پاسخ برخی از متابولیت‌های اولیه ریشه برنج (*Oryza sativa* L.) به تنش شوری

مژده اکبرزاده للکامی[۱]، محمدهادی پهلوانی[۲]، خلیل زینلی‌نژاد[۳]، کیوان مهدوی ماشکی[۴]، آندریاس پی.ام وبر[۵] و دومینیک بریل‌هاوس[۶]

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (نویسنده مسوول: m.akbarzade67@yahoo.com)
۲ و ۳- دانشیار و استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۴- استادیار پژوهش موسسه تحقیقات برنج کشور، معاونت مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آمل، ایران
۵ و ۶- استاد و استادیار دانشگاه HHU، دوسلدورف، آلمان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۱
صفحه: ۲۱۰ تا ۲۱۷

چکیده

به‌منظور بررسی واکنش‌های متابولیکی ریشه برنج به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار در شرایط گلخانه اجرا شد که طی آن دو ژنوتیپ متحمل CSR28 و ژنوتیپ حساس IR28 در دو سطح شوری صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار و دو زمان نمونه‌برداری ٦ و ٥٤ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع در پاسخ به شوری ۳٦ متابولیت اولیه (شامل ۱۸ اسیدآمینه، پنج قند و قند-الکل و ۱۳ اسید آلی) در ریشه با استفاده از آنالیز GC-MS شناسایی شدند. اسیدهای‌آمینه بیشترین تجمع را در پاسخ به شوری بالا نشان دادند. همچنین با افزایش مدت زمان تیمار شوری اختلاف بین ژنوتیپ‌ها افزایش یافت و ژنوتیپ متحمل CSR28 به‌طور چشمگیری تجمع بالاتر در مقدار اسیدهای‌آمینه نشان‌داد که حاکی از نقش سازوکارهای تنظیم اسمزی در القای تحمل بود. از میان قندهای شناسایی شده، رافینوز و میواینوزیتول بیشترین افزایش را مخصوصاً در زمان نمونه‌برداری ٥٤ ساعت در ژنوتیپ متحمل نشان دادند که بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها بود. به‌طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر ضرورت شناسایی و مطالعه مسیرهای متابولیکی به‌منظور درک مکانیسم‌های مولکولی تحمل به تنش شوری و در نتیجه اصلاح ارقام متحمل برنج می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: مرحله گیاهچه‌ای، اسید آمینه، قند، تنظیم اسمزی، آنالیز GC-MS

مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که بسیاری از فرایندهای رشدی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۵). برنج غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان محسوب می‌شود. سطح زیر کشت برنج در دنیا ۱۶۷ میلیون هکتار، تولید کل ۷۸۲ میلیون تن و عملکرد متوسط ۴/۶۷ تن در هکتار می‌باشد. در ایران نیز این گیاه در وسعت ۵۸۰ هزار هکتار کشت و کار می‌شود و تولید کل و عملکرد متوسط آن به‌ترتیب ۱/۹۹ میلیون تن و ۳/۴۳ تن در هکتار می‌باشد (۶). تنش شوری یکی از مخرب‌ترین تنش‌های غیر زیستی در برنج است (۲۱). شوری به‌دلایل مختلفی مانند استفاده از آب نامناسب برای آبیاری، زهکشی نامناسب زمین‌های مرطوب، وارد شدن آب دریا به زمین‌های مجاور آن و در نواحی خشک به‌دلیل بالا بودن میزان تبخیر نسبت به بارندگی افزایش می‌یابد. در شرایط تنش شوری مسمومیت یونی (در اثر وجود یون‌هایی مثل سدیم و کلر)، تنش اسمزی و سوء تغذیه (در اثر کم شدن جذب فسفر، پتاسیم، نیترات و کلسیم) رشد گیاه را محدود نموده و باعث برهم‌خوردن تعادل متابولیکی سلول و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (۳۴). برنج با آستانه تحمل ۳ دسی‌زیمنس بر متر (dsm^{-1}) یکی از گیاهان بسیار حساس به شوری محسوب می‌شود. این گیاه در مراحل جوانه‌زنی، پنجه‌زنی و بلوغ از تحمل نسبی به شوری برخوردار است اما در مرحله گیاهچه‌ای و فاز زایشی به شوری حساس است (۱۳). غلظت بالای نمک سلولی منجر به عدم تعادل یونی و اسمزی شده که هومئوستازی یونی و آبی گیاه را مختل کرده، منجر به آسیب متابولیک، توقف رشد و حتی مرگ می‌شود (۲۶). تنش‌های اسمزی حاصل از شوری، خشکی و سرما منجر به دهیدراته شدن سلولی می‌شود. به‌منظور جلوگیری از این امر و محافظت از پروتئین‌های سلولی، گیاهان بسیاری از ترکیبات آلی مانند اسیدهای آمینه (نظیر پرولین) و دیگر آمین‌ها (گلایسین بتائین و پلی‌آمین)، انواع قندها (به‌طور عمده فروکتوز و ساکارز)، قند-الکل‌ها، قندهای پیچیده (مانند تری‌هالوز و فروکتان) و اسیدهای آلی (نظیر اگزالات و مالات) را تولید می‌کنند (۲۷). متابولیت‌ها محصولات نهایی تنظیم‌کننده سلولی هستند. تجمع آن‌ها را می‌توان به‌عنوان پاسخ نهایی سیستم‌های زیستی به تغییرات ژنتیکی یا محیطی در نظر گرفت و در ارتباط تنگاتنگ با فنوتیپ هستند (۵). اسیدهای آمینه، قندها و قند-الکل‌ها متابولیت‌های گیاهی هستند که به‌عنوان اسمولیت در مقابل تنش شوری از گیاه محافظت می‌کنند (۳۱).

شناسایی مسیرهای تعادلی متابولیت‌های اولیه در ریشه رقم متحمل در شرایط تنش شوری و مقایسه آن با وضعیت رقم حساس از دو جنبه فیزیولوژی تنش و اصلاح ژنتیکی ارقام حائز اهمیت می‌باشد. زیرا ارتقاء اطلاعات و دانش از چنین مسیرهایی منجر به رفع موانع و محدودیت‌های فیزیولوژی تولید در شرایط تنش شوری و همچنین توسعه سطح زیر کشت برنج به مناطقی می‌گردد که با این تنش رو به رو هستند. در این مطالعه آنالیز متابولیت‌های اولیه ریشه دو ژنوتیپ برنج متحمل به شوری CSR28 (۹) و حساس IR28 (۲۹) در پاسخ به شوری بالا با استفاده از روش GC-MS مورد بررسی قرار گرفت. این آنالیز شامل تعیین مقادیر اسیدهای‌آمینه، قندها و اسیدهای آلی و ارزیابی الگوی تجمع آنها بود.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]
[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و اعمال تیمار تنش شوری

