

پاسخ‌های فیزیولوژیک و فتوسنتزی زیر گونه‌های ایندیکا و ژاپونیکا برنج (*Oryza sativa* L.) به تنش سرما

فرید اسحقی-گرچی^۱، رضا معالی-امیری^{۱*}، محمدرضا غفاری^۲

۱- دانشجوی دکتری و استاد دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی کرج دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲. نویسنده مسئول، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی کرج دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: rmamiri@ut.ac.ir

۲- دانشیار پژوهشگاه بیوتکنولوژی کرج

چکیده

برنج (*Oryza sativa* L.) به‌عنوان یکی از غلات استراتژیک، سهم مهمی در تأمین امنیت غذایی ایران و جهان دارد. با این وجود تولید آن به شدت تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی از جمله سرما قرار دارد. این پژوهش با هدف بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و فتوسنتزی چهار ژنوتیپ برنج از زیرگونه ایندیکا شامل "شیرودی" و "هاشمی" (ارقام تجاری) و "کوهسار" (زودرس و متحمل به سرما) و یک زیرگونه ژاپونیکا با نام "گرده" در مواجهه با تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران در سال ۱۴۰۲ بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنش سرما موجب افزایش معنی‌دار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در همه ژنوتیپ‌ها شده در حالی که میزان آن در ارقام گرده و کوهسار کاهش معنی‌داری در مقایسه با شیرودی و هاشمی داشت که این نتایج با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر ارقام گرده و کوهسار مرتبط بود. محتوای کلروفیل a ، b و کل به‌ترتیب ۸۱٪، ۷۳٪ و ۷۸٪ در اثر سرما به‌طور معنی‌داری کاهش یافت در حالی که میزان کاهش در ژنوتیپ‌های متحمل (گرده و کوهسار) کمتر بود. در مقابل، تجمع کاروتنوئیدها به‌عنوان بخشی از پاسخ دفاعی در تنش افزایش ۴۶ درصدی داشت. شاخص‌های فلورسانس کلروفیل کاهش تا ۷۳ درصد را نشان داد که بیانگر آسیب به سیستم فتوسنتز II بود، اما در ارقام گرده و کوهسار میزان افت این شاخص‌ها کمتر بود. نتایج حاکی از ارتباط مستقیم بین کاهش تجمع خسارت سلولی، حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی و پایداری فتوسنتز II در بهبود تحمل سرما در برنج است که نشان می‌دهد تعدیل تنش اکسیداتیو و خسارت سلولی موجب افزایش فتوسنتز و زنده‌مانی گیاه می‌شود. ژنوتیپ‌های گرده و کوهسار با دارا بودن تعادل اکسیداتیو بهتر و راندمان بالاتر فتوشیمیایی، به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش سرما شناسایی شدند.

کلیدواژه‌ها: برنج، تنش اکسیداتیو، تنش سرما، فلورسانس کلروفیل، ژاپونیکا

۱. مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) از غلات اصلی در تغذیه نیمی از جمعیت جهان می‌باشد که بیش از ۲۰ درصد کالری مورد نیاز هر فرد را تأمین می‌کند و در امنیت غذایی جهان نقش مهمی دارد (Thapa et al., 2023; Wu et al., 2023). در سراسر جهان، دانه برنج منبع اصلی کربوهیدرات‌ها و پروتئین و همچنین سایر مواد مغذی ضروری برای میلیاردها نفر به ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (Saleh et al., 2019). با توجه به پیش‌بینی افزایش جمعیت به ۱۰ میلیارد نفر تا سال ۲۰۵۰، افزایش ۵۰ درصدی تولید برنج در سال‌های آینده قابل انتظار است (OECD/FAO, 2020). سومین سطح کشت پس از گندم و جو در ایران با ۷۹۱/۶۰۵ هکتار مساحت به برنج اختصاص دارد که ۳/۶۲۹/۲۲۶ تن معادل ۶۶ درصد نیاز کشور تولید می‌شود و برای جبران کمبود ۳۴ درصد دیگر برنج وارد می‌شود (آمارنامه، کشاورزی ۱۴۰۱).

برنج یک گیاه گرمسیری با ۱۲ کروموزوم ($2n=24, AA$) بوده و بخش عمده تولید آن مربوط به زیرگونه‌های ایندیکا (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) و ژاپونیکا (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) است (Zhang, 2020). این دو زیرگونه، نیاز اکولوژیکی متفاوت

داشته به طوری که زیرگونه ژاپونیکا برای کشت در عرض‌های جغرافیایی بالا و در مناطق معتدل و یا ارتفاعات بالا توصیه شده، درحالی که زیرگونه ایندییکا برای کشت در عرض‌های جغرافیایی پایین و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و ارتفاعات کم مناسب است (Zhang, 2020).

مطابق با گزارش‌ها کاهش عملکرد حدود ۷۰ درصدی گیاهان زراعی در محیط‌های نامطلوب و میانگین عملکرد ۳۰ درصد پتانسیل ژنتیکی در شرایط تنش نشان داده شده که برای پایداری تولید برنج، تغییرات آب و هوایی چالشی بزرگ بوده به طوری که سازگاری برنج باید با سرعت تغییرات همگام شود (Lee et al., 2020; Zhang et al., 2020). یک راهبرد ضروری برای غلبه بر این چالش‌ها، اصلاح گونه‌های کارآمد در مصرف منابع و انعطاف‌پذیر و هوشمند برای آب‌وهوا^۱ است (Meynard et al., 2020). چگونگی تأثیر محیط‌های نامطلوب بر رشد گیاهان نه تنها یک چالش علمی محسوب شده، بلکه برای کشاورزی و امنیت غذایی نیز از اهمیت حیاتی برخوردار است.

تنش‌ها با توجه به ماهیت آن‌ها به دو گروه زیستی (مانند باکتری‌ها، نماتدها، قارچ‌های بیوتروف و نکروتروف و ویروس‌ها) و غیرزیستی (مانند سرما، انجماد، شوری، خشکسالی، گرما، فلزات سنگین و شدت نور بالا) تقسیم می‌شوند که در زیستگاه‌های طبیعی به طور مداوم و هم‌زمان بر عملکرد گیاهان تأثیر گذاشته و امنیت غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ali & Baek, 2020; Nejat & Mantri, 2017). تنش‌های غیرزیستی ناشی از بیش بود یا کمبود در عوامل محیطی از جمله نمک (شوری)، آب، دما، نور و مواد مغذی می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای بر رشد، بهره‌وری و حتی بقای گیاه تأثیر بگذارد (Zhang et al., 2020). در نواحی کشت برنج دنیا، تنش سرما اغلب در شروع فصل رشد اتفاق افتاده که توزیع جغرافیایی، ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک، رشد، عملکرد و کیفیت برنج را تحت تأثیر قرار می‌دهد و دلیل کاهش ۴۰ درصدی عملکرد بوده است (Nurhasanah Ritonga & Chen, 2020). بررسی چهار دهه داده‌های هواشناسی شمال ایران نشان داده که شالیزارها همواره در تهدید تنش سرما به خصوص در مرحله خزانه و ابتدای فصل رشد بوده که برای عملکرد بالا عامل محدودکننده هستند (Hasani et al., 2013).

تجمع گونه‌های فعال اکسیژن^۲ (ROS) در سلول‌های برنج به اجزای مختلف سلولی مانند پروتئین‌های ساختاری، لیپیدهای غشا و آنزیم‌ها آسیب وارد می‌کند. با این وجود، ROS به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان نیز عمل کرده و بیان ژن‌های مختلف کد کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و تعدیل‌کننده‌های تولید H_2O_2 را تنظیم می‌کند، و بدین ترتیب منجر به سازگاری به تنش در گیاه نیز می‌شود (Xie et al., 2019).

تحت تنش، مولکول‌های کلروفیل با جذب نور برانگیخته شده که علاوه بر بکارگیری آن در فرایند فتوسنتز، اغلب سبب اتلاف به صورت گرما، یا انتشار به صورت فلورسانس می‌شود (Zhang et al., 2014). مطابق با گزارش‌ها کلروفیل فلورسانس، تابش نور توسط مولکول‌های کلروفیل در حین فتوسنتز می‌باشد و زمانی رخ می‌دهد که این مولکول‌ها انرژی نوری را جذب می‌کنند اما نمی‌توانند تمام انرژی دریافت‌شده را برای فرایند فتوسنتز استفاده کنند و در نتیجه، انرژی اضافی به صورت فلورسانس (تابش نور) آزاد می‌شود (Zhang et al., 2014). اندازه‌گیری کلروفیل فلورسانس اطلاعات ارزشمندی در خصوص وضعیت فیزیولوژیکی گیاه ارائه می‌دهد و به عنوان ابزاری حیاتی برای مطالعه فتوسنتز، پاسخ گیاه به تنش و سلامت کلی گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zhang et al., 2014). تنش سرما با اختلال در حفظ ساختار کلروپلاست و مهار سنتز کلروفیل، سبب کاهش کارایی فتوسیستم II و افت شاخص‌های فلورسانس کلروفیل می‌شود که یکی از شاخص‌های حساس به تنش سرما محسوب می‌شود (Zhang et al., 2014). دماهای کم می‌توانند عملکرد غشاهای تیلاکوئیدی را تحت تأثیر قرار داده و انتقال الکترون را مختل کنند، که این امر منجر به اختلال در کل سامانه فتوسنتزی می‌شود (Zhang et al., 2014).

