



## اثر تنش خشکی بر پارامترهای فیزیولوژیکی و تجمع اسیدهای آمینه در کلزا

حسن زالی<sup>۱</sup>، طاهره حسنلو<sup>۲</sup>، امید سفالیان<sup>۳</sup>، علی اصغری<sup>۳</sup> و مهرشاد زین العابدینی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری و دانشیار، دانشگاه محقق اردبیلی  
۲- استادیار، بخش فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، (نویسنده مسوول، thasanloo@abrii.ac.ir)  
۳- استادیار، بخش ژنومیکس، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران  
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲

### چکیده

این تحقیق، به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر پارامترهای فیزیولوژیکی و تجمع اسیدهای آمینه در دو رقم کلزا (SLM046 و Cooper به ترتیب متحمل و حساس به خشکی) و در دو مرحله از فاز رویشی (مرحله ساقه‌رفتن و گل‌دهی) انجام شد. سطوح آبیاری شامل ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (شاهد) و قطع آبیاری در مرحله ساقه‌رفتن و گل‌دهی بود. نتایج نشان داد که در شرایط تنش آبی، عملکرد دانه، هدایت روزنه‌ای، کلروفیل a و b، محتوای کاروتنوئید و پروتئین محلول، در برگ هر دو رقم، به طور معنی‌داری کاهش یافته است. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز) در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن افزایش یافته، اما فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش در مرحله گل‌دهی کاهش یافته است. اسیدهای آمینه تریپتوفان، سرین، گلوتامین و آلفا-آمینو بوتریک اسید، فراوانی بالایی از محتوای کلی اسیدهای آمینه را در مرحله ساقه‌رفتن داشتند، هم چنین اسیدهای آمینه گلوتامین، ایزولوسین، سرین و هیستیدین در مرحله گل‌دهی بالاترین مقدار از مجموع اسیدهای آمینه را به خود اختصاص دادند. افزایش محتوای بیشتر اسیدهای آمینه در پاسخ به تنش خشکی در مرحله گل‌دهی مشاهده شد. تجمع معنی‌دار اسیدهای آمینه اسپاراتیک اسید، اسپاراژین، گلوتامین، لیزین، سیستین، تریپتوفان و فنیل‌آلانین تحت شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن و تجمع اسیدهای آمینه گلوتامین، گلیسین، تیروزین، متیونین، فنیل‌آلانین و ایزولوسین تحت تنش در مرحله گل‌دهی در ژنوتیپ متحمل SLM046 می‌باشد، در حالی که هیچ تجمع معنی‌داری از اسیدهای آمینه در ژنوتیپ حساس Cooper تحت تنش مشاهده نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تجمع اسیدهای آمینه آزاد ارتباط نزدیکی با تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های متحمل دارند.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آمینه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش خشکی، کلروفیل، کلزا

### مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تعیین‌کننده توزیع پوشش گیاهی و محدودیت تولید در بخش کشاورزی می‌باشد و همچنین یک خطر جدی در تأمین امنیت غذایی جهان است. یکی از روش‌های مقابله با خشکی، توسعه ارقام زراعی متحمل به خشکی است. بنابراین فهم مکانیسم‌ها و سازوکارهای تحمل به خشکی در گیاهان زراعی مهم می‌باشد (۲). گیاهان در مواجهه با خشکی نیاز به مکانیسم‌هایی دارند که بتوانند پاسخ مناسبی به این تنش بدهند. یکی از این مکانیسم‌ها 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 فرایندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین آب منجر شود (۱۰). این تنظیم از طریق تولید بیشتر مواد آلی مانند پروتئین، قندهای محلول (۳۶) و اسیدهای آمینه (۴۲) در اندام‌های هوایی و ریشه صورت می‌گیرد.

گزارش‌های مختلف در مورد اثر تنش خشکی بر روی محتوای اسیدهای آمینه در گیاهان زراعی مختلف، نشان داده که تحت تأثیر تنش رطوبتی محتوای کلی اسیدهای آمینه به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۷، ۲۵، ۲۶، ۳۶، ۴۰). متابولیسم

اسیدهای آمینه، نقش مهمی در تحمل گیاهان به تنش خشکی بازی می‌کنند (۴۱، ۴۲). تنظیم اسمزی (از طریق تجمع اسیدهای آمینه‌ای مانند گلیسین، پرولین، آلانین و والین) (۲)، سمیت‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال و تنظیم pH درون سلولی (۳۸)، قسمتی از نقش اسیدهای آمینه در تحمل گیاهان به تنش خشکی می‌باشد. بعضی از اسیدهای آمینه در سنتز پروتئین‌ها و برخی به‌صورت منبع نیتروژن (۸) و بعضی دیگر به گونه‌ی پیش‌ماده بیوسنتزی برای ترکیبات ثانویه به‌کار می‌روند (۳۶). افزایش مقدار اسیدهای آمینه در شرایط تنش خشکی، ممکن است به علت کاهش سنتز پروتئین‌ها و تحریک بیوسنتز اسیدهای آمینه (۶) و پروتئولیز پروتئین‌ها (۲۵) باشد. از طرفی به علت تحریک پروتئولیز در طول دوره تنش رطوبتی، میزان نیتروژن محلول در بافت‌های گیاهی افزایش پیدا می‌کند (۶).

در میان اسیدهای آمینه مختلف، پرولین منبع انرژی، کربن و نیتروژن است که بعد از رفع تنش رطوبتی و برای بازگشت گیاه به شرایط قبل از اعمال تنش رطوبتی مورد توجه قرار گرفته است (۳۳، ۸). پرولین در مقادیر زیاد در پاسخ به تنش‌های محیطی، تجمع می‌یابد. شکست سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش، ممکن است خود تأمین‌کننده عوامل مورد نیاز

### مواد و روش‌ها

کشت مزرعه‌ای این آزمایش به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه مرکز تحقیقات و منابع طبیعی یزد در سال ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. در این طرح، تیمار آبیاری در کرت اصلی در سه سطح شامل تیمار شاهد (آبیاری به صورت نرمال بعد از ۸۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشک تبخیر)، تنش در مرحله ساقه‌رفتن (آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشک تبخیر) و تیمار تنش در مرحله گل‌دهی (آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشک تبخیر) و دو رقم SLM046 (مقاوم به خشکی) و Cooper (حساس‌تر به خشکی) در کرت فرعی قرار گرفتند. اندازه هر کرت آزمایشی ۲ در ۱ متر بوده و در هر کرت، دو خط کشت با فاصله ۸۰ سانتی‌متر و حاشیه ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله دو بوته از هم روی خط کشت ۶ سانتی‌متر و عمق کشت ۱ سانتی‌متر می‌باشد. برای جلوگیری از آلودگی قارچی، بذور از طریق هیپو کلریت سدیم ۵٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند. در زمان کشت از کود فسفره (بر پایه ۲۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات در هکتار) و پتاس (بر پایه ۲۰۰ کیلوگرم نیترات پتاسیم در هکتار) به صورت پیش‌کاشت استفاده شد. هم‌چنین، نصف کود ازته مورد نیاز (۲۰۰ کیلوگرم در هکتار) به صورت پیش‌کاشت و نصف مابقی به صورت سرک در مرحله ۴-۵ برگی به خاک اضافه شد. نمونه‌برداری در سه مرحله، یعنی ۱۰ روز بعد از اعمال تنش در مرحله ساقه‌رفتن، ۱۰ روز بعد از اعمال تنش در مرحله گل‌دهی و در نهایت زمان رسیدگی کامل کلزا انجام شد.

اندازه‌گیری شاخص تغییرات کلروفیل (عدد SPAD) با استفاده از کلروفیل متر SPAD-502 مدل Minolta ساخت ژاپن و اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ای با استفاده از دستگاه پرومتر AP4، مدل UK, MK, Delta، از ۳ برگ بالای پوشش گیاهی در هر تکرار انجام شد. استخراج کلروفیل و کاروتنوئید برگ مرجع با استفاده از استن ۸۰ درصد و اندازه‌گیری آن با استفاده از روش تغییر یافته آرنون (۴) محاسبه شد. سپس میزان جذب نوری محلول به‌دست آمده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cary 300, USA) در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ قرائت گردید. غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید بر اساس روابط زیر (۴) تعیین گردید. در روابط زیر V حجم نمونه استخراج شده و W وزن نمونه می‌باشد.

$$C_a \text{ (mg/g FW)} = \frac{(12.7A_{663} - 2.69A_{645}) \times V}{1000 \times W}$$

$$C_t \text{ (mg/g FW)} = \frac{(20.2A_{645} + 8.02A_{663}) \times V}{1000 \times W}$$

فسفوریل‌اسیون اکسیدانتیو میتوکندریایی و تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (۷).

در روزپولوس و همکاران (۱۸) در بررسی ارقام مختلف گندم در تنش رطوبتی، گزارش کردند که غلظت اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، آسپاراتیک اسید، سرین، گلوتامین، آلانین، سرین، لوسین، آلانین، آسپارژین، آلفا-آمینوبوتریک اسید و پرولین به طور معنی‌داری در برگ و خوشه ارقام مختلف گندم افزایش می‌یابد. افزایش معنی‌دار غلظت اسیدهای آمینه گلايسين، لورنيتين، فنیل آلانین و والین نیز در ارقام مختلف جو در تنش خشکی از سوی سینگ و همکاران (۴۳) گزارش شده است. یکی از تغییراتی که در زمان مواجهه گیاهان با تنش حادث می‌شود، تولید گونه‌های اکسیژن فعال است (۳۷). سوپر اکسید که یکی از انواع گونه‌های اکسیژن فعال است، می‌تواند اسیدهای آمینه هیستیدین، متیونین و تریپتوفان را اکسید نماید (۹). یکی از راه‌های مقابله گیاهان با اثرات منفی انواع اکسیژن فعال، استفاده از مکانیسم‌های دفاعی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۳۷). آسکوربات پراکسیداز یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که نقش چشم‌گیری در سمیت‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال را به عهده دارد (۵). با توجه به سمی بودن پراکسید هیدروژن برای سلول‌های گیاهی و به ویژه برای کلروپلاست و از آن جایی که کاتالاز فقط در پراکسی‌زوم وجود دارد (۴۵)، بنابراین آسکوربات پراکسیداز می‌تواند نقش مهمی در خنثی کردن اثر سمی پراکسید هیدروژن داشته باشد. آنزیم کاتالاز به شرایط تنش بسیار حساس می‌باشد و از آن می‌توان به صورت یک نشانگر اعمال تنش استفاده کرد (۳۱). افزایش در فعالیت کاتالاز در گیاهان تحت تنش، در سایر مطالعات نیز گزارش شده است (۳،۲۳). در مقابل این نتایج، جینگ و هونگ (۲۴)، کاهش معنی‌داری در فعالیت کاتالاز در گراس‌های تحت تیمار تنش گزارش کردند.