بذور دو ژنوتیپ برنج (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) با تحمل شوری متفاوت، از موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج در فیلیپین (IRRI)[1] تهیه شدند. ژنوتیپ IR28 (با شجره IR833-6-2-1-1/IR1561-149-1//IR24*4/O. nivara) به‌عنوان ژنوتیپ حساس و CSR28 (با شجره IR42/IR4630-22-2-5-1-3) به‌عنوان ژنوتیپ متحمل به‌ترتیب در IRRI و موسسه تحقیقات شوری خاک در هند (CSSRI)[2] اصلاح شدند. پس از ضدعفونی بذور با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد، به‌منظور تهیه نمونه بافت ریشه، بذور به‌مدت دو روز درون پتری‌دیش در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی جوانه‌دار شدند. سپس جهت کشت در شرایط هیدروپونیک (آبکشت)، جوانه‌ها به‌درون تشت‌های حاوی محیط کشت یوشیدا (۳۳) منتقل شدند و رشد گیاهچه‌ها در دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس و شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه Heinrich-Heine (واقع در شهر دوسلدورف کشور آلمان) انجام شد. محیط کشت هر سه روز تعویض و pH محیط با استفاده از KOH و HCl روی ۵/۵ تنظیم شد. اعمال تیمار شوری پس از ۱۴ روز در مرحله دو تا سه برگی، با استفاده از نمک کلریدسدیم ۱۵۰ میلی‌مولار انجام شد. مقدار هدایت الکتریکی برای شرایط کنترل و شوری به‌ترتیب ۱ و ۱۵ دسی‌زیمنس (dsm^{-1}) بود. نمونه‌برداری از اندام ریشه در زمان‌های ۶ و ۵۴ ساعت پس از اعمال تیمار تنش شوری صورت پذیرفت. نمونه‌ها پس از آبکشی بلافاصله در ازت مایع منجمد و سپس به فریزر منفی ۸۰ درجه سلسیوس منتقل شدند.

استخراج و اندازه‌گیری متابولیت‌ها

ابتدا نمونه‌های ریشه توسط ازت مایع پودر و سپس لیوفیلیز[3] شدند سپس مقدار ۱۰ میلی‌گرم به‌صورت مساوی از تمامی نمونه‌های لیوفیلیز شده برداشت و به‌داخل تیوب‌های دیگری که داخل ازت مایع قرار داشتند، منتقل شدند. جهت استخراج متابولیت‌ها، ابتدا بافر استخراج از آب، متانول و کلروفرم به نسبت ۱:۲/۵:۱ تهیه شد و سپس به‌ازای هر ۵۰ میلی‌لیتر محلول مادری، ۵۰ میکرولیتر ریبیتول پنج میلی‌مولار اضافه شد و در فریزر منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شد (۱۱،۲۲). به هرکدام از تیوب‌ها ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر استخراج به آن‌ها اضافه و به‌مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شده و سپس روی یخ قرار گرفتند. دو تیوب بلانک حاوی ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج تهیه شده و به‌همراه نمونه‌های اصلی به‌مدت شش دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس هم زده شدند. نمونه‌ها به‌مدت دو دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند و مقدار یک میلی‌لیتر از مایع رویی به تیوب جدید منتقل شدند سپس به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شده و مقدار ۳۰ میکرولیتر هر کدام داخل glass insert قرار گرفتند. نمونه‌ها در speed vac concentrator خشک شده و قبل از آنالیز در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس در خشکانه[4] نگهداری شدند. به‌منظور مشتق شدن[5] برای آنالیز GC-MS، ابتدا نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در speed vac concentrator قرار گرفته و سپس glass insertها به ویال‌های GC منتقل شدند. مراحل بعدی توسط نمونه‌گیر اتوماتیک Gerstel MPS 2 XL انجام شد. ابتدا ۱۰ میکرولیتر متوکسی‌آمین-هیدروکلراید (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به نمونه‌های خشک شده اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس تکان داده شدند. سپس ۹۰ میکرولیتر MSTFA[6] مجدداً به نمونه‌ها افزوده شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تکان داده شدند. قبل از تزریق، انتظار به‌مدت ۱۲۰ دقیقه طول کشید. آنالیز GC-MS توسط دستگاه GC-QTOF 7200 (Agilent) و آنالیز داده‌ها نیز توسط Mass Hunter Software (Agilent) انجام شد. به‌منظور کمی کردن نسبی، ناحیه پیک همه متابولیت‌ها بر اساس ناحیه پیک استاندارد داخلی ریبیتول که قبلاً در بافر استخراج به‌کار رفته‌بود و همچنین وزن نمونه‌ها نرمال‌سازی شدند. گروه‌بندی داده‌های متابولیت (بر اساس لگاریتم ۱۰) در نمونه‌های مختلف توسط رسم نقشه دمایی در نرم‌افزار MeV v4.9.0 انجام شد.

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های حاصل به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور ژنوتیپ (CSR28 و IR28)، تیمار (کنترل و شوری) و زمان نمونه‌برداری (۶ و ۵۴ ساعت پس از اعمال تنش شوری) با پنج تکرار تجزیه شدند. آنالیز تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار SAS v9.2 و مقایسه میانگین به‌روش دانکن با سطح احتمال $p\leq0.05$ انجام شد.

نتایج و بحث

آنالیز GC-MS، تعداد ۳۶ متابولیت اولیه شامل ۱۸ اسید آمینه، ۵ قند و قند–الکل و ۱۳ اسید آلی را در ریشه دو ژنوتیپ برنج IR28 و CSR28 در زمان‌های نمونه‌برداری ۶ و ۵۴ ساعت پس از تیمار شوری شناسایی کرد. نتایج تجزیه واریانس (جدول تجزیه واریانس نشان داده نشده است) بیانگر اختلاف معنی‌دار بین شرایط کنترل و تنش برای ۳۶ متابولیت با متوسط تنوع فنوتیپی ۱۳/۸۵ درصد بود. از متابولیت‌های شناسایی شده، ۳۳ متابولیت تفاوت معنی‌دار بین دو زمان نمونه‌برداری ۶ و ۵۴ ساعت پس از شوری نشان دادند که به‌طور متوسط ۳/۶۵ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کردند. اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در ۲۸ متابولیت معنی‌دار بود که به‌طور متوسط ۱/۷۰ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کردند. همچنین اثر متقابل اندام× زمان نمونه‌برداری× ژنوتیپ در ۲۷ متابولیت معنی‌دار بود و به‌طور متوسط ۰/۷ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کرد.

