



به‌زرعی کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۰

صفحه‌های ۱۴-۱

مقاله پژوهشی:

بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداسیونی برای ریشه یک موتانت برنج تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

مریم فروغ^۱، سعید نواب‌پور^{۲*}، اسماعیل ابراهیمی^۳، علی اکبر عبادی^۴، داود کیانی^۵

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
 ۲. دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
 ۳. دانشیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
 ۴. استادیار، مؤسسه تحقیقات برنج ایران، سازمان آموزش و توسعه تحقیقات کشاورزی رشت، رشت، ایران.
 ۵. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱۲/۰۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۹/۰۵

چکیده

در این مطالعه به منظور بررسی پاسخ به تنش شوری، گیاهچه‌های برنج دو رقم هاشمی و لاین پیشرفته موتانت آن در آزمایشی در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تحت شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم قرار داده شدند. نمونه‌برداری از ریشه در زمان‌های سه و شش روز پس از تنش شوری برای بررسی‌های بیوشیمیایی انجام گرفت. آزمایش به صورت کرت‌های خردشده با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت کشت هیدروپونیک اجرا گردید. در شرایط تنش شوری محتوای یون سدیم در ریشه هر دو ژنوتیپ به شدت افزایش یافت، اما این افزایش در ریشه ژنوتیپ موتانت نسبت به والد غیرموتانت به طور معنی‌داری کم‌تر بود. تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری با اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن مشخص کرد که رقم والد تحت تنش اکسیداتیو بیش‌تری بوده است و این نتیجه با میزان بیش‌تر مالون‌دی‌آلدهید مورد تأیید قرار گرفت. ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداسیونی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوریات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکناز نشان از افزایش معنی‌دار این آنزیم‌ها در ریشه ژنوتیپ موتانت داشت. به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که در ژنوتیپ برنج موتانت، جهش (با پرتو دهی گاما) با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداسیونی و سنتز برخی اسمولیت‌ها در بافت ریشه، باعث افزایش تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای نسبت به والد غیرموتانت شد.

کلیدواژه‌ها: اسمولیت، جهش، فعالیت آنزیمی، کلرید سدیم، مالون‌دی‌آلدهید.

Assessment of Antioxidant Responses of a Mutant Rice Root under Salinity Stress in the Seedling Stage

Maryam Forough¹, Saaid Navabpour^{2*}, Esmaeil Ebrahimi³, Ali Akbar Ebad⁴, Davood Kiani⁵

1. M.Sc. Student, Plant Breeding and Biotechnology Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Associate Professor, Plant Breeding and Biotechnology Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Associate Professor, Biotechnology Research Center, Shiraz University, Shiraz, Iran
4. Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran (RRII), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO) Rasht, Rasht, Iran.
5. Research Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Research Department, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bushehr, Iran.

Received: November 26, 2019

Accepted: February 24, 2020

Abstract

In this study, in order to investigate the response to salinity stress, seedlings of two rice kinds, Hashemi and its advanced mutant line, have exposed to 100 mM NaCl as a salinity stress in an experiment, conducted in 2017 at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. For the biochemical investigation, root sampling is performed during three and six days after the salinity stress treatment. The experiment is conducted as a split plot with randomized complete block design with three replications in hydroponic culture. Under salinity stress, the sodium ion content in both genotypes' roots has increased significantly, while this trend is much lower in the root of mutant genotype than wild type. The induced oxidative stress of salinity stress is measured by the amount of hydrogen peroxide, indicating that the wild type is under higher oxidative stress which is confirmed by the higher amount of malondialdehyde. Evaluation of antioxidant enzymes' activity include superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase. It reveals a significant rise in the root of the mutant genotype. Overall, this study shows that mutation in the rice genotype leads to salt tolerance, compared to the wild type, through promoting the activity of oxidative enzymes and the synthesis of some osmolytes in the root tissue.

Keywords: Enzyme activity, malondialdehyde, mutation, osmolytes, sodium chloride

۱. مقدمه

آنتی اکسیداسیونی منجر به تحمل تنش اکسیداتیو می شود (Saeedipour, 2013). به طور کلی، گیاهان متحمل به تنش شوری، پرولین بیش تری را نسبت به گیاهان حساس تجمع می کنند. بنابراین میزان متابولیسم پرولین می تواند معیاری برای تحمل به تنش شوری در گونه های گیاهی باشد (Ashraf & Foolad, 2007).

برنج *Oryza sativa* L. به عنوان یک منبع غذایی مهم برای بیش از نیمی از مردم جهان، یک غله بسیار حساس به تنش شوری محسوب می شود (Grattan et al., 2002). به طور کلی، برنج در سه مرحله جوانه زنی و پنجه زنی و رسیدگی، نسبتاً متحمل به تنش شوری است اما در دو مرحله اوایل رشد گیاهچه ای و زایشی بسیار حساس به تنش شوری است (Singh & Flowers, 2010). با توجه به این که کشت برنج در ایران دارای اهمیت خاص است و از طرفی شوری روزافزون خاک های زراعی تولید این محصول را با مشکل مواجه کرده است (Nabiollahi et al., 2017)، تولید ارقام متحمل به تنش شوری از برنامه های مهم به نژادی محسوب می شود. Kordrostami et al. (2017) در پژوهشی روی تعدادی از ارقام برنج ایرانی تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار در مرحله گیاهچه ای در محیط کشت هیدروپونیک در مقایسه با شرایط بدون تنش مشاهده کردند که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و مالون دی آلدئید به طور معنی داری در ارقام متحمل به شوری افزایش یافتند. در یک پژوهش، Habibollahi et al. (2012) اثر تنش شوری را بر دو رقم برنج ایرانی خزر (رقم حساس) و زاینده رود (رقم متحمل) مطالعه کردند و میزان تجمع پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز را از عوامل مؤثر در تحمل به شوری در برنج معرفی کردند.

