relative Water Content (RWC)	$86.51^{a}\pm0.90$	$87.38^{a} \pm 1.19$	$84.87^{a} \pm 2.36$	$88.83^{a} \pm 1.26$
Root potassium concentration (mg/g dry weight)	$140.88^{a}\pm12.52$	$38.44^{c} \pm 5.29$	$35.98^{c} \pm 2.17$	$70.88^{b} \pm 4.31$
Root sodium concentration (mg/g dry weight)	$15.63^{c}\pm0.49$	$30.23^{b} \pm 2.33$	$19.83^{c} \pm 0.65$	$38.13^{a} \pm 1.50$
Leaf potassium concentration (mg/g dry weight)	$202.88^{a}\pm6.83$	$103.88^{c} \pm 1.87$	$199.88^{a} \pm 4.19$	$155.88^{b} \pm 5.58$
Leaf sodium concentration (mg/g dry weight)	$14.33^{c}\pm0.44$	$29.63^{a} \pm 0.82$	$13.13^{c} \pm 0.40$	$22.83^{b} \pm 0.47$
K^+/Na^+ in root	$9.06^{a}\pm0.93$	$1.24^{b}\pm0.08$	$1.81^{b}\pm0.08$	$1.85^{b}\pm0.04$
K^+/Na^+ in shoot	$14.15^{a}\pm0.21$	$3.51^{b}\pm0.09$	$15.25^{a}\pm0.36$	$6.853^{c}\pm0.30$

اختلاف حروف در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

نشان دادند که برای حفظ ظرفیت فتوسنتزی و در نتیجه حفظ گیاه و متابولیسم سلولی در شرایط تنش مقدار بالاتر این نسبت نیاز است (Asch *et al*. 2000; Zhu. 2003).

پاسخ متابولیت‌ها در شرایط تنش شوری

اثر شوری بر اسیدهای آمینه

از میان ۱۹ اسیدآمینه مورد مطالعه، ۱۳ اسیدآمینه شامل گلوتامات (Glu) آسپاراژین (Asn)، گلایسین (Gly)، گلوتامین (Gln)، هیستیدین (His)، تریئونین (Thr)، آرژنین (Arg)، گاما آمینو بوتیریک‌اسید[1] (GABA)، پرولین (Pro)، تیروزین (Tyr)، والین (Val)، ایزولوسین (Ile) و فنیل‌آلانین (Phe) در اندام‌هوایی و ۹ اسیدآمینه شامل گلوتامات (Glu)، سرین (Ser)، آسپاراژین (Asn)، گلوتامین (Gln)، هیستیدین (His)، تریئونین (Thr)، آلانین (Ala)، گاما آمینو بوتیریک‌اسید (GABA) و پرولین (Pro) در ریشه تغییرات معنی‌داری در شرایط تنش شوری نشان دادند (جدول ۲). تعداد ۱۳ و ۴ اسیدآمینه به‌ترتیب در اندام‌هوایی ژنوتیپ IR29 و FL478 در شرایط تنش افزایش معنی‌دار نشان داد که بیشترین میزان این افزایش در هر دو ژنوتیپ IR29 وFL478 مربوط به اسیدآمینه آسپاراژین (به‌ترتیب ۹/۸ و ۳/۶ برابر نسبت به شرایط کنترل) بود. از طرف دیگر تعداد ۴ و ۵ اسیدآمینه به‌ترتیب در ریشه IR29 و FL478 افزایش یافت که بیشترین افزایش در IR29، مربوط

1. Gamma amino butyric acid

جدول ۲- مقایسه میانگین مقدار اسیدهای‌آمینه (واحد میکرو مول/گرم وزن‌خشک) در اندام‌هوایی و ریشه ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط کنترل و شوری به همراه انحراف استاندارد (SE) با آزمون دانکن

