ژنتیک نوین
دوره نوزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳
صفحه ۱۲۶ - ۱۱۵

# بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مولکولی القاشده در زیر گونه‌های ایندیکا و ژاپونیکا برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تنش سرما

# Investigating physiological and molecular responses in rice (*Oryza sativa* L.) subsp. *indica* and *japonica* during cold stress

**فاطمه سلطانی[۱]، رضا معالی امیری*[۱]، نادین توپفر[۲]، سید امیر مرعشی[۳]، هوشنگ علیزاده[۱]**

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشیار، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی کرج دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- استاد، موسسه علوم گیاهی، دانشگاه کلن، آلمان

۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکدگان علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

**Soltani F[1], Maali-Amiri R*[1], Töpfer N[2], Marashi SA[3], Alizadeh H[1]**

1- PhD Student, Professor, Associated Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2- Professor, Institute for Plant Sciences, University of Cologne, Cologne, Germany
3- Associated Professor, Department of Biotechnology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rmamiri@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۳)

## چکیده

**تنش سرما، یکی از عوامل محدود کننده تولید و عملکرد برنج (*Oryza sativa* L.) می‌باشد. در این پژوهش، پاسخ‌های زودهنگام متابولیکی و مولکولی دو رقم برنج شامل یک رقم متحمل به سرما از زیرگونه ژاپونیکا، "گرده" و یک رقم حساس به سرما از زیرگونه ایندیکا "شیرودی" به تنش سرمای ۴ °C بررسی شد. تنش سرما موجب کاهش معنی‌دار محتوی کلروفیل *a* و *b* و کاروتنوئیدها در هر دو رقم برنج شد. با این وجود، محتوی رنگریزه فتوسنتزی در رقم شیرودی، به میزان بیش‌تری در اثر سرما کاهش یافت که مؤید ظرفیت ژنتیکی پایین این رقم در حفاظت از سامانه فتوسنتزی بود. میزان پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) و مالون‌دی‌آلدهید (MDA) رقم شیرودی، حین سرما، به‌صورت معنی‌داری بالاتر از این مقادیر در رقم گرده بود که این نتایج با ظرفیت پایین‌تر رقم شیرودی در سرکوب گونه‌های فعال اکسیژن مرتبط است. بالاتر بودن سطح بیان رونوشت ژن بتا-گلوکوزیداز (*BG*) در ساعات پایانی اعمال سرما در رقم گرده، می‌تواند بیانگر نقش این آنزیم در افزایش سطح آبسیزیک‌اسید فعال سلول در حین سرما در این رقم باشد. افزایش معنی‌دار سطح رونوشت ژن فنیل‌آلانین آمونیالیاز (*PAL*) رقم گرده نسبت به رقم شیرودی، بیانگر القای پاسخ‌های دفاعی در مسیر فنیل‌پروپانوئیدی می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که توانایی حفاظت از ساختارهای فتوسنتزی، ظرفیت بالاتر در حفاظت سلول در برابر تنش‌های اکسیداتیو و نیز تنظیم بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم آبسیزیک‌اسید و ترکیبات ثانویه طی تنش، از جمله دلایلی هستند که در تحمل رقم گرده به سرما مؤثرند.**

**واژه‌های کلیدی**

برنج
بتاگالاکتوزیداز
بیان ژن
تنش سرما
تنش اکسیداتیو

[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

## مقدمه

تغییرات اقلیمی کره زمین، که در پی فعالیت‌های صنعتی انسان، استفاده از سوخت‌های فسیلی و نشت گازهای گلخانه‌ای شدت گرفته، سهم به‌سزایی در ایجاد نوسانات محیطی و در نتیجه القای تنش‌های غیر زیستی در گیاهان، از جمله تنش سرما ایفا می‌کند. سرما یک از تنش‌های غیر زیستی مهم بوده که بهره‌وری بسیاری از گیاهان زراعی را با محدودیت‌های جدی مواجه می‌کند (Chaudhry and Sidhu 2022). برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از منابع غذایی اصلی انسان را تشکیل می‌دهد. به سبب منشأ استوایی گیاه برنج، تولید و عملکرد این گیاه راهبردی، به‌شدت توسط سرما محدود می‌شود.