یکی از روش های به نژادی گیاهی در ایجاد رقم متحمل به تنش شوری استفاده از جهش زاهای فیزیکی

شوری یکی از تنش های غیرزنده است که در رشد و متابولیسم گیاهان تأثیرگذار است و باعث کاهش بهره وری محصولات کشاورزی می شود (Vaidyanathan et al., 2003). گیاهان در معرض تنش شوری و در اثر احیای اکسیژن به آب با تولید مازاد گونه های فعال اکسیژن مانند رادیکال های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل مواجه می شوند و در چنین شرایطی تنش اکسیداتیو رخ خواهد داد. اگرچه مولکول های فعال اکسیژن به عنوان مولکول های پیام رسان در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژی نقش دارند، اما تولید زیاد این مولکول ها برای گیاهان سمی است و قادرند با متابولیت ها و مولکول های حیاتی سلولی مانند رنگدانه ها، پروتئین ها و DNA واکنش داده و آسیب های سلولی را منجر شوند (Van Breusegem et al., 2006)، هم چنین این مولکول ها با پراکسیداسیون لیپید باعث کاهش انعطاف پذیری غشا و افزایش نفوذ پذیری انتخابی آن می شوند (Verma & Mishra, 2005). گیاهان سازوکارهای دفاعی آنتی اکسیداسیونی علیه صدمات اکسیداتیوی حاصل از گونه های فعال اکسیژن دارند. آنتی اکسیدانت های آنزیمی شامل آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز در تحمل به تنش شوری در گیاهان نقش به سزایی دارند. این آنزیم ها با سمیت زدایی سوپراکسید و پراکسید هیدروژن نقش مهمی را پاسخ به تنش شوری دارند (Gill & Tuteja, 2010). یکی دیگر از مکانسیم های پاسخ به شوری در گیاهان تجمع اسمولیت های سازگار است. در پژوهش های بسیاری مشاهده شده است که تنش شوری باعث تجمع پرولین در سیتوسول سلول (جایی که به طور مؤثر در تنظیم اسمزی شرکت دارد) می شود (Ashraf & Foolad, 2007)، هم چنین پرولین با تنظیم فعالیت های آنزیم های

منبع کبالت ۶۰ (۲۶۰ گری) ایجاد شد و در ارزیابی‌های مزرعه‌ای با شوری هشت دسی‌زیمنس به‌عنوان لاین متحمل به تنش شوری معرفی شده است (Ebadi, 2018). بذرهاى جوانه‌زده شش روزه به یونولیت‌های حاوی محیط کشت یوشیدا (Yoshida *et al.*, 1976) در ژرمیناتور با دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و شرایط روز بلند (هشت ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) برای اجرای آزمایش منتقل شدند. محلول غذایی هر سه روز یک‌بار تعویض شد و اسیدیته محلول به میزان ۵/۷ با محلول هیدروکسید سدیم (NaOH) تنظیم گردید. آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با در سه تکرار اجرا شد. هر تکرار دو کرت اصلی (دو ظرف یونولیت یکی نرمال و یکی تنش) و در کل شش ظرف و هر تکرار در یک طبقه از اتاق رشد قرار داشته است. فاکتور اصلی ترکیب فاکتوریل تنش شوری و زمان نمونه‌برداری و فاکتور فرعی ژنوتیپ بود. دمای اتاق رشد گیاهچه‌های برنج ۲۳ درجه سانتی‌گراد و شرایط نور به‌صورت روزبلند (۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی) تنظیم شد. تنش شوری در دو سطح، شرایط بدون تنش و شرایط تنش شوری و زمان نمونه‌برداری در دو سطح، سه روز پس از اعمال تنش شوری و شش روز پس از اعمال تنش شوری بود. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. پس از شش روز رشد در محیط کشت نرمال تنش شوری با اضافه‌کردن ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌مدت شش روز اعمال شد. نمونه‌برداری اول سه روز و نمونه‌برداری دوم، شش روز پس از اعمال تنش شوری از دو محیط نرمال و شوری و از بافت ریشه‌چه، به‌طوری‌که بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

القایی مانند پرتو گاما می‌باشد (Shu & Lagoda, 2007). به‌دلیل پیچیدگی توارث تحمل به شوری، تلاش برای بهبود تحمل به شوری در گیاهان موفقیت ژنتیکی و فیزیولوژیکی کمی داشته است (Flowers, 2004). یک چالش عجیب در تعریف فنوتیپ تحمل به شوری همواره این بوده است که توصیف‌ها از تغییرات فیزیولوژیکی مربوطه، اغلب براساس مطالعات انجام‌شده روی یک ژنوتیپ و یا مقایسه بین ژنوتیپ غیرمرتبط به هم می‌باشد (Zhu, 2001). با توجه به این پیچیدگی‌ها استفاده‌کردن از لاین‌های ایزوژنیک و یا موتانت که زمینه ژنتیکی مشابهی دارند و تحمل به شوری متفاوتی را نشان می‌دهند روش مناسبی برای بهبود تحمل به شوری در گیاهان می‌تواند باشد (Kiani *et al.*, 2017). از آنجایی‌که سیستم ریشه‌ای گیاه نقش‌های بیولوژیکی مهمی مانند ثابت نگه‌داشتن گیاه در خاک، جذب آب و مواد غذایی، تولید آمینواسیدها، هورمون‌ها، ترشح مواد آلی، آنزیم‌ها و آلکالوئیدهاست و از طرفی اولین اندام گیاهی محسوب می‌شود که در معرض تنش شوری قرار می‌گیرد، از این‌رو می‌تواند برای بررسی بیش‌تر تحمل به تنش شوری در گیاهان مورد توجه قرار گیرد (Bao *et al.*, 2005). در این مطالعه پاسخ‌های بیوشیمیایی ایجادشده در اثر تنش شوری با تأکید بر سیستم آنتی‌اکسیداسیونی در ریشه یک موتانت برنج حاصل از پرتوتابی گاما در مقایسه با والد آن (برنج هاشمی از ارقام حساس به شوری) در مرحله گیاهچه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

در این آزمایش بذرهاى برنج رقم هاشمی به‌عنوان والد حساس (Forough *et al.*, 2019) و لاین‌های موتانت پیشرفته (نسل هفتم) از مؤسسه تحقیقات برنج کشور-رشت تهیه شدند. لاین موتانت با پرتودهی گاما حاصل از

۲.۱. یون‌های سدیم و پتاسیم

زده شد. در ادامه این محلول به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور g ۶۳۰ سانتریفیوژ شد. سپس از محلولی که در فاز بالایی قرار گرفته بود برای تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز از روش Beyer & Fridovich (1987)، فعالیت آنزیم کاتالاز براساس روش Aebi & Lester (1984)، فعالیت آنزیم گلوکاتایون‌ردوکتاز با روش Smith *et al.* (1988) و هم‌چنین برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز از روش Nakano & Asada (1981) استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان پرولین ریشه از روش Bates *et al.* (1973) استفاده شد.

برای صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح معنی‌داری پنج درصد و T-student با نرم‌افزار آماری SAS (9.1) صورت گرفت و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel (2017) انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۳.۱. یون‌های سدیم و پتاسیم

گیاهان در معرض تنش شوری با نمک کلرید سدیم، تحت تأثیر دو مؤلفه تنش شوری شامل تنش اسمزی و سمیت یونی قرار می‌گیرند (Shavrukov, 2012). نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم نشان داد اثرات دوجانبه تنش در ژنوتیپ و زمان نمونه‌برداری در ژنوتیپ سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار آماری بین ترکیبات تیماری، برای غلظت یون سدیم شد، هم‌چنین اثرات سه‌جانبه تنش در زمان نمونه‌برداری در ژنوتیپ سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار آماری برای غلظت یون پتاسیم و نسبت یون سدیم به پتاسیم بین ترکیبات تیماری شد (جدول ۱).