^۱Climate-smart

^۲Reactive oxygen species (ROS)

شاخص^۱ Fm نشان دهنده حداکثر سطح فلورسانس حاصل از بسته شدن کامل مراکز واکنش فتوسیستم^۲ PII^۳ پس از یک پالس نوری اشباع است. این شاخص معیاری مهم در تعیین کمیت انرژی نور جذب شده و ارزیابی راندمان تبدیل انرژی به حساب می‌آید (Bhagooli et al., 2021). نسبت Fv/Fm حداکثر راندمان کوانتومی فتوشیمی^۴ فتوسیستم II را اندازه‌گیری کرده و شاخص اصلی راندمان فتوسنتز گیاه و پاسخ به تنش می‌باشد (Raza et al., 2023). در گیاهان متحمل به سرما، کاهش Fv/Fm معمولاً ملایم‌تر بوده درحالی‌که در گیاهان حساس، این کاهش قابل‌توجه خواهد بود (Aazami et al., 2021). در شرایط سرما، افزایش F₀^۵ معمولاً به دلیل آسیب به مراکز واکنش PSII یا اختلال در ساختار آنتن‌ها رخ داده و با کاهش Fm نیز همراه شده و بدین ترتیب نشان‌دهنده افت ظرفیت انتقال الکترون و پتانسیل برداشت نور در PSII است (Lutts, 1996; Kalaji et al., 2016; Zhao et al., 2020). کاهش فلورسانس متغیر (Fv) بیانگر غیرفعال شدن مراکز واکنش و کاهش کارایی فتوشیمیایی محسوب شده که به‌عنوان شاخص اولیه آسیب فتوسنتزی عمل می‌کند (Sayed, 2003). بنابراین، بررسی هم‌زمان این پارامترها ابزار مؤثری برای غربالگری ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به سرما در گیاهان محسوب می‌شود (Eshaghi-Gorji et al., 2025).

با توجه به پیچیدگی شبکه‌های مولکولی و مسیرهای متابولیکی دخیل در تحمل به سرما، شناسایی سازوکارهای کلیدی تحمل به تنش سرما همواره به‌عنوان یک چالش پیش‌روی برنامه‌های به‌نژادی قرار داشته‌است. در این راستا، مطالعات تطبیقی ژنوتیپ‌ها با سطوح مختلف تحمل، از جمله مقایسه زیرگونه‌های معروف ژاپونیکا (متحمل) و ایندیکا (حساس)، می‌تواند بینش ارزشمندی در مورد سازوکارهای کمتر شناخته‌شده پاسخ به تنش سرما ارائه دهد. در بسیاری از مناطق کشت برنج ایران، به‌ویژه در شمال کشور، کاهش ناگهانی دما در مرحله گیاهچه‌ای و خزانه موجب خسارات قابل توجهی می‌شود. این شرایط معمولاً به شکل تنش‌های سرمای کوتاه‌مدت (با حداقل دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) ظاهر می‌شود. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف واکاوی پاسخ‌های اولیه و دیرپه‌نگام به سرما در ارقام شیرودی و هاشمی (از زیرگونه ایندیکا، حساس)، رقم کوهسار (به‌عنوان رقم زودرس و متحمل به سرما شناخته شده) و گرده (از زیرگونه ژاپونیکا، متحمل) طراحی شد. بدیهی است انجام چنین پژوهش‌هایی می‌تواند راهگشای توسعه راهبردهای اصلاحی مؤثر برای افزایش تحمل برنج در برابر تنش سرما و تضمین امنیت غذایی در شرایط اقلیمی در حال تغییر باشد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. کشت، اعمال تیمار سرما و نمونه‌برداری

در این تحقیق، از سه رقم برنج (*Oryza sativa* L.) از زیرگونه ایندیکا شامل ارقام شیرودی، هاشمی و کوهسار و یک رقم از گونه ژاپونیکا (رقم گرده) استفاده شد. بذرها به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی شدند و پس از چندین بار شستشو با آب مقطر، در پتری دیش جوانه زده و سپس در گلدان‌هایی حاوی دو واحد خاک، یک واحد ماسه و یک واحد هوموس کاشته شدند. گلدان‌ها در اتاقک رشد (آروین تجهیز اسپادانا، ایران) با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه و رطوبت نسبی ۵۰ درصد قرار داده شدند. گیاهچه‌های برنج هر دو روز یکبار به مدت ۲۴ روز با آب مقطر تا حد ظرفیت مزرعه آبیاری شدند. گیاهچه‌های ۲۴ روزه به چهار قسمت تقسیم شدند. سه چهارم گیاهچه‌ها با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و ۳ تا ۴ برگ، به اتاق رشد دیگری با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (سایر شرایط رشد بدون تغییر باقی ماندند) درحالی‌که یک قسمت به‌عنوان گیاهان در شرایط شاهد (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. برای هر تیمار شش گلدان با هفت گیاهچه و هر تکرار دو گلدان در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری در یک،

^۱Maximum fluorescence

^۲Photosystem II

^۳Maximum Quantum Efficiency of PSII

^۴Minimum fluorescence

^۵Variable fluorescence

سه و شش روز پس از شروع تنش سرما (DAS) انجام شد. پس از نمونه‌گیری برگ‌ها با نیتروژن مایع منجمد شده و برای تجزیه و تحلیل بعدی در دمای -80°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۲. سنجش غلظت هیدروژن پراکسید

جهت سنجش غلظت هیدروژن پراکسید 0.35 گرم نمونه گیاهی در نیتروژن مایع کوبیده شد. سپس به هر نمونه $1/5$ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) 0.1 درصد اضافه شده و نمونه‌ها به مدت 15 دقیقه با سرعت $12000 \times g$ سانتریفیوژ شدند. 500 میکرولیتر از فاز بالایی حاصل به 500 میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ($\text{pH} = 7$) و یک میلی‌لیتر پتاسیم یدید اضافه شدند. جذب محلول حاصل در طول موج 390 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و غلظت هیدروژن پراکسید بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد. محلول بلانک از عصاره هموژنیزه شده با 500 میکرولیتر TCA 0.1 درصد به دست آمد (Naderi et al., 2020).

۲-۳. سنجش کلروفیل و کلروفیل فلورسانس

برای اندازه‌گیری کلروفیل، 0.1 گرم وزن تازه بافت برگ کوبیده شده با 1 میلی‌لیتر متانول 100 درصد ترکیب شده و به مدت 15 دقیقه با سرعت $12000 \times g$ و دمای 4°C درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز بالایی در 700 میکرولیتر متانول 100 درصد حل شد و پس از سانتریفیوژ مجدد، جذب نوری در طول موج‌های 470 ، 652 و 665 نانومتر با دستگاه پلیت ریدر (مدل model EON, Biotek company, USA) قرائت شد (Lichtenthaler, 1987).

شاخص فلورسانس کلروفیل در برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته گیاهان تحت تیمار سرما با استفاده از فلورومتر قابل حمل Handy-PEA (Hansatech Instruments Ltd., United Kingdom) اندازه‌گیری شد. برای سازگاری با تاریکی، قسمتی از برگ با گیره‌های مخصوص به مدت 20 دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس، با قرار دادن حسگر فلورومتر روی گیره‌ها، ارتباط بین برگ سازگار با تاریکی و منبع نور فلورومتر (3000 میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) برقرار شد و پارامترهای فلورسانس کلروفیل ثبت شدند (Strasser et al., 2000).

۲-۴. تجزیه داده‌ها

این پژوهش بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین به روش دانکن انجام شده و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شده است.