در سطح فیزیولوژیکی، سرما موجب ظهور علایمی هم‌چون کاهش جوانه‌زنی، کاهش رشد گیاهچه، زرد شدن برگ‌ها و عقیم شدن دانه گرده می‌شود (Zhang et al. 2014). در سطح متابولیسم، سرما از طریق مهار یا تغییر فعالیت کنتیکی، تغییر در وضعیت دسترسی به سوبسترای آنزیم‌ها، القای تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1]) و تغییر در وضعیت اکسیداسیون-احیاء سلول موجب اختلال در فعالیت متابولیکی گیاه می‌شود. برنج نیز مانند سایر گیاهان در مسیر تکاملی خود، به سازوکارهای مختلفی جهت بازگرداندن هموستازی و تحمل به سرما، مجهز شده است. از جمله این سازوکارها می‌توان به افزایش تولید ترکیبات حفاظت‌کننده در برابر سرما هم‌چون پرولین، رافینوز، گالاکتینول، تری‌هالوز و پلی‌آمین‌ها و بکارگیری سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی جهت مقابله با اثرات زیان‌بار ROSها اشاره کرد (Kaplan et al. 2004; Zhang et al. 2014). آنتی اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون اکسیداز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل آسکوربات، گلوتاتیون، آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی، نخستین خط دفاعی گیاه در برابر ROSها محسوب می‌شود (Sharma et al. 2012). هیدروژن پراکسید ($H_2O_2$) یکی از انواع ROS بوده که در غلظت‌های بالا موجب آسیب به پروتئین‌ها و لیپیدهای غشائی می‌شود (Habibi 2014). اندازه‌گیری سطوح $H_2O_2$ و مالون‌دی‌آلدهید (MDA[2]) که شاخصی از میزان پراکسیداسیون لیپیدی سلول است، از یک‌سو میزان خسارت سلولی و از سوی دیگر به‌طور غیرمستقیم، ظرفیت دفاع سلولی را نشان می‌دهد.

در سطح ترانسکریپتوم، سرما موجب القای تغییرات سریع در بیان ژن‌هایی با کارکردهای متفاوت از جمله ژن‌های کدکننده عوامل رونویسی، پروتئین کینازها، فسفاتازها و آنزیم‌های دخیل در سنتز و تخریب ترکیبات محافظت کننده و بیوسنتز هورمون‌ها می‌شود (Manasa et al. 2022). مابین هورمون‌های گیاهی، هورمون آبسیزیک اسید (ABA[3]) به‌دلیل نقش خود در تنظیم طیف وسیعی از عملکردهای مرتبط با پاسخ به تنش، به‌عنوان هورمون تنش شناخته می‌شود (Mehrotra et al. 2014). علاوه بر بیوسنتز و کاتابولیسم de novo، سطوح هورمون ABA توسط آنزیم‌های UDP-گلوکوزیل‌ترانسفراز که اتصال گلوکز به هورمون ABA را کاتالیز می‌کند و آنزیم بتا-گلوکوزیداز (BG[4]) که پیوند بین ABA و گلوکز را هیدرولیز می‌کند، تنظیم می‌شود. بنابراین فعالیت آنزیم BG در افزایش سطوح ABA در پاسخ به تنش‌ها نقش دارد (Xu et al. 2012). مسیر فنیل پروپانوئیدی، با استفاده از حد واسط‌های مسیر شیکیمات، تداد گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه را سنتز می‌کند. آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL[5]) با دآمینه کردن فنیل‌آلانین، نخستین گام این مسیر را کاتالیز کرده و یکی از آنزیم‌های مهم و کلیدی مسیر فنیل‌پروپانوئیدی می‌باشد (Vogt 2010). مطالعات زیادی، افزایش سطوح رونوشت ژن‌های کد کننده آنزیم‌های فنیل پروپانوئیدی را علت القای سنتز فنیل‌پروپانوئیدها در شرایط تنش دانسته‌اند (Dixon and Paiva 1995).

گونه برنج زراعی، دارای دو زیرگونه *indica* و *japonica* است. این دو زیرگونه نه تنها از نظر خصوصیات ژنتیکی، بلکه از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی، صفات زراعی و تحمل نیز با یکدیگر متفاوت هستند. سازگاری بیش‌تر زیرگونه *japonica* به نواحی معتدل و سازگاری بیش‌تر زیرگونه indica به نواحی استوایی

[1] Reactive oxygen species

[2] Malondialdehyde
[3] Abscisic acid
[4] Beta-glucosidase
[5] Phenylalanine ammonia-lyase



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

زمینه‌ساز تحمل بالاتر زیرگونه *japonica* به انواعی از تنش‌ها، از جمله سرما بوده است (Takahashi and Tsunoda 1984). مطالعه و مقایسه پاسخ‌های دو زیرگونه حساس و متحمل به سرما، می‌تواند درک خوبی از سازوکارهای مرتبط با ایجاد تحمل به سرما به محققان ارائه دهد. چنین اطلاعاتی پیش‌نیاز هر گونه فعالیت اصلاح نژادی و یا مهندسی ژنتیک جهت دست‌یابی به گیاهانی با تحمل بیش‌تر در برابر سرما می‌باشد. در حال حاضر موضوع افزایش تحمل در گیاهان زراعی، با توجه به افزایش بی‌سابقه سرعت رشد جمعیت کره زمین و ضرورت تامین امنیت غذایی این جمعیت، بیش از پیش حائز اهمیت است (Dhankher and Foyer 2018). پاسخ‌های گیاه به سرما را می‌توان به دو دسته پاسخ‌های زودهنگام و دیرهنگام تقسیم کرد. پاسخ‌های زودهنگام، پاسخ‌هایی هستند که در ٢٤ ساعت اولیه ظهور تنش آشکار شده و اهمیت این پاسخ‌ها از آن جهت است که این پاسخ‌ها نقشی حیاتی در تحمل به سرما ایفا می‌کنند (Cheng et al. 2007). همچنین، مطالعات نشان داده که در ژنوتیپ‌های متحمل در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس، پاسخ‌های زودهنگام زمینه ساز پاسخ‌های دیرهنگام در القای فرآیندهای دخیل در تحمل به تنش می‌باشند. به‌عبارت دیگر، القای پاسخ‌های متابولیکی در دوره‌های کوتاه مدت پس از شروع تنش سرما، شرایط سلول را در وضعیتی قرار می‌دهد که با جلوگیری از افزایش شدید میزان خسارت‌های سلولی، درجه تحمل را در ژنوتیپ‌های متحمل بهبود می‌بخشد (Heidarvand and Maali Amiri 2010).