بافت ریشه در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس پودر شد. سپس ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت پودر شده به پنج میلی‌لیتر نیتریک اسید ۵۰۰ میلی‌مولار اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و سپس در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت استخراج شد و محلول از صافی فیلتر عبور داده شد. روش فلیم فتومتر (مدل PF5 zies Carl، آمریکا) برای اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم مورد استفاده قرار گرفت (Williams & Twine, 1960).

۳.۲. پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها

برای این منظور مقدار ۰/۳ گرم از بافت ریشه با ۰/۱ درصد (وزن/حجم) تری کلرواستیک اسید هموزنیزه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با پی‌اچ ۷ و یک میلی‌لیتر از پتاسیم یدید یک مولار اضافه شد. طیف جذبی محلول رویی در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. میزان پراکسید هیدروژن نمونه‌های مختلف براساس منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکسید محاسبه شد (Sagisaka, 1976). مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) شاخصی برای بیان میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد. مقدار مالون‌دی‌آلدئید براساس روش Heath & Packer (1968) تعیین شد.

۳.۳. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی و پرولین

بافت ریشه‌چه به مقدار ۰/۰۵ گرم با نیتروژن مایع پودر گردید و سپس یک میلی‌لیتر از بافر استخراج (۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم با پی‌اچ ۷/۸) اضافه و هم

بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداسیونی برای ریشه یک موتانت برنج تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

جدول ۱. تجزیه واریانس غلظت عناصر سدیم و پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ‌های برنج

| منبع تغییر | درجه آزادی | سدیم | پتاسیم | سدیم / پتاسیم |
|---------------------|------------|-------------|------------|---------------|
| بلوک | ۲ | ۷/۰۳ns | ۱۹/۵۳ns | ۰/۰۰۱ns |
| تنش | ۱ | ۱۰۱۹۸۵/۸۴** | ۳۹۰۰۲/۳۴** | ۴/۸۱** |
| زمان | ۱ | ۵۵۵/۸۴** | ۱۳۲۷/۵۹** | ۰/۱۱** |
| تنش × زمان | ۱ | ۲/۳۴ns | ۷۷۶/۳۴** | ۰/۰۴** |
| خطای ۱ | ۶ | ۱/۶۱ | ۷/۷۸ | ۰/۰۰۰۳ |
| ژنوتیپ | ۱ | ۴۳۳/۵** | ۳۱۳۹/۵۹** | ۰/۰۶۱** |
| تنش × ژنوتیپ | ۱ | ۲۹۴** | ۶۱۵/۰۹** | ۰/۰۴۴** |
| زمان × ژنوتیپ | ۱ | ۱۸/۳۷* | ۳۴۸/۸۴** | ۰/۰۰۶** |
| تنش × زمان × ژنوتیپ | ۱ | ۹/۳۷ns | ۲۰۷/۰۹** | ۰/۰۰۳* |
| خطای ۲ | ۸ | ۲۵/۵ | ۲۱/۷۵ | ۰/۰۰۱ |
| ضریب تغییرات (%) | - | ۲/۳۱ | ۰/۸۵ | ۲/۶۱ |

ns, **, * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

ممانعت از انتقال یون سدیم و پتاسیم در آوند چوبی و انتشار پتاسیم به خارج از ریشه باشد (Khan & Panda, 2008). افزایش یون سدیم و کاهش جذب یون پتاسیم و اختلال در تعادل این یون‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی در زمان تنش شوری مشاهده شده است، به طوری که افزایش تجمع یون سدیم در ریشه ارقام حساس به تنش شوری باعث افزایش صدمه به غشا و تنش اکسداتیو می‌شود و از طرفی دیگر تجمع پایین سدیم در ارقام متحمل به شوری پایداری محیط سلولی را نشان داده است (Sreenivasulu et al., 2000).

گونه‌های فعال اکسیژن یکی از محصولات هستند که همیشه در طی جریان تنفس و فتوسنتز به مقدار کم تولید می‌شوند، اما تولید آن‌ها در شرایط تنش به طور چشم‌گیری افزایش پیدا می‌کند و باعث صدمه به نوکلئیک اسیدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و نشت‌پذیری سلول‌ها می‌شود (Van Breusegem et al., 2006). پراکسید هیدروژن یک گونه فعال اکسیژن محسوب

غلظت یون سدیم در ریشه گیاهچه‌های برنج ژنوتیپ والد و موتانت پس از قرارگرفتن در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کلریدسدیم افزایش نشان داد، اگرچه این افزایش در ژنوتیپ موتانت نسبت به والد به طور معنی‌داری کم‌تر بود، به طوری که میزان یون سدیم در شش روز پس از تنش شوری در ژنوتیپ موتانت نسبت به والد ۰/۸۸ برابر ثبت شد (جدول ۲). از طرفی دیگر میزان یون پتاسیم در زمان تنش شوری در هر دو ژنوتیپ کاهش نشان داد که این میزان کاهش در ژنوتیپ موتانت کم‌تر بود و ژنوتیپ والد (۱۳۲ میکرومول بر گرم وزن تر) نسبت به موتانت (۱۴۶/۵ میکرومول بر گرم وزن تر) در شش روز پس از تنش شوری میزان پتاسیم کم‌تری را نشان داد (جدول ۲). هم‌چنین نسبت سدیم به پتاسیم در ژنوتیپ موتانت نسبت به والد در سه و شش روز پس از اعمال تنش شوری به طور معنی‌داری کم‌تر مشاهده شد (جدول ۲). کاهش غلظت پتاسیم در بافت ممکن است به دلیل رقابت بین سدیم و پتاسیم در غشای سلولی،

می‌شود که تجمع زیاد آن باعث تنش اکسیداتیو می‌شود (Gill & Tuteja, 2010). در این پژوهش با اعمال ۱۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم، میزان پراکسید هیدروژن در تنش شوری افزایش چشم‌گیری یافت. اثر متقابل تنش در زمان منجر به ایجاد اختلاف معنی‌دار آماری ترکیبات تیماری برای میزان پراکسید هیدروژن شد (جدول ۳). در زمان نمونه‌گیری اول به‌طور معنی‌داری میزان پراکسید

هیدروژن در ژنوتیپ والد ۱/۱۳ برابر بیش‌تر از ژنوتیپ موتانت بود، درحالی‌که در نمونه‌گیری دوم بیش‌ترین میزان آن در ژنوتیپ والد ۱/۰۱ (میکرومول بر گرم وزن تازه) بود که در مقایسه با ژنوتیپ موتانت (۰/۹۶) میکرومول بر گرم وزن تازه) اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (شکل ۱-ب). میزان پراکسید هیدروژن می‌تواند شدت تنش شوری را نشان دهد (Lin et al., 2016).