یکی از مراحل حساس به خشکی در کلزا، مرحله گل‌دهی می‌باشد (۳۵)، هم‌چنین با توجه به افزایش خشک‌سالی در سال‌های اخیر، ممکن است در آینده، کلزا در مرحله ساقه‌رفتن هم با تنش خشکی مواجه شود. از طرفی اطلاعات کمی در مورد تاثیر تنش خشکی بر محتوای اسیدهای آمینه در برگ ارقام کلزا وجود دارد. بنابراین این تحقیق به منظور تعیین سطوح اسیدهای آمینه آزاد در پاسخ به تنش آبی در دو ژنوتیپ کلزا - که از نظر تحمل به خشکی با هم متفاوت بودند- و در دو مرحله ساقه‌رفتن و گل‌دهی انجام شد.

$$C_b \text{ (mg/g FW)} = \frac{(22.9A_{645} - 4.68A_{663}) \times V}{1000 \times W}$$

$$\text{Car} \text{ (mg/g FW)} = \frac{(1000A_{470} - 1.82C_a - 85.02C_b) \times V}{198 \times 1000 \times W}$$

سانتریفیوژ شدند. از این عصاره می‌توان برای تعیین غلظت پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز استفاده نمود.

فعالیت آنزیم کاتالاز (۶.۱۱.۱. EC، CAT) به روش ابی (۱) و در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱.۱۱.۱. EC، APX) به روش ناکانو و آسادا (۳۴) و در طول موج ۲۹۰ اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم پراکسیداز (۷.۱۱.۱. EC، POX) به روش چانس و مهلی (۱۲) و در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های عملکرد دانه در شرایط تنش ساقه‌رفتن و گل‌دهی نشان داد که عملکرد دانه ژنوتیپ SLM046 در تیمار شاهد بیشتر از ژنوتیپ Cooper می‌باشد (جدول ۱). اعمال تیمار خشکی باعث کاهش معنی‌دار عملکرد هر دو ژنوتیپ شد، ولی کاهش عملکرد در ژنوتیپ Cooper بیشتر از ژنوتیپ SLM046 بود. از طرفی کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش ساقه‌رفتن بیشتر از مرحله تنش گل‌دهی می‌باشد. با توجه به حساس‌تر بودن مرحله گل‌دهی کلزا به تنش خشکی (۳۵) می‌توان این کاهش عملکرد را به طول مدت بیشتر تنش ساقه‌رفتن نسبت به گل‌دهی مربوط دانست.

مقایسه میانگین شاخص تغییرات کلروفیل بین دو ژنوتیپ SLM046 و Cooper در شرایط غیرتنش و تنش در مرحله ساقه‌رفتن انجام شد (جدول ۱). نتایج نشان می‌دهد که شاخص تغییرات کلروفیل در هر دو ژنوتیپ در شرایط تنش افزایش یافته است و این افزایش در ژنوتیپ SLM046 معنی‌دار می‌باشد. احتمالاً علت افزایش در شاخص تغییرات کلروفیل، به دلیل کاهش آب برگ و افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح و در نهایت تیره‌تر شدن برگ می‌باشد. همچنین در شرایط تنش گل‌دهی نیز افزایش معنی‌دار شاخص تغییرات کلروفیل در شرایط تنش در هر دو ژنوتیپ مشاهده شد (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۱)، بالا بودن هدایت روزنه‌ای در ژنوتیپ Cooper را نسبت به ژنوتیپ SLM046 در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن و شرایط بدون تنش نشان داد. همچنین، کاهش معنی‌دار هدایت روزنه‌ای در ژنوتیپ SLM046 و Cooper در شرایط تنش ساقه‌رفتن و گل‌دهی نسبت به شرایط بدون تنش معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱ و ۲). در مجموع تنش خشکی باعث کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود. روزنه‌ها نقش کلیدی در مسیره‌های اتلاف آب و جذب CO<sub>2</sub> دارند. هنگامی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد، روزنه‌ها به سمت بسته شدن پیش می‌روند که از عوامل آن می‌توان به وجود آبسزیک اسید و کاهش پتانسیل آماس در برگ اشاره کرد (۱۴). بنابراین نتایج حاکی از این است که بسته‌شدن روزنه‌ها، یکی از اولین اقدامات سریع گیاه نسبت به تنش کمبود آب می‌باشد. در هنگام بروز تنش خشکی، سهم نسبی محدودیت روزنه‌ای در کاهش فتوسنتز، وابسته به میزان تنش خشکی است.

برای اندازه‌گیری پرولین، ابتدا ۰/۳ گرم برگ گیاهی پودر شده را درون یک فالدون ۱۵ میلی‌متری ریخته، سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد را به آن اضافه کرده و حدود ۱۰ دقیقه آن ورتکس شده است. سپس فالدون‌ها با سرعت ۱۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. مقدار ۲ میلی‌لیتر از روشناور ناشی از سانتریفیوژ را درون فالدون ۱۵ میلی‌لیتر جدید ریخته و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین هایدربین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاشیال به آن افزوده و سپس خوب ورتکس گردید. نمونه‌ها را در حمام آب‌گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده و سپس درون حمام آب یخ قرار داده تا کاملاً سرد شده و واکنش متوقف گردد. به هر نمونه بعد از سرد شدن، ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه نموده و آن به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شده و سپس میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cary 300, USA) در طول موج‌های ۵۲۰ نانومتر تعیین گردید (۷).

برای سنجش اسیدهای آمینه، مقدار ۰/۳ گرم بافت تر درون ویال ۱/۵ میلی‌متری در پیچ‌دار ریخته و بر روی آن ۱ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ ریخته و ویال‌های حاوی نمونه به بن‌ماری شیک‌ردار (ترمومیکسر) با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ منتقل شدند. بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی برداشته شده و به ویال‌های ۲ میلی‌متری جدید انتقال یافت. نمونه را درون دستگاه تغلیظ کننده<sup>۱</sup> در دمای ۳۰ درجه قرار داده تا محلول الکلی آن‌ها بپرد. درون ویال خارج شده از دستگاه تغلیظ کننده<sup>۱</sup>، میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه ریخته و ورتکس شده است. این محلول به کمک فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر صاف شد. درون ویال ۲ میلی‌متری جدید، ۲۵۰ میکرولیتر از این محلول صاف شده ریخته و سپس ۲۰۰ میکرولیتر بافر بورات و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر OPA<sup>۲</sup> اضافه گردید. دقیقاً بعد از ۱۲۰ ثانیه، مقدار ۵۰ میکرولیتر HCl ۰/۵ مولار به ویال افزوده، در ویال را بسته چند بار دستی آن را تکان داده و در نهایت با سرنگ مخصوص، به دستگاه HPLC<sup>۳</sup> با ستون C18، HALO ۵ سانتی متری (دمای ستون ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و فازهای متحرک (حلال‌ها) با شدت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، تزریق شد. با تزریق غلظت‌های مختلف هر یک از اسیدهای آمینه و 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 اسیدهای آمینه محاسبه شد (۳۱).

مقدار پروتئین محلول کل به روش بردفورد (۱۱) اندازه‌گیری شد. ۰/۳ ماده گیاهی پودر شده درون ویال ریخته شده و ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷) حاوی سدیم متابای سولفیت یک میلی‌مولار و پلی‌وینیل پیرولیدین به آن اضافه و نمونه‌ها حدود ۱۰ دقیقه ورتکس شده است. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۳۵۰۰

لیانگ و همکاران (۲۸) نشان دادند که کاهش فعالیت بیوشیمیایی فتوسنتز در تنش خشکی، بیشتر به علت کاهش هدایت روزنه‌ای و در نتیجه کاهش غلظت گاز کربنیک در محیط کلروپلاست می‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین غلظت کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن در جدول ۲ آمده است. غلظت کلروفیل a در ژنوتیپ SLM046، تغییر زیادی را نشان نمی‌دهد اما مقدار آن در ژنوتیپ Cooper در شرایط تنش کاهش معنی‌داری داشت. همچنین غلظت کلروفیل b در شرایط تنش در هر دو ژنوتیپ، کاهش یافته است و این مقدار کاهش در ژنوتیپ Cooper بیشتر می‌باشد. در مجموع تنش خشکی باعث کاهش غلظت کلروفیل کل در ژنوتیپ Cooper شده است. کاهش غلظت کاروتنوئید در ژنوتیپ Cooper در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن معنی‌دار است ولی این کاهش در ژنوتیپ SLM046 معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۲). گزارش شده است که کاهش سرعت فتوسنتز در طول دوره تنش خشکی ممکن است صرف نظر از تأثیر عوامل روزنه‌ای به علت کاهش فعالیت روبیسکو (۲۷)، جلوگیری از واکنش‌های فتوشیمیایی (۴۴) و کاهش محتوای کلروفیل برگ (۳۷) باشد.

نتایج مقایسه میانگین غلظت کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید در شرایط تنش در مرحله گل‌دهی (جدول ۳) نشان می‌دهد که غلظت این متابولیت‌ها در هر دو ژنوتیپ در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش، کاهش یافته است. کاهش غلظت کلروفیل در تنش خشکی می‌تواند یک عامل محدود کننده غیرروزنه‌ای به حساب آید. تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل برگ‌ها می‌شود. یانگ و همکاران (۴۶) نشان دادند که تنش رطوبتی باعث افزایش غلظت آبسزیک اسید در برگ‌ها، ساقه‌ها و ریشه‌ها می‌شود. در واقع آبسزیک اسید، سرعت فتوسنتز، مقدار کلروفیل و پروتئین محلول برگ‌ها را کاهش می‌دهد. مطالعات نشان می‌دهد که تنش رطوبتی از طریق برهم‌زدن واکنش‌های بیوشیمیایی مسیر فتوسنتزی، موجب کاهش سرعت فتوسنتز می‌شوند (۲۲، ۲۹).

نتایج نشان داد که میزان پروتئین محلول کل در شرایط بدون تنش و تنش در مرحله ساقه‌رفتن در ژنوتیپ Cooper کم‌تر از ژنوتیپ SLM046 می‌باشد (جدول ۲). همچنین نتایج تحقیق نشان می‌دهد تیمار پروتئین محلول کل در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش کاهش معنی‌داری داشت. به نظر یانگ و همکاران (۴۵) از علل کاهش پروتئین محلول برگ‌ها در شرایط تنش آبی، افزایش غلظت آبسزیک اسید می‌باشد که باعث کاهش میزان پروتئین محلول می‌شود. در شرایط تنش گل‌دهی میزان پروتئین محلول کل کاهش یافته است اما این کاهش معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۳).

کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که نقش مهمی در سمیت‌زدایی  $H_2O_2$  بازی می‌کند (۳۷). نتایج نشان می‌دهد که افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در دو شرایط تنش در ژنوتیپ Cooper بیشتر است (جدول ۲ و ۳).

فعالیت آنزیم کاتالاز در دو شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش نشان داد که میزان فعالیت آن در شرایط تنش افزایش یافته است و این افزایش در شرایط تنش گل‌دهی بیشتر می‌باشد (جدول ۲ و ۳). افزایش در فعالیت کاتالاز در گیاهان تحت تنش در سایر مطالعات نیز گزارش شده است (۲۳، ۳). در مقابل این نتایج، جیانگ و هانگ (۲۴)، کاهش معنی‌داری در فعالیت کاتالاز گراس‌های تحت تیمار تنش گزارش کردند. قبادی و همکاران (۲۰)، بیان نمودند که فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شدید در جو، بیشتر از تنش ملایم و همچنین فعالیت کاتالاز در شرایط تنش ملایم بیشتر از شرایط آبیاری کامل است. مقدار افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز علاوه بر مرحله رشد گیاه، به رقم، نوع بافت گیاهی، شرایط آزمایش، شدت تنش اعمال شده و غیره بستگی دارد. ولی نظر غالب پژوهش‌گران، تأکید بر افزایش فعالیت کاتالاز در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش است. آسکوربات پراکسیداز - که یک آنتی‌اکسیدان آنزیمی است - نقش چشم‌گیری در سمیت‌زدایی گونه‌های اکسیژن فعال به‌ویژه پراکسید هیدروژن را به عهده دارد (۴۵، ۱).

مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در شرایط تنش و بدون تنش نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن نسبت به شرایط بدون تنش افزایش یافته است (جدول ۲) ولی مقدار فعالیت آن در شرایط تنش در مرحله گل‌دهی نسبت به شرایط بدون تنش کاهش نشان داده است (جدول ۳). در تحقیق قبادی و همکاران (۲۰)، تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با شرایط بدون تنش در گیاه جو معنی‌دار نبود. در مقابل مطالعات دیگری وجود دارد که افزایش در میزان فعالیت پراکسیداز را در شرایط تنش رطوبتی نشان می‌دهد (۳۱).

اسیدهای آمینه یکی مهم‌ترین متابولیت‌های گیاهی می‌باشند که نقش مهمی در تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی و تنظیم فعالیت‌های درونی گیاه ایفاء می‌کنند (۳۶). بررسی سهم نسبی هر یک از اسیدهای آمینه در محتوای کلی آن‌ها در برگ ارقام کلزا مورد بررسی، نشان داد که اسید آمینه تربیتوفان بیشترین سهم (۱۱/۹۴٪) را نسبت به سایر اسیدهای آمینه در محتوای کلی اسیدهای آمینه دارد و بعد از آن اسیدهای آمینه سرین (۱۱/۹۲٪)، گلوتامین (۱۱/۲۵٪)، آلفا-آمینو بوتریک اسید (۸/۸۹٪)، هیستیدین (۷/۸۹٪)، ایزولوسین (۶/۸۱٪)، سیستئین (۶/۷۰٪) و گلوتامیک اسید (۶/۵۲٪) به ترتیب بیشترین سهم نسبی را در محتوای کلی اسیدهای آمینه در مرحله ساقه‌رفتن کلزا داشتند. از طرفی اسیدهای آمینه متیونین، آرژنین، تیروزین، فنیل آلانین، والین، و لوسین هر کدام سهمی کمتر از ۲ درصد را در محتوای کلی اسیدهای آمینه برگ ارقام کلزا در مرحله ساقه‌رفتن داشتند (شکل ۱). سعیدیپور و مرادی (۳۹) بیان کردند محتوای کلی اسیدهای آمینه آلفا-آمینو بوتریک اسید، گلوتامین، گلوتامیک اسید، آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، آلانین و سرین، بیشتر از سایر

Cooper (۷۴۸۹/۹) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ SLM046 (۵۴۰۰/۳) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد (جدول ۴). افزایش مقدار اسیدهای آمینه در شرایط تنش خشکی ممکن است به علت کاهش سنتز پروتئین‌ها و تحریک بیوسنتز اسیدهای آمینه و پروتئولیز پروتئین‌ها باشد (۲۵۶). بنابراین کاهش محتوای اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 در شرایط آبیاری مجدد ممکن است به سبب افزایش سنتز پروتئین‌ها و کاهش بیوسنتز اسیدهای آمینه به علت بر طرف شدن تنش باشد. نتایج نشان می‌دهد که مجموع محتوای اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 در شرایط تنش افزایش یافته و سپس با بر طرف شدن تنش، محتوای کلی اسیدهای آمینه کاهش یافته است و از طرفی محتوای اسیدهای آمینه در ژنوتیپ Cooper در شرایط تنش کاهش یافته و تغییر معنی‌داری در زمان بر طرف شدن تنش نیز در محتوای اسیدهای آمینه ژنوتیپ Cooper مشاهده نمی‌شود (جدول ۴). احتمالاً نتایج نشان‌دهنده کارآمدتر بودن مکانیسم‌های متابولیکی ژنوتیپ SIM046 نسبت به Cooper در سنتز مجدد پروتئین‌ها بعد از برطرف شدن تنش می‌باشد.

در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن، غلظت اسیدهای آمینه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، گلوتامین، ترئونین، لیزین، سیستئین، پرولین و تریپتوفان بطور معنی‌داری در ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper بود. ولی بین غلظت سایر اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 و Cooper تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین نتایج نشان می‌دهد برخلاف شرایط بدون تنش، در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن، افزایش غلظت هیچ کدام از اسیدهای آمینه در ژنوتیپ Cooper اختلاف معنی‌داری با ژنوتیپ SLM046 نداشت. همچنین در شرایط تنش ساقه‌رفتن، بر خلاف شرایط بدون تنش، محتوای کلی اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper بود و در کل، مجموع اسیدهای آمینه ژنوتیپ SLM046 (۹۶۷۲/۸) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ Cooper (۷۷۰۷/۵) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد و این مطلب نشان می‌دهد که احتمالاً، ژنوتیپ SLM046 از مکانیسم‌های کارتری در مواجهه شدن با خشکی برخوردار است.

در شرایط آبیاری مجدد غلظت اسیدهای آمینه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، سرین، گلوتامین، هیستیدین، لیزین، سیستئین، تریپتوفان و ایزولوسین بطور معنی‌داری در ژنوتیپ Cooper بیشتر از ژنوتیپ SLM046 می‌باشد.

همچنین افزایش اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 نسبت به ژنوتیپ Cooper معنی‌دار نمی‌باشد و از طرفی در شرایط آبیاری مجدد محتوای کلی اسیدهای آمینه در ژنوتیپ Cooper (۷۴۸۹/۹) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ SLM046 (۵۴۰۰/۳) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد (جدول ۴).

همچنین افزایش اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 نسبت به ژنوتیپ Cooper معنی‌دار نمی‌باشد و از طرفی در شرایط آبیاری مجدد محتوای کلی اسیدهای آمینه در ژنوتیپ

در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن، غلظت اسیدهای آمینه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، گلوتامین، گلايسين، ترئونین، پرولین و لیزین نسبت به شرایط بدون تنش افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد و غلظت اسیدهای آمینه سیستئین، آلانین، آلفا-آمینو بوتریک اسید، تریپتوفان، ایزولوسین و لوسین در شرایط بدون تنش، بیشتر از مرحله تنش ساقه‌رفتن می‌باشد. از طرفی غلظت بیشتر اسیدهای آمینه در شرایط آبیاری مجدد، کم‌تر از شرایط بدون تنش و تنش می‌باشد و در کل محتوای اسیدهای آمینه در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن (۱۷۳۸۰/۳) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از شرایط بدون تنش (۱۶۵۸۸/۴) ماکرومول بر گرم ماده تازه) و آبیاری مجدد (۱۲۸۹۰/۲) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد (جدول ۵). کاهش در محتوای اسیدهای آمینه در شرایط آبیاری مجدد، احتمالاً به سبب سنتز پروتئین‌ها و کاهش سنتز اسیدهای آمینه می‌باشد. گزارشات مختلف در مورد اثر تنش خشکی بر روی محتوای اسیدهای آمینه در گیاهان زراعی مختلف نشان داده‌اند که تحت تأثیر تنش رطوبتی محتوای کل اسیدهای آمینه به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۲۶،۲۵،۱۷، ۴۰،۳۶). افزایش در محتوای اسیدهای آمینه آسپاراژین و گلوتامین در برگ گندم (۱۸) و آسپاراتیک اسید در برگ جو (۴۳) در شرایط تنش گزارش شده است. احمد و همکاران (۲) بیان نمودند که در شرایط تنش خشکی در جو، محتوای تمام اسیدهای آمینه (جزء متیونین) در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش معنی‌داری از خود نشان می‌دهند و این افزایش در ارقام متحمل بیشتر می‌باشد. گود و زاپلاچینسکی (۲۱)، بیان کردند که غلظت اسیدهای آمینه ایزولوسین، لوسین، آسپاراتیک اسید در شرایط تنش خشکی ۵ برابر افزایش یافتند و این افزایش در سایر اسیدهای آمینه کمتر بود.

اسیدهای آمینه در برگ گندم می‌باشد. بر روند تغییرات غلظت هر یک از اسیدهای آمینه به تنهایی نشان داد که بین ژنوتیپ‌های SLM046 و Cooper از نظر تغییر در غلظت اسیدهای آمینه تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴). غلظت اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید در شرایط بدون تنش در ژنوتیپ SLM046 به طور معنی‌داری بیشتر از Cooper بود و غلظت اسیدهای آمینه هیستیدین، سیستئین، آلانین و تریپتوفان به طور معنی‌داری در ژنوتیپ Cooper بیشتر از ژنوتیپ SLM046 دیده شد. در کل در شرایط بدون تنش مجموع اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری ژنوتیپ Cooper بیشتر از ژنوتیپ SLM046 بود و همچنین سهم اسیدهای آمینه غیرضروری در محتوای کلی اسیدهای آمینه بیشتر از اسیدهای آمینه ضروری بود. از طرفی در شرایط بدون تنش، محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ Cooper (۸۶۸۹/۲) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ SLM046 (۷۸۹۹/۳) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد.