Amino acids	Shoot				Root			
	IR29		FL478		IR29		FL478	
	Control (0 mM)	Salt stress (100mM)	Control (0 mM)	Salt stress (100mM)	Control (0 mM)	Salt stress (100mM)	Control (0 mM)	Salt stress (100mM)
Aspartic acid (Asp)	$59.70^{a} \pm 7.06$	$54.30^{ab} \pm 1.81$	$39.04^{b} \pm 3.97$	$44.74^{ab} \pm 4.68$	$46.12^{a} \pm 8.34$	$50.50^{a} \pm 9.07$	$29.71^{a} \pm 13.72$	$53.89^{a} \pm 10.82$
Glutamic acid (Glu)	$95.30^{a} \pm 11.44$	$63.19^{b} \pm 10.01$	$78.66^{ab} \pm 6.84$	$81.10^{ab} \pm 6.79$	$32.65^{a} \pm 2.12$	$32.01^{a} \pm 7.13$	$14.37^{b} \pm 5.27$	$45.23^{a} \pm 33.30$
Serin (Ser)	$46.56^{ab} \pm 4.32$	$58.05^{a} \pm 3.82$	$40.40^{b} \pm 4.89$	$39.38^{b} \pm 2.97$	$15.14^{c} \pm 1.12$	$29.63^{ab} \pm 3.05$	$19.12^{bc} \pm 6.41$	$33.43^{a} \pm 4.03$
Asparagine (Asn)	$23.90^{bc} \pm 3.61$	$235.53^{a} \pm 24.70$	$18.90^{c} \pm 9.98$	$68.72^{b} \pm 7.89$	$16.09^{b} \pm 4.55$	$89.65^{a} \pm 6.79$	$36.78^{b} \pm 17.84$	$31.90^{b} \pm 4.31$
Glycine (Gly)	$3.34^{b} \pm 0.61$	$6.89^{a} \pm 0.55$	$4.66^{a} \pm 0.82$	$5.52^{ab} \pm 0.13$	$5.16^{a} \pm 0.44$	$4.87^{a} \pm 0.71$	$6.15^{a} \pm 1.73$	$4.51^{a} \pm 0.86$
Glutamine (Gln)	$6.91^{c} \pm 2.08$	$27.86^{a} \pm 1.36$	$115.87^{b} \pm 1.41$	$19.41^{b} \pm 3.02$	$9.79^{c} \pm 0.75$	$26.72^{a} \pm 1.78$	$14.13^{bc} \pm 4.12$	$19.12^{ab} \pm 1.16$
Histidine (His)	$0.84^{c} \pm 0.17$	$6.41^{a} \pm 0.58$	$0.70^{c} \pm 0.19$	$2.18^{b} \pm 0.10$	$1.87^{b} \pm 0.38$	$3.49^{a} \pm 0.20$	$2.10^{b} \pm 0.44$	$2.30^{ab} \pm 0.43$
Threonine (Thr)	$11.18^{c} \pm 0.44$	$28.99^{a} \pm 1.13$	$10.38^{c} \pm 1.20$	$14.86^{b} \pm 1.44$	$8.49^{ab} \pm 1.17$	$12.66^{a} \pm 1.35$	$7.01^{b} \pm 1.85$	$12.55^{a} \pm 1.65$
Arginine (Arg)	$3.59^{c} \pm 0.25$	$12.58^{a} \pm 0.46$	$3.84^{c} \pm 0.54$	$7.04^{b} \pm 1.56$	$8.86^{a} \pm 2.31$	$7.91^{a} \pm 0.64$	$6.55^{a} \pm 1.59$	$6.29^{a} \pm 0.85$
Alanine (Ala)	$22.56^{a} \pm 0.21$	$36.51^{a} \pm 3.07$	$33.72^{a} \pm 7.62$	$29.68^{a} \pm 5.25$	$27.77^{ab} \pm 11.99$	$28.25^{ab} \pm 11.81$	$22.48^{b} \pm 5.74$	$37.49^{a} \pm 4.89$
GABA	$7.31^{b} \pm 1.03$	$13.08^{a} \pm 1.39$	$6.86^{b} \pm 0.37$	$11.02^{ab} \pm 5.17$	$37.62^{a} \pm 7.55$	$47.59^{a} \pm 6.44$	$26.45^{a} \pm 12.15$	$43.01^{a} \pm 11.30$
Proline (Pro)	$10.44^{b} \pm 0.44$	$37.22^{a} \pm 1.55$	$10.03^{b} \pm 1.03$	$14.34^{b} \pm 2.71$	$8.07^{b} \pm 1.03$	$14.96^{ab} \pm 0.99$	$6.85^{b} \pm 0.70$	$23.53^{a} \pm 2.41$
Tyrosine (Tyr)	$1.99^{b} \pm 0.10$	$3.00^{a} \pm 0.30$	$1.43^{b} \pm 0.11$	$1.88^{b} \pm 0.34$	$4.18^{a} \pm 0.56$	$3.55^{a} \pm 4.39$	$3.25^{a} \pm 0.52$	$3.32^{a} \pm 0.50$
Valine (Val)	$4.52^{b} \pm 0.42$	$14.60^{a} \pm 1.77$	$3.73^{b} \pm 0.11$	$7.23^{b} \pm 2.11$	$8.69^{a} \pm 1.03$	$9.85^{a} \pm 1.24$	$7.13^{a} \pm 1.81$	$8.41^{a} \pm 1.05$
Methionine (Met)	$0.16^{a} \pm 0.05$	$0.19^{a} \pm 0.03$	$0.13^{a} \pm 0.03$	$0.30^{a} \pm 0.09$	$1.36^{a} \pm 0.21$	$1.38^{a} \pm 0.56$	$1.04^{a} \pm 0.14$	$1.07^{a} \pm 0.25$
Isoleucine (Ile)	$1.78^{b} \pm 0.03$	$4.63^{a} \pm 0.56$	$1.27^{b} \pm 0.10$	$2.02^{b} \pm 0.05$	$4.76^{a} \pm 0.64$	$5.76^{a} \pm 1.80$	$3.81^{a} \pm 1.01$	$4.65^{a} \pm 0.88$
Lysine (Lys)	$2.28^{a} \pm 0.10$	$5.58^{a} \pm 0.81$	$1.38^{a} \pm 0.09$	$2.62^{a} \pm 0.16$	$12.50^{a} \pm 1.61$	$9.76^{ab} \pm 1.82$	$6.17^{b} \pm 1.90$	$7.72^{ab} \pm 1.50$
Leucine (Leu)	$3.23^{a} \pm 0.06$	$4.65^{a} \pm 0.43$	$2.38^{a} \pm 0.21$	$6.02^{a} \pm 3.43$	$12.13^{a} \pm 1.76$	$10.87^{a} \pm 1.60$	$7.30^{a} \pm 1.97$	$9.10^{a} \pm 1.84$
Phenylalanine (Phe)	$1.95^{b} \pm 0.15$	$12.88^{a} \pm 0.40$	$1.30^{b} \pm 0.06$	$2.52^{b} \pm 0.16$	$3.96^{a} \pm 0.48$	$3.49^{a} \pm 0.27$	$2.58^{a} \pm 0.50$	$2.54^{a} \pm 0.36$

اختلاف حروف در هر سطر (شامل ژنوتیپ‌ها و تیمارها) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