جدول ۲. مقایسه میانگین غلظت عناصر سدیم و پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ‌های برنج

| ژنوتیپ | سه روز پس از شوری | | شش روز پس از شوری | | صفت |
|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|
| | نرمال | شوری | نرمال | شوری | |
| والد | ۷/۲۵ ± ۰/۴۳ (a) f | ۱۴۴ ± ۰/۵۷ (a) b | ۱۸ ± ۱/۱۵ (a) e | ۱۵۶ ± ۱/۱۵ (a) a | (μmol/g FW) Na ⁺ |
| موتانت | ۶/۲۵ ± ۰/۷۲ (a) f | ۱۳۱/۵ ± ۱/۴۴ (b) d | ۱۶ ± ۰/۵۷ e (b) | ۱۳۷/۵ ± ۱/۴۴ c (b) | |
| والد | ۲۲۵ ± ۷۳ ۱/(b) c | ۱۶۰ ± ۰/۵۷ (f) b | ۲۰۸ ± ۱/۷۳ d (b) | ۱۳۲ ± ۱/۱۵ h (b) | (μmol/g FW) K ⁺ |
| موتانت | ۲۴۴/۵ ± ۲/۰۲ (a) a | ۱۷۱ ± ۲/۳ (a) e | ۲۵۴/۵ ± ۰/۲۸ (a) b | ۱۴۶/۵ ± ۰/۸ (a) g | |
| والد | ۰/۰۳ ± ۰/۰ (a) fg | ۰/۸ ± ۰/۰ (a) c | ۰/۰۸ ± ۰/۰ (a) e | ۱/۱۸ ± ۰/۰۱ (a) a | Na ⁺ /K ⁺ |
| موتانت | ۰/۰۲ ± ۰/۰ (a) g | ۰/۷ ± ۰/۰۱ d (b) | ۰/۰۶ ± ۰/۰ ef (b) | ۰/۹۳ ± ۰/۰۱ b (b) | |

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند (LSD=۰/۰۵).

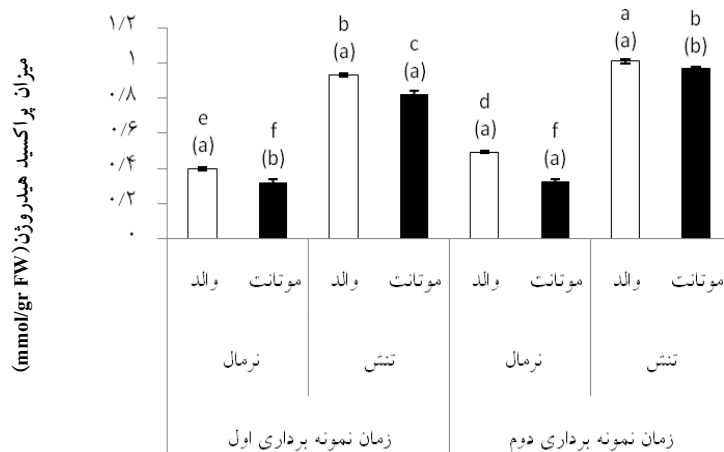
حروف مشترک داخل پرانتز نمایان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین ژنوتیپ والد و موتانت در آن شرایط تنش و زمان نمونه‌برداری است (LSD=۰/۰۵).

جدول ۳. تجزیه واریانس میزان پراکسید هیدروژن و مالوندی‌آلدهید در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ‌های برنج

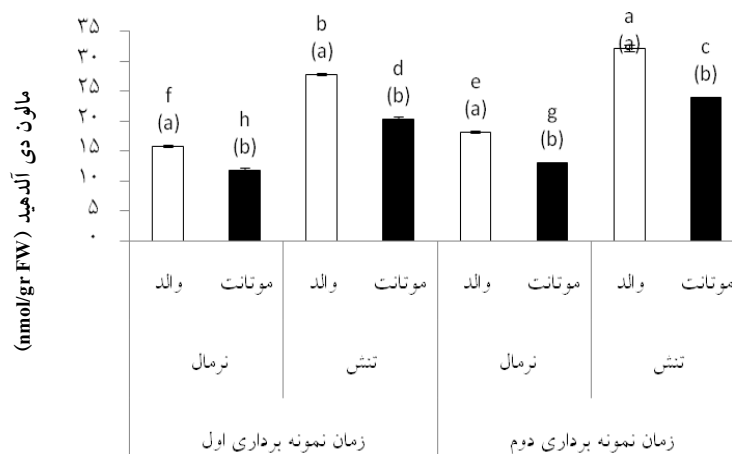
| منبع تغییر | درجه آزادی | پراکسید هیدروژن | مالوندی‌آلدهید |
|---------------------|------------|-----------------|----------------|
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰۰۰۲ns | ۰/۰۱۵ns |
| تنش | ۱ | ۱/۸۰** | ۷۷۱/۲۳** |
| زمان | ۱ | ۰/۰۳۹** | ۵۰/۰۲** |
| تنش × زمان | ۱ | ۰/۰۰۵* | ۷/۰۹** |
| خطای ۱ | ۶ | ۰/۰۰۰۳ | ۰/۴۴ |
| ژنوتیپ | ۱ | ۰/۰۵۸** | ۲۳۳/۴۳** |
| تنش × ژنوتیپ | ۱ | ۰/۰۰۲** | ۱۶/۰۸** |
| زمان × ژنوتیپ | ۱ | ۰/۰۰۰۲ns | ۱/۱۴* |
| تنش × زمان × ژنوتیپ | ۱ | ۰/۰۰۰۹ns | ۰/۰۷۵ns |
| خطای ۲ | ۸ | ۰/۰۰۰۶ | ۰/۱۹ |
| ضریب تغییرات (/.) | - | ۳/۸۷ | ۲/۱۸ |

ns، * و ** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد و نبود اختلاف معنی‌دار.

بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداسیونی برای ریشه یک موتانت برنج تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای



(الف)



(ب)

شکل ۱. مقایسه میانگین غلظت پراکسید هیدروژن (الف) و مالون‌دی‌آلدئید (ب) در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ‌های برنج. میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند ($LSD=0/05$). حروف مشترک خارج پراکنش نمایانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین ژنوتیپ والد و موتانت در آن شرایط تنش و زمان نمونه‌برداری است ($LSD=0/05$).