در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن، غلظت اسیدهای آمینه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، گلوتامین، ترئونین، لیزین، سیستئین، پرولین و تریپتوفان بطور معنی‌داری در ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper بود. ولی بین غلظت سایر اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 و Cooper تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین نتایج نشان می‌دهد برخلاف شرایط بدون تنش، در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن، افزایش غلظت هیچ کدام از اسیدهای آمینه در ژنوتیپ Cooper اختلاف معنی‌داری با ژنوتیپ SLM046 نداشت. همچنین در شرایط تنش ساقه‌رفتن، بر خلاف شرایط بدون تنش، محتوای کلی اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper بود و در کل، مجموع اسیدهای آمینه ژنوتیپ SLM046 (۹۶۷۲/۸) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ Cooper (۷۷۰۷/۵) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد و این مطلب نشان می‌دهد که احتمالاً، ژنوتیپ SLM046 از مکانیسم‌های کارتری در مواجهه شدن با خشکی برخوردار است.

در شرایط آبیاری مجدد غلظت اسیدهای آمینه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، سرین، گلوتامین، هیستیدین، لیزین، سیستئین، تریپتوفان و ایزولوسین بطور معنی‌داری در ژنوتیپ Cooper بیشتر از ژنوتیپ SLM046 می‌باشد.

همچنین افزایش اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 نسبت به ژنوتیپ Cooper معنی‌دار نمی‌باشد و از طرفی در شرایط آبیاری مجدد محتوای کلی اسیدهای آمینه در ژنوتیپ Cooper (۷۴۸۹/۹) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ SLM046 (۵۴۰۰/۳) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد (جدول ۴).

همچنین افزایش اسیدهای آمینه در ژنوتیپ SLM046 نسبت به ژنوتیپ Cooper معنی‌دار نمی‌باشد و از طرفی در شرایط آبیاری مجدد محتوای کلی اسیدهای آمینه در ژنوتیپ

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × تنش خشکی و اثر تنش خشکی بر شاخص تغییرات کلروفیل، هدایت روزنه‌ای و عملکرد در شرایط تنش ساقه‌رفتن و تنش گل‌دهی  
 Table 1. Mean comparison of genotype × drought stress interaction and drought stress effect on chlorophyll changes index, stomata conductance and seed yield under drought at stem elongation and flowering stages

تنش در مرحله گل‌دهی				تنش در مرحله ساقه‌رفتن					
عملکرد (کیلوگرم بر هکتار)		هدایت روزنه‌ای ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{S}^{-1}$ )		شاخص تغییرات کلروفیل		شاخص تغییرات کلروفیل		عملکرد (کیلوگرم بر هکتار)	
تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد
۱۱۷۶/۰ <sup>b</sup>	۱۷۲۹/۳ <sup>d</sup>	۹۷/۷ <sup>b</sup>	۳۳۳ <sup>d</sup>	۵۴/۹۰ <sup>a</sup>	۴۵/۱۳ <sup>b</sup>	۹۹۵/۷ <sup>b</sup>	۱۷۲۹/۳ <sup>d</sup>	۹۶/۳ <sup>b</sup>	۳۴۹ <sup>a</sup>
۹۸۰/۰ <sup>d</sup>	۱۶۵۷/۰ <sup>a</sup>	۱۲۱ <sup>b</sup>	۲۲۱ <sup>a</sup>	۵۵/۶۳ <sup>a</sup>	۳۹/۹۷ <sup>d</sup>	۷۶۴/۳ <sup>d</sup>	۱۶۵۷/۰ <sup>a</sup>	۱۱۹ <sup>b</sup>	۲۹۲ <sup>a</sup>
۱۰۷۹/۰ <sup>b</sup>	۱۶۹۳/۳ <sup>d</sup>	۱۰۹ <sup>b</sup>	۲۲۳ <sup>a</sup>	۵۵/۳ <sup>d</sup>	۴۲/۶ <sup>b</sup>	۸۸۰/۰ <sup>b</sup>	۱۶۹۳/۳ <sup>d</sup>	۱۰۷/۷ <sup>b</sup>	۲۷۰/۵ <sup>a</sup>

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

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ × تنش خشکی و اثر تنش خشکی بر غلظت کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید، پروتئین محلول کل، فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و آسکوبات پراکسیداز. تنش خشکی در مرحله ساقه‌رفتن اعمال شده است

Table 2. Mean comparison of genotype × drought stress interaction and drought stress effect on chlorophyll a and b concentration, soluble protein and antioxidant enzyme activity (catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase). Drought stress is applied at stem elongation stage

آسکوبات پراکسیداز (unit mg <sup>-1</sup> protein)		پراکسیداز (unit mg <sup>-1</sup> protein)		کاتالاز (unit mg <sup>-1</sup> protein)		پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	
تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد
۰/۲۱۸ <sup>a</sup>	۰/۰۷۱ <sup>b</sup>	۰/۶۳۹ <sup>a</sup>	۰/۱۹۰ <sup>b</sup>	۰/۱۱۳ <sup>a</sup>	۰/۱۰۹ <sup>a</sup>	۱۸/۳۴ <sup>b</sup>	۳۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۰/۸۰۳ <sup>a</sup>	۰/۸۲۳ <sup>a</sup>	۷/۲۳ <sup>a</sup>	۷/۰۸ <sup>a</sup>	۱/۶۳ <sup>b</sup>	۱/۷۷ <sup>a</sup>	۵/۶۰ <sup>a</sup>	۵/۳۱ <sup>a</sup>
۰/۲۹۳ <sup>a</sup>	۰/۰۶۷ <sup>b</sup>	۰/۷۵۶ <sup>a</sup>	۰/۲۵۵ <sup>b</sup>	۰/۱۲۷ <sup>a</sup>	۰/۰۹۹ <sup>b</sup>	۱۲/۸۶ <sup>b</sup>	۲۴/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۶۷۱ <sup>b</sup>	۰/۸۳۶ <sup>a</sup>	۵/۹۴ <sup>b</sup>	۷/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۵۰ <sup>b</sup>	۱/۸۶ <sup>a</sup>	۴/۴۴ <sup>b</sup>	۵/۴۷ <sup>a</sup>
۰/۶۹۷ <sup>a</sup>	۰/۲۳۲ <sup>b</sup>	۰/۳۵۵ <sup>a</sup>	۰/۰۶۹ <sup>b</sup>	۰/۱۲۰ <sup>a</sup>	۰/۱۰۴ <sup>a</sup>	۱۵/۶۰ <sup>b</sup>	۲۷/۴۲ <sup>a</sup>	۰/۷۳۶ <sup>b</sup>	۰/۸۲۹ <sup>a</sup>	۶/۵۸ <sup>b</sup>	۷/۲۱ <sup>a</sup>	۱/۵۶ <sup>b</sup>	۱/۸۲ <sup>a</sup>	۵/۰۲ <sup>b</sup>	۵/۳۹ <sup>a</sup>

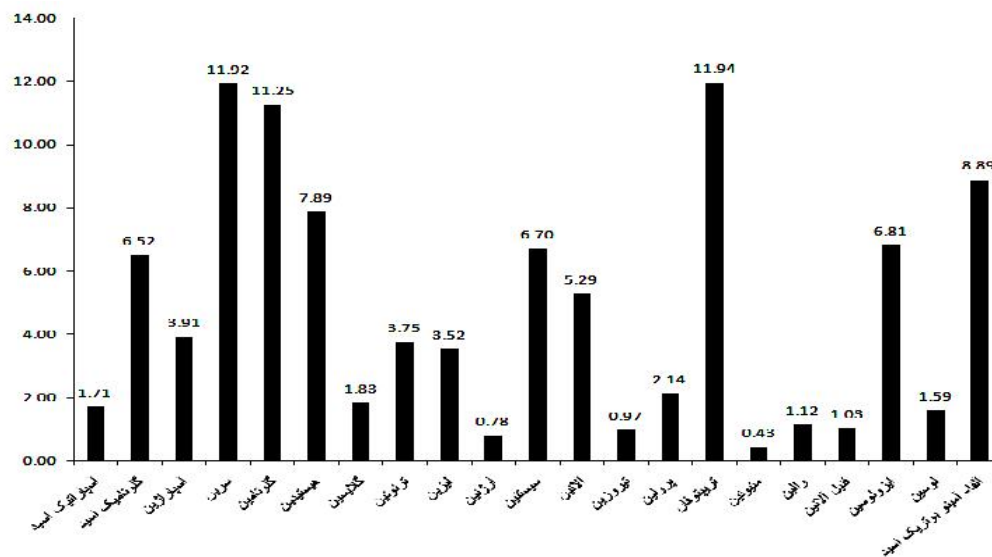
در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × تنش خشکی و اثر تنش خشکی بر غلظت کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید، پروتئین محلول کل، فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و آسکوبات پراکسیداز. تنش خشکی در مرحله گل‌دهی اعمال شده است.

Table 3. Mean comparison of genotype × drought stress interaction and drought stress effect on chlorophyll a and b concentration, soluble protein and antioxidant enzyme activity (catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase). Drought stress is applied at flowering stage

آسکوبات پراکسیداز (unit mg <sup>-1</sup> protein)		پراکسیداز (unit mg <sup>-1</sup> protein)		کاتالاز (unit mg <sup>-1</sup> protein)		پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)		کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	
تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد	تنش	شاهد
۰/۶۱۳ <sup>b</sup>	۰/۷۷۸ <sup>a</sup>	۰/۱۱۳ <sup>b</sup>	۰/۲۳۴ <sup>a</sup>	۰/۱۶۰ <sup>a</sup>	۰/۱۰۶ <sup>a</sup>	۲۱/۳۷ <sup>a</sup>	۲۲/۵۰ <sup>a</sup>	۰/۶۸۸ <sup>b</sup>	۰/۷۷۰ <sup>a</sup>	۶/۱۳ <sup>b</sup>	۶/۶۳ <sup>a</sup>	۱/۵۳ <sup>a</sup>	۱/۶۶ <sup>a</sup>	۴/۶۰ <sup>b</sup>	۴/۹۶ <sup>a</sup>
۰/۵۱۳ <sup>b</sup>	۰/۹۸۷ <sup>a</sup>	۰/۱۱۳ <sup>b</sup>	۰/۲۳۶ <sup>a</sup>	۰/۱۸۳ <sup>a</sup>	۰/۰۸۱ <sup>b</sup>	۱۹/۳۹ <sup>a</sup>	۲۲/۶۱ <sup>a</sup>	۰/۷۳۰ <sup>b</sup>	۰/۸۵۰ <sup>a</sup>	۶/۷۸ <sup>b</sup>	۷/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۶۸ <sup>a</sup>	۱/۸۹ <sup>a</sup>	۵/۱۰ <sup>b</sup>	۵/۴۴ <sup>a</sup>
۰/۵۶۳ <sup>b</sup>	۰/۸۸۲ <sup>a</sup>	۰/۱۳۳ <sup>b</sup>	۰/۲۵۰ <sup>a</sup>	۰/۱۷۱ <sup>a</sup>	۰/۰۹۴ <sup>b</sup>	۲۰/۳۶ <sup>a</sup>	۲۲/۵۶ <sup>a</sup>	۰/۷۱۰ <sup>b</sup>	۰/۸۱۰ <sup>a</sup>	۶/۴۶ <sup>b</sup>	۶/۹۸ <sup>a</sup>	۱/۶۰ <sup>b</sup>	۱/۷۸ <sup>a</sup>	۴/۸۵ <sup>b</sup>	۵/۲۰ <sup>a</sup>