مطالعه و درک سازوکارهای دخیل در تحمل سرما به سبب گستردگی متابولیت‌ها و یا مسیرهای متابولیکی دشوار است. با این وجود، مقایسه پاسخ‌های گیاهچه‌های برنج با سطوح تحمل متفاوت به تنش (برای مثال زیرگونه *japonica* و *indica* برنج) در ارائه اطلاعاتی در مورد سازوکارهای کم‌تر شناخته شده برنج به سرما به‌خصوص به‌دلیل در نظر گرفتن بازه‌های زمانی استفاده شده در این مطالعه، امکان‌پذیر می‌باشد. مطابق با داده‌های موجود، کاهش دما در نواحی کشت برنج ایران و اغلب در شمال کشور در زمان خزانه برنج و یا حتی در دوره نشاء برنج رخ داده که با تنش‌های سرمای کوتاه مدت (حداقل چهار درجه سانتی‌گراد) مواجه است. بنابراین در این پژوهش، با هدف شناسایی سازوکارهای دخیل در تحمل برنج به سرما، پاسخ‌های زودهنگام دو رقم برنج، یعنی رقم حساس شیرودی و رقم متحمل گرده که به‌ترتیب متعلق به زیرگونه‌های *indica* و *japonica* می‌باشند، در بازه‌های زمانی تا ٢٤ ساعت پس از اعمال سرما در سطح فیزیولوژیکی با اندازه‌گیری سطوح رنگیزه‌های فتوسنتزی، $H_2O_2$ و MDA، و در سطح مولکولی با بررسی الگوی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های BG و PAL انجام شد.

## مواد و روش‌ها

بذر ارقام برنج متحمل به سرما گرده (*japonica*) و حساس شیرودی (*indica*) از مؤسسه تحقیقات برنج شمال کشور-رشت، تهیه شد. رقم شیرودی از ارقام پر محصولی است که در شمال کشور و عمدتاً در استان مازندران، به‌طور وسیع کشت می‌شود و متحمل به بیماری بلاست می‌باشد (محدثی و همکاران، ١٣٨٨). ابتدا به‌منظور ضدعفونی، بذرها به مدت ده دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ده درصد قرار گرفتند. پس از شستشو با آب مقطر، بذرها به قارچ‌کش مانکوزب آغشته شده و به‌منظور جوانه‌زنی، درون پتری دیش با کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. پس از گذشت چهار روز، بذور جوانه‌زده به گلدان‌ها انتقال یافته و درون هر گلدان، ١٤ عدد بذر کشت شد. پس از کشت، گلدان‌ها به اتاقک رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، با دمای ٢٥ °C و فتوپریود ١٤ ساعت روشنایی و ١٠ ساعت تاریکی و شدت نور ٢٠٠ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه انتقال یافت. پس از گذشت سه هفته، گلدان‌ها به سردخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات با همان فتوپریود و دمای ٤ °C انتقال یافت. نمونه‌گیری از اندام هوایی در شرایط شاهد (پیش از اعمال تنش سرما) و نیم، دو، چهار، هشت و ٢٤ ساعت پس از اعمال تنش سرما انجام شد و نمونه‌ها بلافاصله به مخزن حاوی ازت مایع منتقل و سپس جهت نگهداری به فریزر ٨٠- °C انتقال یافتند.

مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها از طریق روش (Arnon 1949) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ٠/١ گرم از نمونه برگی با ازت مایع کوبیده و



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

به‌صورت پودری در آورده شد. سپس به هر نمونه ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت پنج دقیقه با شتاب $g \times$ ۵۰۰۰، سانتریفیوژ شد. پس از آن، روشناورها به تیوب جدید منتقل شده و به هر تیوب ۲/۵ میلی‌لیتر استون۸۰ درصد اضافه و مرحله قبل تکرار شد. جذب روشناورهای حاصل، در طول موج‌های ٦٦٣، ٦٤٥ و ٤٧٠ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، مدل EON (Bio Tek, USA) قرائت شد. محلول شاهد[1] نیز از استون ۸۰ درصد تهیه شد. مقادیر کلروفیل *a*، کلروفیل*b* و کاروتنوئیدها به‌ترتیب از طریق معادلات زیر محاسبه شد (Lichtenthaler 1987).