بیش‌ترین سطح پراکسیداسیون لیپید در شش روز پس از تنش شوری در ریشه برنج ژنوتیپ والد (۳۲/۱ نانومول بر گرم وزن تازه) نسبت به موتانت (۲۳/۹ نانومول بر گرم وزن تازه) مشاهده شد (شکل ۱-الف). با این نتایج می‌توان بیان کرد که صدمات حاصل از گونه‌های فعال اکسیژن به غشا در ژنوتیپ والد بیش‌تر بوده است. در یک مطالعه گیاهچه‌های برنج که میزان مالون‌دی‌آلدئید کم‌تری داشتند،

۲.۳. پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها

تغییر در پراکسیداسیون لیپیدها ناشی از صدمه رادیکال‌های فعال اکسیژن به لیپیدهای موجود در غشا بوده و در نتیجه آن یکپارچگی غشای سلول‌های گیاهی از بین می‌رود (Verma & Mishra, 2005). میزان پراکسیداسیون لیپید با تجمع مالون‌دی‌آلدئید همراه است که در این مطالعه در تنش شوری بیش‌ترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید به بیانی دیگر

نمک کلرید سدیم افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ موتانت در شش روز پس از تنش شوری مشاهده شد، به طوری که این میزان ۱/۵ برابر بیش تر از فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ والد بود (جدول ۵). این افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش میزان پراکسید هیدروژن هماهنگی نداشت (شکل ۱-ب). این رخداد می تواند در اثر فعالیت سایر آنزیم ها آنتی اکسیدانتی برای جاروب کردن پراکسید هیدروژن باشد، به طوری که ژنوتیپ موتانت در شش روز پس از اعمال تنش شوری فعالیت آنزیم بیش تر و میزان پراکسید هیدروژن کم تری را نشان داد. در گندم (Wang et al., 2016) نشان داده شده است که افزایش بیان سوپراکسید دیسموتاز باعث افزایش تحمل به تنش شوری شده است.

۳.۳. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی و پرولین

کاتالاز آنزیم بسیار مهمی محسوب می شود که با کاتالیز کردن تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن سلول ها را از خطر اکسیداتیو حفظ می کند (Gill & Tuteja, 2010).

تحمل بیش تری به تنش شوری رانشان دادند (Chutipaijit et al., 2009). همچنین در گزارش های دیگر در گیاهان متحمل به تنش شوری مانند کنجد (Koca et al., 2007) نشان داده شده است که میزان مالون دی آلدیید می تواند به عنوان یک نشانگر از تنش اکسیداتیو باشد. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری از مکانیسم های آنتی اکسیدانتی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می کنند. میزان فعالیت آنتی اکسیدانت ها تعیین کننده میزان تنش اکسیداتیو هستند و همبستگی مثبتی با میزان تحمل به تنش شوری دارد (Kaya et al., 2018). سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیم از آنزیم های آنتی اکسیدانتی است که رادیکال های اکسیژن را دیسموتاز می کند و به پراکسید هیدروژن تبدیل می کند (Schnell & Clair, 2014). براساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل سه جانبه تنش در زمان نمونه برداری در ژنوتیپ عامل ایجاد کننده اختلاف معنی دار آماری بین ترکیبات تیماری برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بود (جدول ۴). فعالیت این آنزیم با افزایش شوری به میزان ۱۰۰ میلی مولار

جدول ۴. تجزیه واریانس میزان آنزیم های آنتی اکسیدانتی و پرولین در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ های برنج.

| منبع تغییر | درجه آزادی | سوپراکسید دیسموتاز | آسکوربات پراکسیداز | گلوکاتایون ردوکتاز | کاتالاز | پرولین |
|---------------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|----------|
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰۱ns | ۰/۰۰۰۴ns | ۰/۰۰۰۱ns | ۰/۴۷ns | ۰/۰۰۱* |
| تنش | ۱ | ۲۷۷/۴۴** | ۰/۲۸** | ۸۵۶/۸۱** | ۷۰۷/۹۶* | ۰/۰۰۹** |
| زمان | ۱ | ۱۰/۱۴** | ۰/۰۸** | ۱۲۵/۵۸** | ۰/۹ns | ۰/۰۰۶** |
| تنش × زمان | ۱ | ۰/۰۹ns | ۰/۰۰۴* | ۶/۶۱ns | ۹۶/۶** | ۰/۰۰۰۱ns |
| خطای ۱ | ۶ | ۰/۰۷۲ns | ۰/۰۰۰۱ns | ۰/۹۳ns | ۱/۴۵* | ۰/۰۰۰۱ns |
| ژنوتیپ | ۱ | ۲۴/۳۷** | ۰/۳۶** | ۹۱۱/۴۳** | ۳۴۷/۷** | ۰/۱۳** |
| تنش × ژنوتیپ | ۱ | ۹/۴۳** | ۰/۲۵** | ۵۵/۸۱** | ۵۵/۳۵** | ۰/۱۵** |
| زمان × ژنوتیپ | ۱ | ۳۵/۲۸** | ۰/۰۶** | ۲۸/۳۸** | ۱۰/۳۳** | ۰/۰۱۶** |
| تنش × زمان × ژنوتیپ | ۱ | ۱۶/۳۳** | ۰/۰۴۸** | ۴/۳۳** | ۰/۰۲ns | ۰/۰۰۹** |
| خطای ۲ | ۸ | ۰/۳۸ | ۰/۰۰۰۶ | ۲/۲۶ | ۲/۳۶ | ۰/۰۰۰۲ |
| ضریب تغییرات (%) | - | ۵/۰۹ | ۶/۴۶ | ۲/۳۱ | ۱/۸۰ | ۴/۲۳ |

ns و ** نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح یک و پنج درصد و نبود اختلاف معنی دار.

بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداسیونی برای ریشه یک موتانت برنج تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

اثرات جهش بر ژنوتیپ موتانت مربوط دانست. از طرفی کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در شش روز پس از اعمال تنش شوری در مقایسه با سه روز پس از اعمال تنش شوری ممکن است به دلیل به‌وجود آمدن عوامل بازدارنده فعالیت آنزیم کاتالاز مانند اسیدسالیسیلیک باشد. این اثر می‌تواند با تولید مقادیر بیش‌تر ترکیبات فنولی نیز در ارتباط باشد، زیرا یکی از مسیرهای سنتز اسیدسالیسیلیک به‌عنوان عامل بازدارنده فعالیت آنزیم کاتالاز مسیر آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز به‌عنوان سرآغاز سنتز فنول‌ها می‌باشد (Jayakannan *et al.*, 2015). در ارتباط با آنزیم اسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ والد نیز با افزایش زمان تنش و افزایش میزان پراکسید هیدروژن کاهش فعالیت مشاهده شد، که با نتایج فعالیت کاتالاز و احتمال نقش اسیدسالیسیلیک هماهنگ بود. اما در ژنوتیپ موتانت کاهش فعالیت اسکوربات‌پراکسیداز در زمان شش روز پس از اعمال تنش مشاهده نشد. بازدارندگی اسیدسالیسیلیک بر آنزیم اسکوربات‌پراکسیداز به غلظت و میزان پراکسید هیدروژن ارتباط داده شده است.