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



شکل ۱- سهم نسبی هر یک از اسیدهای آمینه در شکل گیری محتوای کل اسیدهای آمینه برگ ارقام کلزا در مرحله ساقه رفتن  
Figure 1. Average of individual amino acids concentration in stem elongation stage of two canola cultivars. Values are expressed as percentage of total leaf amino acids.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × تنش خشکی در مرحله تنش ساقه رفتن بر غلظت اسیدهای آمینه مختلف در برگ ژنوتیپ‌های SLM046 و Cooper کلزا

Table 4. Mean comparison of genotype × drought stress interaction in stem elongation stage on different amino acids concentration of leaves of two canola genotypes (SLM046 and Cooper)

آبیاری مجدد		تنش ساقه رفتن		بدون تنش		نوع اسید آمینه
(ماکرومول بر گرم ماده تازه)		(ماکرومول بر گرم ماده تازه)		(ماکرومول بر گرم ماده تازه)		
Cooper	SLM046	Cooper	SLM046	Cooper	SLM046	
۱۴۳/۷ <sup>b</sup>	۸۰/۷ <sup>c</sup>	۱۷۸/۳ <sup>ab</sup>	۲۱۶/۹ <sup>a</sup>	۸۷/۶ <sup>c</sup>	۹۳/۵ <sup>c</sup>	اسپاراتیک اسید
۴۹۷/۱ <sup>ad</sup>	۵۱۳/۹ <sup>a</sup>	۵۵۱/۵ <sup>a</sup>	۵۲۲/۱ <sup>a</sup>	۳۹۹/۲ <sup>b</sup>	۵۷۰/۳ <sup>a</sup>	گلوتامیک اسید
۲۷۳/۴ <sup>b</sup>	۱۹۴/۳ <sup>b</sup>	۲۵۶/۲ <sup>b</sup>	۶۳۹/۰ <sup>a</sup>	۲۴۲/۴ <sup>b</sup>	۲۲۶/۶ <sup>b</sup>	اسپارازین
۸۲۸/۳ <sup>a</sup>	۴۸۰/۰ <sup>d</sup>	۱۰۲۲/۶ <sup>a</sup>	۱۰۷۴/۰ <sup>a</sup>	۱۰۵۵/۸ <sup>a</sup>	۱۱۱۶/۳ <sup>a</sup>	سرین
۸۰۳/۶ <sup>dc</sup>	۵۵۵/۲ <sup>c</sup>	۱۰۲۸/۷ <sup>d</sup>	۱۳۸۱/۳ <sup>a</sup>	۷۲۲/۴ <sup>cd</sup>	۷۷۹/۳ <sup>cd</sup>	گلوتامین
۸۶۶/۸ <sup>a</sup>	۵۱۰/۱ <sup>d</sup>	۵۶۳/۱ <sup>b</sup>	۶۴۶/۶ <sup>d</sup>	۵۹۸/۳ <sup>b</sup>	۵۱۰/۴ <sup>d</sup>	هیستیدین*
۱۴۱/۱ <sup>ad</sup>	۱۳۵/۴ <sup>d</sup>	۱۶۶/۳ <sup>a</sup>	۱۵۰/۱ <sup>ad</sup>	۱۲۳/۷ <sup>d</sup>	۱۴۲/۳ <sup>ad</sup>	گلیسین
۲۴۸/۰ <sup>d</sup>	۱۹۰/۷ <sup>d</sup>	۳۶۱/۳ <sup>a</sup>	۴۳۰/۴ <sup>a</sup>	۲۶۷/۰ <sup>d</sup>	۲۶۱/۲ <sup>d</sup>	ترئونین*
۶۰۷/۱ <sup>a</sup>	۸۵/۹ <sup>d</sup>	۱۰۰/۲ <sup>b</sup>	۷۱۴/۴ <sup>a</sup>	۶۳/۵ <sup>d</sup>	۸۲/۴ <sup>d</sup>	لیزین*
۸۰/۸ <sup>a</sup>	۵۲/۲ <sup>d</sup>	۵۱/۵ <sup>d</sup>	۶۱/۲ <sup>d</sup>	۵۷/۰ <sup>d</sup>	۶۴/۷ <sup>ad</sup>	آرژینین*
۴۶۶/۴ <sup>dc</sup>	۳۶۰/۰ <sup>c</sup>	۳۸۳/۶ <sup>c</sup>	۵۸۲/۴ <sup>ad</sup>	۷۲۸/۸ <sup>a</sup>	۶۱۹/۰ <sup>ad</sup>	سیستئین
۲۴۳/۸ <sup>c</sup>	۲۶۲/۹ <sup>c</sup>	۴۲۷/۸ <sup>b</sup>	۴۲۱/۷ <sup>d</sup>	۷۸۲/۱ <sup>a</sup>	۳۴۰/۴ <sup>dc</sup>	آلانین
۶۸/۳ <sup>ad</sup>	۶۰/۹ <sup>d</sup>	۶۷/۰ <sup>ad</sup>	۹۰/۰ <sup>a</sup>	۸۰/۶ <sup>ad</sup>	۸۶/۴ <sup>ad</sup>	تیروزین
۱۲۹/۹ <sup>d</sup>	۱۵۹/۶ <sup>d</sup>	۳۰۰/۳ <sup>a</sup>	۲۷۷/۵ <sup>a</sup>	۷۳/۷ <sup>c</sup>	۶۲/۱ <sup>c</sup>	پرولین
۸۷۷/۰ <sup>d</sup>	۶۱۵/۷ <sup>f</sup>	۸۰۸/۶ <sup>e</sup>	۹۱۸/۳ <sup>c</sup>	۱۳۸۵/۹ <sup>a</sup>	۹۸۸/۰ <sup>d</sup>	تریئوفان*
۲۱/۸ <sup>c</sup>	۲۷/۵ <sup>bc</sup>	۳۵/۵ <sup>ad</sup>	۴۲/۹ <sup>a</sup>	۳۴/۵ <sup>abc</sup>	۳۹/۷ <sup>ad</sup>	متیونین*
۵۵/۸ <sup>d</sup>	۷۹/۳ <sup>ad</sup>	۸۳/۱ <sup>ad</sup>	۹۸/۸ <sup>a</sup>	۱۰۷/۴ <sup>a</sup>	۱۰۲/۷ <sup>a</sup>	والین*
۵۲/۳ <sup>c</sup>	۷۲/۷ <sup>d</sup>	۸۲/۹ <sup>d</sup>	۹۷/۷ <sup>a</sup>	۷۹/۶ <sup>d</sup>	۹۸/۹ <sup>a</sup>	فیل آلانین*
۴۶۰/۶ <sup>ad</sup>	۴۰۴/۴ <sup>d</sup>	۵۰۱/۲ <sup>ad</sup>	۵۳۰/۵ <sup>ab</sup>	۶۴۱/۳ <sup>a</sup>	۶۵۱/۰ <sup>a</sup>	ایزولوسین*
۹۵/۹ <sup>c</sup>	۹۱/۰ <sup>c</sup>	۱۱۰/۲ <sup>dc</sup>	۱۲۵/۰ <sup>dc</sup>	۱۵۰/۵ <sup>ad</sup>	۱۷۴/۵ <sup>a</sup>	لووسین
۵۲۸/۰ <sup>c</sup>	۴۶۸/۰ <sup>c</sup>	۶۱۷/۰ <sup>dc</sup>	۶۵۴/۰ <sup>dc</sup>	۱۰۰۸/۰ <sup>a</sup>	۸۹۰/۰ <sup>ad</sup>	آلفا- آمینو بوتیریک اسید
۳۳۶۶/۴	۲۱۲۹/۵	۲۶۹۷/۴	۳۶۶۳/۸	۲۳۸۵/۳	۲۹۷۳/۷	مجموع اسیدهای آمینه ضروری
۲۵۹۵/۵	۲۸۰۲/۸	۴۳۹۳/۱	۵۳۵۵/۰	۴۲۹۵/۹	۴۰۳۵/۶	مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری
۷۴۸۹/۹	۵۴۰۰/۳	۷۷۰۷/۵	۹۶۷۲/۸	۸۶۸۹/۲	۷۸۹۹/۳	مجموع کل اسیدهای آمینه

\*: اسیدهای آمینه ضروری  
در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

اسیدهای آمینه ژنوتیپ SLM046 (۴۴۵۸/۳) کمتر از ژنوتیپ Cooper (۷۰۴۸/۸) می‌باشد. در شرایط تنش در مرحله گل‌دهی، تنها غلظت اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، ترئونین و لیزین در ژنوتیپ Cooper بیشتر از ژنوتیپ SLM046 به نظر آمد و غلظت اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، گلوتامین، هیستیدین، گلايسين، متيونين، فنيل آلانين، ايزولوسين و لوسين در ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper مشاهده شد. از طرفی در شرایط تنش گل‌دهی، محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ SLM046 (۹۱۴۰/۷) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از ژنوتیپ Cooper (۷۷۱۰/۵) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بوده است (جدول ۶). این نتایج نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی، بیوسنتز اسیدهای آمینه ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper می‌باشد.

در شرایط تنش در مرحله گل‌دهی (جدول ۶)، محتوای اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، آسپاراژین، گلوتامین، گلايسين، ترئونين، پرولين، متيونين و ايزولوسين افزایش معنی‌داری را نشان دادند. از طرفی، کاهش محتوای اسیدهای آمینه سرین، آلانین و تریپتوفان در شرایط تنش گل‌دهی نسبت به شاهد معنی‌دار بود. در مجموع محتوای اسیدهای آمینه در شرایط تنش گل‌دهی (۸۴۲۶/۱) ماکرومول بر گرم ماده تازه) بیشتر از شرایط بدون تنش (۶۷۵۲/۶) ماکرومول بر گرم ماده تازه) می‌باشد (جدول ۶). بسیاری از محققان بر این باورند که محتوای اسیدهای آمینه در شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش بیشتری دارند (۴۲، ۴۱، ۲۱، ۱۸، ۲، ۴۳).

در میان اسیدهای آمینه، هیچ اسید آمینه‌ای به اندازه پرولین در گیاهان مختلف بررسی نشده است. پرولین جزء اسیدهای آمینه‌ای است که در مقادیر زیاد، در پاسخ به تنش‌های محیطی، تجمع می‌یابد. شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش، ممکن است خود تأمین‌کننده عوامل مورد نیاز فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (۷). میرزایی و همکاران (۳۳) بیان کردند که در شرایط تنش، مقدار پرولین در ارقام مختلف کلزا افزایش می‌یابد و این افزایش در رقم متحمل بیشتر از رقم حساس است. سینگ و همکاران (۴۳) و کتچام و همکاران (۲۶) نشان دادند که غلظت پرولین به‌طور غالب در سیتوزل در شرایط تنش خشکی افزایش پیدا می‌کند و نتیجه‌گیری کردند که پرولین عامل مهمی در تنظیم اسمزی می‌باشد.