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

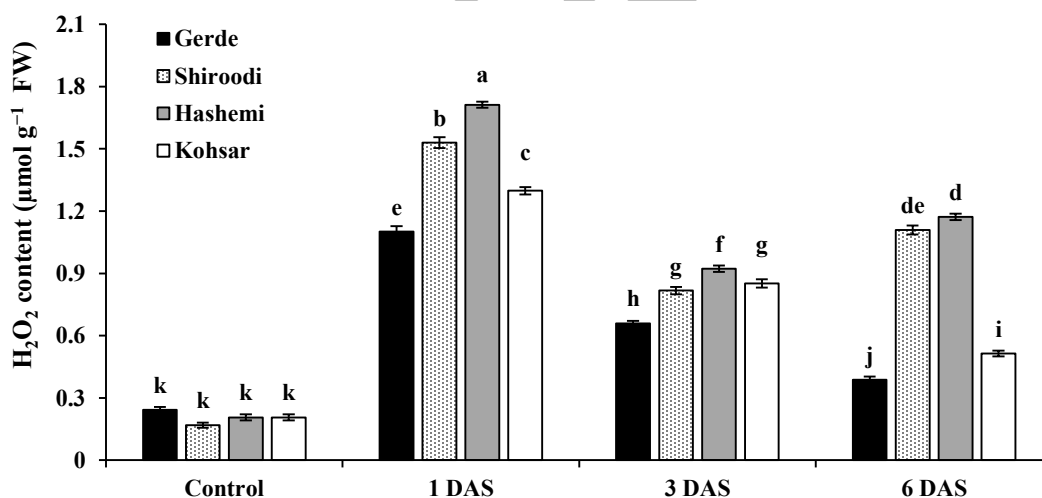
در گیاهان H_2O_2 نقش کلیدی در پاسخ به تنش‌های محیطی، به‌ویژه تنش سرما ایفا می‌کند (Niu & Liao, 2016). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ژنوتیپ، تیمار سرما و اثر متقابل آن‌ها بر میزان H_2O_2 در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. این یافته‌ها بر وجود تفاوت‌های ژنتیکی مابین ژنوتیپ‌ها، اثر تنش سرما و واکنش‌های متفاوت ارقام نسبت به این تنش دلالت داشت. در شرایط شاهد، اختلاف معنی‌داری در سطح H_2O_2 مابین ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشاهده نشد. به‌طور معمول، گیاهان در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، غلظت پایینی از H_2O_2 را برای تنظیم پیام‌های درون‌سلولی حفظ می‌کنند (Wang et al., 2024). در روز اول پس از اعمال تنش، افزایش قابل‌توجهی در محتوی H_2O_2 در تمامی ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. رقم شیرودی و هاشمی بیشترین افزایش را به ترتیب با 9 و $8/3$ برابر نسبت به گیاهان شاهد داشته، درحالی‌که این افزایش در کوهسار $6/3$ برابر و گرده $4/5$ برابر بود. این افزایش اولیه نمایانگر شروع یک پاسخ اکسیداتیو سریع در مواجهه با تنش سرما می‌باشد (Xu et al., 2023). در مواجهه با تنش سرما، اختلال در عملکرد اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم، به‌ویژه در زنجیره‌های انتقال الکترون باعث افزایش تولید H_2O_2 می‌شود (Niu & Liao, 2016; Wang et al., 2024). افزایش میزان H_2O_2 از یک‌سو شاخصی از شدت آسیب اکسیداتیو، و از سوی دیگر محرکی برای القای سازوکارهای دفاعی گیاه در نظر گرفته شده است (Hossain et al., 2015; Xu et al., 2023).

¹Day after stress

با گذشت زمان تنش تا روز سوم و ششم، میزان H_2O_2 در ژنوتیپ‌ها کاهش یافته اما همچنان بالاتر از شرایط شاهد باقی بود. چنین نتایجی بیانگر فعالیت نسبی سازوکارهای دفاعی در سلول بوده که میزان آن در ژنوتیپ‌ها بر اساس ظرفیت ژنتیکی متفاوت بود. در کلیه مراحل تنش، ارقام گرده و کوهسار دارای کمترین میزان H_2O_2 بود که احتمالاً نشان‌دهنده ظرفیت بالاتر آن‌ها در حذف ROS و در نتیجه، تحمل بیشتر نسبت به تنش سرما بود. در روز ششم، بیشترین میزان H_2O_2 در ارقام شیروودی و هاشمی اندازه‌گیری شد، درحالی‌که رقم گرده پایین‌ترین سطح را به خود اختصاص داد (شکل ۱). بنابراین مطابق با نتایج، افزایش مجدد میزان H_2O_2 در ارقام شیروودی و هاشمی در امتداد با کاهش تدریجی آن‌ها در ارقام گرده و کوهسار در شش روز پس از تنش سرما به ترتیب نشان‌دهنده تداوم خسارت‌های اکسیداتیو در دو رقم اول و مهار نسبی آن در دو رقم دوم بود.

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات پراکسید هیدروژن، کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در ارقام برنج تحت تنش چهار درجه سانتی‌گراد

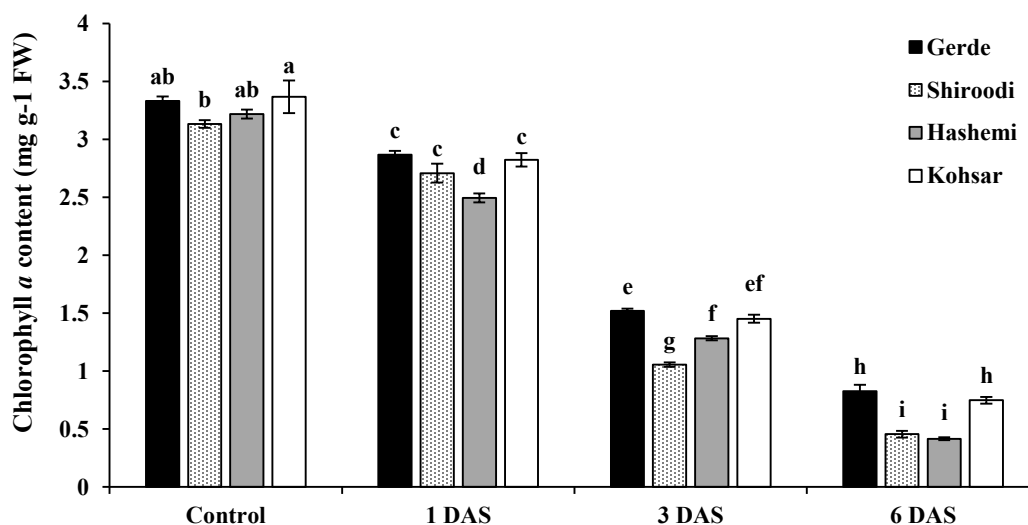
Source	DF	Mean Square				
		H_2O_2	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Total Chl	Carotenoid
Genotype (A)	3	0.4**	0.298**	0.048**	0.573**	0.02**
Cold stress (B)	3	2.9**	18**	1.338**	29.12**	0.329**
A × B	9	0.11**	0.025**	0.017**	0.07**	0.004**
Error	32	0.0009	0.0082	0.0043	0.0196	0.0013
CV		3.8	4.6	10.2	5.3	7.8



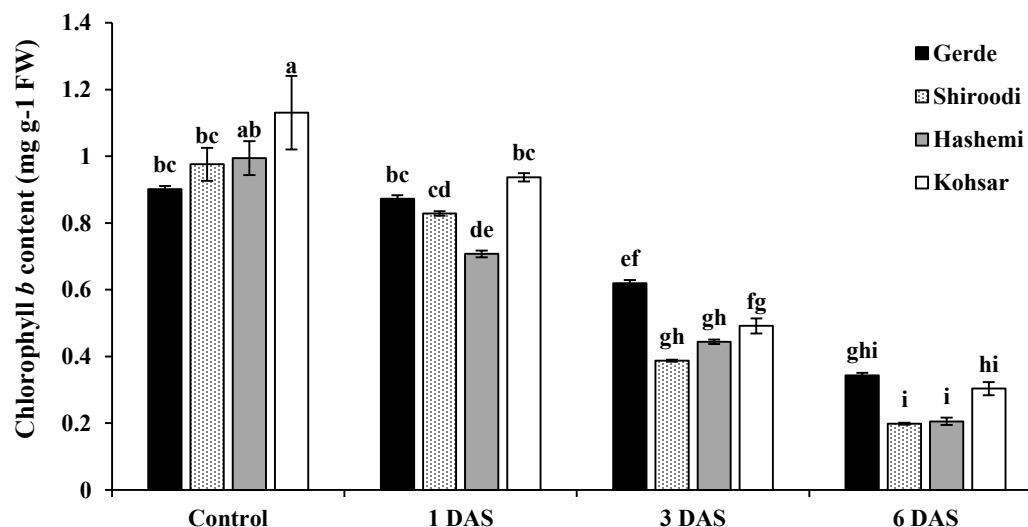
شکل ۱. الگوی تغییر میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

حفظ فتوسنتز در گیاهان و تنظیم میزان رنگدانه‌ها، نقش مستقیمی در جذب نور و چرخه انتقال الکترون تحت تنش سرما ایفا می‌کند (Hajihashemi et al., 2018; Xu et al., 2023). یافته‌های این تحقیق نشان داد که اثر ژنوتیپ، تنش سرما و اثر متقابل این دو عامل بر شاخص‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). تنش سرما موجب کاهش شدید محتوی کلروفیل در کلیه ژنوتیپ‌ها شد (شکل ۲). در روز ششم پس از اعمال تنش، میزان کلروفیل *a* در رقم گرده تا ۷۵ درصد، در کوهسار تا ۷۸ درصد، در شیروودی تا ۸۵ درصد و در هاشمی تا ۸۷ درصد نسبت به شرایط شاهد کاهش یافت. مطابق با نتایج، کاهش بیشتر کلروفیل *a* در ارقام شیروودی و هاشمی بیانگر حساسیت بالاتر این ژنوتیپ‌ها به تنش سرما می‌باشد.