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم کاتالاز اثرات دوجانبه تنش در زمان نمونه‌برداری، تنش در ژنوتیپ و زمان نمونه‌برداری در ژنوتیپ را عامل ایجادکننده اختلاف معنی‌دار آماری معرفی نمود (جدول ۵). نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که ژنوتیپ موتانت در هر دو شرایط نرمال و شوری میزان بیش‌تری برای فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به ژنوتیپ والد داشته است و در شرایط تنش شوری اختلاف معنی‌دار آماری را نشان داد (جدول ۵). بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سه روز پس از تنش شوری در ژنوتیپ موتانت به مقدار $43/75$ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین ثبت گردید و در شش روز پس از شوری میزان فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ موتانت کاهش یافت ($38/1$ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) اما این میزان فعالیت کاتالاز در مقایسه با ژنوتیپ والد ($28/7$ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) بیش‌تر بود و اختلاف معنی‌دار آماری را نشان داد (جدول ۵). بالاتر بودن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط نرمال در مقایسه با ژنوتیپ والد را می‌توان به

جدول ۵. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ‌های برنج

| ژنوتیپ | سه روز پس از تیمار شوری | | شش روز پس از تیمار شوری | | صفت |
|--------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|---|
| | نرمال | شوری | نرمال | شوری | |
| والد | $7/4 \pm 0/05$ f (b) | $11/8 \pm 0/11$ c (b) | $7/8 \pm 0/17$ f (b) | $9/15 \pm 0/37$ (b) e | سوپراکسید دیسموتاز (Unit-mg-protein) |
| موتانت | $8/95 \pm 0/25$ (a) e | $17/9 \pm 0/17$ b (a) | $10/9 \pm 0/17$ d (a) | $23/4 \pm 0/51$ (a) a | |
| والد | $19/95 \pm 0/08$ f (b) | $31/85 \pm 0/77$ c (b) | $24/95 \pm 0/08$ (b) e | $28/7 \pm 0/17$ (b) d | کاتالاز (micromole-min-mg protein) |
| موتانت | $25/9 \pm 0/4$ (a) e | $43/75 \pm 0/95$ a (a) | $28/15 \pm 0/14$ d (a) | $38/1 \pm 0/4$ (a) b | |
| والد | $0/21 \pm 0/0$ (b) e | $0/34 \pm 0/0$ d (b) | $0/34 \pm 0/0$ (b) d | $0/24 \pm 0/0$ (b) e | آسکوربات پراکسیداز (nmol-min-mg protein) |
| موتانت | $0/24 \pm 0/0$ e (a) | $0/6 \pm 0/02$ (a) b | $0/4 \pm 0/0$ c (a) | $0/8 \pm 0/02$ a (a) | |
| والد | $11/25 \pm 0/4$ (b) g | $19/95 \pm 0/08$ (b) e | $13/45 \pm 0/37$ (b) f | $22/55 \pm 0/54$ d (b) | گلوکاتایون ردوکاتاز (nmol-min-mg protein) |
| موتانت | $19/2 \pm 0/4$ (a) e | $23/3 \pm 0/51$ b (a) | $24/05 \pm 0/31$ (a) c | $40/95 \pm 0/20$ (a) a | |

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند ($LSD=0/05$).

حروف مشترک داخل پرانتز نمایان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین ژنوتیپ والد و موتانت در آن شرایط تنش و زمان نمونه‌برداری است ($LSD=0/05$).

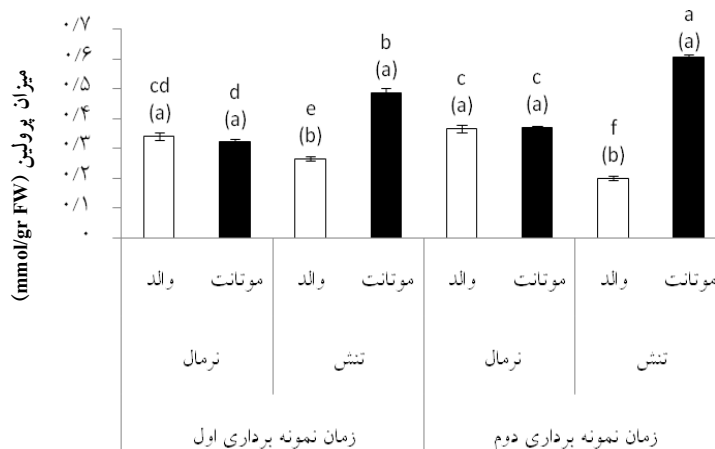
موتانت برنج فعالیت کم تر آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در ارتباط با میزان پراکسیداسیون لیپیدها می باشد. محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدها قادرند با گلوکاتایون پیوند خودبه خودی برقرار کنند و فعالیت آنزیم هایی مانند گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکاتایون اس ترانسفراز را کاهش دهند. در این پژوهش نیز هماهنگی بین میزان بالای پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز مشاهده گردید (Hazman et al., 2015).

آسکوربات پراکسیداز آنزیمی است که کاهش پراکسید هیدروژن را کاتالیز می کند و یک همبستگی مثبتی بین فعالیت این آنزیم و میزان تحمل به تنش اکسیداتیو وجود دارد (Gill & Tuteja, 2010). در مطالعه حاضر، نتایج فعالیت این آنزیم حاکی از آن بود که با افزایش مدت زمان تنش شوری میزان فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ موتانت در روز سوم پس از تنش شوری از ۰/۶ به ۰/۸۸ نانومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین و در روز ششم پس از استفاده ۱۰۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم به محیط کشت هیدروپونیک رسید و این فعالیت از ۰/۳۴ به مقدار ۰/۲۴ نانومول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین در ژنوتیپ والد بود (جدول ۵). در این مطالعه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی در ژنوتیپ موتانت نسبت به ژنوتیپ والد اختلاف معنی دار آماری را نشان داد. میزان پراکسید هیدروژن در ژنوتیپ موتانت نسبت به ژنوتیپ والد نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی در پاک سازی سلول از پراکسید هیدروژن به ویژه در زمان تنش شوری بیش تر مؤثر بوده است. اگرچه میزان پراکسید هیدروژن در ژنوتیپ موتانت در سه روز پس از اعمال تنش شوری به صورت معنی داری کم تر از والد بود، اما این کاهش در شش روز پس از تنش شوری اختلاف معنی دار آماری را نشان نداد.