گزارشات دلاونی و ورما (۱۶) نشان داد که در تنش خشکی غلظت پرولین ممکن است بین ۳ تا ۳۰۰ برابر افزایش یابد.

در مجموع محتوای اسیدهای آمینه در شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن و گل‌دهی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش معنی‌داری را نشان دادند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که در برگ کلزا، محتوای اسیدهای آمینه سرین، گلوتامین، تریپتوفان، هیستیدین و آلفا-آمینو بوتریک اسید بیشتر از سایر اسیدهای آمینه است. از طرفی، کمترین محتوای اسید آمینه در برگ ارقام کلزا مربوط به متیونین، تیروزین و آرژنین می‌باشد. در

اسید آمینه آلفا-آمینو بوتریک اسید نقش کلیدی در تنظیم pH درون سلولی دارد. اسیدهای ضعیف که در شرایط تنش رطوبتی موجب کاهش pH درون سلولی می‌گردند، سبب تحریک تجمع آلفا-آمینو بوتریک اسید در این گونه سلول‌ها می‌شود و تجمع این اسید آمینه در این شرایط موجب قلیایی شدن محیط سلول می‌شود (۱۳). احتمالاً در این تحقیق، فقدان افزایش معنی‌دار محتوای آلفا-آمینو بوتریک اسید در شرایط تنش نسبت به شاهد نشان می‌دهد که احتمالاً این سطح تنش موجب تغییر pH شیره سلولی نشده و در نتیجه، محتوای این اسید آمینه تغییر معنی‌داری نداشته است. غلظت اسید آمینه آرژنین، تفاوت معنی‌داری را در شرایط تنش و بدون تنش نشان نداد (جدول ۵). رودز و همکاران (۳۸) و سعید پور و همکاران (۳۹) بیان کردند که آلفا-آمینو بوتریک اسید نقش مهمی در مکانیسم‌های تحمل گیاهان به تنش‌ها ایفاء می‌کنند.

در شرایط تنش رطوبتی فعالیت آنزیم آرژنین دکربوکسیلاز تحریک می‌گردد. این آنزیم شروع واکنش تبدیل اسید آمینه آرژنین به پوترسین - که ترکیبی از دسته پلی‌آمین‌هاست - را موجب می‌شود (۱۹). پلی آمین‌ها در تنظیم pH درون سلول، تنظیم تقسیم سلولی و به تعویق انداختن پیری در گیاه نقش ایفاء می‌کنند. در این تحقیق احتمالاً pH درون سلولی تغییر چندانی نداشته است که موجب افزایش در محتوای اسید آمینه آرژنین در شرایط تنش رطوبتی شده باشد.

با توجه به نقش‌های مهم اسیدهای آمینه در شرایط تنش خشکی و بدون تنش در تنظیم فعالیت‌های درونی گیاه، روند تغییرات اسیدهای آمینه مختلف در برگ توسعه یافته انتهایی کلزا، در دو ژنوتیپ SLM046 و Cooper در شرایط بدون تنش و تنش در مرحله گل‌دهی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی سهم نسبی هر یک از اسیدهای آمینه در محتوای کلی آن‌ها (شکل ۲) در برگ انتهایی ارقام کلزا در شرایط تنش در مرحله گل‌دهی نشان داد که اسیدهای آمینه گلوتامین (۱۲/۹۰٪)، ایزولوسین (۱۱/۸۳٪)، سرین (۱۱/۲۶٪) و هیستیدین (۱۰/۵۷٪)، تریپتوفان (۹/۹۰٪)، آلفا-آمینو بوتریک اسید (۷/۶۴٪) و گلوتامیک اسید (۶/۶۸٪) به ترتیب بیشترین سهم نسبی را در محتوای کلی اسیدهای آمینه داشتند. سهم نسبی این اسیدهای آمینه حدود ۶۰ درصد از کل اسیدهای آمینه می‌باشد. از طرفی، اسیدهای آمینه متیونین، آرژنین، تیروزین، والین، فنیل آلانین و لوسین کم‌ترین سهم را در محتوای کلی اسیدهای آمینه ژنوتیپ‌های کلزا در مرحله گل‌دهی داشتند (شکل ۲). همچنین سهم نسبی اسیدهای آمینه غیرضروری در محتوای کلی اسیدهای آمینه، بیشتر از اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد (جدول ۶).

غلظت اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، آسپاراژین، گلوتامین، هیستیدین، لیزین، آلانین و تریپتوفان در شرایط بدون تنش در ژنوتیپ Cooper بیشتر از SLM046 بود و غلظت اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، گلايسين، والين، فنيل آلانين و ايزولوسين در ژنوتیپ SLM046 بیشتر از ژنوتیپ Cooper دیده شد (جدول ۶). در شرایط بدون تنش محتوای کلی

گلوتامین، گلايسين، ترئونين، ليزين و پرولين از جمله اسيدهای آمينه‌ای می‌باشند که در شدت‌های پایین تنش در مرحله ساقه‌رفتن گیاه، مقدار آن‌ها افزایش می‌یابد. همچنین در مرحله گل‌دهی غلظت اسيدهای آمينه بیشتری افزایش نشان دادند. شاید به دلیل حساس بودن مرحله گل‌دهی در کلزا، گیاه در این مرحله از سازکارهای موثرتری برای مقابله با خشکی استفاده می‌کند که یکی از آن‌ها افزایش غلظت اسيدهای آمينه می‌باشد. ولی از طرفی، محتوای کلی اسيدهای آمينه در مرحله ساقه‌رفتن بیشتر از مرحله گل‌دهی بود و احتمالاً به این دلیل می‌باشد که در زمان گل‌دهی، قسمتی از اسيدهای آمينه برگ انتهایی کلزا صرف گل‌دهی می‌شود.

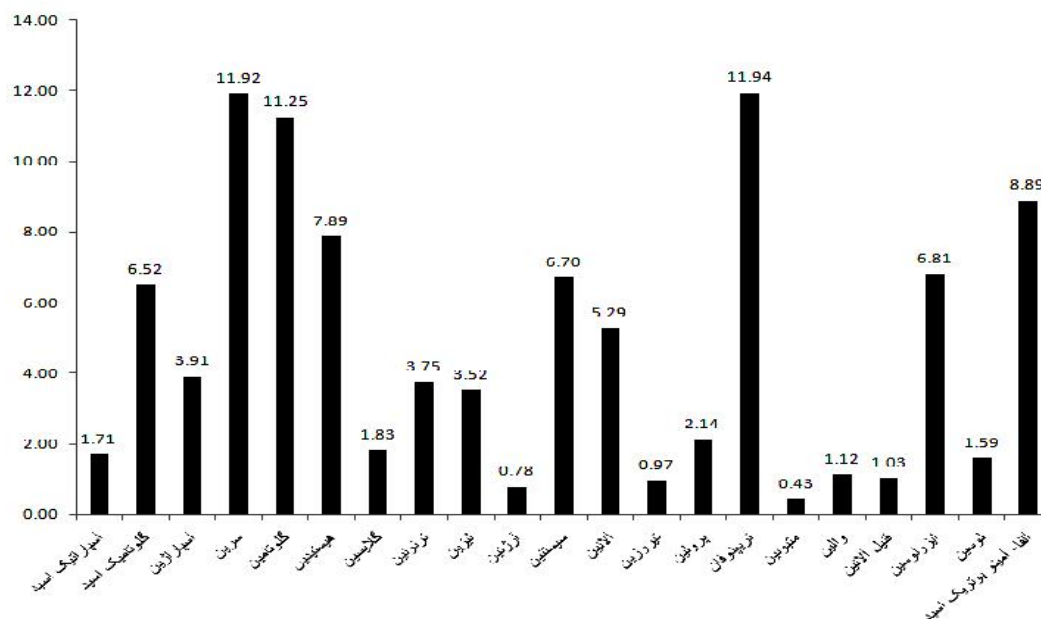
این تحقیق تنش اعمال شده تنش ملایم می‌باشد و نتایج فعالیت‌های آنزیمی و تغییرات کلروفیل این مطلب را تأیید می‌کنند. بنابراین هر چند در بسیاری از تحقیقات، محتوای بیشتر اسيدهای آمينه، افزایش معنی‌داری را نشان داده‌اند (۲، ۱۸، ۲۱، ۴۱، ۴۲، ۴۳) ولی در این تحقیق بعضی از اسيدهای آمينه در شرایط تنش افزایش یافته، ولی بعضی دیگر از اسيدهای آمينه در شرایط تنش کاهش یافته‌اند یا تغییرات آن‌ها معنی‌دار نمی‌باشد. شاید یکی از علل آن این باشد که در شدت‌های پایین تنش، همه اسيدهای آمينه افزایش نمی‌یابند و برای افزایش غلظت آن‌ها نیاز به شدت‌های بالای تنش است. بنابراین یافته‌ها نشان می‌دهد که اسيدهای آمينه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین،

جدول ۵- مقایسه میانگین غلظت اسيدهای آمينه مختلف در شرایط غیرتنش، تنش ساقه‌رفتن و آبیاری مجدد در برگ ژنوتیپ‌های SLM046 و Cooper کلزا

Table 5. Mean comparison of different amino acids concentration at non-stress, elongation stress and re-irrigation conditions of leaves of two caola genotypes (SLM046 and Cooper)