کلروفیل $a = 12.25 \times A_{663} - 2.79 \times A_{645}$

کلروفیل $b = 21.50 \times A_{645} - 5.10 \times A_{663}$

کاروتنوئید = $(1000 \times A_{470} - 1.82 \times \text{Chl } a - 85.02 \times \text{Chl } b) / 198$

که $A_{663}$، $A_{645}$ و $A_{470}$ به‌ترتیب مقدار جذب قرائت شده در طول موج‌های ٦٦٣، ٦٤٥ و ٤٧٠ می‌باشد.

سنجش غلظت $H_2O_2$ نمونه‌ها با استفاده از روش (Loreto and Velikova 2001) انجام شد. به‌طور خلاصه، ۰/۳۵ گرم نمونه بافت گیاهی درون هاون با ازت مایع کوبیده شد. سپس به هر یک از نمونه‌های مطالعه، ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA[2]) ۰/۱ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با شتاب $g \times$ ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. روشناورهای حاصل جدا و ۵۰۰ میکرولیتر از این روشناورها به ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (pH = ۷) و یک میلی‌لیتر پتاسیم یدید اضافه شدند. جذب محلول حاصل در طول موج ۳۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و غلظت هیدروژن پراکسید بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد. محلول شاهد از جایگزینی عصاره هوموژنیزه شده با ۵۰۰ میکرولیتر TCA ۰/۱ درصد به‌دست آمد.

به منظور اندازه‌گیری محتوی MDA از روش (Song et al. 2011) استفاده شد. به این منظور ۰/۲۵ گرم از بافت گیاهی در ازت مایع کوبیده شد. سپس به هر یک از نمونه‌های کوبیده شده پنج میلی‌لیتر TCA ۰/۱ درصد اضافه شد و مخلوط هوموژنیزه به مدت ۱۵ دقیقه با شتاب $g \times$ ۱۰۰۰۰ و دمای ۲۰ °C سانتریفیوژ شد. ۲۵۰ میکرولیتر از روشناورهای حاصل جدا، و به هر یک از نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر معرف تیوباربیتوریک اسید (TBA[3]) ۰/۲۵ درصد اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ °C و پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه درون ظرف یخ قرار داده شد. سپس، مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ °C با سرعت $g \times$ ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد و میزان جذب روشناورهای حاصل در طول موج‌های ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت غلظت مالون‌دی‌آلدهید بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد. محلول شاهد از ترکیب ۲۵۰ میکرولیتر TCA ۰/۱ درصد و ۲ میلی‌لیتر معرف TBA ساخته شد. اندازه‌گیری محتوی MDA بر اساس معادله C=D/EL صورت گرفت که در این معادله، C نشان دهنده غلظت MDA می‌باشد. همچنین D میزان چگالی نوری و ضریب خاموشی مولاری بوده که برابر با میزان $1.56 \times 10^5$ $cm^{-1}m^{-1}$ می‌باشد و L نیز میزان ضخامت محلول درون چاهک است که برابر با یک سانتی‌متر می‌باشد.

به‌منظور بررسی اثر سرما بر تغییرات الگوی بیان ژن‌های این مطالعه، ابتدا استخراج RNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت شرکت دنازیست و طبق دستورالعمل پیشنهادی این شرکت انجام شد. ارزیابی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده به‌ترتیب با استفاده از نانودراپ و ژل آگارز یک درصد انجام گرفت. پس از اطمینان از غلظت و کیفیت RNA استخراج شده، با هدف حذف آلودگی‌های DNA از نمونه‌ها، RNA استخراج شده با آنزیم DNase تیمار شدند. به‌منظور ساخت cDNA، از کیت شرکت پارس توس و طبق دستور عمل پیشنهادی این شرکت، استفاده شد. بدین منظور، ۵ میکرولیتر از RNA، ۱۰ میکرولیتر از بافر آنزیم به‌همراه ۲ میکرولیتر آنزیم به هر تیوب اضافه و حجم نهایی هر تیوب به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. پس از ورتکس، مخلوط حاصل در PCR با برنامه ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ °C، ٦٠ دقیقه در دمای ٤٧ °C و ۵ دقیقه در دمای ۸۵ °C انکوبه شد. سپس تیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه بر روی یخ قرار داده شدند و کیفیت و کمیت نمونه‌ها با استفاده از نانودراپ مورد بررسی قرار گرفت.