از این رو، ممکن است دلیل کاهش نیافتن فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ موتانت به میزان کم تر تنش وارد شده و میزان کم تر پراکسید هیدروژن ارتباط داشته باشد. هر چند این موارد به بررسی دقیق تر نیازمند است و به صورت یک احتمال مطرح شده است. (Habibollahi et al 2012) میزان تجمع پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز را از عوامل مؤثر در تحمل به شوری در برنج معرفی کردند.

گلوکاتایون ردوکتاز هم به عنوان یکی دیگر از آنزیم های آنتی اکسیدانتی نقش مهمی در پاک سازی پراکسید هیدروژن دارد (Gill & Tuteja, 2010). نقش گلوکاتایون ردوکتاز در پاک سازی گونه های فعال اکسیژن در مسیر Halliwell/Asada در سلول های گیاهی شناخته شده است. گلوکاتایون ردوکتاز در مسیر آسکوربات- گلوکاتایون نقش مهمی در در بالا نگاه داشتن نسبت GSH به GSSG دارد، که برای تولید دوباره آسکوربات ضروری می باشد و هم چنین میزان بالای GSH نقش مهمی در تحمل به تنش اکسیداتیو دارد (Meloni et al., 2003). آنالیز آماری نشان داد که اختلاف معنی داری برای فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در دو ژنوتیپ والد و موتانت در هر دو شرایط نرمال و تنش وجود دارد. اثر سه جانبه تنش در زمان نمونه برداری در ژنوتیپ عامل ایجادکننده این اختلاف معنی دار آماری بود (جدول ۴). به طور کلی، میزان فعالیت این آنزیم در شش روز پس از تنش شوری در ژنوتیپ موتانت حدود دو برابر نسبت به ژنوتیپ والد افزایش فعالیت داشته است که نشان دهنده واکنش بهتر به شوری در ژنوتیپ موتانت است (جدول ۵). Broadbent et al. (1995) مشاهده کردند که در گیاه تنباکوی تراریخته افزایش بیان ژن گلوکاتایون ردوکتاز تحمل به تنش شوری را افزایش داده بود. در یک مدل پیشنهادی برای یک

بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداسیونی برای ریشه یک موتانت برنج تحت تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای



شکل ۲. مقایسه میانگین پرولین در شرایط تنش شوری و ژنوتیپ‌های برنج. میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند ($LSD=0/05$). حروف مشترک داخل پرانتز نمایان‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین ژنوتیپ والد و موتانت در آن شرایط تنش و زمان نمونه‌برداری است ($LSD=0/05$).

بررسی هفده رقم برنج ایتالیایی در مرحله گیاهچه‌ای نشان دادند که بین میزان پرولین با میزان تحمل به تنش شوری همبستگی وجود داشت.

۴. نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر پاسخ‌های سیستم آنتی‌اکسیدانتی در ریشه یک موتانت پیشرفته برنج حاصل از پرتوتابی گاما در مقایسه با والد آن (برنج هاشمی از ارقام حساس به شوری) در مرحله گیاهچه‌ای را مورد بررسی قرار داد. تنش شوری دارای دو مؤلفه تنش اسمزی و سمیت یونی است که گیاه را دچار مشکل می‌کند. با توجه به زمان‌های نمونه‌برداری گیاه در این زمان‌ها وارد فاز تنش یونی شده است. البته در این شرایط هم‌چنان تنش اسمزی وجود دارد. نتایج این پژوهش، غلظت پایین‌تر یون سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم و غلظت بیش‌تر یون پتاسیم را در ژنوتیپ موتانت در مقایسه با ژنوتیپ والد نشان داد. در پژوهش حاضر در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار

در بررسی پاسخ به تنش شوری در ژنوتیپ جو موتانت ژنوتیپ والد نیز مشاهده کردند که با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز به‌طور قابل توجهی مقدار پراکسید هیدروژن در تنش شوری در ژنوتیپ موتانت کاهش داده است که مبنی بر واکنش بهتر تحمل به تنش شوری در جو موتانت بود. افزایش میزان پرولین در ژنوتیپ موتانت نسبت به والد در زمان تنش شوری اختلاف معنی‌داری را نشان داد و عامل اثر متقابل سه‌جانبه تنش در زمان نمونه‌برداری در ژنوتیپ این اختلاف را ایجاد کرد (جدول ۴). در سه و شش روز پس از اعمال تنش شوری میزان پرولین در ژنوتیپ موتانت اختلاف معنی‌دار آماری را با ژنوتیپ والد نشان داد (شکل ۲). نقش دوگانه پرولین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت که سلول‌ها را از اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن حفاظت می‌کند (Kibria et al., 2017) و از طرف دیگر به‌عنوان یک اسمولیت مانع از تنش اسمزی در تنش شوری می‌شود (Kibria et al., 2017). Forlani et al. (2017) با

- Beyer, W. F., & Fridovich, I (1987). Assaying for superoxide dismutase activity, some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161, 559-566. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90489-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90489-1)
- Broadbent, P., Creissen, G. P., Kular, B., Wellburn, A. R. & Mullineaux, P. M. (1995). Oxidative stress responses in transgenic tobacco containing altered levels of glutathione reductase activity. *The plant journal*, 8, 247-255. 10.1046/j.1365-313X.1995.08020247.x
- Chutipaijit, S., Cha-Um, S., & Somponpailin, K. (2009). Differential accumulation of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 2497-2506.
- Ebadi, A. A. (2018) Evaluation of rice mutant lines under drought stress. Final report of the research method. Registration number 53323. Agricultural Research, Training and Extension Center.
- Flowers, T. J. (2004) Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55, 307-319.
- Forlani, G., Bertazzini, M., & Cagnano, G. (2018). Stress-driven increase in proline levels, and not proline levels themselves, correlates with the ability to withstand excess salt in a group of 17 Italian rice genotypes. *Plant Biology*, 2, 336-342. [10.1111/plb.12916](https://doi.org/10.1111/plb.12916).
- Forough, M., Navabpour, S., Ebrahimie, E., Ebadi, A., & Kiani, D. (2018). Evaluation of salinity response through the antioxidant defense system and osmolyte accumulation in a mutant rice. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 6(2), 27-37. [doi, 10.22058/jpmb.2019.114746.1192](https://doi.org/10.22058/jpmb.2019.114746.1192)
- Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 48, 909-930. [10.1016/j.plaphy.2010.08.016](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016).
- Grattan, S. R., Zeng, L., Shannon, M. C & Roberts, S. R. (2002). Rice is more sensitive to salinity than previously thought. 2002. *California Agriculture*, 56, 189-195. <https://doi.org/10.3733/ca.v056n06p189>
- Habibollahi, N., Mahdijeh, M., & Amirjani, M.R. (2012). Effect of salt stress on growth, proline, antioxidant enzyme activity and photosystem II efficiency in salt-sensitive and -tolerant rice cultivars. *Journal of Plant Biology*, 13, 1-7 (Persian).
- Hazman, M., Hause, B., Eiche, E., Nick, P., & Riemann, M. (2015). Increased tolerance to salt stress in OPDA-deficient rice ALLENE OXIDE CYCLASE mutants is linked to an increased ROS-scavenging activity. *Journal of Experimental Botany*, 66, 3339-3352. [10.1093/jxb/erv142](https://doi.org/10.1093/jxb/erv142)
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)

کلریسدیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی افزایش معنی‌داری آماری در ژنوتیپ موتانت در مقایسه با ژنوتیپ والد نشان داد، که می‌توان این‌گونه برداشت کرد که جهش به‌طور مؤثری در سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی این ژنوتیپ موتانت برنج تأثیر داشته است و سبب شده است که ژنوتیپ موتانت از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توان بیش‌تری در مقابل تنش شوری به‌دست آورد. هم‌چنین میزان پرولین به‌عنوان عوامل آنتی‌اکسیداتی غیرآنزیمی میزان بیش‌تری را در ژنوتیپ موتانت در مقایسه با ژنوتیپ والد نشان داد. نتایج حاصل می‌تواند دیدگاه و شاخص‌های مناسبی را برای پژوهش‌گران به‌نژادی گیاهی برای تولید ارقام متحمل به تنش شوری در برنج آشکار نماید.

۵. تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

- Aebi, H., & Lester, P. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>
- Bao, J. Y., Lee, S., Chen, C., Zhang, X. Q., Zhang, Y., Liu, S. Q., Clark, T., Wang, J., Cao, M. L & Yang, H. M. (2005). Serial analysis of gene expression study of a hybrid rice strain (*LYP9*) and its parental cultivars. *Plant Physiology*, 138, 1216-1231. [10.1104/pp.105.060988](https://doi.org/10.1104/pp.105.060988)
- Bates, L. S., Waldren, B. P & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline of water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>

- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z., & Shabala, S. (2015). Salicylic acid in plant salinity stress signaling and tolerance. *Plant growth regulation*, 76, 25-40.
- Kaya, C., Akram, N., Ashraf, M., & Sonmez, O. (2018). Exogenous application of humic acid mitigates salinity stress in maize (*Zea mays* L.) plants by improving some key physico-biochemical attributes. *Cereal Research Communications*, 46, 67-78. [10.1556/0806.45.2017.064](https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.064)
- Khan, M. H. & Panda, S. K. (2008). Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 81-89. [10.1007/s11738-007-0093-7](https://doi.org/10.1007/s11738-007-0093-7)
- Kiani, D., Soltanloo, H., Ramezanzpour, S. S., Nasrolahnezhad Qumi, A. A., Yamchi, A., Zaynali Nezhad, Kh., & Tavakol, E. (2017). A barley mutant with improved salt tolerance through ion homeostasis and ROS scavenging under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 90. [10.1007/s11738-017-2359-z](https://doi.org/10.1007/s11738-017-2359-z)
- Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y., & Anamul Hoque, M. D. (2017). Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. *Rice Science*, 24, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2017.05.001>
- Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., & Türkan, I. (2007). The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 344-51. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.12.005>
- Kordrostami, M., Rabiei, B. & Kumleh, H.H. (2017). Different physiobiochemical and transcriptomic reactions of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in terms of salt sensitivity under salinity stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 7184. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8411-0>
- Lin, K.C., Jwo, W.S., Chandrika, N., Wu, T.M., Lai, M.H., Wang, C.S., & Hong C.Y. (2016). A rice mutant defective in antioxidant-defense system and sodium homeostasis possess increased sensitivity to salt stress. *Biologia Plantarum*, 60, 86-94.
- Meloni, D. A., Oli, M. A., & Martinez, C. A. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49, 69-76. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00058-8](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00058-8)
- Nabiollahi, K., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Kerry, R. & Moradian, S. (2017). Assessment of soil quality indices for salt-affected agricultural land in Kurdistan Province, Iran. *Ecological Indicators*, 83, 482-494.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbat specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant and cell physiology*, 22, 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Saeedipour, S. (2013). Relationship of grain yield, ABA and proline accumulation in tolerant and sensitive wheat cultivars as affected by water stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83, 311-315. [10.1007/s40011-012-0147-5](https://doi.org/10.1007/s40011-012-0147-5)
- Sagisaka, S. (1976). The occurrence of peroxide in a perennial plant *Populus gelrica*. *Plant Physiology*, 57, 308-309.
- Schnell, D. M., & Clair, D. St. (2014). Redox pioneer, Professor Joe M. McCord. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20, 183-188. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5291>
- Shavrukov, Y. (2012). Salt stress or salt shock, which genes are we studying? *Journal of Experimental Botany*, 64, 119-127. [10.1093/jxb/ers316](https://doi.org/10.1093/jxb/ers316)
- Shu, Q. Y., & Lagoda, P. J. L. (Ed.). (2007). Mutation techniques for gene discovery and crop improvement, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture.
- Singh, R., & Flowers, T. (2010). Physiology and molecular biology of the effects of salinity on rice. In, M. Pessaraki (eds.) Handbook of Plant and Crop Stress. 899-939 pp., CRC Press, Boca Raton, USA.
- Smith, I.K., Vierheller, T. L., & Thorne, C. A. (1988). Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid). *Analytical Biochemistry*, 175, 408-413. [10.1016/0003-2697\(88\)90564-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90564-7)
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U., & Weschke, W. (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiology Plant*, 109, 435-442. [10.1034/j.1399-3054.2000.100410.x](https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.100410.x)
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R., & Thomas, G. (2003). Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.)-differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science*, 165, 1411-1418. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.08.005>
- Van Breusegem, F., & Dat, J. F. (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology*, 14, 384-390. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078295>

- Verma, S., & Mishra, S. N. (2005). Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system. *Journal of Plant Physiology*, 162, 677-669. 10.1016/j.jplph.2004.08.008
- Wang, M., Zhao, X., Xiao, Z., Yin, X., & Xing, T. (2016). A Wheat Superoxide Dismutase Gene TaSOD2 Enhances Salt Resistance through Modulating Redox Homeostasis by Promoting NADPH Oxidase Activity. *Plant Molecular Biology*, 91, 115-30. 10.1007/s11103-016-0446-y
- Williams, V., & Twine, S. (1960). Flame Photometric Method for Sodium Potassium and Calcium. In, K. Peach and M.V. Tracey (eds.), *Modern Methods of Plant Analysis* 3-5 pp, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Yoshida, S., Forno, D. A., Cock, J. H., & Gomez, K. A. (1976). *Laboratory manual for physiological studies of rice*. 3rd end. International rice research Institute, Manila, Philipine, 67pp.
- Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Science*, 6, 66-71. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01838-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01838-0)