اسیدهای آمینه:

در این مطالعه تعداد ۱۸ اسیدآمینه، در زمان‌ها، ژنوتیپ‌ها و تیمارهای مختلف شناسایی شدند (جدول ۱). پس از گذشت ۶ ساعت از اعمال تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در ریشه‌های هر دو ژنوتیپ، تجمع تمامی اسیدهای‌آمینه (به استثنای پوتریسین) تغییرات معنی‌دار و افزایشی نسبت به شرایط کنترل نشان دادند. به‌طوری‌که بیشترین افزایش معنی‌داری،

1- International Rice Research Institute
2- Central Soil Salinity Research Institute
3- Lyophilized
4- Desiccator
5- Derivatization
6- N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]
[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]

مربوط به اسیدآمینه ایزولوسین در ریشه‌های CSR28 و IR28 (به‌ترتیب ۱۸/۳۹ و ۲۵/۴۳ برابر نسبت به شرایط کنترل) بود. تحت شرایط تنش ایزولوسین به‌عنوان فرم ذخیره‌ای پیرووات عمل می‌کند (۲۰،۱۹). پیرووات انرژی لازم برای سلول‌های زنده را از طریق شکستن مولکول‌های گلوکز فراهم می‌کند. بنابراین افزایش در مقدار اینگونه اسیدهای آمینه می‌تواند نشان‌دهنده افزایش پیرووات برای فراهم کردن انرژی لازم جهت مقابله با شرایط تنش باشد (۱۲). هر چند در شرایط تنش در زمان نمونه‌برداری ۶ ساعت، ژنوتیپ متحمل (CSR28) نسبت به ژنوتیپ حساس (IR28) در پنج اسیدآمینه آلفاآلانین، آسپاراژین، فنیل‌آلانین، پرولین و سرین تجمع معنی‌دار بیشتری داشت اما در مقایسه با شرایط کنترل این افزایش تنها در سه اسیدآمینه آلفاآلانین، گابا و متیونین بود. پس از ۵۴ ساعت از اعمال تیمار شوری اختلاف دو ژنوتیپ به‌طور چشمگیری افزایش یافت، به‌طوری که ژنوتیپ‌ها در ۱۶ اسیدآمینه از مجموع ۱۸ اسیدآمینه شناسایی شده اختلاف معنی‌دار نشان دادند، هرچند در مقایسه با شرایط کنترل این اختلاف در ۱۴ اسیدآمینه معنی‌دار بود. به‌طور قابل توجه، تجمع این ۱۴ اسیدآمینه در ژنوتیپ متحمل بیشتر از ژنوتیپ حساس بود. به‌طور کلی اسیدهای‌آمینه در بسیاری از گونه‌های گیاهی به‌عنوان اسمولیت عمل می‌کنند و با تنظیم اسمزی و حفظ تورژسانس سلولی از ماکرومولکول‌ها در برابر آسیب‌های حاصل از تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (۱۸،۲). تجمع بیشتر اسیدهای‌آمینه در ژنوتیپ CSR28 نسبت به IR28 در پاسخ به شوری بالا، بیانگر نقش سازوکارهای تنظیم اسمزی در القای تحمل بالاتر در ژنوتیپ متحمل بود. این نتایج با پژوهش‌های دیگر در زمینه نقش اسیدهای آمینه در القای تحمل به شوری در گیاهچه‌های ارقام متحمل برنج مطابقت داشت (۳۴،۳۰). تجمع پرولین به‌عنوان یکی از کلیدی‌ترین اسیدهای‌آمینه درگیر در القای تحمل به تنش‌های اسمزی در هر دو ژنوتیپ CSR28 و IR28 در پاسخ به شوری بالا افزایش یافت. تجمع مقادیر زیاد پرولین یک پاسخ تطبیقی از گیاهان به تنش‌های محیطی است. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت، زداینده ROSها و چاپرون مولکولی که باعث تثبیت ساختار پروتئین‌ها می‌شود، عمل می‌کند، بنابراین سلول‌ها را از آسیب در هنگام تنش محافظت می‌کند، مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و توسعه خسارت را به حداقل می‌رساند (۲۷،۸،۱۵).

تجمع آرام پرولین در نتیجه افزایش سنتز و کاهش تجزیه آن در شرایط تنش‌های غیرزنده در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (۱). در مقایسه با IR28، ژنوتیپ CSR28 افزایش دیرتر و طولانی‌تر در اسیدهای آمینه نشان داد که این نتایج با مطالعه گذشته در جو تحت تنش شوری که افزایش سطوح اسیدهای‌آمینه در رقم متحمل دیرتر از رقم حساس اتفاق افتاد، مطابقت داشت (۲۸). برخی از اسیدهای‌آمینه نظیر گابا به‌عنوان نشانگر تنش محسوب می‌شوند که ناشی از تجزیه پروتئین‌ها می‌باشد (۷،۱۰،۱۸،۳۱). به‌نظر می‌رسد تجمع این اسید آمینه در ژنوتیپ CSR28 در زمان نمونه‌برداری ۶ ساعت ناشی از درک زود هنگام تنش باشد اما با افزایش مدت زمان قرارگیری در شرایط شوری، به‌کارگیری سازوکارهای تحمل موجب کاهش تجزیه پروتئین و تجمع بیشتر آن در ژنوتیپ متحمل شد.

جدول ۱- مقایسه میانگین اسیدهای آمینه در دو ژنوتیپ متحمل و حساس برنج، تیمارها و زمان‌های نمونه‌برداری مختلف با استفاده از آزمون دانکن ($P\leq0.05$)

Table 1. Mean comparison of amino acids of the two tolerant and sensitive rice genotypes, the treatments and the time points using Duncan' test. Common letters in each row indicate non-significant differences