[1] Blank
[2] Trichloroacetic acid
[3] Thiobarbituric acid



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

جهت طراحی جفت آغازگرهای ژن‌های بتا-گلوکوزیداز (*BG*) و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (*PAL*)، توالی کدکننده این ژن‌ها از پایگاه داده NCBI بازیابی شد. طراحی جفت آغازگرها با استفاده از ابزارهای موجود در سایت idt[1] انجام شد (جدول ۱). کیفیت آغازگرها از نظر عدم تشکیل ساختارهای ساقه-حلقه، هترودایمر، پرایمر-دایمر و سلف دایمر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ژن اکتین به‌عنوان ژن خانه‌دار[2] در این مطالعه استفاده شد. به‌منظور ساخت مخلوط واکنش qRT-PCR، دو میکرولیتر cDNA، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای پیش‌رو و برگشتی و ۷/۵ میکرولیتر مسترمیکس با ۲/۵ میکرولیتر آب‌مقطر تیمار شده با DEPC ترکیب شد. چرخه‌های Real-time PCR شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ °C به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۲ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ °C به مدت ۱۰ ثانیه، دمای اتصال ۶۰-۵۰ °C به مدت ۱۰ ثانیه و طویل شدن در دمای ۷۲ °C به مدت ۳۵ ثانیه تنظیم شد. در نهایت، بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه، با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Pfaffl and Bustin, 2004) نسبت به ژن خانه‌دار اکتین نرمال و در سه تکرار تکنیکی محاسبه شد.

این مطالعه به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و مقایسه میانگین‌ها طبق آزمون چنددامنه‌ای دانکن (Duncan, 1955) صورت گرفت. نمودارهای این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Excel 2021 رسم شد. نظر به معنی‌دار شدن اثر متقابل بین عوامل، نتایج در این تحقیق به‌صورت اثرات متقابل نمایش داده شد.

[1] Integrated DNA technologies
[2] House-keeping gene

جدول ۱- فهرست جفت آغازگرهای طراحی شده در بررسی الگوی بیان ژن

| نام ژن | شناسه ژن | توالی آغازگر پیش‌رو (′3-′5) | توالی آغازگر برگشتی (′3-′5) | $T_m$ (°C) | طول محصول (bp) |
|---|---|---|---|---|---|
| *BG* | U28047.3 | TCTCATGGTCCAGGATCTTC | AGGGAGATCGTAGTGGTAAAG | ۵۲ | ۱۳۷ |
| *PAL* | X16099.1 | CCATCACCAACCATGTCCAGAG | CGATGTAGGTGGAGGTCATGAG | ۵۷ | ۱۲۶ |
| *Actin* | X16280.1 | GAATGGAAGCTGCGGGTATC | GTACCACCACTGAGAACGATG | ۵۴ | ۱۰۶ |

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش سرما روی صفات و الگوی بیان ژن دو رقم گرده و شیرودی

| | | میانگین مربعات | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | کلروفیل *a* | کلروفیل *b* | کاروتنوئید | $H_2O_2$ | MDA | بیان ژن *BG* | بیان ژن *PAL* |
| رقم | ۱ | ۱۴/۴۲** | ۴/۶۸** | ۰/۰۱۸** | ۰/۸۸** | ۰/۰۵** | ۴/۳۹** | ۱۶/۲۹** |
| دما | ۵ | ۲۵/۸۶** | ۱/۰۴** | ۰/۰۵۲** | ۰/۳۹** | ۰/۰۲** | ۶۴/۰۷** | ۵۰/۹۹** |
| رقم×دما | ۵ | ۴۵/۱** | ۰/۰۶** | ۰/۰۰۳** | ۰/۰۵۳** | ۰/۰۰۲** | ۱/۰۵** | ۱/۳۸** |
| خطا | ۲۴ | ۰/۰۴ | ۰/۰۰۳** | ۳/۴۲ | ۰/۰۰۰۵ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۱۴ | ۰/۰۳۸ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ۳/۱۲ | ۳/۱۲ | ۳/۴۲ | ۲/۱۶ | ۳/۵۴ | ۲/۳ | ۳/۶۵ |

** معنی‌داری در سطح یک درصد

بررسی تغییر محتوی کلروفیل در پاسخ به تنش سرما

سطوح کلروفیل، به‌عنوان شاخصی برای تخمین ظرفیت فتوسنتزی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Cruz et al. 2013). نتایج مقایسه میانگین نشان داد سرما، در هر دو رقم موجب کاهش معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) محتوی کلروفیل *a* و *b* نسبت شاهد شد (شکل ۱). اختلاف میان دو رقم گرده و شیرودی در محتوی کلروفیل *b* مشهودتر از محتوی کلروفیل *a* بود. محتوی کلروفیل *a* در رقم گرده در نمونه‌های شاهد، ۸ ساعت و ۲۴ ساعت پس از تنش سرما، و نیز، محتوی کلروفیل *b* در این رقم در تمام مدت اعمال تنش سرما، به‌طور معنی‌داری بالاتر از محتوی کلروفیل مشابه در