به اسیدآمینه آسپاراژین (۵/۵ برابر) و در FL478 مربوط به اسیدآمینه پرولین (۳/۴ برابر) نسبت به شرایط کنترل بود. در این مطالعه بیشترین تغییر در اسیدهای‌آمینه مربوط به آسپاراژین بوده است. با توجه به این که برخی از ژن‌های دخیل در سنتز پروتئین آسپاراژین سنتتاز[1]، تحت شرایط تنش‌های غیرزنده افزایش بیان می‌یابند (Chao *et al*. 2005; Wang *et al*. 2005)، بنابراین افزایش میزان آسپاراژین مطابق با تحقیقات دیگر (Widodo *et al*. 2009) تأیید می‌شود. اسیدآمینه گلوتامین نیز تحت شرایط تنش در اندام‌هوایی و ریشه IR29 به‌ترتیب ۴ و ۲/۷ برابر افزایش یافت. گلوتامین به‌عنوان یک دهنده نیتروژن، در بیوسنتز ترکیبات نیتروژن آلی مثل اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها و کلروفیل نقش عمده‌ای دارد. بنابراین گلوتامین سنتاز[2] به‌عنوان آنزیمی که ترکیبات غیرآلی را به گلوتامین کاتالیز می‌کند، یک فاکتور کنترل‌کننده جذب نیتروژن در گیاهان است. با توجه به این که افزایش بیان برخی از ژن‌های گلوتامین سنتاز در برنج، باعث ایجاد حساسیت بیشتر در مقابل تنش‌های غیرزنده شده است (Cai *et al*. 2009; Hoshida *et al*. 2000)، افزایش مقدار گلوتامین در IR29 می‌تواند دلیل حساسیت بیشتر این ژنوتیپ نسبت به FL478 باشد. از طرف دیگر کاهش در سطح بیان و فعالیت آنزیم گلوتامین‌سنتاز علاوه بر کاهش گلوتامین، به‌شدت میزان پرولین را کاهش می‌دهد (Brugière *et al*. 1999)، که تحت شرایط تنش، باعث پژمردگی برگ‌های مسن می‌گردد. پرولین به‌عنوان یک منبع کلیدی نیتروژن در سنتز متابولیت و یک عامل متعادل‌کننده اسمزی و حفاظتی ساختارسلولی در پاسخ به تنش‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند. یکی از مسیرهای سنتز پرولین شامل شکستن گلوتامین به گلوتامات و سپس تبدیل آن به گلوتامیک گاما–سمی آلدهید[3] (GSA) از طریق آنزیم پرولین ۵–کربوکسیلات (P5C) سنتتاز[4] است. سپس GSA همزمان با P5C به پرولین کاهیده می‌شوند (Hu *et al*. 1992). با توجه به این که در این مطالعه میزان پرولین در اندام‌هوایی IR29 و ریشه FL478 افزایش معنی‌داری نشان داد، ارتباط افزایش آن با اسیدهای‌آمینه گلوتامین یا گلوتامات تأیید می‌گردد. تجمع آرام پرولین در نتیجه افزایش سنتز و کاهش تجزیه آن در شرایط تنش‌های غیرزنده در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Ashraf and Foolad. 2007; Çiçek and Çakırlar. 2008; Kumar *et al*. 2010; Widodo *et al*. 2009). مسیر دیگر سنتز پرولین در گیاهان تبدیل آرژنین و اورنتین به GSA از طریق آنزیم اورنیتین آلفا–آمینوترانسفراز[5] و سپس تبدیل آن به پرولین از طریق P5C ردوکتاز[6] است (Adams and Frank. 1980). میزان آرژنین در اندام‌هوایی ژنوتیپ IR29 بیشتر از FL478 افزایش نشان داده است اما در ریشه این تغییرات معنی‌دار نبود. عدم‌تغییر در میزان گلوتامین و آرژنین در ریشه FL478 به‌عنوان ژنوتیپ مقاوم ممکن است به‌علت عدم‌تغییر در فعالیت آنزیم‌های تولیدکننده آن‌ها و یا افزایش فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز پرولین و مصرف این اسیدهای‌آمینه به‌عنوان حدواسط، برای افزایش پرولین در ریشه باشد. علت دیگر افزایش مقدار پرولین در ریشه FL478 ممکن است انتقال پرولین تولیدشده در اندام‌هوایی به سمت ریشه باشد. در این صورت عدم‌تغییر مقدار پرولین در اندام‌هوایی FL478 به‌عنوان ژنوتیپ متحمل، توجیه می‌گردد. افزایش پرولین به‌عنوان یک اسموپروتکتانت در ریشه، با ایجاد تعادل سلولی و تنظیم اسمزی، مانع ورود نمک از ریشه به گیاه می‌شود. همچنین انتقال

1. Asparagine synthetase
2. Glutamine synthase
3. Glutamic γ-semialdehyde
4. Pyrroline 5-carboxylate synthetase
5. Ornithine α-aminotransferase
6. P5C reductase

پرولین به ریشه با افزایش فعالیت انتقال‌دهنده‌های پرولین تحت شرایط تنش (Ueda *et al*. 2001; Ueda *et al*. 2008)، برای حفظ و ادامه رشد ریشه، قابل بررسی می‌باشد (Sharma *et al*. 2011). زمانی که میزان گلوتامات افزایش می‌یابد، افزایش میزان آلانین (Ala) را در پی خواهد داشت (Good and Zaplachinski. 1994) که مقدار این دو اسیدآمینه در ریشه FL478 افزایش یافت.