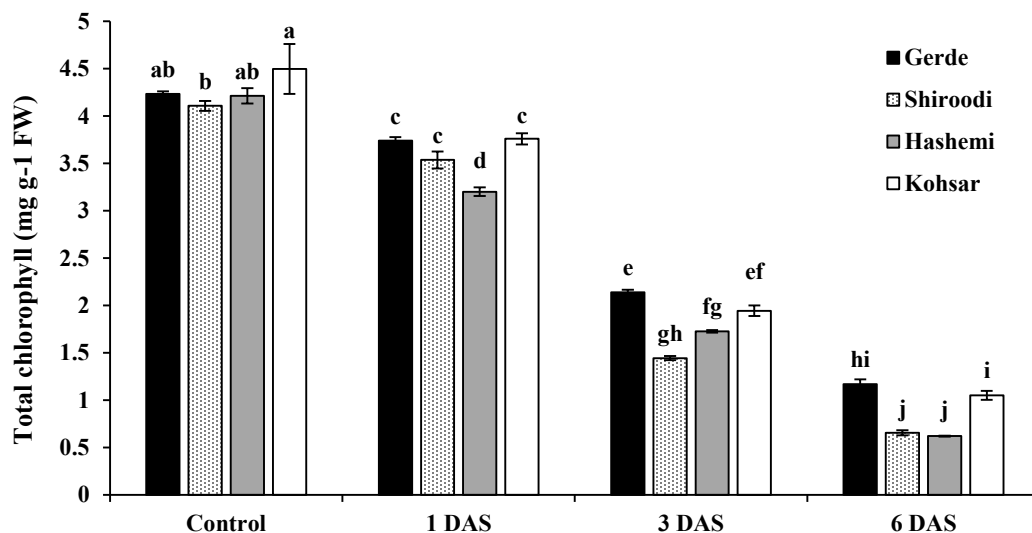
الگوی تغییر میزان کلروفیل *b* نیز با کلروفیل *a* مشابه بود به طوری که در روز ششم، میزان آن در ژنوتیپ‌های گرده، کوهسار، شیروودی و هاشمی به ترتیب تا ۶۲، ۸۰، ۷۹ و ۷۳ درصد نسبت به شرایط کاهش یافت. این کاهش هم‌زمان در دو نوع کلروفیل احتمالاً نشان‌دهنده آسیب‌های گسترده بر ساختارهای فتوسنتزی، به‌ویژه کلروپلاست‌ها می‌باشد (شکل ۳). تحقیقات نشان داده‌اند که دماهای پایین باعث کاهش بیان ژن‌ها و فعالیت آنزیم‌های درگیر در ساخت کلروفیل می‌شود. در مقابل، فعالیت آنزیم‌های تخریبی مانند کلروفیلاز و پراکسیداز نیز افزایش یافته که اغلب با تخریب غشای تیلاکوئیدی، جایگاه اصلی تجمع رنگدانه‌های فتوسنتزی بوده که به کاهش میزان کلروفیل در این پژوهش می‌انجامد (Li et al., 2024; Zhao et al., 2020). مطابق با نتایج ژنوتیپ‌های گرده و کوهسار از توانایی بیشتری برای حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط سرما برخوردار بودند. این ویژگی می‌تواند ناشی از پایداری بیشتر غشاها، تنظیم مطلوب‌تر مسیرهای بیوسنتزی کلروفیل یا عملکرد مؤثرتر سیستم‌های دفاعی این ژنوتیپ‌ها در مقابله با تنش سرما باشد.



شکل ۲. الگوی تغییر محتوی کلروفیل *a* ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.



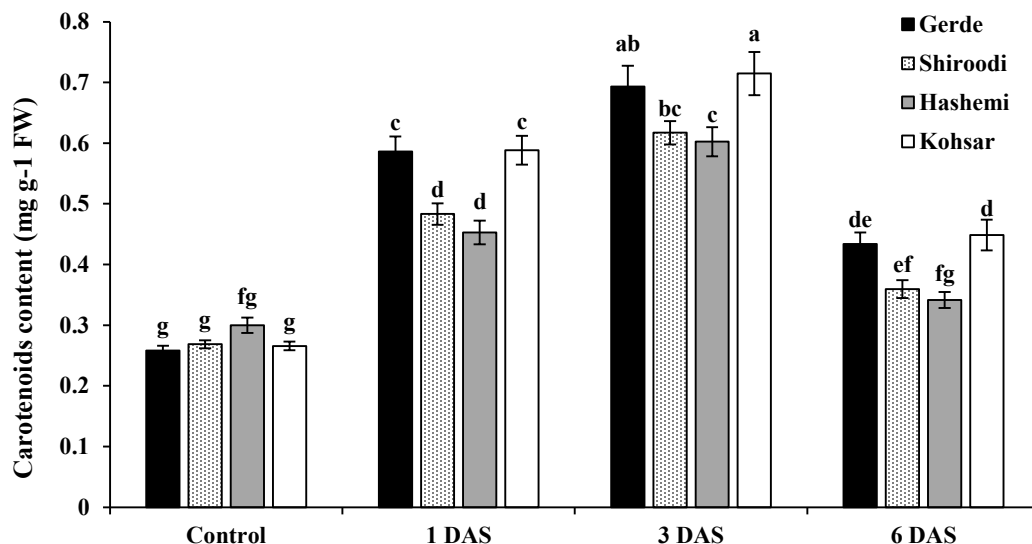
شکل ۳. الگوی تغییر محتوی کلروفیل *b* ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.



شکل ۴. الگوی تغییر محتوی کلروفیل کل ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

کاروتنوئیدها رنگدانه‌های فرعی اما ضروری در سیستم فتوسنتزی گیاهان محسوب شده که نقش دوگانه‌ای در برداشت انرژی نوری و محافظت نوری تحت تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند (Swapnil et al., 2021; Uarrota et al., 2018). بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر ژنوتیپ، تنش سرما و اثر متقابل آن‌ها بر میزان کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بررسی‌ها نشان داد که تنش سرما موجب افزایش معنی‌دار محتوی کاروتنوئید در همه ژنوتیپ‌ها شد و بیشترین سطح آن در روز سوم پس از اعمال تنش بود (شکل ۵). در این زمان، نسبت به شرایط شاهد، محتوی کاروتنوئید در ژنوتیپ‌های گرده و کوهسار تا ۲/۷ برابر، در شیروودی تا ۲/۳ برابر و در هاشمی تا ۲ برابر افزایش یافت. با این وجود، در روز ششم پس از تنش، کاهش نسبی در میزان کاروتنوئیدها مشاهده شده به طوری که میزان آن در ژنوتیپ‌های گرده و کوهسار به ترتیب به ۱/۷ برابر، شیروودی ۱/۳۴ برابر و هاشمی ۱/۱۴ برابر نسبت به شاهد رسید. مطابق با یافته‌های گذشته کاروتنوئیدها به واسطه خواص آنتی‌اکسیدانتی خود از تخریب اکسیداتیو غشاهای تیلاکوئیدی جلوگیری کرده و به تثبیت ساختار و عملکرد فتوسیستم‌ها کمک می‌کنند (Uarrota et al., 2018). از این رو، تجمع کاروتنوئیدها در دمای پایین را می‌توان یکی از سازوکارهای تطبیقی حیاتی برای محافظت فتوسنتزی تلقی کرد که هم به عنوان سپر دفاعی (آنتی‌اکسیدانت غیر آنزیمی) و هم نقش حفاظت ساختاری دارد (Swapnil et al., 2021; Uarrota et al., 2018).