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

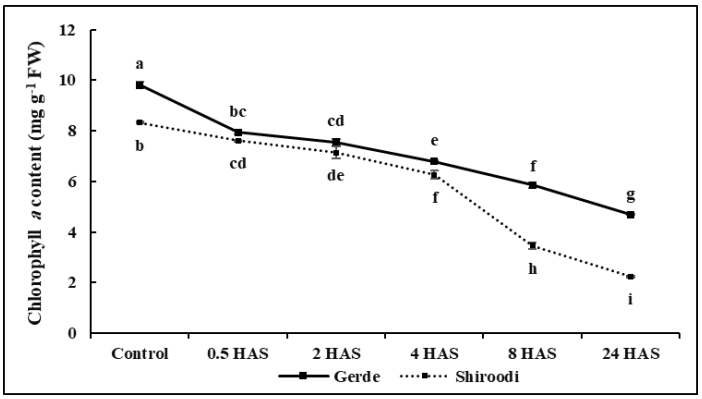
رقم حساس شیرودی بود. کم‌ترین میزان کلروفیل *a* و *b* درهر دو رقم، در نمونه‌ای مشاهده شد که ٢٤ ساعت پس از سرما گرفته شده بود. در این نقطه زمانی، محتوی کلروفیل *a* در ارقام گرده و شیرودی به‌ترتیب ۵۲ و ۷۳ درصد، نسبت به محتوی کلروفیل *a* مشاهده شده در حالت شاهد، کاهش داشت. به همین ترتیب محتوی کلروفیل *b*، ٢٤ ساعت پس از سرما در ارقام گرده و شیرودی، به‌ترتیب کاهش ٤٦ و ٤٨ درصدی را نشان داد (شکل ۱، الف و ب). سرما، اثرات بسزایی روی اغلب فرآیندهای ضروری گیاه از جمله فتوسنتز ایفا می‌کند. سرما موجب القای بسته شدن روزنه‌ها (Agurla et al. 2018)، کاهش کارایی آنزیمی و در نتیجه کاهش سرعت آنزیم‌های فتوسنتزی (Bhattacharya 2022) و نیز تغییر در ساختارهای فتوسنتزی هم‌چون کلروپلاست‌ها می‌شود (Zhao et al. 2020) که می‌تواند ظرفیت فتوسنتزی را کاهش دهد. بنابراین، با توجه به بالاتر بودن مقدار کلروفیل در رقم گرده، به‌نظر می‌رسد این رقم، در حفظ ظرفیت فتوسنتزی خود در مواجهه با سرما مؤثرتر عمل می‌کند.

اثر سرما در کاهش محتوی کلروفیل، در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است (Aghaee et al. 2011; Hasani et al. 2013; Zhao et al. 2020). یکی از دلایل کاهش محتوی کلروفیل طی سرما، کاهش بیوسنتز کلروفیل می‌باشد. اثر منفی سرما در کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی کلروفیل، از جمله گلوتامات-۱-سمی‌آلدهید ترانس‌آمیناز گزارش شده است که یک واکنش محدود کننده سرعت را در این مسیر کاتالیز می‌کند (Zhao et al. 2020). همچنین، کاهش سطوح کلروفیلی می‌تواند به‌دلیل القای کاتابولیسم آن توسط تنش‌های زیستی و غیر زیستی نیز باشد (Hörtensteiner and Kräutler 2011). مطالعات پیشین نشان داده کلروفیل *b* بیش از کلروفیل *a* تحت تاثیر تنش‌های شدید قرار می‌گیرد (Ashraf and Harris 2013; Shin et al. 2021). کلروفیل *b* پیش از تخریب به کلروفیل *a* تبدیل می‌شود چرا که دو آنزیم مهم در مسیر تخریب کلروفیل یعنی آنزیم کلاته کننده منیزیم[1] و فئوفوربید a اکسیژناز[2]، تنها کلروفیل *a* را به‌عنوان سوبسترا قبول می‌کنند (Hörtensteiner et al. 1995). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تحت سرما، محتوی کلروفیل b رقم شیرودی، به مقدار بیش‌تری نسبت به رقم گرده کاهش یافت (شکل ۱-ب). بنابراین به‌نظر می‌رسد رقم گرده درجه تحمل به سرمای بیش‌تری داشته و تبدیل کلروفیل *b* به کلروفیل *a* که پیش‌نیاز تخریب کلروفیل *b* می‌باشد، در رقم گرده کم‌تر رخ می‌دهد.

محتوی کلروفیل *a* رقم شیرودی در ٤ الی ٢٤ ساعت پس از تنش سرما، کاهش شدیدی را نشان می‌دهد (شکل ۱-الف)، به گونه‌ای که محتوی کلروفیل *a* رقم شیرودی، در ۸ و ٢٤ ساعت پس از تنش سرما به‌ترتیب ۵۸ و ۷۳ درصد نسبت به حالت شاهد کاهش یافت در حالی‌که محتوی کلروفیل *a* در رقم گرده با کاهش ٤٠ و ۵۲ درصدی نسبت به حالت شاهد، با شیب کم‌تری صورت گرفت. این نتایج نشان می‌دهد افزایش مدت زمان تنش سرما، با آسیب شدید به کلروفیل *a* در رقم حساس شیرودی همراه بود. همچنین محتوی کلروفیل *b* رقم شیرودی پس از شروع و تا نیم ساعت پس از اعمال سرما، با کاهش ۳۱ درصدی نسبت به حالت شاهد، کاهش شدیدی را نشان داد.