اسیدهای آمینه	کنترل				شوری			
	۶ ساعت		۵۴ ساعت		۶ ساعت		۵۴ ساعت	
	CSR28	IR28	CSR28	IR28	CSR28	IR28	CSR28	IR28
آلفاآلانین	۱۴۰۹/۳±۳۰/۰۴^{c}	۱۳۸۱/۳±۹۰/۴^{c}	۱۱۶۷/۲±۴۳/۹^{cd}	۱۱۶۲/۱±۳۱/۸^{cd}	۳۱۸۷/۶±۱۳۱/۱^{a}	۲۴۶۹/۹±۱۳۸/۶^{b}	۱۲۸۱/۲±۱۳۲/۵^{c}	۹۱۱/۳±۱۱/۰۹^{d}
آسپاراژین	۲۸۰۰/۹±۱۳۶/۳^{e}	۶۰۳/۳±۱۳/۳^{g}	۱۴۱۲/۴±۱۴۹/۵^{f}	۱۵۲۴/۹±۱۱۲/۳^{f}	۸۷۱۶/۶±۷۴/۸^{b}	۷۱۶۹/۱±۱۴۱/۰۸^{c}	۱۲۲۰۸/۹±۴۰۴/۲^{a}	۵۳۰۹/۱±۲۹۰/۷^{d}
آسپارتات	۹۴۵۲/۲±۱۹۵/۸^{e}	۹۸۱۴/۹±۲۴۰/۰۳^{e}	۷۰۷۲/۸±۳۰۶/۰۲^{f}	۷۶۸۳/۹±۳۰۴/۶^{f}	۱۷۴۹۹/۷±۱۹۷/۰۴^{c}	۲۲۶۷۳/۵±۵۰۲/۴۱^{a}	۱۹۶۶۷/۱±۲۱۲/۹^{b}	۱۰۸۵۳/۲±۱۷۴/۹^{d}
بتاآلانین	۷۵/۳±۳/۶^{c}	۶۲/۹±۴/۲^{c}	۳۲/۲±۱/۹^{d}	۲۶/۳±۲/۳^{d}	۲۰۲/۷±۱۵/۳^{b}	۲۵۸/۸±۸^{a}	۲۵۱/۱±۱۹/۰۵^{a}	۸۱/۵±۵/۹^{c}
گابا	۲۷۷/۰۲±۱۵/۰۸^{c}	۱۳۶۰/۴±۷۶/۹^{a}	۱۱۵۰/۵±۵۷/۳^{ab}	۲۱۸/۹±۴/۷^{c}	۱۰۴۶/۲±۱۱/۰۲^{b}	۱۲۷۵/۷±۱۸۳/۶^{ab}	۲۵۵/۸±۱۵/۵^{c}	۱۵۲/۹±۷/۵^{c}
گلایسین	۵۳۵/۳±۱۰/۴^{b}	۴۶۵/۶±۲۰/۴^{c}	۲۶۹/۹±۱۱/۳^{de}	۲۵۱/۱±۱۳/۳^{e}	۶۳۴/۵±۹/۲^{a}	۶۸۴/۲±۴۹/۲^{a}	۷۰۳/۴±۲۱/۳^{a}	۳۳۲/۱±۱۳/۰۳^{d}
گلوتامات	۱۱۶۵۱/۲±۹۲/۸^{c}	۱۱۵۹۵/۸±۳۱۳/۱^{cd}	۹۹۰۵/۹±۳۶۴/۱^{e}	۹۲۹۷/۵±۳۲۵/۰۵^{e}	۱۷۸۳۱±۱۴۳/۰۷^{b}	۱۹۶۴۲/۵±۳۷۴/۷^{a}	۱۲۲۷۴/۸±۱۹۵/۹^{c}	۱۰۸۰۰/۷±۲۱۴/۹^{d}
ایزولوسین	۶۰/۵±۲/۹۸^{e}	۵۴/۲±۲/۸^{e}	۵۲/۹±۴/۱^{e}	۸۹/۱±۵^{e}	۱۰۹۸/۵±۲۴/۱^{b}	۱۳۶۱/۸±۳۰/۴^{a}	۹۷۳/۳±۶/۵^{c}	۳۸۱/۹±۲۸/۶^{d}
لوسین	۶۹/۰۶±۳/۴^{e}	۵۸/۵±۵/۲^{e}	۴۳/۲±۳/۶^{e}	۸۲/۲±۱/۸^{e}	۸۵۴/۰۲±۹/۸^{b}	۱۳۸۲/۵±۱۳۶/۰۱^{a}	۴۱۵/۸±۲۲/۴^{c}	۲۴۷/۱±۱۰/۸^{d}
لیزین	۱۱۰/۴±۲/۱^{d}	۱۲۳/۶±۴/۶^{d}	۶۴/۵±۳/۴^{d}	۱۰۹/۶±۳/۹^{d}	۸۹۷/۱±۳۷/۶^{b}	۱۱۸۳±۴۳/۵^{a}	۱۰۲۹/۶±۱۲۶/۷^{b}	۳۱۳/۲±۷/۱^{c}
متیونین	۴۹/۲±۵/۲^{d}	۶۶/۲±۴/۹^{d}	۷۹/۲±۵/۲^{d}	۱۱۶/۶±۴/۳^{d}	۴۹۴/۶±۱۱/۱^{b}	۴۴۷/۷±۱۱/۴^{b}	۵۸۷/۱±۵۹/۸^{a}	۲۳۹/۰۴±۱۶/۱^{c}
فنیل‌آلانین	۲۴۰/۹±۱۰/۱^{e}	۱۳۷/۴±۶/۳^{f}	۱۱۱/۴±۱/۲^{f}	۱۱۱/۷±۱/۰۴^{f}	۸۱۹/۷±۱۷/۹^{b}	۶۶۰/۴±۲۰/۸^{c}	۸۹۶±۱۰/۸^{a}	۵۴۱/۰۶±۸/۷^{d}
پرولین	۴۳/۸±۲/۳^{d}	۳۶/۱±۰/۸^{d}	۴۰/۵±۰/۶^{d}	۳۴/۰۴±۲/۲^{d}	۱۹۴/۵±۱۱/۷^{b}	۱۳۷±۸/۸^{c}	۵۲۳/۶±۳۰/۳^{a}	۴۸۲/۵±۲۰/۲^{a}
پوتریسین	۲۶۱۱/۰۲±۳۳/۵^{a}	۱۶۸۹/۵±۵۱/۴^{b}	۱۵۲۶/۶±۹۲/۷^{c}	۷۷۷/۵±۳۱/۳^{d}	۱۴۴۸/۹±۳۵/۹^{c}	۱۶۶۴/۵±۱۸/۷^{b}	۸۱۸/۶±۴۳/۸^{d}	۳۳۷/۷±۱۹/۶^{e}
سرین	۲۵۸۵/۴±۲۴۴/۴^{d}	۱۲۳۲/۱±۶۱/۲^{e}	۱۷۴۶/۴±۳۳/۴^{e}	۱۴۷۵/۲±۸۹/۰۴^{e}	۱۲۱۰۴/۸±۴۹۴/۹^{a}	۱۰۵۲۱/۴±۲۰۵/۳^{b}	۱۰۳۱۵/۹±۳۴۹/۵^{b}	۵۵۶۱/۲±۲۵۲/۶^{c}
ترئونین	۳۷۹/۳±۱۸/۴^{d}	۲۲۱/۳± ۱۳/۷^{d}	۲۴۶/۸±۱۴/۴^{d}	۲۹۶/۶±۲۸/۴^{d}	۱۶۰۸/۲±۱۱۴/۶^{b}	۱۶۰۱/۱±۶۰/۳^{b}	۱۹۰۴/۹±۷۷/۵^{a}	۱۲۷۵/۵±۱۰۱/۹^{c}
تیروزین	۷۱۴/۶±۲۳/۸^{d}	۴۷۲/۷±۱۲/۰۳^{ef}	۳۸۹/۴±۱۹/۹^{f}	۴۷۶/۷±۲۱/۷^{f}	۲۰۰۴/۲±۹/۰۵^{a}	۱۵۶۶/۳±۴۳/۰۸^{b}	۱۱۲۱/۶±۶۶/۸^{c}	۵۷۰/۲±۲۹/۸^{e}
والین	۳۴۲۶۶±۱۲/۴^{e}	۲۷۲/۷±۲۴/۲^{e}	۱۸۸/۲±۱۴/۰۸^{e}	۳۵۶/۹±۲۱/۸^{e}	۱۸۷۶/۹±۲۸/۳^{c}	۲۴۳۴/۳±۳۲/۵^{a}	۲۲۲۸/۹±۱۵۴/۱^{b}	۷۹۷/۹±۳۸/۶^{d}

مقادیر بصورت میانگین (mg/g) ± خطای معیار نشان داده شده است. حروف مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار هستند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]