میزان ایزولوسین، والین، فنیل‌آلانین، تیروزین و گلایسین، در اندام‌هوایی IR29 به‌عنوان ژنوتیپ حساس افزایش یافتند (جدول ۲) که با نتایج تحقیقات دیگر در برنج (Ishikawa *et al*. 2010; Jacobs *et al*. 2007)، جو (Widodo *et al*. 2009) و آرابیدوپسیس (Kempa *et al*. 2008) مطابقت دارد، اما در ریشه تغییر معنی‌داری مشاهده نگردید. سرین فقط در ریشه این ژنوتیپ‌ها افزایش نشان داد و در اندام‌هوایی تغییری مشاهده نشد. والین و ایزولوسین تحت شرایط تنش به‌عنوان فرم ذخیره‌ای پیروات[1] عمل می‌کنند (Kim *etal*. 2007; Lehmann *et al*. 2012). پیروات انرژی لازم برای سلول‌های زنده را (از طریق شکستن مولکول‌های گلوکز) فراهم می‌کند. بنابراین افزایش در مقدار این‌گونه اسیدهای‌آمینه می‌تواند نشان‌دهنده افزایش پیروات برای فراهم‌کردن انرژی لازم در دفاع از شرایط تنش باشد. فنیل‌آلانین از طریق آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز[2] به‌عنوان اولین آنزیم در مسیر بیوشیمیایی فنیل پروپانوئید[3]، مشتقات فنیل پروپانوئید (مثل فلاونوئید[4]) را تولید می‌کنند (Nishiyama *et al*. 2010). این ترکیبات در محافظت از گیاه در شرایط تنش‌های زنده و غیرزنده نقش عمده‌ای دارند (Hemm *et al*. 2004; Janz *et al*. 2010). با توجه به این که احتمال بیان آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیاز (Gao *et al*. 2012; Kempa *et al*. 2008) و بسیاری دیگر از ژن‌های درگیر در تولید فلاونوئید (Walia *et al*. 2005) در اثر تنش‌های غیرزنده افزایش می‌یابد، افزایش فنیل‌آلانین ممکن است برای ایجاد زمینه دفاعی در گیاهان تحت تنش ضروری باشد. گلایسین بتائین که یک اسمولیت آلی مهم در بسیاری از گونه‌های گیاهی است، در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابد و نقش مهمی در بهبود وضعیت گیاه در این شرایط دارد (Ashraf and Foolad. 2007). این ماده پیش‌ساز اسیدآمینه گلایسین می‌باشد و تغییر در شرایط سنتز آن ممکن است سنتز گلایسین را تحت تأثیر قرار دهد و به این ترتیب افزایش آن باعث افزایش میزان گلایسین گردد. از آنجایی که سرین یکی از پیش ماده‌های تولید گلایسین می‌باشد، عدم‌تغییر سرین در اندام‌هوایی ممکن است به‌دلیل مصرف آن در تولید گلایسین در اندام‌هوایی باشد. گلایسین همراه سرین نقش مهمی در متابولیسم کربن-۱[5] (واکنش‌های انتقال C1) دارند (Hanson and Roje. 2001) اما نقش این متابولیسم در سازگاری با محیط هنوز شناخته نشده است (Kim *et al*. 2007). اسیدآمینه GABA در اندام‌هوایی IR29 و تریئونین، لیزین و هیستیدین در اندام‌هوایی هر دو ژنوتیپ افزایش معنی دار داشت. مقدار GABA، اسیدآمینه غیرپروتئینی، که از گلوتامین (که در شرایط تنش افزایش می‌یابد) و گلوتامات سنتز می‌شود، در ژنوتیپ IR29 افزایش معنی‌داری نشان داده است، به‌طوری‌که تولید GABA در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت (Renault *et al*. 2010). این متابولیت می‌تواند به عنوان یک نشانگر پیری و آسیب به سلول در شرایط تنش عمل کند (Ansari and Chen. 2009)، بنابراین افزایش آن در ژنوتیپ IR29 نسبت به

1. Pyruvate
2. Phenylalanine Ammonia Lyase
3. Phenylpropanoid pathway
4. Flavonoid
5. One-Carbon metabolism

ژنوتیپ FL478 تأییدی بر حساس‌بودن IR29 است. اسیدآمینه هیستیدین در تولید آلفا-کتوگلوتارات[1] که دارای خاصیت سم‌زدایی برای رادیکال‌های آزاد اکسیژن[2] (ROS) محسوب می‌شوند، نقش مهمی ایفا می‌کند (Lemire *et al*. 2010). افزایش معنی‌دار چنین اسیدهای‌آمینه در اندام‌هوایی IR29 ممکن است به دلیل پاسخ به سازگاری این ژنوتیپ به شوری نباشد بلکه بیشتر به‌عنوان یک نشانگر برای صدمات سلولی عمل کند (de Lacerda *et al*. 2003; Lutts *et al*. 1999; Widodo *et al*. 2009).

اثر تنش شوری بر قندها و قند-الکل‌ها

قندهای محلول که به‌عنوان مولکول‌های علامت‌دهنده در شرایط تنش‌ها عمل می‌کنند، در این مطالعه در ریشه و اندام‌هوایی گیاه برنج تحت شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفتند (جدول۳). مقدار این قندها شامل گلوکز، فروکتوز و ساکاروز در اندام‌هوایی هر دو ژنوتیپ افزایش معنی‌داری نشان دادند. به‌علاوه در ریشه IR29 گلوکز و فروکتوز و در FL478 ساکاروز افزایش معنی‌داری داشتند. برخی محققان مقدار قند بیشتری در ژنوتیپ متحمل نسبت به ژنوتیپ حساس گزارش کرده‌اند (Cha-um *et al*. 2009). اما در این مطالعه، افزایش مقدار قندها در ژنوتیپ حساس (IR29) بیش از ژنوتیپ متحمل (FL478) بود که با تحقیقات دیگر مطابقت دارد (Pattanagul and Thitisaksakul. 2008; Siringam *et al*. 2011)، اما مقدار این قندها در هر دو شرایط تنش و کنترل در ژنوتیپ متحمل بیشتر از ژنوتیپ حساس مشاهده گردید، به‌طوری‌که در برخی موارد تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها وجود داشت. مطالعات نشان می‌دهد که بیان بسیاری از پروتئین‌ها و ژن‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در برنج تحت اثر تنش‌هایی مانند شوری و خشکی افزایش می‌یابند (Li *etal*. 2010; Shu *et al*. 2011; Zhou *et al*. 2011). بنابراین افزایش این قندها به‌عنوان یک اسموپروتکتانت[3] پتانسیل مطلوبی بین سلول و محیط اطرافش ایجاد می‌کند.