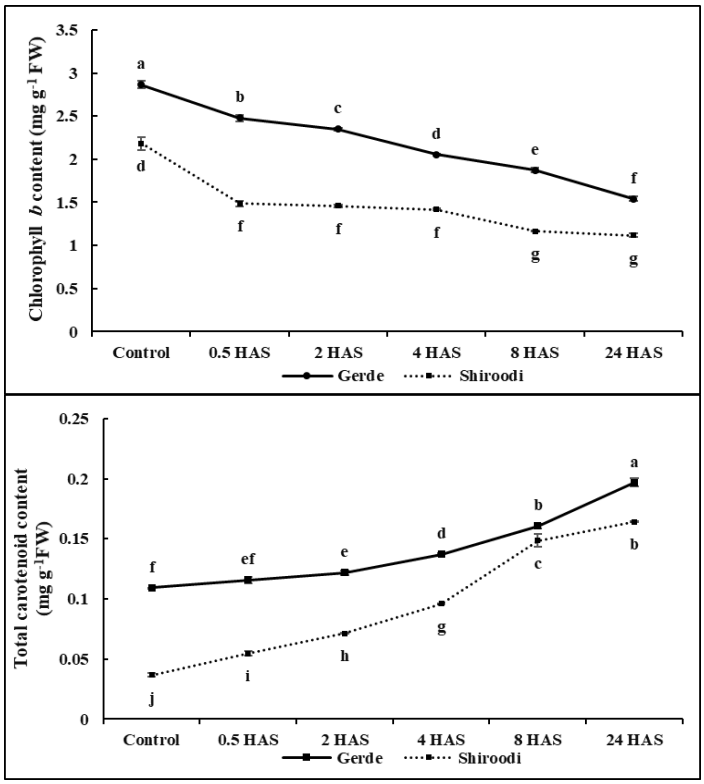
[1] Magnesium chelatase
[2] pheophorbide a oxygenase

الف






[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]




شکل ۱- تغییر میزان کلروفیل $a$ (الف)، کلروفیل $b$ (ب) و کاروتنوئیدها (ج) در دو رقم گرده و شیرودی تحت شرایط شاهد، نیم، دو، چهار، هشت و ۲٤ ساعت پس از تنش سرما (HAS). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. حروف مشابه، عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد نمایش می‌دهد.

نتایج نشان داد در هر دو رقم، سرما موجب افزایش معنی‌دار ($P <$ ۰/۰۱) محتوی کاروتنوئید کل نسبت به شاهد شد. سطوح کاروتنوئیدی در رقم گرده نه تنها تحت شرایط تنش، بلکه تحت شرایط شاهد نیز به صورت معنی‌داری بالاتر از رقم شیرودی بود (شکل ٤-۱۸-ج). بیش‌ترین میزان تجمع کاروتنوئید در هر دو رقم، در ۲٤ ساعت پس از سرما مشاهده شد. کاروتنوئیدها رنگیزه‌های تتراترپنوئیدی هستند که در گیاهان با عمل به‌عنوان رنگیزه‌های جانبی جمع‌کننده نور، موجب افزایش دامنه جذب نور فتوسنتزی، می‌شوند. یکی دیگر از نقش‌های دفاعی کاروتنوئیدها، نقش آن‌ها در پخش انرژی نوری مازاد به‌صورت گرما و جلوگیری از آسیب نوری به فتوسیستم‌ها است. سرما، با اختلال در فعالیت فتوشیمیایی و نیز کاهش آسمیلاسیون کربن، موجب بر هم خوردن تعادل میان جذب و مصرف انرژی نوری می‌شود (Khanal et al. 2017). اگر انرژی مازاد از طریق سازوکارهایی همچون خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ[1]) پخش نشود، منجر به تولید ROS شده که صدمات متعددی را به‌همراه دارد (Asada, 1999; Zhang HuiHui et al. 2017). همچنین کاروتنوئیدها پیش‌ساز هورمون ABA بوده و نقش مهمی را در بیوسنتز این هورمون ایفا می‌کنند (Sun et al. 2022). با توجه به نقش کاروتنوئیدها در حفاظت و جلوگیری از آسیب نوری به فتوسیستم‌ها، به نظر می‌رسد افزایش محتوی کاروتنوئیدها پاسخ دفاعی گیاه به کاهش کارایی فتوسیستم‌ها باشد. در نتیجه رقم گرده با قابلیت تولید مقادیر بیش‌تری از کاروتنوئید، زمینه کاهش آسیب به ساختارهای فتوسنتزی خود را فراهم می‌آورد که به نوبه خود در کاهش تولید ROS در اثر تنش سرما نیز مؤثر است.