این الگو نشان می‌دهد که گیاهان در پاسخ اولیه به سرما با افزایش ساخت یا حفظ کاروتنوئیدها سعی در تقویت سیستم دفاعی خود داشته اما با گذشت زمان در امتداد با کاهش خسارت‌های سلولی (نتایج H_2O_2), این افزایش ممکن است به دلیل مصرف منابع یا شروع سازگاری متابولیکی کاهش یابد. در مجموع، ژنوتیپ‌های گرده و کوهسار که بیشترین افزایش و پایداری محتوی کاروتنوئید را نشان دادند، احتمالاً از ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی و پایداری فتوشیمیایی بیشتری برخوردار بودند. بنابراین در امتداد با ارزیابی شاخص خسارت‌های سلولی (نتایج H_2O_2) که به طور غیر مستقیم وضعیت دفاعی سلول را نشان می‌دهد، میزان رنگدانه‌ها شاخص حساس و قابل اتکا در ارزیابی وضعیت فتوسنتزی گیاه در مواجهه با تنش سرما بود. تلفیق این شاخص با پارامترهای کلروفیل فلورسنس، می‌تواند چشم‌انداز جامعی از سازوکارهای تحمل سرما ارائه داده و در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل برای برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.



شکل ۵. الگوی تغییر محتوی کاروتنوئیدها ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر ژنوتیپ، تنش سرما و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص Fo از نظر آماری معنی‌دار نبودند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که Fo تحت تاثیر ژنتیک و شرایط تنش سرما نیست و تقریباً ثابت باقی می‌ماند. فلورسانس اصلی^۱ یا Fo، به‌عنوان انتشار پایه‌آذر زمانی است که تمام مراکز واکنش فتوسیستم II (PSII) باز بوده و ظرفیت ذاتی برداشت نور توسط آنتن‌ها^۲ و حداقل تلفات انرژی از فرایندهای غیرفتوشیمیایی در برگ‌های سازگار شده با تاریکی را به نمایش می‌گذارد (Bhagooli et al., 2021). بنابراین پایداری Fo تحت تیمارهای آزمایش نشان می‌دهد که اجزای اولیه PSII دچار آسیب واضح نشده‌اند.

جدول ۲. تجزیه واریانس شاخص‌های کلروفیل فلورسانس در ارقام برنج تحت تنش چهار درجه سانتی‌گراد

S.O.V	DF	Mean Square						
		Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	RC/ABS	Fv/Fo	PI
Genotype (A)	3	704 ^{n.s}	30110 ^{**}	23826 ^{**}	0.042 ^{**}	0.1523 [*]	0.265 ^{**}	0.129 ^{**}
Condition (B)	3	1836 ^{n.s}	1381252 ^{**}	1446109 ^{**}	0.6778 ^{**}	1.8013 ^{**}	25.3293 ^{**}	9.786 ^{**}
A × B	9	2787 ^{n.s}	18734 ^{**}	11133 ^{**}	0.0129 ^{**}	0.1182 ^{**}	0.1815 ^{**}	0.095 ^{**}
Error	32	1483	5411	2597	0.0004	0.036	0.0305	0.0092
CV		15	12	14	4	34	12	16

اثر ژنوتیپ، تنش سرما و اثر متقابل آن‌ها بر روی شاخص Fm معنی‌دار بوده، به طوری که هم ژنتیک و هم تنش سرما بر توانایی مرکز واکنش PSII تاثیر گذاشته است. Fm برای ارزیابی حداکثر کارایی فتوشیمیایی بالقوه PSII و ارزیابی راندمان تبدیل انرژی استفاده

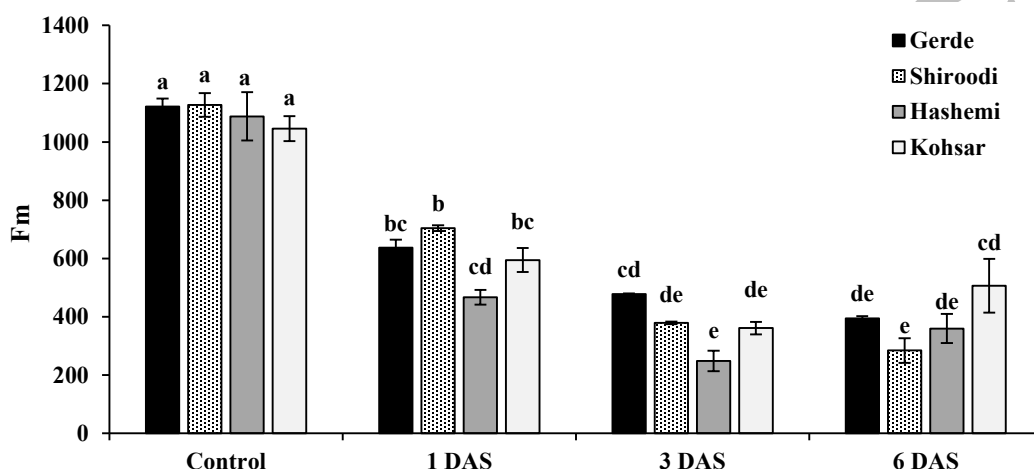
^۱Original fluorescence

^۲Baseline emission

^۳Photosystem II (PSII) reaction centers

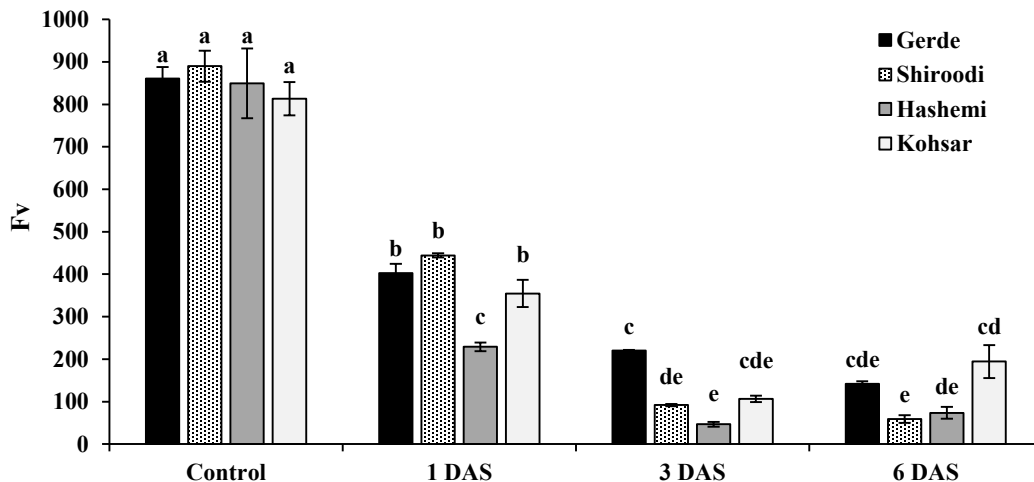
^۴Antennae

می‌شود و برای تشخیص اثر تنش بر گیاه بکار می‌رود (Zhao et al., 2020). معنی‌دار بودن اثر متقابل نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها واکنش متفاوتی به تنش سرما نشان داده‌اند؛ بنابراین Fm می‌تواند شاخص مناسبی برای غربال ژنوتیپ‌های متحمل یا حساس باشد. با اعمال تنش یک روز مقدار Fm در تمامی ژنوتیپ‌ها کاهش یافت؛ اما شدت کاهش در ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. ژنوتیپ شیروودی پایین‌ترین مقدار Fm را نشان داده درحالی‌که گرده، کوهسار و هاشمی افت کمتری را نشان دادند. در سه روز پس از تنش، روند کاهشی ادامه یافت و اختلاف ژنوتیپی بارزتر شد (شکل ۶). ژنوتیپ گرده برتری نسبی در حفظ Fm داشته، درحالی‌که هاشمی کمترین مقدار Fm را نشان داد که بیانگر آسیب شدیدتر فتوسیستم II در این ژنوتیپ بود. در روز ششم پس از تنش سرما رقم کوهسار Fm بالاتری را حفظ کرده درحالی‌که شیروودی کمترین مقدار (۲۵ درصد نسبت به شاهد) را داشت. این امر نشان می‌دهد که کوهسار دارای توانایی حفظ پایدار فتوسیستم II در درازمدت بوده است.