قندها و قند–الکل‌ها: آنالیز GC-MS منجر به شناسایی پنج قند و قند–الکل شد (جدول ۲). پس از گذشت ۶ ساعت از اعمال تنش شوری، تجمع گلیسرول و رافینوز در ریشه هر دو ژنوتیپ افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان کنترل مربوطه نشان دادند. مقدار گلوکز در ریشه رقم متحمل تغییری نشان نداد در صورتی‌که در رقم حساس افزایش یافت با افزایش مدت زمان تنش شوری، تنها میواینوزیتول و رافینوز نسبت به گیاهان کنترل در هر دو ژنوتیپ تجمع بیشتری داشتند و مقدار این تجمع در ژنوتیپ متحمل CSR28 بیشتر از ژنوتیپ حساس IR28 بود. قند فروکتوز در هر دو زمان نمونه‌برداری در پاسخ به شوری کاهش یافت. قندها علاوه بر منابع متابولیکی و نقش‌های ساختاری، به‌عنوان اسمولیت و آنتی‌اکسیدان نیز عمل می‌کنند (۱۶،۳۲). در پاسخ بـه تـنش شـوری و بـه‌منظـور جلوگیری از اثر اسمزی ناشی از نمک موجـود در محیط گیاه سنتز و تجمع قندهای محلول را افزایش می‌دهد تا پتانسیل اسـمزی خـود را کاهش دهد و جذب آب از محیط شـور ادامـه یابد (۲۵). نیشیزاوا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که قندهای گالاکتینول و رافینوز با پاک‌سازی رادیکال‌های هیدروکسیل از سلول‌های گیاهی در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند.

جدول ۲- مقایسه میانگین قندها و قند–الکل‌ها دو ژنوتیپ متحمل و حساس برنج، تیمارها و زمان‌های نمونه‌برداری مختلف با استفاده از آزمون دانکن ($P\leq0.05$)

Table 2. Mean comparison of sugars and sugar alcohols of the two tolerant and sensitive rice genotypes, the treatments and the time points using Duncan' test

قندها، قند–الکل	کنترل				شوری			
	۶ ساعت		۵۴ ساعت		۶ ساعت		۵۴ ساعت	
	CSR28	IR28	CSR28	IR28	CSR28	IR28	CSR28	IR28
گلوکز	۱۰۳۸/۵±۵/۲^{d}	۵۴۶/۱±۲۲/۷^{f}	۱۸۴۲/۵±۳۶/۸^{a}	۱۳۱۵/۸±۵۳/۱^{b}	۱۰۹۳/۱±۲۲/۲^{d}	۱۲۱۲/۳±۴۷/۹^{c}	۴۴۶/۵±۳۷/۳^{f}	۶۸۹/۳±۱۹/۴^{e}
گلیسرول	۲۰۰۰/۱±۵۳/۲^{c}	۲۳۰۴/۲±۱۲۵/۰۴^{b}	۲۴۸۷/۹±۱۰۲/۰۶^{b}	۲۳۴۴/۲±۹۶/۲^{b}	۲۲۵۷/۵±۷۱/۴^{b}	۲۷۶۵/۵۲±۳۰^{a}	۱۴۰۷/۳±۲۸/۴^{e}	۱۷۳۸/۴±۴۵/۲^{d}
فروکتوز	۶۱۹۵/۸±۲۰۱/۴^{c}	۵۳۸۹/۵±۱۶۸/۷^{d}	۱۱۰۸۶/۸±۷/۱^{b}	۱۳۰۷۵/۸±۶۵۴/۸^{a}	۴۶۲۷/۱±۱۶۱/۴^{d}	۳۱۹۵/۵±۶۵/۱^{e}	۱۰۱۶/۱±۷۶/۷^{g}	۱۹۱۶/۶±۲۷۷/۵^{f}
میواینوزیتول	۱۵۱۲/۳±۳۰/۱^{b}	۱۱۴۸/۶±۱۲/۴^{d}	۱۴۱۳/۷±۱۳/۰۵^{c}	۹۵۹/۰۸±۲۲/۸^{e}	۱۵۶۷±۱۰/۴^{b}	۱۱۶۳/۹±۸/۴^{d}	۲۵۳۹/۵±۵۸/۳^{a}	۱۱۷۹/۱±۵۷/۴^{d}
رافینوز	۱۸/۳±۰/۲^{d}	۱۵/۳±۰/۴^{d}	۶/۶±۰/۴^{d}	۸/۳±۰/۴^{d}	۳۳۲/۹±۱/۸^{b}	۴۱۳/۰۶±۱۱/۳^{a}	۲۹۳/۴±۱۳/۴^{c}	۳۳۵/۷±۱۴/۲^{b}

مقادیر بصورت میانگین (mg/g) ± خطای معیار نشان داده شده است. حروف مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار هستند.

استفاده از میواینوزیتول خارجی در *Malus hupehensis* Rehd در شرایط شوری، موجب ممانعت از آسیب‌های حاصل از تجمع نمک از طریق حمایت از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، هومئوستازی یون‌های سدیم و پتاسیم و بالانس اسمزی شد (۱۵).

اسیدهای آلی: در پژوهش حاضر ۱۳ اسید آلی در ریشه گیاه برنج تحت شرایط تنش شوری شناسایی شدند (جدول ۳). اسیدهای آلی از اجزای مهم در تنظیم مسیرهای متابولیکی محسوب می‌شوند و در بسیاری از فرایندهای حیاتی از جمله فتوسنتز درگیر هستند (۱۷). نسبت به شرایط کنترل، تجمع بیشتر اسیدهای‌آلی شناسایی شده در این تحقیق در پاسخ به شوری در هر دو زمان نمونه‌برداری کاهش نشان دادند. در مقایسه با IR28 (ژنوتیپ حساس)، در ژنوتیپ CSR28 (ژنوتیپ متحمل) تعدادی از اسیدهای‌آلی درگیر در چرخه کربس نظیر آلفا کتوگلوتارات، سوکسینات، فومارات و مالات در شرایط تنش کاهش بیشتری نسبت به گیاهان کنترل مربوطه نشان دادند. سیترات و ایزوسیترات در طول دوره تنش در هر دو ژنوتیپ افزایش یافتند، گرچه این افزایش در ژنوتیپ حساس بیشتر از ژنوتیپ متحمل بود. به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ متحمل تمایل دارد با بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش تبادل گازی و فتوسنتز از هدر رفت بیشتر آب جلوگیری کند که مکانیسم سازگاری در شرایط تنش‌های اسمزی محسوب می‌شود (۳،۳۳).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]

جدول ۳- مقایسه میانگین اسیدهای آلی دو ژنوتیپ متحمل و حساس برنج، تیمارها و زمان‌های نمونه‌برداری مختلف با استفاده از آزمون دانکن ($P\leq0.05$)

Table 3. Mean comparison of organic acids of the two tolerant and sensitive rice genotypes, the treatments and the time points using Duncan' test