مقدار ساکاروز در ریشه ژنوتیپ حساس IR29 ثابت باقی ماند درحالی‌که در ژنوتیپ متحمل FL478 افزایش یافت. اما میزان ساکاروز در اندام‌هوایی در FL478 و IR29 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان ساکاروز تولیدشده در ریشه و اندام‌هوایی FL478 تحت تنش به‌طور معنی‌داری بیشتر از IR29 بود. با توجه به این که هرچه

1. α-ketoglutarate
2. Reactive oxygen species
3. Osmoprotectant

جدول ۳- مقایسه میانگین مقدار قند و قند- الکل‌ها (واحد میکرو مول/گرم وزن‌خشک) در اندام‌هوایی و ریشه ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط کنترل و شوری به همراه انحراف استاندارد (SE) با آزمون دانکن

Sugars and Sugar-alcohols	Shoot				Root			
	IR29		FL478		IR29		FL478	
	Control (0 mM)	Salt stress (100mM)	Control (0 mM)	Salt stress (100 mM)	Control (0 mM)	Salt stress (100 mM)	Control (0 mM)	Salt stress (100 mM)
Glucose	$8.98^{c} \pm 1.74$	$25.54^{b} \pm 3.14$	$18.35^{b} \pm 1.11$	$39.57^{a} \pm 3.47$	$16.30^{c} \pm 0.90$	$35.99^{a} \pm 0.69$	$25.30^{b} \pm 3.56$	$33.62^{ab} \pm 3.66$
Fructose	$5.98^{c} \pm 1.38$	$22.511^{b} \pm 2.96$	$19.98^{b} \pm 1.42$	$35.27^{a} \pm 2.86$	$17.60^{b} \pm 1.30$	$35.33^{a} \pm 0.44$	$39.83^{a} \pm 7.86$	$43.05^{a} \pm 5.24$
Sucrose	$41.29^{c} \pm 5.17$	$221.97^{ab} \pm 14.27$	$210.34^{b} \pm 49.42$	$304.02^{a} \pm 18.60$	$10.49^{c} \pm 3.45$	$16.98^{bc} \pm 1.23$	$25.72^{b} \pm 5.55$	$68.97^{a} \pm 1.81$
Inositol	$1139.84^{a} \pm 141.41$	$882.26^{a} \pm 33.92$	$1251.38^{b} \pm 149.76$	$891.31^{a} \pm 117.14$	$286.69^{bc} \pm 35.79$	$240.51^{c} \pm 5.23$	$388.21^{ab} \pm 20.06$	$452.84^{a} \pm 71.63$
Eritritol	$3096.50^{a} \pm 129.64$	$131.43^{c} \pm 52.02$	$136.72^{c} \pm 38.82$	$823.56^{b} \pm 39.89$	$129.56^{a} \pm 7.84$	$24.54^{b} \pm 1.50$	$18.19^{b} \pm 4.56$	$19.06^{b} \pm 3.14$
Sorbitol	$200.33^{b} \pm 45.69$	$435.36^{a} \pm 43.60$	$269.73^{b} \pm 9.27$	$276.27^{b} \pm 0.10$	$132.09^{b} \pm 9.62$	$262.02^{a} \pm 4.14$	$266.16^{a} \pm 39.90$	$285.73^{a} \pm 24.36$

اختلاف حروف در هر سطر (شامل ژنوتیپ ها و تیمار ها) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

حساسیت گیاه به شوری بیشتر باشد، فعالیت اغلب ژن‌های انتقال‌دهنده ساکاروز[1] در پاسخ به تنش کاهش می‌یابند (Cao *et al*. 2011; Ibraheem *et al*. 2011; Siahpoosh *et al*. 2012)، بنابراین مقدار ساکاروز علاوه بر این که در اندام‌هوایی گیاهان FL478 تحت تنش بیشتر از IR29 است، در ریشه نیز به خاطر فراهم‌شدن ظرفیت انتقال (Boldt *et al*. 2011)، افزایش می‌یابد. دلیل دیگر افزایش میزان ساکاروز در ریشه FL478 ممکن است ترکیب شدن گلوکز و فروکتوزهای موجود در آن باشد، به‌طوری‌که مقدار گلوکز و فروکتوز علی‌رغم افزایش در اندام‌هوایی، در ریشه تحت تنش ثابت ماند. یکی از دلایل افزایش در مقدار گلوکز علاوه بر ایجاد پتانسیل اسمزی، ممکن است تامین انرژی بیشتر برای سنتز پیروات باشد که به‌عنوان پیش‌ماده اسیدهای آمینه والین و ایزولوسین محسوب می‌شود که ارتباط آن‌ها با افزایش این اسیدهای‌آمینه در مطالعه انجام‌شده تأیید می‌گردد.

همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده است، تحت شرایط شوری مقدار اریتریتول در اندام‌هوایی FL478 افزایش معنی‌داری داشت درحالی‌که در IR29 کاهش معنی‌داری نشان داد. افزایش این متابولیت در FL478 نشان‌دهنده افزایش تحمل این ژنوتیپ در مقابل تنش شوری است. همچنین مقدار اریتریتول در ریشه IR29 نیز کاهش یافت اما در FL478 بدون‌تغییر باقی ماند. مقدار سوربیتول در ریشه و برگ IR29 افزایش معنی‌دار نشان داد اما در FL478 تغییری مشاهده نشد. سوربیتول یک محصول از فتوسنتز است که از طریق انتقال‌دهنده‌های سوربیتول[2] از برگ‌ها به ریشه منتقل می‌شود که ژن کدکننده این پروتئین‌ها تحت شرایط تنش‌های غیرزنده افزایش بیان می‌یابد (Hu *et al*. 2006). قند–الکل‌ها که از اجزای مهم در تنظیم مسیرهای متابولیکی محسوب می‌شوند، به‌عنوان اسمولیت برای حفظ تعادل آب یا اسموپروتکتانت برای پیشبرد بسیاری از پروسه‌های سلولی، نقش مهمی در گیاه تحت استرس‌های محیطی ایفا می‌کنند (Majumder *et al*. 2010) که در بسیاری از تحقیقات به‌خصوص در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری افزایش یافته‌اند (Widodo *et al*. 2009; Zhang *et al*. 2011) قندها و قند–الکل‌ها فراورده‌های مسیر گلیکولیز[3] هستند که نقش مهمی در تولید انرژی برای سلول ایفا می‌کند.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان می‌دهد که تنوع قابل ملاحظه‌ای بین دو ژنوتیپ برنج از لحاظ تحمل به شوری وجود دارد. بالابودن نسبت K^+/Na^+ در اندام‌هوایی FL478 در شرایط تنش حاکی از تحمل بیشتر این ژنوتیپ نسبت به IR29 است و عدم‌تغییر در وزن‌خشک آن می‌تواند تأییدی بر این نتیجه باشد، بنابراین گیاه با تنظیم این نسبت در شرایط تنش می‌تواند ظرفیت فتوسنتزی و متابولیسم سلول را در گیاه کنترل کند. گیاه همچنین می‌تواند تحمل خود را به شرایط تنش با تولید و تغییر در مقدار موادی مثل قندها و قند–الکل‌ها که پتانسیل‌اسمزی را در سلول‌ها تغییر می‌دهند، کنترل کند که علاوه بر تولید انرژی، به‌عنوان مولکول‌های علامت‌دهنده عمل می‌کنند. بنابراین گیاه FL478 در مقایسه با IR29 در شرایط تنش با افزایش بیشتر در کربوهیدرات‌ها، امکان دسترسی به منابع کربن را برای رشد بیشتر خود فراهم می‌کند. به‌علاوه افزایش معنی‌دار بسیاری از اسیدهای‌آمینه در IR29 به‌نظر می‌آید نه تنها پاسخی به سازگاری با شرایط شوری نیست، بلکه نشان‌دهنده صدمات سلول می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از مطالعات فیزیولوژیکی و متابولیکی دو ژنوتیپ حساس و متحمل به شوری در برنج، می‌توان نتیجه‌گیری