شکل ۶ الگوی تغییر شاخص حداکثر فلورسانس (Fm) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

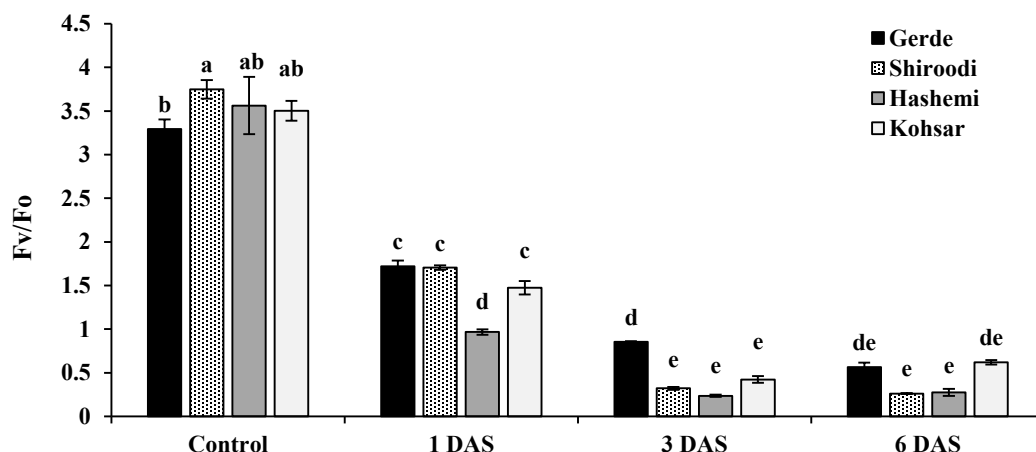
فلورسانس متغیر (Fv) خاموشی فتوشیمیایی و آسیب به دستگاه فتوسنتزی را کمی‌سازی می‌کند (Kalaji et al., 2016; Sayed, 2003). اثر متقابل معنی‌دار تأیید می‌کند که توان ترمیم یا تحمل سیستم فتوسنتزی در ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در یک روز پس از تنش سرما، کاهش شدیدی در مقدار Fv مشاهده شد و ژنوتیپ هاشمی کمترین مقدار را حفظ کرده و پس از آن سایر ژنوتیپ بدون اختلاف معنی‌دار قرار گرفتند. در مقابل، ارقام گرده، کوهسار و شیروودی مقدار بالاتری از Fv را حفظ کردند. در سه و شش روز پس از اعمال تنش سرما، Fv به حداقل میزان خود رسید و اختلاف ژنوتیپی واضح‌تر گردید (شکل ۷).



شکل ۷. الگوی تغییر شاخص فلورسانس متغیر (Fv) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

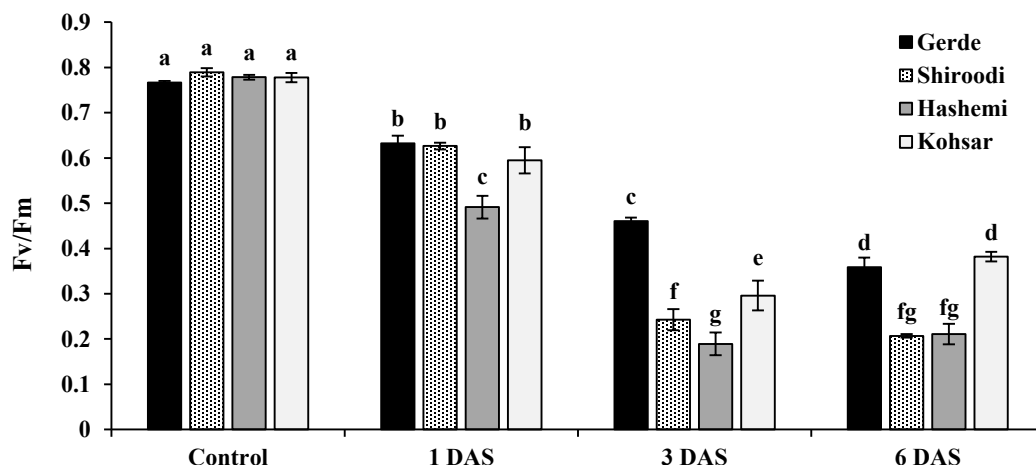
F_v/F_o^1 یک پارامتر کلیدی فلورسانس کلروفیل است که ظرفیت ذاتی برداشت نور و جذب انرژی PSII را کمی می‌کند (Lichtenthaler & Rinderle, 1988). در یک روز پس از تنش همه ژنوتیپ‌ها با بیشترین کاهش در F_v/F_o روبه‌رو شدند. تحت این شرایط کوهسار، گرده و شیروودی سطح بالاتری از F_v/F_o را نمایش داده درحالی‌که هاشمی میزان پایین‌تری را نشان داد (شکل ۸). کاهش قابل توجه در روز اول تنش می‌تواند نشان‌دهنده اختلالات ساختاری یا تخصیص مجدد انرژی به سازوکارهای حفاظتی مانند خاموشی غیرفتوشیمیایی باشد. این پارامتر به‌عنوان یک پیام هشدار اولیه برای تنش‌های محیطی عمل کرده و در القاء پاسخ‌های دفاعی مناسب است (Cisse et al., 2020). هم‌زمانی کاهش F_v/F_o و افزایش H_2O_2 حاکی از آن است که تجمع سریع ROS به‌ویژه H_2O_2 منجر به اختلال در زنجیره‌های انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها می‌شود. بنابراین، ارتباط منفی بین F_v/F_o و H_2O_2 در روز اول تنش نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌هایی با حفظ کارایی نسبی PSII و مقادیر پایین‌تر H_2O_2 ، ظرفیت بالاتری در حذف ROS و تحمل به تنش سرما داشته، درحالی‌که ژنوتیپ‌های حساس مانند هاشمی با کاهش بیشتر F_v/F_o و تجمع بالاتر H_2O_2 دچار آسیب اکسیداتیو شدیدتری شده‌اند. در سه و شش روز پس از اعمال تنش سرما افت F_v/F_o تداوم داشته به‌طوری‌که شش روز پس از تنش سرما تفاوت معنی‌داری در این شاخص مشاهده شد که این نتایج بیانگر کاهش احتمالی ظرفیت انتقال الکترون و غلبه مسیرهای اتلاف انرژی است (Sayed, 2003).

¹Variable to Minimum Fluorescence Ratio



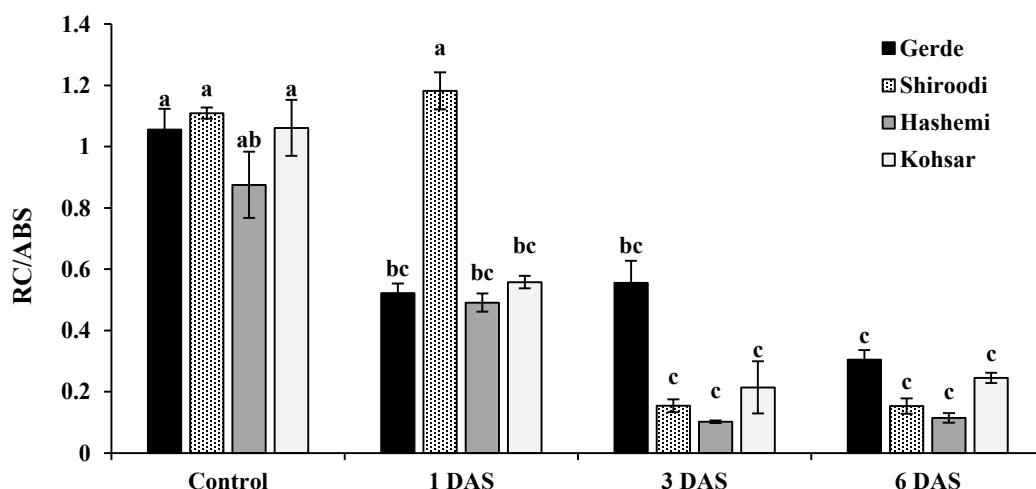
شکل ۸. الگوی نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداقل (F_v/F_o) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

در شرایط تنش‌های غیرزیستی مانند سرما، هرگونه اختلال در ساختار یا عملکرد PSII مستقیماً در تغییر F_v/F_m و کارایی PSII در جهت تبدیل انرژی نوری به انرژی فتوشیمیایی بازتاب می‌یابد (Aazami et al., 2021; Jat et al., 2024). یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که در شرایط شاهد، اختلاف معنی‌داری در مقدار F_v/F_m بین ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده نشد. با این وجود، اعمال تنش سرما منجر به کاهش تدریجی و قابل توجه این شاخص در همه ژنوتیپ‌ها گردید. در روز ششم پس از آغاز تنش، مقدار F_v/F_m در ژنوتیپ گرده ۵۳ درصد، در کوهسار ۵۱ درصد، در هاشمی ۷۳ درصد و در شیروودی ۷۴ درصد نسبت به مقادیر شاهد کاهش یافت (شکل ۹). تنش سرما با کاهش سیالیت غشای تیلاکوئیدی، مهار فرآیند ترمیم پروتئین D1 و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث کاهش نرخ انتقال الکترون و غیرفعال‌سازی مراکز واکنش PSII می‌شود. این فرایندها در نهایت منجر به کاهش معنی‌دار در مقدار F_v/F_m و در نتیجه، افت ظرفیت فتوشیمیایی گیاه خواهد شد (Aazami et al., 2021). نکته دیگر الگوی کاهشی متفاوت F_v/F_m بین ژنوتیپ‌ها بوده به‌طوری‌که در ژنوتیپ‌های شیروودی و هاشمی، افت شدید این شاخص تا روز سوم ادامه یافت، اما پس از آن تغییری مشاهده نشد که ممکن است نشان‌دهنده توقف عملکرد ترمیمی PSII باشد. در مقابل، ژنوتیپ کوهسار که در روز سوم کاهش بیشتری نسبت به گرده داشت، در روز ششم افزایش نسبی F_v/F_m را تجربه کرد؛ امری که می‌تواند حاکی از آغاز فعالیت‌های ترمیمی و سازگاری تدریجی این ژنوتیپ به سرما باشد. این یافته‌ها حاکی از آن است که ژنوتیپ‌های گرده و به‌ویژه کوهسار از توانایی بیشتری در حفظ یا بازسازی عملکرد PSII و سازگاری مطلوب‌تر تحت تنش برخوردارند.