اسیدهای آلی	کنترل				شوری			
	۶ ساعت		۵۴ ساعت		۶ ساعت		۵۴ ساعت	
	CSR28	IR28	CSR28	IR28	CSR28	IR28	CSR28	IR28
آلفاکتوگلوتارات	۱۷۱/۷±۴/۳^{a}	۹۱/۱±۴/^{c}	۱۰۱/۹±۰/۷^{b}	۵۷/۵±۲/۰۷^{e}	۷۹/۷±۱/۵^{a}	۴۹/۹±۱/۵^{f}	۲۹/۹±۲/۱^{g}	۳۱/۶±۱/۷^{g}
سیترات+ایزو سیترات	۴۶۱۰/۱±۱۳۰/۶^{d}	۴۸۸۵/۲±۱۰۴/۱^{d}	۸۷۰±۳۰/۶^{f}	۶۳۹/۲±۲۲/۷^{f}	۵۸۸۰/۷±۱۴۷/۲^{b}	۷۹۰۸/۶±۲۳۳/۹^{a}	۳۰۲۱/۷±۱۵۱/۳^{e}	۵۳۷۴/۱±۲۳/۷^{c}
فومارات	۲۵۷/۹±۱۰/۹^{b}	۳۲۶/۹±۴/۹^{a}	۲۸۱/۹±۲۰/۵^{b}	۲۲۸±۴/۶^{c}	۱۲۶/۲±۸/۷^{d}	۱۴۰/۷±۸/۰۳^{d}	۱۱۴/۳±۶/۸^{d}	۱۳۰/۵±۸/۶^{a}
گلیسرات	۷۳/۵±۴/۶^{b}	۶۶/۷±۶/۸^{b}	۷۱/۶±۱/۲^{b}	۷۲/۱۸±۲/۸^{b}	۸۹/۲±۲/۵^{a}	۹۱/۱±۲/۷^{a}	۸۷/۵±۲/۸^{a}	۷۴/۲±۳/۰۲^{b}
گلیکولات	۲۶۳/۳±۲۷/۷^{a}	۲۰۶/۵±۵/۸^{b}	۱۲۶/۱±۴/۹^{c}	۱۱۷/۳±۴/۳^{c}	۱۵۰/۳±۴/۵^{c}	۱۴۱/۹±۱۲/۵^{c}	۱۴۴/۷±۱۱/۶.^{c}	۶۶/۷±۴/۰۳^{d}
هیدروکسی گلوتارات	۳۳/۸±۳/۳^{d}	۴۶/۲±۱/۲^{cd}	۶۱/۹±۲/۴^{c}	۶۰/۶±۲/۷^{c}	۱۶۲/۶±۱۳/۵^{a}	۶۱/۵±۲/۱^{c}	۹۶/۰۸±۰/۳^{b}	۴۰/۱±۱/۳^{d}
ایزوسیترات	۹۶/۸±۱/۸^{bc}	۸۵/۸±۳/۹^{c}	۳۵/۵±۰/۷^{d}	۲۷/۱±۱/۸^{d}	۱۰۳/۶±۰/۵^{ab}	۱۰۷/۲±۴/۲^{ab}	۹۰/۹±۵/۳^{c}	۱۱۱/۹±۷/۶^{a}
لاکتات	۱۰۵۲/۹±۲۴/۴^{a}	۱۱۹۴/۰۸±۴۹/۳^{a}	۷۸۲/۵±۲۴/۷^{b}	۷۹۶/۳±۱۵/۴^{b}	۱۰۸۵/۲±۱۳۲/۲^{a}	۱۱۵۰/۵±۱۸۷/۰۳^{a}	۷۴۴/۹±۳۹/۶^{b}	۷۳۴/۵±۱۵/۱^{b}
مالات	۶۴۹۴/۸±۳۷/۰۶ ^{a}	۴۶۶۶/۸±۱۱۷/۴^{b}	۳۱۹۰±۹۰/۸^{d}	۲۱۲۵/۷±۵۵/۳^{e}	۳۵۱۷/۰۲±۶۶/۵^{c}	۳۵۲۶/۵±۱۰۸/۰۳^{c}	۱۱۹۵/۸±۸۶/۳^{g}	۱۷۶۸/۳±۷۴/۸^{f}
پیرووات	۷۸/۱±۲/۰۸^{a}	۶۸/۷±۵/۶^{b}	۵۴/۰۸±۱/۱^{d}	۵۶/۸±۲/۵^{cd}	۶۲/۶±۱/۱^{bcd}	۶۳/۹±۲/۸^{bc}	۳۸/۲±۱/۷^{e}	۳۳/۲±۳/۳^{e}
کوئینات	۳۷۴۰/۱±۱۳۷/۶^{a}	۱۸۳۳/۶±۵۴/۰^{a}	۲۳۹۲/۹±۱۸/۱^{c}	۱۳۵۹/۳±۵۲/۶^{e}	۲۶۹۶/۴±۱۶۰/۸^{b}	۱۶۲۰/۳±۸۷/۵^{de}	۲۴۲۲/۱±۱۰۳/۶^{c}	۹۸۲±۲۹/۵^{f}
شیکیمات	۱۳۲۱/۵±۲۵/۹^{b}	۴۵۷/۲±۳۳/۱^{g}	۸۶۸/۷±۳۵/۷^{d}	۴۰۲/۴±۱۳/۸^{g}	۱۴۸۲/۸±۳۳/۷^{a}	۶۹۹/۱±۱۵/۲^{e}	۱۱۶۷/۳±۴۳/۷^{c}	۵۷۵/۵±۳۷/۴^{f}
سوکسینات	۲۳۷/۸±۴/۷^{a}	۱۸۵/۸±۲/۲^{b}	۱۶۹/۹±۵/۴^{c}	۱۳۶/۶±۲/۶^{e}	۱۵۳/۱±۶/۲^{d}	۱۵۹/۹±۴/۸^{cd}	۹۸/۳±۱/۷^{f}	۸۷/۲±۲/۶^{f}

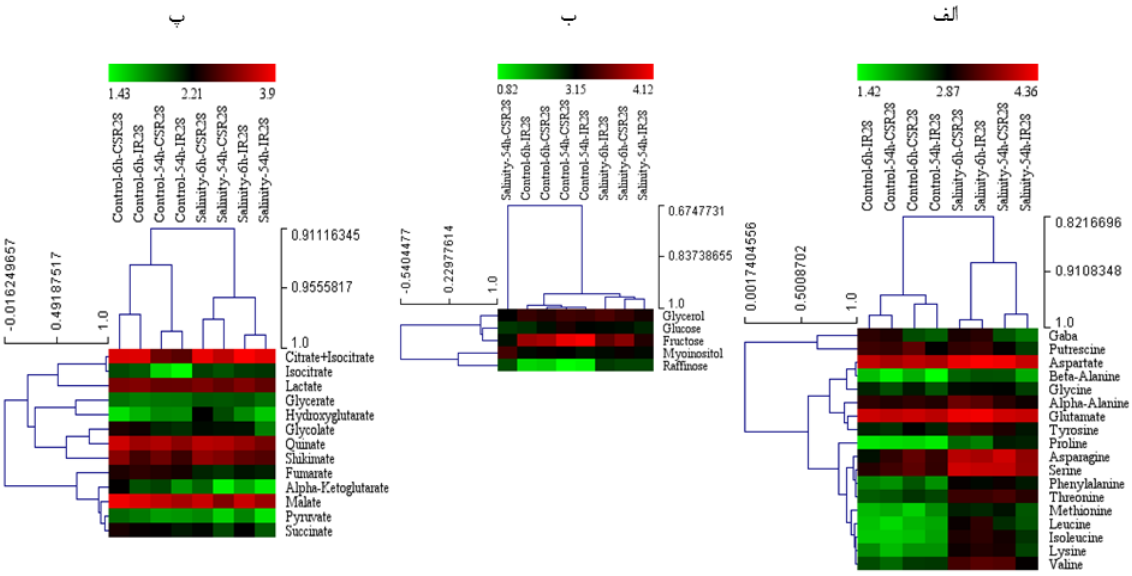
مقادیر بصورت میانگین (mg/g) ± خطای معیار نشان داده شده است. حروف مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار هستند.