1. Sucrose transporter
2. Sorbitol transporter
3. Glycolysis pathway

کرد که تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه متابولیت‌های موجود در شبکه متابولیکی، با تنظیم بسیاری از عملکردهای سلولی و دفع بسیاری از مواد و یون‌های سمی حاصل از تنش، مرتبط هستند و این واکنش‌ها در ارقام مختلف ممکن است متفاوت باشد.

سپاسگزاری

از مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی کرج و همچنین مؤسسه تحقیقات IPK (آلمان)، بخش فیزیولوژی مولکولی برای فراهم‌آوردن امکانات لازم جهت تحقیقات متابولومیکس، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Abbasi A-R, Saur A, Hennig P, Tschiersch H, Hajirezaei M, Hofius D, Sonnewald UWE, Voll LM (2009) Tocopherol deficiency in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants leads to accelerated senescence. Plant Cell Environ. 32: 144-157.

Abd El-Samad HM, Shaddad MAK, Barakat N (2011) Improvement of plants salt tolerance by exogenous application of amino acids. J. Med. Plant Res. 5: 5692-5699.

Adams E, Frank L (1980) Metabolism of Proline and the Hydroxyprolines. Annu. Rev. Biochem. 49: 1005-1061.

Alcázar R, Planas J, Saxena T, Zarza X, Bortolotti C, Cuevas J, Bitrián M, Tiburcio AF, Altabella T (2010) Putrescine accumulation confers drought tolerance in transgenic Arabidopsis plants overexpressing the homologous Arginine decarboxylase 2 gene. Plant Physiol. Biochem. 48: 547-552.

Ansari MI, Chen SCG (2009) Biochemical characterization of gamma-aminobutyric acid (GABA):pyruvate transaminase during rice leaf senescence. Int. Rev. Integr. Biol. 6: 27-32.

Asch F, Dingkuhn M, Dörffling K, Miezan K (2000) Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. Euphytica. 113: 109-118.

Ashraf M, Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environ. Exp. Bot. 59: 206-216.

Boldt K, Pörs Y, Haupt B, Bitterlich M, Kühn C, Grimm B, Franken P (2011) Photochemical processes, carbon assimilation and RNA accumulation of sucrose transporter genes in tomato *Arbuscular mycorrhiza*. J. Plant Physiol. 168: 1256-1263.

Brugière N, Dubois F, Limami AM, Lelandais M, Roux Y, Sangwan RS, Hirel B (1999) Glutamine Synthetase in the Phloem Plays a Major Role in Controlling Proline Production. Plant Cell Online. 11: 1995-2012.

Cai H, Zhou Y, Xiao J, Li X, Zhang Q, Lian X (2009) Overexpressed glutamine synthetase gene modifies nitrogen metabolism and abiotic stress responses in rice. Plant Cell Rep. 28: 527-537.

Cao H, Guo S, Xu Y, Jiang K, Jones AM, Chong K (2011) Reduced expression of a gene encoding a Golgi localized monosaccharide transporter (OsGMST1) confers hypersensitivity to salt in rice (*Oryza sativa*). J. Exp. Bot. 62: 4595-4604.

Cha-um S, Charoenpanich A, Roytrakul S, Kirdmanee C (2009) Sugar accumulation, photosynthesis and growth of two indica rice varieties in response to salt stress. Acta Physiol. Plant. 31: 477-486.

Chan Z, Grumet R, Loescher W (2011) Global gene expression analysis of transgenic, mannitol-producing, and salt-tolerant *Arabidopsis thaliana* indicates widespread changes in abiotic and biotic stress-related genes.

J. Exp. Bot. 62: 4787-4803.

Chao DY, Luo YH, Shi M, Luo D, Lin HX (2005) Salt-responsive genes in rice revealed by cDNA microarray analysis. Cell Res. 15: 796-810.

Çiçek N, Çakırlar H (2008) Effects of Salt Stress on Some Physiological and Photosynthetic Parameters at Three Different Temperatures in Six Soya Bean (*Glycine max* L. Merr.) Cultivars. J. Agron. Crop Sci. 194: 34-46.

Cuin T, Shabala S (2007) Amino acids regulate salinity-induced potassium efflux in barley root epidermis. Planta. 225: 753-761.

De Lacerda CF, Cambraia J, Oliva MA, Ruiz HA, Prisco JTn (2003) Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. Environ. Exp. Bot. 49: 107-120.

Dooki AD, Mayer-Posner FJ, Askari H, Zaiee A-a, Salekdeh GH (2006) Proteomic responses of rice young panicles to salinity. Proteomics. 6: 6498-6507.

Eckardt NA (2000) Sequencing the Rice Genome. Plant Cell Online. 12: 2011-2017.