شکل ۹. الگوی نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (Fv/Fm) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

شاخص^۱ RC/ABS رابطه بین تعداد مراکز واکنش فعال^۲ و انرژی نور جذب شده در گیاهان را کمی‌سازی می‌کند (Lichtenthaler & Rinderle, 1988). در یک روز پس از تنش سرما کاهش قابل توجهی در این شاخص مشاهده شد، اما شدت کاهش‌ها متفاوت بود (شکل ۱۰). میزان این شاخص در شیروودی در بالاترین مقدار باقی ماند که نشان می‌دهد در مراحل اولیه تنش تحمل بیشتری در حفظ مراکز واکنش دارد. در مقابل، کوهسار، گرده و هاشمی کاهش در شاخص نشان داده که بیانگر حساسیت بیشتر آن‌ها در حفظ مراکز واکنش در مراحل اولیه تنش است. در روز سوم و ششم پس از اعمال تنش، تمام ژنوتیپ‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط شاهد کاهش یافتند با این وجود، گرده هنوز کمی بالاتر از کوهسار، شیروودی و هاشمی باقی ماند. این موضوع نشان می‌دهد که در شرایط تنش شدید، اختلاف ژنتیکی ارقام برنج کمتر شده اما گرده همچنان اندکی برتری خود را حفظ می‌کند. مطالعات گذشته نیز در گیاهان برنج نشان داده‌اند که تنش سرما می‌تواند تعادل بین جذب نور و تبدیل انرژی را مختل کرده و منجر به کاهش RC/ABS شود (Kalaji et al., 2016).

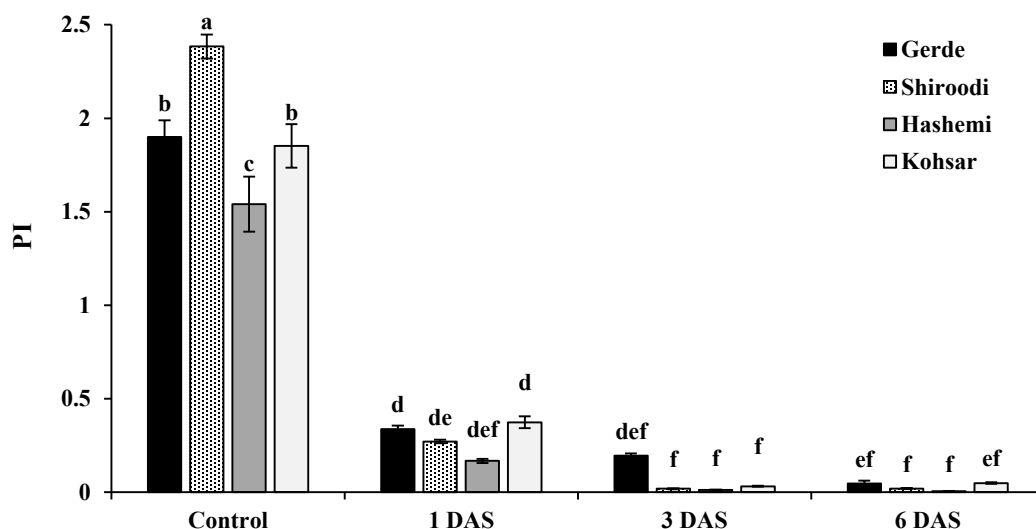


شکل ۱۰. الگوی نسبت مراکز واکنش به فوتون جذب شده (RC/ABS) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

^۱Reaction Centers per Absorbed Photon

^۲Active reaction centers (RC)

از آنجا که شاخص PI^1 چندین جنبه از عملکرد PSII، از جمله تراکم مرکز واکنش، راندمان به دام انداختن انرژی و انتقال الکترون را ترکیب می‌کند، معیاری کلی از زنده ماندن گیاه و تحمل به تنش را ارائه می‌دهد (Kalaji et al., 2016). در شرایط شاهد شیروودی بالاترین مقدار PI را نشان داده، درحالی‌که گرده، کوهسار و پس از آن‌ها هاشمی در سطوح پایین‌تری قرار گرفتند که نشان می‌دهد حتی در شرایط بهینه نیز کارایی فتوسنتزی این ژنوتیپ‌ها متفاوت است. تنش سرما به‌طور قابل توجهی مقادیر PI را در برنج کاهش داد و این کاهش در گونه‌های حساس بیشتر مشهود بود (Kalaji et al., 2016; Sayed, 2003). تداوم کاهش‌ها در سه و شش روز پس از اعمال تنش سرما و همچنین کاهش در سایر شاخص‌های کلروفیل فلورسانس بیانگر اختلال شدید در کارکرد PSII و غیرفعال شدن بیشتر مراکز واکنش بود. با این وجود کوهسار و گرده هنوز مقادیر نسبی بالاتری نسبت به شیروودی و هاشمی به نمایش گذاشتند (شکل ۱۱).



شکل ۱۱. الگوی تغییر شاخص عملکرد (PI) ارقام برنج گرده (تیره)، شیروودی (نقطه‌ای)، هاشمی (خاکستری) و کوهسار (روشن) در شرایط یک، سه و شش روز پس از تنش سرمای چهار درجه سانتی‌گراد. حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها با احتمال یک درصد می‌باشد.

۴. نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش سرما اثر چشمگیری بر شاخص‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فتوسنتزی ارقام برنج داشته و شدت این اثر با ظرفیت ژنتیکی ژنوتیپ‌ها مرتبط بود. در مجموع، ژنوتیپ‌های گرده و کوهسار نسبت به شیروودی و هاشمی از کارایی مطلوب‌تری در حفظ تعادل اکسیداتیو، پایداری رنگدانه‌ها و عملکرد فتوسنتز II برخوردار بودند. این ویژگی مرتبط با تجمع پایین‌تر H_2O_2 در گرده و کوهسار نسبت به شیروودی و هاشمی بوده که غیرمستقیم بیانگر ظرفیت بالاتر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنها و کارایی بهتر حذف ROS بود. کاهش محتوای رنگدانه‌های کلروفیل در ژنوتیپ‌های شیروودی و هاشمی بیشتر بوده درحالی‌که پایداری بیشتر آن در گرده و کوهسار به موازات افزایش نسبی کارتنوئید، کارایی فتوسنتزی را بهبود بخشید. پارامترهای فلورسانس کلروفیل نیز در این آزمایش اغلب تحت تاثیر تنش سرما کاهش نشان داده و قادر به تفکیک پاسخ‌های اکسیداتیو به تنش بودند. همچنین شاخص Fv/Fm از روز سوم تنش اختلاف معنی‌داری بین ارقام متحمل و حساس نشان داد که می‌تواند شاخصی مهم و متمایز کننده برای استفاده در غربالگری باشد. در مجموع، نتایج نشان داد که حذف مؤثر ROS، حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی و پایداری سیستم فتوشیمیایی همگی

¹Performance index

²Vitality

با میزان تحمل گیاه برنج به تنش سرما ارتباط مستقیم دارند و نشانگر مطلوب در ارزیابی پاسخ به تنش سرما در برنج هستند. به عنوان ابزار ارزشمند پیشنهاد می شود این شاخص ها در غربالگری سریع ژنوتیپ های برنج متحمل به سرما استفاده شوند.