گروه‌بندی نمونه‌ها بر اساس مقادیر متابولیت‌ها

با استفاده از نقشه دمایی، نمونه‌های مختلف به‌طور جداگانه برای اسیدهای‌آمینه، قندها و اسیدهای آلی گروه‌بندی شدند (شکل ۱). داده‌های اسیدآمینه حاصل از آنالیز GC-MS در دو خوشه اصلی که شامل شرایط کنترل و شوری بودند، گروه‌بندی شدند. خوشه شوری به نوبه خود بر اساس زمان‌های ۶ و ۵۴ ساعت به دو زیر خوشه تفکیک شدند و در نهایت در هر یک از زمان‌ها، دو ژنوتیپ متحمل و حساس در یک گروه قرار گرفتند. در خوشه کنترل زمان‌های ۶ و ۵۴ ساعت در کلاس‌های جداگانه‌ای قرار نگرفتند ولی در نهایت دو ژنوتیپ متحمل و حساس در یک گروه قرار گرفتند. بیشترین شباهت ژنوتیپ‌ها در زمان نمونه‌برداری ۶ ساعت در شرایط شوری بود. برای داده‌های قند شرایط کنترل و شوری در گروه‌های مجزا قرار نگرفتند. در شرایط کنترل ژنوتیپ‌ها در هر دو زمان نمونه‌برداری بیشترین شباهت را به هم داشتند اما با اعمال تنش شوری اختلاف قندها در هر دو زمان به‌طور محسوسی در ژنوتیپ حساس بیشتر از متحمل بود. داده‌های اسیدهای آلی به دو خوشه اصلی که شامل شرایط کنترل و شوری بودند، گروه‌بندی شدند. خوشه‌ی کنترل به دو زیر خوشه زمان‌های ۶ و ۵۴ ساعت تفکیک شدند و در نهایت در هر یک از زمان‌ها ژنوتیپ‌های متحمل و حساس در یک گروه قرار گرفتند اما در خوشه شوری علاوه بر اینکه زمان‌های ۶ و ۵۴ ساعت در زیر خوشه‌های مجزا قرار نگرفتند ژنوتیپ‌های متحمل و حساس نیز در گروه‌های مجزا تفکیک شدند. زمان‌های نمونه‌برداری ۶ و ۵۴ ساعت بیشترین شباهت را در شرایط کنترل داشتند و این شباهت در زمان ۵۴ ساعت به مراتب بیشتر از زمان نمونه‌برداری ۶ ساعت بود، اما با اعمال تیمار شوری اختلاف اسیدهای آلی در دو زمان به‌طور محسوسی کاهش یافت.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]



شکل ۱– نقشه دمایی همراه با تجزیه و تحلیل خوشه‌ای سلسله مراتبی (HCA). الف) اسیدهای‌آمینه، ب) قندها و پ) اسیدهای آلی، داده‌ها به‌صورت لگاریتم ۱۰ میانگین‌ها به‌دست آمده از پنج تکرار بیولوژیکی هستند. رنگ‌های قرمز و سبز به‌ترتیب مقادیر بالا و پایین را نشان می‌دهند

Figure 1. Heatmap combined with hierarchical cluster analysis (HCA). a) Amino acids, b) Sugar and C) Organic acids, the data are Log_{10} of the means obtained of the five biological replications. The Red and green colors indicate the higher and the lower values, respectively

در این تحقیق پروفایلینگ متابولیت‌ها بر اساس آنالیز GC-MS به‌خوبی توانست واکنش ریشه گیاهچه‌های برنج به تنش شوری بالا را نشان دهد. از بین متابولیت‌های اندازه‌گیری شده، اسیدهای‌آمینه بیشترین تجمع را در پاسخ به شوری داشتند و با افزایش مدت زمان قرارگیری در معرض شوری، اختلاف ژنوتیپ‌های متحمل و حساس بیشتر شد. نتایج این تحقیق بیانگر نقش سازوکارهای تنظیم اسمزی از طریق تجمع اسیدهای‌آمینه در القای تحمل به شوری ژنوتیپ متحمل CSR28 بود. افزایش تجمع قندهای رافینوز و میواینوزیتول در ژنوتیپ متحمل مخصوصاً در شرایط طولانی مدت پس از وقوع تیمار شوری، نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها بود.

تشکر و قدردانی

از موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج در فیلیپین (IRRI) به‌جهت در اختیار قرار دادن بذور، از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و همچنین گروه بیوشیمی گیاهی واقع در دانشگاه Heinrich-Heine، دوسلدورف، آلمان، برای فراهم کردن امکانات لازم جهت تحقیقات متابولومیکس، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2007. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
2. Batista-Silva, W., B. Heinemann, N. Rugen, A. Nunes-Nesi, W.L. Araújo, H.P. Braun and T.M. Hildebrandt. 2019. The role of amino acid metabolism during abiotic stress release. Plant, Cell and Environment, 42(5): 1630-1644.
3. Chaves, M., J. Flexas and C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany, 103(4): 551-560.
4. Fiehn, O., J. Kopka, P. Dörmann, T. Altmann, R.N. Trethewey and L. Willmitzer. 2000. Metabolite profiling for plant functional genomics. Nature Biotechnology, 18(11): 1157.
5. Fiehn, O. 2002. Metabolomics– the link between genotypes and phenotypes. Plant Molecular Biology, 48: 155-171.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT. Rome, Italy. FAO. 2018. Available at: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC (Accessed 01 Apr 2020).
7. Fougere, F., D.L. Rudulier and J.G. Streeter. 1991. Effects of salt stress on amino acids, organic acids, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Physiology, 96: 1228-1236.
8. Funck, D., B. Stadelhofer and W. Koch. 2008. Ornithine-δ-aminotransferase is essential for arginine catabolism but not for proline biosynthesis. BMC Plant Biology, 40: 1-14.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]