Fumagalli E, Baldoni E, Abbruscato P, Piffanelli P, Genga A, Lamanna R, Consonni R (2009) NMR Techniques Coupled with Multivariate Statistical Analysis: Tools to Analyse *Oryza sativa* Metabolic Content under Stress Conditions. J. Agron. Crop Sci. 195: 77-88.

Gao J, Zhang S, Cai F, Zheng X, Lin N, Qin X, Ou Y, Gu X, Zhu X, Xu Y, Chen F (2012) Characterization, and expression profile of a phenylalanine ammonia lyase gene from *Jatropha curcas* L. Mol. Biol. Rep. 39: 3443-3452.

Good AG, Zaplachinski ST (1994) The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. Physiol. Plant. 90: 9-14.

Greenway H, Munns R (1980) Mechanisms of Salt Tolerance in Nonhalophytes. Ann. Rev. Plant Physiol. 31: 149-190.

Hanson AD, Roje S (2001) One-Carbon Metabolism In Higher Plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52: 119-137.

Hemm MR, Rider SD, Ogas J, Murry DJ, Chapple C (2004) Light induces phenylpropanoid metabolism in Arabidopsis roots. Plant J. 38: 765-778.

Hoshida H, Tanaka Y, Hibino T, Hayashi Y, Tanaka A, Takabe T, Takabe T (2000) Enhanced tolerance to salt stress in transgenic rice that overexpresses chloroplast glutamine synthetase. Plant Mol. Biol. 43: 103-111.

Hu CA, Delauney AJ, Verma DP (1992) A bifunctional enzyme (delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants. Proc. National Acad. Sci. 89: 9354-9358.

Hu H, Dai M, Yao J, Xiao B, Li X, Zhang Q, Xiong L (2006) Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. Proc. National Acad. Sci. 103: 12987-12992.

Ibraheem O, Dealtry G, Roux S, Bradley G (2011) The Effect of Drought and Salinity on the Expressional Levels of Sucrose Transporters in Rice ('*Oryza sativa*' Nipponbare) Cultivar Plants. Plant Omics. 4: 68-74.

Ishikawa T, Takahara K, Hirabayashi T, Matsumura H, Fujisawa S, Terauchi R, Uchimiya H, Kawai-Yamada M (2010) Metabolome Analysis of Response to Oxidative Stress in Rice Suspension Cells Overexpressing Cell Death Suppressor Bax Inhibitor-1. Plant Cell Physiol. 51: 9-20.

Jacobs A, Lunde C, Bacic A, Tester M,

Roessner U (2007) The impact of constitutive heterologous expression of a moss Na^+ transporter on the metabolomes of rice and barley. Metabolomics. 3: 307-317.

Janz D, Behnke K, Schnitzler J-P, Kanawati B, Schmitt-Kopplin P, Polle A (2010) Pathway analysis of the transcriptome and metabolome of salt sensitive and tolerant poplar species reveals evolutionary adaption of stress tolerance mechanisms. BMC Plant Biol. 10: 150.

Kawasaki S, Borchert C, Deyholos M, Wang H, Brazille S, Kawai K, Galbraith D, Bohnert HJ (2001) Gene Expression Profiles during the Initial Phase of Salt Stress in Rice. Plant Cell Online. 13: 889-906.

Kempa S, Krasensky J, Dal Santo S, Kopka J, Jonak C (2008) A Central Role of Abscisic Acid in Stress-Regulated Carbohydrate Metabolism. PLoS ONE. 3: e3935.

Khan M, Panda S (2008) Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. Act. Physiol. Plant. 30: 81-89.

Kim JK, Bamba T, Harada K, Fukusaki E, Kobayashi A (2007) Time-course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment. J. Exp. Bot. 58: 415-424.

Kovács Z, Simon-Sarkadi L, Sovány C, Kirsch K, Galiba G, Kocsy G (2011) Differential effects of cold acclimation and abscisic acid on free amino acid composition in wheat. Plant Sci. 180: 61-68.

Kumar V, Shriram V, Kavi Kishor P, Jawali N, Shitole M (2010) Enhanced proline accumulation and salt stress tolerance of transgenic indica rice by overexpressing P5CSF129A gene. Plant Biotechnol. Rep. 4: 37-48.

Kusano T, Berberich T, Tateda C, Takahashi Y (2008) Polyamines: essential factors for growth and survival. Planta. 228: 367-381.

Lehmann M, Laxa M, Sweetlove L, Fernie A, Obata T (2012) Metabolic recovery of *Arabidopsis thaliana* roots following cessation of oxidative stress. Metabolomics. 8: 143-153.

Lemire J, Milandu Y, Auger C, Bignucolo A, Appanna VP, Appanna VD (2010) Histidine is a source of the antioxidant, α-ketoglutarate, in Pseudomonas fluorescens challenged by oxidative stress. FEMS Microbiol. Lett. 309: 170-177.

Lemoine R (2000) Sucrose transporters in plants: update on function and structure. BBA Biomembranes. 1465: 246-262.

Li X-J, Yang M-F, Chen H, Qu L-Q, Chen F, Shen S-H (2010) Abscisic acid pretreatment enhances salt tolerance of rice seedlings: Proteomic evidence. BBA Proteins and Proteomics. 1804: 929-940.

Liu HUA, Wang Q, Yu M, Zhang Y, Wu Y, Zhang H (2008) Transgenic salt-tolerant sugar beet (*Beta vulgaris* L.) constitutively expressing an *Arabidopsis thaliana* vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene, AtNHX3, accumulates more soluble sugar but less salt in storage roots. Plant Cell Environ. 31: 1325-1334.

Lutts S, Majerus V, Kinet JM (1999) NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. Physiol. Plant. 105: 450-458.

Majumder AL, Sengupta S, Goswami L (2010) Osmolyte Regulation in Abiotic Stress Adaptation in Plants. In: Pareek A, Sopory SK, Bohnert HJ (eds). Springer Netherlands, pp 349-370.

Moradi F, Ismail AM (2007) Responses of Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence and ROS-Scavenging Systems to Salt Stress During Seedling and Reproductive Stages in Rice. Ann. Bot. 99: 1161-1173.