۵. منابع

- Aazami, M. A., Asghari-Aruq, M., Hassanpouraghdam, M. B., Ercisli, S., Baron, M., & Sochor, J. (2021). Low Temperature Stress Mediates the Antioxidants Pool and Chlorophyll Fluorescence in *Vitis vinifera* L. Cultivars. *Plants*, 10(9), 1877.
- Ali, M. S., & Baek, K. H. (2020). Jasmonic acid signaling pathway in response to abiotic stresses in plants. In *International Journal of Molecular Sciences* 21(2), 621
- Bhagooli, R., Mattan-Moorgawa, S., Kaullysing, D., Louis, Y. D., Gopeechund, A., Ramah, S., Soondur, M., Pilly, S. S., Beesoo, R., Wijayanti, D. P., Bachok, Z. Bin, Monrás, V. C., Casareto, B. E., Suzuki, Y., & Baker, A. C. (2021). Chlorophyll fluorescence – A tool to assess photosynthetic performance and stress photophysiology in symbiotic marine invertebrates and seaplants. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112059.
- Cisse, A., Zhao, X., Fu, W., Kim, R. E. R., Chen, T., Tao, L., & Feng, B. (2020). Non-Photochemical Quenching Involved in the Regulation of Photosynthesis of Rice Leaves under High Nitrogen Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2115.
- Eshaghi-Gorji, F., Maali-Amiri, R., & Naderi, S. (2025). Acclimation-Mediated Tolerance to Low Temperature in Bread and Durum Wheat Cultivars via Regulation of Antioxidative Responses and Genes Involved in Ethylene Metabolism. *Journal of Plant Growth Regulation*, 44(7), 3579–3597.
- Hajihashemi, S., Noedoost, F., Geuns, J. M. C., Djalovic, I., & Siddique, K. H. M. (2018). Effect of Cold Stress on Photosynthetic Traits, Carbohydrates, Morphology, and Anatomy in Nine Cultivars of *Stevia rebaudiana*. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1430.
- Hossain, M. A., Bhattacharjee, S., Armin, S.-M., Qian, P., Xin, W., Li, H.-Y., Burritt, D. J., Fujita, M., & Tran, L.-S. P. (2015). Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging. *Frontiers in Plant Science*, 6, 420.
- Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Lukasik, I., Goltsev, V., & Ladle, R. J. (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4), 102.
- Lee, J. S., Chebotarov, D., Platten, J. D., McNally, K., & Kohli, A. (2020). Advanced strategic research to promote the use of rice genetic resources. In *Agronomy* 10(11), 1629.
- Li, Y., Zhu, J., Xu, J., Zhang, X., Xie, Z., & Li, Z. (2024). Effect of cold stress on photosynthetic physiological characteristics and molecular mechanism analysis in cold-resistant cotton (ZM36) seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1396666.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* 148, 350-382.
- Lichtenthaler, H. K., & Rinderle, U. (1988). The Role of Chlorophyll Fluorescence in The Detection of Stress Conditions in Plants. *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 19(sup1), S29–S85.
- Meynard, D., Vernet, A., Meunier, A.-C., Mieulet, D., Bès, M., Portefaix, M., Breitler, J.-C., Périn, C., & Guiderdoni, E. (n.d.). *Thirty years of genome engineering in rice: From gene addition to gene editing* §.
- Naderi, S., Fakheri, B. A., Maali-Amiri, R., & Mahdinezhad, N. (2020). Tolerance responses in wheat landrace Bolani are related to enhanced metabolic adjustments under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 244-253.
- Nejat, N., & Mantri, N. (2017). Plant immune system: Crosstalk between responses to biotic and abiotic stresses the missing link in understanding plant defence. *Current Issues in Molecular Biology*, 23, 1–16.
- Niu, L., & Liao, W. (2016). Hydrogen Peroxide Signaling in Plant Development and Abiotic Responses: Crosstalk with Nitric Oxide and Calcium. *Frontiers in Plant Science*, 7, 230.
- Nurhasanah Ritonga, F., & Chen, S. (2020). Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants. In *Plants* (Vol. 9, Issue 5). MDPI AG.
- Raza, A., Charagh, S., Najafi-Kakavand, S., Abbas, S., Shoaib, Y., Anwar, S., Sharifi, S., Lu, G., & Siddique, K. H. M. (2023). Role of phytohormones in regulating cold stress tolerance: Physiological and molecular approaches for developing cold-smart crop plants. *Plant Stress*, 8, 100152.

- Saleh, A. S. M., Wang, P., Wang, N., Yang, L., & Xiao, Z. (2019). Brown Rice Versus White Rice: Nutritional Quality, Potential Health Benefits, Development of Food Products, and Preservation Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(4), 1070–1096.
- Sayed, O. H. (2003). Chlorophyll Fluorescence as a Tool in Cereal Crop Research. *Photosynthetica*, 41(3), 321–330.
- Strasser, R. J., Srivastava, A., & Tsimilli-Michael, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*, 25, 445–483.
- Swapnil, P., Meena, M., Singh, S. K., Dhuldhaj, U. P., Harish, & Marwal, A. (2021). Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. *Current Plant Biology*, 26, 100203.
- Thapa, R., Tabien, R. E., Johnson, C. D., & Septiningsih, E. M. (2023). Comparative transcriptomic analysis of germinating rice seedlings to individual and combined anaerobic and cold stress. *BMC Genomics*, 24(1).
- Uarrota, V. G., Stefen, D. L. V., Leolato, L. S., Gindri, D. M., & Nerling, D. (2018). Revisiting Carotenoids and Their Role in Plant Stress Responses: From Biosynthesis to Plant Signaling Mechanisms During Stress. In *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*, 207–232. Springer International Publishing.
- Wang, P., Liu, W., Han, C., Wang, S., Bai, M., & Song, C. (2024). Reactive oxygen species: Multidimensional regulators of plant adaptation to abiotic stress and development. *Journal of Integrative Plant Biology*, 66(3), 330–367.
- Wu, B., Chen, S., Cheng, S., Li, C., Li, S., Chen, J., Zha, W., Liu, K., Xu, H., Li, P., Shi, S., Yang, G., Chen, Z., Liu, K., You, A., & Zhou, L. (2023). Transcriptome Analysis Revealed the Dynamic and Rapid Transcriptional Reprogramming Involved in Cold Stress and Related Core Genes in the Rice Seedling Stage. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1914.
- Xie, X., He, Z., Chen, N., Tang, Z., Wang, Q., & Cai, Y. (2019). The Roles of Environmental Factors in Regulation of Oxidative Stress in Plant. In *BioMed Research International 2019*, 9732325.
- Xu, C., Wang, Y., Yang, H., Tang, Y., Liu, B., Hu, X., & Hu, Z. (2023). Cold acclimation alleviates photosynthetic inhibition and oxidative damage induced by cold stress in citrus seedlings. *Plant Signaling & Behavior*, 18(1).
- Zhang, G. (2020). Prospects of utilization of inter-subspecific heterosis between indica and japonica rice. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(1), 1–10.
- Zhang, H., Zhao, Y., & Zhu, J. K. (2020). Thriving under Stress: How Plants Balance Growth and the Stress Response. In *Developmental Cell* 55(5), 529–543.
- Zhang, Q., Chen, Q., Wang, S., Hong, Y., & Wang, Z. (2014). Rice and cold stress: methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. *Rice*, 7(1), 24.
- Zhao, Y., Han, Q., Ding, C., Huang, Y., Liao, J., Chen, T., Feng, S., Zhou, L., Zhang, Z., Chen, Y., Yuan, S., & Yuan, M. (2020). Effect of Low Temperature on Chlorophyll Biosynthesis and Chloroplast Biogenesis of Rice Seedlings during Greening. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1390.

Physiological and photosynthetic responses of rice (*Oryza sativa* L.) subsp. *indica* and *japonica* to cold stress

Abstract

Rice (*Oryza sativa* L.) as a strategic cereal makes an important contribution to ensuring food security in Iran and the world. However, its production is severely affected by abiotic stresses, including cold stress. This study aimed to investigate the physiological and photosynthetic responses of four cultivars of rice from the *indica* subspecies, including "Shiroodi" and "Hashemi" (commercial cultivars), "Kohsar" (early maturing and cold-tolerant), and a *japonica* subspecies, including "Gerde", during cold stress of 4 °C in the growth chamber of the Faculty of Agriculture, University of Tehran in 2023 based on a factorial experiment in a completely randomized design with three replications.. Cold stress significantly increased hydrogen peroxide (H₂O₂) in cultivars, while its level was reduced considerably in the cultivars Gerde and Kohsar compared to Shiroodi and Hashemi, which was related to higher antioxidant capacity of the cultivars Gerde and Kohsar. The content of chlorophyll *a*, *b*, and total chlorophyll decreased significantly by 81%, 73% and 78% respectively in response to cold stress, while the decrease was less in the tolerant cultivars (Gerde and Kohsar). In contrast, carotenoids accumulation as part of the defense response significantly

increased by 46%. Chlorophyll fluorescence indices showed a significant decrease up to 73%, indicating damage to photosystem II, but in the cultivars Gerde and Kohsar, decreases were less. The results indicate a direct relationship between the reduction of cellular damage, preservation of photosynthetic pigments, and stability of photosystem II in improving cold tolerance in rice, which indicates that modulating oxidative stress and cell damage increases photosynthesis and plant survival. The cultivars Gerde and Kohsar were identified as cold-tolerant cultivars with better oxidative balance and higher photochemical efficiency.

Keywords: rice, cold stress, oxidative stress, chlorophyll fluorescence, *japonica*.

فایل استناد