9. Gerona, M.E.B., M.P. Deocampo, J.A. Egdane, A.M. Ismail and M.L. Dionisio-Sese. 2019. Physiological Responses of Contrasting Rice Genotypes to Salt Stress at Rice Reproductive Stage. Science, 26(4): 207-219.
10. Good, A.G. and S.T. Zaplachinski. 1994. The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein-synthesis in Brassica napus. Physioloy Plant, 90: 9-14.
11. Gu, J., K. Weber, E. Klemp, G. Winters, S.U. Franssen, I. Wienpahl and E. Bornberg Bauer. 2012. Identifying core features of adaptive metabolic mechanisms for chronic heat stress attenuation contributing to systems robustness. Integrative Biology, 4(5): 480-493.
12. Hashemi, A., GH. Nematzadeh, GH. Hosseini Salekdeh, S.A. Hosseini and M.R. Hajirezaei. 2012. Physiological and metabolic responses in rice under salt stress**.** Crop Biotechnology, 2: 1-14 (In Persian).
13. Heenan, D., L. Lewin and D. McCaffery. 1988. Salinity tolerance in rice varieties at different growth stages. Australian Journal of Experimental Agriculture, 28(3): 343-349.
14. Hu, C.A., A.J. Delauney and D.P. Verma. 1992. A bifunctional enzyme (delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences, 89(19): 9354-9358.
15. Hu, L., K. Zhou, Y. Li, X. Chen, B. Liu, C. Li. and F. Ma. 2018. Exogenous myo-inositol alleviates salinity-induced stress in *Malus hupehensis* Rehd. Plant Physiology and Biochemistry, 133: 116-126.
16. Jia, Q., D. Kong, Q. Li, S. Sun, J. Song, Y. Zhu and J. Huang. 2019. The function of inositol phosphatases in plant tolerance to abiotic stress. International Journal of Molecular Sciences, 20(16): 3999.
17. Jiménez-Bremont, J.F., A. Becerra-Flora, E. Hernández-Lucero, M. Rodríguez-Kessler, J.A. Acosta-Gallegos and J.G. Ramírez-Pimentel. 2006. Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. Biologia Plantarum, 50(4): 763-766.
18. Joshi, V., J.G. Joung, Z.J. Fei and G. Jander. 2010. Interdependence of threonine, methionine and isoleucine metabolism in plants: accumulation and transcriptional regulation under abiotic stress. Amino Acids, 39: 933-947.
19. Kim, J.K., T. Bamba, K. Harada, E. Fukusaki and A. Kobayashi. 2007. Time-course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment. Journal of Experimental Botany, 58: 415-424.
20. Lehmann, M., M. Laxa, L. Sweetlove, A. Fernie and T. Obata. 2012. Metabolic recovery of *Arabidopsis thaliana* roots following cessation of oxidative stress. Metabolomics, 8: 143-153.
21. Liang, J,. Y. Qu, C. Yang, X. Ma, G. Cao and Z. Zhao. 2010. Identification of QTLs associated with salt or alkaline tolerance at the seedling stage in rice under salt or alkaline stress. Euphytica, 01: 201.
22. Lisec, J., N. Schauer, J. Kopka, L. Willmitzer and A. Fernie. 2006. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. Nature Protocols, 1: 387-396.
23. Nemati, I., F. Moradi, M.A. Esmaeili and S. Gholizadeh. 2011. The effect of salinity stress on ions and soluble sugars distribution in leaves, leaf sheaths and roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Plant Soil Environ, 1: 26-33.
24. Nishizawa, A., Y. Yabuta and S. Shigeoka. 2008. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. Plant Physiology, 147(3): 1251-1263.
25. Omrani, B. and S. Moharramnejad. 2017. Study of salinity tolerance in four maize (*Zea Mays* L.) Hybrids at Seedling Stage. Journal of Crop Breeding, 9(24): 79-86 (In Persian).
26. Pandit, A., V. Rai, T.R. Sharma and N. K. Singh. 2011. Differentially expressed genes in sensitive and tolerant rice varieties in response to salt-stress. Plant Biochemistry and Biotechnology, 20: 149–154.
27. Valliyodan, B. and H.T. Nguyen. 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. Current Opinion in Plant Biology, 9: 1-7.
28. Verbruggen, N. and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids, 35: 753–759.
29. Wang, J., J. Zhu, Y. Zhang, F. Fan, W. Li, F. Wang and J. Yang. 2018. Comparative transcriptome analysis reveals molecular response to salinity stress of salt-tolerant and sensitive genotypes of indica rice at seedling stage. Scientific reports, 8(1): 1-13.
30. Wang, W.S., X.Q. Zhao, M. Li, L.Y. Huang, J.L. Xu, F. Zhang and Z.K. Li. 2016. Complex molecular mechanisms underlying seedling salt tolerance in rice revealed by comparative transcriptome and metabolomic profiling. Journal of Experimental Botany, 67(1): 405-419.
31. Widodo, P., J.H.E. Newbigin, M. Tester, A. Bacic and U. Roessner. 2009. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salt tolerance. Journal of Experimental Botany, 60: 4089-4103.
32. Yancey, P.H. 2005. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. Journal of Experimental Biology, 208(15): 2819-2830.
33. Yoshida, S., D.A. Forno and J.H. Cock. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. 3th edn. Los Banos, Laguna, Philippines, 83 pp.
34. Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant Biology, 53(1): 247-273.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]

Response of some of Primary Metabolites in Rice (*Oryza sativa* L.) Root to Salinity Stress

Mojdeh Akbarzadeh Lelekami[1], Mohammad Hadi Pahlevani[2], Khalil Zaynali Nezhad[3], Keyvan Mahdavi Mashaki[4], Andreas P.M. Weber[5] and Dominik Brilhaus[6]

1- PhD Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Corresponding author: m.akbarzade67@yahoo.com)
2 and 3- Associate Professor and Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
4- Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran, Mazandaran Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Amol, Iran
5 and 6- Professor and Assistant Professor Heinrich Heine University (HHU), Düsseldorf, Germany
Received: April 10, 2020 Accepted: June 10, 2020

Abstract

In order to investigate the metabolic responses of rice root under salinity stress at seedling stage, an experiment was conducted at greenhouse with five replications as factorial in a completely randomized design including two salinity levels (0 and 150 mM), two sampling times (6h and 54h) and two genotypes CSR28 (tolerant) and IR28 (susceptible). In total, GC-MS analysis identified 36 primary metabolites (including 18 amino acids, five sugars and sugar alcohols and 13 organic acids). The amino acids showed the highest accumulation in facing to high salinity. Moreover, the genotypes showed more differences after the long-term of salinity treatment and the tolerant genotype CSR28 had the highest accumulation of amino acids suggesting the role of osmotic adjustment mechanisms on inducing of salt-tolerance. Among the sugars, raffinose and myoinositol had more accumulation specifically in the tolerant genotype at 54h time point, indicating their antioxidant activity. Generally, these findings emphasized the importance of identification and dissection of metabolic pathways for understanding of the salt-tolerance molecular mechanisms and consequently improving the development of salt-tolerant varieties in rice.

Keywords: Seedling stage, Amino acid, Sugar, Osmotic adjustment, GC-MS analysis

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.210]