Munns R, Tester M (2008) Mechanisms

of Salinity Tolerance. Ann. Rev. Plant Biol. 59: 651-681.

Murillo-Amador B, Troyo-Diéguez E, García-Hernández JL, López-Aguilar R, Ávila-Serrano NY, Zamora-Salgado S, Rueda-Puente EO, Kaya C (2006) Effect of NaCl salinity in the genotypic variation of cowpea (*Vigna unguiculata*) during early vegetative growth. Sci. Hort. 108: 423-431.

Nishiyama Y, Yun C-S, Matsuda F, Sasaki T, Saito K, Tozawa Y (2010) Expression of bacterial tyrosine ammonia-lyase creates a novel p -coumaric acid pathway in the biosynthesis of phenylpropanoids in Arabidopsis. Planta. 232: 209-218.

Pattanagul W, Thitisaksakul M (2008) Effect of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance. Indian J. Exp. Biol. 46: 736-742.

Rai VK, Sharma UD (1991) Amino acids can modulate ABA induced tomatal closure, stomatal resistance and K^+ fluxes in *Vicia faba* leaves. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 66: 393-405.

Ray S, Dansana P, Giri J, Deveshwar P, Arora R, Agarwal P, Khurana J, Kapoor S, Tyagi A (2011) Modulation of transcription factor and metabolic pathway genes in response to water-deficit stress in rice. Func. Integr. Genomics. 11: 157-178.

Renault H, Roussel V, El Amrani A, Arzel M, Renault D, Bouchereau A, Deleu C (2010) The Arabidopsis pop2-1 mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance. BMC Plant Biol. 10: 20.

Rolletschek H, Hajirezaei M-R, Wobus U, Weber H (2002) Antisense-inhibition of ADP-glucose pyrophosphorylase in *Vicia narbonensis* seeds increases soluble sugars and leads to higher water and nitrogen uptake. Planta. 214: 954-964.

Sakr M, El-Sarkassy N, Fuller M (2012) Osmoregulators proline and glycine betaine counteract salinity stress in canola. Agron. Sustain. Dev.: 1-8.

Schneider S, Schneidereit A, Konrad KR, Hajirezaei M-R, Gramann M, Hedrich R, Sauer N (2006) Arabidopsis INOSITOL TRANSPORTER4 Mediates High-Affinity H^+ Symport of Myoinositol across the Plasma Membrane. Plant Physiol. 141: 565-577

Sharma S, Villamor JG, Verslues PE (2011) Essential Role of Tissue-Specific Proline Synthesis and Catabolism in Growth and Redox Balance at Low Water Potential. Plant Physiol. 157: 292-304.

Shu L, Lou Q, Ma C, Ding W, Zhou J, Wu J, Feng F, Lu X, Luo L, Xu G, Mei H (2011) Genetic, proteomic and metabolic analysis of the regulation of energy storage in rice seedlings in response to drought. Proteomics. 11: 4122-4138.

Shulaev V, Cortes D, Miller G, Mittler R (2008) Metabolomics for plant stress response. Physiol. Plant. 132: 199-208.

Siahpoosh MR, Sanchez DH, Schlereth A, Scofield GN, Furbank RT, van Dongen JT, Kopka J (2012) Modification of OsSUT1 gene expression modulates the salt response of rice (*Oryza sativa* cv. Taipei 309). Plant Sci. 182: 101-111.

Siringam K, Juntawong N, Cha-um S, Kirdmanee C (2011) Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L. spp. indica) roots under isoosmotic conditions. African J. Biotechnol. 10: 1340-1346.

Thakur P, Rai V (1985) Exogenously supplied amino acids and water deficits in *Zea mays* cultivars. Biol. Plant. 27: 458-461.

Thu Hoai NT, Shim IS, Kobayashi K,

Kenji U (2003) Accumulation of some nitrogen compounds in response to salt stress and their relationships with salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Plant Growth Regul. 41: 159-164.

Ueda A, Shi W, Sanmiya K, Shono M, Takabe T (2001) Functional Analysis of Salt-Inducible Proline Transporter of Barley Roots. Plant Cell Physiol. 42: 1282-1289

Ueda A, Shi W, Shimada T, Miyake H, Takabe T (2008) Altered expression of barley proline transporter causes different growth responses in Arabidopsis. Planta 227: 277-286.

Walia H, Wilson C, Condamine P, Liu X, Ismail AM, Zeng L, Wanamaker SI, Mandal J, Xu J, Cui X, Close TJ (2005) Comparative Transcriptional Profiling of Two Contrasting Rice Genotypes under Salinity Stress during the Vegetative Growth Stage. Plant Physiol. 139: 822-835.

Wang H, Liu D, Sun J, Zhang A (2005) Asparagine synthetase gene TaASN1 from wheat is up-regulated by salt stress, osmotic stress and ABA. J. Plant Physiol. 162: 81-89.

Widodo, Patterson JH, Newbigin E, Tester M, Bacic A, Roessner U (2009) Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. J. Exp. Bot. 60: 4089-4103.

Williams LE, Lemoine R, Sauer N (2000) Sugar transporters in higher plants – a diversity of roles and complex regulation. Trends Plant Sci. 5: 283-290.

Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, Imai A, Takahashi T, Michael AJ, Kusano T (2007) A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 352: 486-490.

Yoshida SF, Lock J, Gomez K (1976) A laboratory manual for the physiological studies of rice. IRRI, Manila: 54.

Zhang J, Zhang Y, Du Y, Chen S, Tang H (2011) Dynamic Metabonomic Responses of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Plants to Salt Stress. J. Proteome Res. 10: 1904-1914

Zhou L, Bokhari SA, Dong C-J, Liu J-Y (2011) Comparative Proteomics Analysis of the Root Apoplasts of Rice Seedlings in Response to Hydrogen Peroxide. PLoS ONE. 6: e16723.

Zhu J-K (2003) Regulation of ion homeostasis under salt stress. Curr. Opin. Plant Biol. 6: 441-445.