نوع اسید آمینه (ماکرومول بر گرم ماده تازه)	بدون تنش	تنش ساقه‌رفتن	آبیاری مجدد
آسپاراتیک اسید	۹۰/۵ <sup>d</sup>	۱۹۷/۶ <sup>a</sup>	۱۱۲/۳ <sup>d</sup>
گلوتامیک اسید	۴۸۴/۷ <sup>a</sup>	۵۳۶/۸ <sup>a</sup>	۵۰۵/۵ <sup>a</sup>
آسپاراژین	۲۳۴/۵ <sup>d</sup>	۴۴۷/۶ <sup>a</sup>	۲۳۳/۸ <sup>d</sup>
سرین	۱۰۸۶/۰ <sup>a</sup>	۱۰۵۳/۳ <sup>a</sup>	۶۵۴/۳ <sup>d</sup>
گلوتامین	۷۵۰/۹ <sup>d</sup>	۱۲۰۵/۰ <sup>a</sup>	۶۷۹/۴ <sup>a</sup>
هیستیدین*	۵۵۴/۴ <sup>a</sup>	۶۰۴/۸ <sup>a</sup>	۶۸۸/۴ <sup>a</sup>
گلايسين	۱۳۲/۹ <sup>d</sup>	۱۵۸/۱ <sup>a</sup>	۱۳۸/۳ <sup>d</sup>
ترئونین*	۲۶۴/۱ <sup>d</sup>	۳۹۵/۸ <sup>a</sup>	۲۱۹/۴ <sup>c</sup>
ليزين*	۷۳/۰ <sup>c</sup>	۴۰۶/۳ <sup>a</sup>	۳۴۶/۵ <sup>d</sup>
آرژینین*	۶۰/۸ <sup>a</sup>	۵۶/۳ <sup>a</sup>	۶۶/۵ <sup>a</sup>
سیستئین	۶۷۳/۹ <sup>a</sup>	۴۸۳/۰ <sup>b</sup>	۴۱۳/۳ <sup>c</sup>
آلانین	۵۶۱/۳ <sup>a</sup>	۴۲۴/۷ <sup>d</sup>	۲۵۳/۳ <sup>c</sup>
تیروزین	۸۳/۳ <sup>a</sup>	۷۸/۵ <sup>a</sup>	۶۴/۶ <sup>a</sup>
پرولين	۶۷/۹ <sup>c</sup>	۲۸۹/۴ <sup>a</sup>	۱۴۴/۸ <sup>d</sup>
تریئوفان*	۱۱۸۷/۰ <sup>a</sup>	۸۶۳/۴ <sup>d</sup>	۷۴۶/۳ <sup>d</sup>
متیونین*	۳۷/۱ <sup>a</sup>	۳۹/۳ <sup>a</sup>	۲۴/۷ <sup>a</sup>
والین*	۱۰۵/۰ <sup>a</sup>	۹۱/۰ <sup>a</sup>	۶۷/۵ <sup>d</sup>
فیل آلانین*	۸۹/۳ <sup>a</sup>	۹۰/۳ <sup>a</sup>	۶۲/۵ <sup>d</sup>
ایزولوسین*	۶۴۶/۳ <sup>a</sup>	۵۱۵/۸ <sup>d</sup>	۴۳۲/۷ <sup>c</sup>
لوسین*	۱۶۲/۶ <sup>a</sup>	۱۱۷/۶ <sup>d</sup>	۹۳/۴ <sup>d</sup>
آلفا- آمینو بوتیریک اسید	۹۴۹/۰ <sup>a</sup>	۶۳۵/۵ <sup>d</sup>	۴۹۸/۰ <sup>c</sup>
مجموع اسيدهای آمينه ضروری	۶۳۵۸/۹	۶۳۶۱/۲	۵۴۹۵/۹
مجموع اسيدهای آمينه غیر ضروری	۸۳۳۱/۵	۹۷۴۸/۱	۶۳۹۸/۳
مجموع کل اسيدهای آمينه	۱۶۵۸۸/۴	۱۷۳۸۰/۳	۱۲۸۹۰/۲

\*: اسيدهای آمينه ضروری در هر ستون



شکل ۲- سهم نسبی هر یک از اسیدهای آمینه در شکل‌گیری محتوای کل اسیدهای آمینه ارقام کلزا در مرحله گل‌دهی  
Figure 2. Average of individual amino acids concentration in flowering stage of two canola cultivars. Values are expressed as percentage of total leaf amino acids

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × تنش خشکی در مرحله تنش گل‌دهی بر غلظت اسیدهای آمینه مختلف در برگ ژنوتیپ‌های کلزا SLM046 و Cooper

Table 6. Mean comparison of genotype × drought stress interaction in flowering stage on different amino acids concentration of leaves of two canola cultivars (SLM046 and Cooper)

میانگین اسیدهای آمینه (ماکرومول بر گرم ماده تازه)		تنش گل‌دهی		بدون تنش		نوع اسید آمینه
تنش گل‌دهی	بدون تنش	Cooper	SLM046	Cooper	SLM046	
۲۲۰/۳ <sup>a</sup>	۱۴۴/۵ <sup>b</sup>	۲۴۹/۱ <sup>a</sup>	۱۹۲/۴ <sup>ab</sup>	۱۲۹/۱ <sup>b</sup>	۱۵۹/۸ <sup>b</sup>	اسپارتیک اسید
۵۵۵/۴ <sup>a</sup>	۳۸۴/۶ <sup>b</sup>	۴۶۶/۸ <sup>ab</sup>	۶۴۴/۰ <sup>a</sup>	۴۴۲/۲ <sup>ab</sup>	۳۲۵/۹ <sup>d</sup>	گلوتامیک اسید
۳۷۷/۳ <sup>a</sup>	۲۱۶/۳ <sup>b</sup>	۳۹۳/۱ <sup>a</sup>	۳۶۱/۶ <sup>ab</sup>	۲۵۴/۰ <sup>bc</sup>	۱۷۸/۶ <sup>c</sup>	اسپارازین
۶۸۱/۰ <sup>b</sup>	۸۰۶/۰ <sup>a</sup>	۶۹۱/۰ <sup>a</sup>	۶۷۱/۱ <sup>a</sup>	۷۸۷/۲ <sup>a</sup>	۸۲۴/۸ <sup>a</sup>	سرین
۱۲۴۵/۱ <sup>a</sup>	۵۶۹/۹ <sup>d</sup>	۱۰۷۲/۹ <sup>d</sup>	۱۴۱۷/۳ <sup>ad</sup>	۶۱۸/۶ <sup>c</sup>	۵۲۱/۲ <sup>c</sup>	گلوتامین
۷۱۹/۸ <sup>a</sup>	۵۷۸/۷ <sup>d</sup>	۶۸۳/۴ <sup>ab</sup>	۷۵۶/۳ <sup>a</sup>	۶۵۷/۱ <sup>ad</sup>	۵۰۰/۴ <sup>d</sup>	هیستیدین
۳۳۳/۹ <sup>a</sup>	۱۵۵/۰ <sup>d</sup>	۲۶۵/۵ <sup>d</sup>	۴۰۲/۳ <sup>a</sup>	۱۲۷/۸ <sup>c</sup>	۱۸۲/۱ <sup>bc</sup>	گلاسیسین
۳۱۷/۲ <sup>a</sup>	۲۴۰/۵ <sup>b</sup>	۳۵۵/۱ <sup>a</sup>	۲۹۹/۳ <sup>ab</sup>	۲۵۹/۲ <sup>ab</sup>	۲۲۱/۸ <sup>d</sup>	ترئونین
۳۸۴/۰ <sup>a</sup>	۴۳۴/۶ <sup>a</sup>	۴۷۰/۳ <sup>ab</sup>	۲۹۷/۶ <sup>bc</sup>	۶۰۵/۳ <sup>a</sup>	۲۶۳/۹ <sup>c</sup>	لیزین
۶۸/۵ <sup>a</sup>	۶۲/۹ <sup>a</sup>	۶۵/۱ <sup>a</sup>	۷۲/۰ <sup>a</sup>	۵۹/۳ <sup>a</sup>	۶۶/۵ <sup>a</sup>	آرژینین
۳۵۳/۴ <sup>a</sup>	۳۵۳/۳ <sup>ad</sup>	۳۲۳/۱ <sup>a</sup>	۲۸۳/۳ <sup>a</sup>	۲۸۴/۴ <sup>a</sup>	۳۳۰/۳ <sup>a</sup>	سیستئین
۱۳۶/۲ <sup>d</sup>	۳۶۷/۸ <sup>a</sup>	۱۳۴/۹ <sup>d</sup>	۱۳۷/۵ <sup>d</sup>	۳۹۳/۲ <sup>a</sup>	۳۴۲/۵ <sup>a</sup>	آلانین
۷۳/۴ <sup>a</sup>	۶۳/۲ <sup>a</sup>	۵۷/۳ <sup>c</sup>	۸۹/۴ <sup>c</sup>	۵۳/۰ <sup>c</sup>	۷۳/۴ <sup>d</sup>	تیروزین
۵۸۴/۲ <sup>a</sup>	۱۰۵/۹ <sup>b</sup>	۵۹۴/۰ <sup>a</sup>	۵۷۴/۴ <sup>a</sup>	۱۰۶/۹ <sup>b</sup>	۱۰۴/۴ <sup>b</sup>	پرولین
۴۷۷/۰ <sup>d</sup>	۹۱۵/۴ <sup>a</sup>	۴۸۴/۸ <sup>d</sup>	۴۶۹/۱ <sup>d</sup>	۱۰۳۸/۸ <sup>a</sup>	۷۹۲/۰ <sup>ab</sup>	تریپتوفان
۳۵/۷ <sup>a</sup>	۱۸/۸ <sup>b</sup>	۲۵/۲ <sup>b</sup>	۴۶/۳ <sup>a</sup>	۱۴/۲ <sup>c</sup>	۲۳/۳ <sup>bc</sup>	متیونین
۷۴/۷ <sup>a</sup>	۸۲/۳ <sup>a</sup>	۶۵/۶ <sup>b</sup>	۸۳/۳ <sup>ab</sup>	۵۲/۶ <sup>d</sup>	۱۱۱/۹ <sup>a</sup>	والین
۸۹/۸ <sup>a</sup>	۷۳/۱ <sup>d</sup>	۷۰/۳ <sup>bd</sup>	۱۰۹/۳ <sup>a</sup>	۵۵/۳ <sup>c</sup>	۹۹/۰ <sup>ad</sup>	فیل آلانین
۱۰۲۵/۵ <sup>a</sup>	۵۶۸/۳ <sup>d</sup>	۶۷۰/۶ <sup>bc</sup>	۱۳۸۰/۴ <sup>a</sup>	۴۶۵/۵ <sup>c</sup>	۶۷۱/۱ <sup>d</sup>	ایزولوسین
۱۱۰/۲ <sup>a</sup>	۹۲/۶ <sup>a</sup>	۹۲/۳ <sup>ab</sup>	۱۲۷/۲ <sup>a</sup>	۷۴/۱ <sup>d</sup>	۱۱۱/۲ <sup>ab</sup>	لوسین
۵۶۳/۰ <sup>d</sup>	۵۱۲/۰ <sup>a</sup>	۴۹۹/۰ <sup>a</sup>	۶۲۶/۰ <sup>a</sup>	۴۷۰/۰ <sup>a</sup>	۵۵۴/۰ <sup>a</sup>	الف-آمینو بوتیریک اسید
۳۳۰۲/۴	۳۰۷۱/۲	۲۹۶۳/۷	۳۶۴۱/۰	۳۲۸۱/۴	۲۸۶۰/۹	مجموع اسیدهای آمینه ضروری
۴۵۶۰/۷	۳۱۷۰/۴	۴۲۴۷/۸	۴۸۳۳/۷	۳۲۹۷/۴	۳۰۴۲/۴	مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری
۸۴۲۶/۱	۶۷۵۲/۶	۷۷۱۰/۵	۹۱۴۰/۷	۷۰۸۸/۸	۶۴۵۸/۳	مجموع اسیدهای آمینه

\*: اسیدهای آمینه ضروری. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

تنش می‌تواند به بهبود عملکرد گیاه کمک کند.

### تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر سید علی طباطبائی، استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد و سرکار خانم مهندس اکرم غفاری مسئول آزمایشگاه بخش فیزیولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، صمیمانه کمال تشکر را داریم.

نتایج تجمع معنی‌دار اسیدهای آمینه آسپاراتیک اسید، آسپاراژین، گلوتامین، لیزین، سیستئین، تریپتوفان و فنیل‌آلانین تحت شرایط تنش در مرحله ساقه‌رفتن و تجمع اسیدهای آمینه گلوتامین، گلايسين، تیروزین، متیونین، فنیل‌آلانین و ایزولوسین تحت تنش در مرحله گل‌دهی در ژنوتیپ متحمل SLM046 را نشان داد. درحالی‌که هیچ تجمع معنی‌داری از اسیدهای آمینه در ژنوتیپ حساس Cooper تحت شرایط تنش خشکی مشاهده نشد. بنابراین مشاهده می‌شود تجمع اسیدهای آمینه در شرایط

### منابع

1. Aebi, H.E. 1983. Catalase. In: Methods of enzymatic analysis. 3rd ed. Vol.3 eds. By Bergmeyer H.U., Bergmeyer J., Grabi M. 273-282, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Germany.
2. Ahmed, I.M., F. Cao, Y. Han, U.A. Nadira, G. Zhang and F. Wu. 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. Food Chemistry, 141: 2743-2750.
3. Anjum, S.A., M. Farooq, X. Xie, X. Liu and M.F. Ijaz. 2012. Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought. Scientia Horticulturae, 140: 66-73.
4. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.
5. Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology, 50: 601-639.
6. Barnett, N.M., and A.W. Naylor. 1966. Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. Plant Physiology, 41: 1222-1230.
7. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
8. Blum, A. and A. Ebercon. 1976. Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. Crop Science, 16: 428-431.
9. Bohnert, H.J., D.E. Nelson and R.G. Jensen. 1995. Adaptations to environmental stresses. The Plant Cell, 7:1099-1111.
10. Breusegem, F.V., E. Vranova, J.F. Dat and D. Inze. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science, 161: 405-414.
11. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
12. Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidase. Methods in enzymology, 2: 764-775.
13. Crawford, L.A., A.W. Bown, K.E. Breitkreuz and F.C. Cuine. 1994. The Synthesis of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid in Response to Treatments Reducing Cytosolic pH. Plant Physiology, 104: 865-871.
14. Davies, W. J., and Zhang, J. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plant in drying soil. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology, 42: 55-76.
15. De Campos, M.K.F., K. De Carvalho, F.S. De Souza, C.J. Marur, L.F.P. Pereira, J.C.B. Filho and L.G.E. Vieira. 2011. Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline. Environmental and Experimental Botany, 72: 242-250.
16. Delauney, A.J. and D.P. Verma. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. The Plant Journal, 4: 215-223.
17. De ronde J.A., M.H. Spreeth and W.A. Cress. 2000. Effect of antisense L- 1-pyrroline -5-carboxylate reductase transgenic soyabean plants subjected to osmotic and drought stress. Plant Growth Regulation, 32: 13-26.
18. Drossopoulos, J.B., A.J. Karamanos and C.A. Niavis. 1985. Changes in free amino compounds during the development of two wheat cultivars subjected to different degrees of water stress. Annals of Botany, 54: 291-305.
19. Galston, A.W. and R.K. Sawhney. 1990. Polyamines in plant physiology. Plant Physiology, 94: 406-410.
20. Ghobadi, M., S. Taherabadia, M.E. Ghobadi, Gh.R. Mohammadi and S. Jalali-Honarmand. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. Industrial Crops and Products, 50: 29-38.
21. Good, A.G. and S.T. Zaplachinski. 1994. The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. Physiology Plant, 90: 9-14.
22. Graan, T. and J.S. Boyer. 1990. Very high CO<sub>2</sub> partially restores photosynthesis in sunflower at low leaf water potentials. Planta, 181: 378-384.
23. 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.

24. Jiang, Y. and B. Huang. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation contribution No. 00-227-J from Kansas. Agric. Exp. Stn. Crop Science, 41: 436-442.
25. 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.
26. Ketchum, R.E.B., R.C. Warren, L.J. Klima, F. Lopez-Gutierrez and M.W. Nabors. 1991. The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L. Journal Plant Physiology, 137: 368-374.
27. Lal, A. and G.E. Edwards. 1996. Analysis of inhibition of photosynthesis under water stress in the C4 species *Amaranthus cruentus* and *Zea mays*: electron transport, CO<sub>2</sub> fixation and carboxylation capacity. Australian Journal Plant Physiology, 23: 403-412.
28. Liang, J.S., J. Zhang and M.H. Wong. 1997. Can stomata closure caused by xylem ABA explain the inhibition of leaf photosynthesis under soil drying?, Photosynthesis Research, 51: 149-159.
29. Lauer, M.J. and J.S. Boyer. 1992. Internal CO<sub>2</sub> measured directly in leaves. Abscisic acid and low leaf water potential cause opposing effects. Plant Physiology, 98: 1310-1316.
30. Liu, C., Y. Liu, K. Guo, D. Fan, G. Li, Y. Zheng, L. Yu and R. Yang. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plants species in karst habitats of southwestern, China. Environ. Experimental Botany, 71: 174-183.
31. Manivannan, P., C.A. Jaleel, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2008. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. Comptes Rendus Biologies, 331: 418-425.
32. Marur C.J., L. Sodek and A.C. Magalhaes. 1994. Free amino acids in leaves of cotton plants under water deficit. Rev Bras Fisiologia Vegetal, 6: 103-108.
33. Mirzaee M., A. Moieni and F. Ghanati. 2013. Effect of drought stress on proline and soluble sugar content in canola (*Brassica napus* L.) seedlings. Iranian Journal of Biology, 26: 90-98 (In Persian).
34. Nakano, Y. and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant and Cell Physiology, 28: 131-140.
35. Qifuma, S.h., R. Niknam and D.W. Turner. 2006. Responses of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B. juncea* to soil water deficit at different growth stages. Australian Journal of Agricultural Research, 57: 221-226.
36. Rampino, P., S. Pataleo, C. Gerardi, J. Mita and C. Perrotta. 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant Cell and Environment, 29: 2143-2152.
37. Reddy, A. R., K.V. Chaitany and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants Journal Plant Physiology, 161: 1189-1202.
38. Rhoades, J.D., F. Chanduvi and S.M. Lesch. 1999. Soil salinity assessment methods and interpretation of electrical conductivity measurements. Rome, Italy: Food & Agriculture Organization of the UN (FAO).
39. Saeidpour, S. and F. Moradi. 2012. Stress-induced changes in the free amino acid composition of two wheat cultivars with difference in drought resistance. African Journal of Biotechnology, 11: 9559-9565.
40. Sanchez, A., Z.Y. Yang, L. Xu, G.J. Nabel, T. Crews and C.J. Peters. 1998. Biochemical analysis of the secreted and virion glycoproteins of Ebola virus. Journal of Virology, 72: 6442-6447.
41. Showler, A.T., C.O. Cavazos and P.J. Moran. 2007. Dynamics of free amino acid accumulations in cotton leaves measured on different timelines after irrigation. Subtropical Plant Science, 59: 38-55.
42. Showler, A. T. and B.A. Castro. 2010. Influence of drought stress on Mexican rice borer (Lepidoptera: Crambidae) oviposition preference in sugarcane. Crop Protection, 28: 722-727.
43. Singh, T.N., L.G. Paleg and D. Aspinall. 1973. Stress metabolism. I. nitrogen Metabolism and growth in the barley plant during stress. Australian Journal of Biological Sciences, 26: 45-56.
44. Valladares, F. and R.W. Pearcy. 1997. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the *Sclerophyll heteromeles arbutifolia*. Plant Cell Environment, 20: 25-36.
45. Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schraudner, C. Langebartels, M. Van Montagu, D. Inzé and W. Van Camp. 1997. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants. EMBO Journal, 16: 4806-4816.
46. Yang, J., J. Zhang, Z. Huang, Z. Wang, Q. Zhu and L. Liu. 2002. Correlation of cytokinin levels in the endosperms and roots with cell number and cell division activity during endosperm development in rice. Animals of Bot. 90: 369-377.

## Drought Stress Effect on Physiological Parameter and Amino Acids Accumulations in Canola

Hassan Zali<sup>1</sup>, Tahereh Hasanloo<sup>2</sup>, Omid Sofalian<sup>3</sup>, Ali Asghari<sup>3</sup> and Mehrshad Zeinalabedini<sup>4</sup>

1 and 3- PhD Student and Associate Professor, University of Mohaghegh Ardabili

2- Assistant Professor, Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran  
(corresponding author: [Thasanloo@abrii.ac.ir](mailto:Thasanloo@abrii.ac.ir))

4- Assistant professor, Department of Genomics, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran

Received: January 19, 2015

Accepted: February 21, 2015

### Abstract

This experiment was conducted to investigate of drought effect on some physiological parameters and amino acids accumulation in two canola cultivars (SLM046 and Cooper; tolerance and sensitive to water stress, respectively). The experiment was carried out during two growth phase (stem elongation and flowering stage) using irrigation levels consisting of irrigation after 80 mm evaporation from class "A" pan as control, no irrigation from stem elongation stage and flowering stage. The results showed that water stress significantly diminished seed yield, stomata conductance, chlorophyll a and b, carotenoid content and soluble protein content in leaves of both cultivars. Also antioxidant enzyme activity (catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase) were enhanced with drought stress at stem elongation stage, but peroxidase and ascorbate peroxidase activity were decreased at flowering stage. The amino acids of Tryptophane, serine, glutamine and  $\gamma$ -amino butyric acid showed highest abundance of total amino acids at stem elongation stage, also glutamine, isoleucine, serine and histidine revealed highest amount of total amino acids at flowering stage. An increase in contains most of amino acids in response to drought stress at flowering stage was observed. The significant accumulation of aspartic acid, asparagines, glutamine, lysine, cysteine, tryptophan and phenylalanine under drought at elongation stage, and significant accumulation of glutamine, glycine, thytrosine, methionine, phenylalanine and isoleucine under drought at flowering stage were observed in the drought-tolerant SLM046, whereas no were showed the significant accumulation of amino acids in the drought-sensitive Cooper under drought. Thus it can conclude that tolerance of genotypes to drought stress is closely associated with their accumulation of free amino acids.

**Keywords:** Amino Acids, Antioxidante Enzymes, Chlorophyll, Canola, Drought Stress