اثر تنش سرما بر محتوی $H_2O_2$ و MDA

تجمع ROSها، یکی از پاسخ‌های سریع و کوتاه مدتی است که تقریباً در تمام تنش‌های محیطی مشاهده می‌شود (Blokhina et al. 2003). مابین ROSها، $H_2O_2$ به سبب پایداری نسبی و نیمه عمر بالا و نیز قابلیت عبور از غشاهای پلاسمایی از طریق پروتئین‌های آکواپورین، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Tian

[1] Nonphotochemical quenching

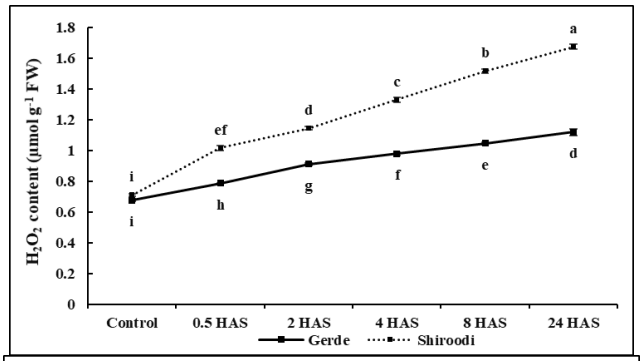


[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

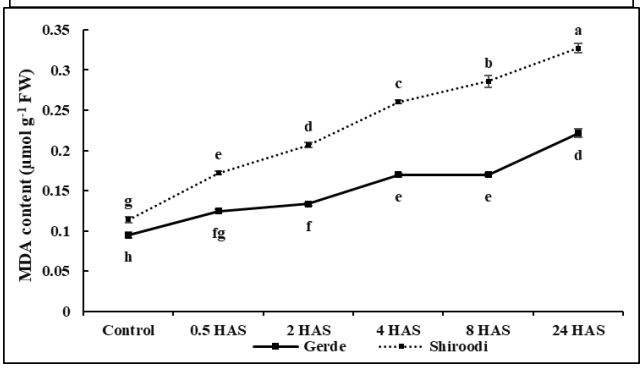
et al. 2016). همانند سایر ROSها، $H_2O_2$ نیز در غلظت‌های کم در مسیرهای پیام‌رسانی نقش دارد. به‌عنوان مثال، فعالیت $H_2O_2$ به‌عنوان مولکول پیام‌رسان و نقش آن در القای پاسخ‌های زودهنگام به سرما از طریق القای عوامل رونویسی مختلف در برنج در گذشته مطالعه شده است (Yun et al. 2010). تجمع ROSها در غلظت‌های بالا به سبب بر هم خوردن توازن بین تولید و تجزیه آن‌ها رخ می‌دهد و در صورتی‌که این گونه‌ها توسط سیستم آنتی اکسیدانی سلول مهار نشوند، خسارت‌هایی را به ساختارهای سلولی وارد می‌آورند (Das and Roychoudhury 2014). از میان این خسارت‌ها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی و تخریب یا اکسیداسیون پروتئین‌ها از جمله اثراتی هستند که بیش‌ترین مطالعه روی آن‌ها صورت گرفته است (Davies 2005; Foyer and Shigeoka 2010). ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون این درشت مولکول‌ها، می‌توانند به‌عنوان نشانگر زیستی شدت وقوع تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تنش، مورد استفاده قرار گیرند (Anjum et al. 2015). یکی از این ترکیبات MDA که از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع حاصل می‌شود (Sochor et al. 2012).

در این مطالعه غلظت $H_2O_2$ و MDA در دو رقم، در نقاط مختلف زمانی پس از اعمال سرما مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۲-الف و ۲-ب). در حالت شاهد، تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ حساس شیرودی و متحمل گرده از نظر محتوی $H_2O_2$ مشاهده نشد. اما با اعمال سرما، محتوی $H_2O_2$ در هر دو رقم، به‌صورت معنی‌داری ($P< ۰/۰۱$) افزایش یافت. روند تجمع $H_2O_2$ همراه با طول مدت تنش سرما همواره به‌صورت افزایشی بود و در ۲٤ ساعت پس از سرما به حداکثر میزان خود رسید. همچین اختلاف میزان تجمع $H_2O_2$ میان دو رقم گرده و شیرودی معنی‌دار بود و رقم شیرودی مقادیر بالاتری از تولید $H_2O_2$ را نشان داد (شکل ۲-الف).

الف




ب




شکل ۲- تغییر میزان $H_2O_2$ (الف) و MDA (ب) در دو رقم گرده (خط ممتد) و شیرودی (خط منقطع) در حالت شاهد و نیم، دو، چهار، هشت و ۲٤ ساعت پس از تنش سرما (HAS). حروف مشابه، عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد نمایش می‌دهد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. حروف مشابه، عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد نمایش می‌دهد.

در مطالعات پیشین نقش $H_2O_2$، به‌عنوان شاخصی از آسیب سلولی در ژنوتیپ‌های نخود و گندم گزارش شده است (Amini et al. 2021; Naderi et al. 2020). به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ حساس به‌دلیل عدم توانایی در سرکوب مؤثر ROSها، مقادیر بالاتری از آن را تجمع می‌دهد. به منظور مطالعه بیش‌تر آسیب‌های سلولی القاء شده توسط ROS، غلظت MDA نیز مورد مطالعه قرار گرفت



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

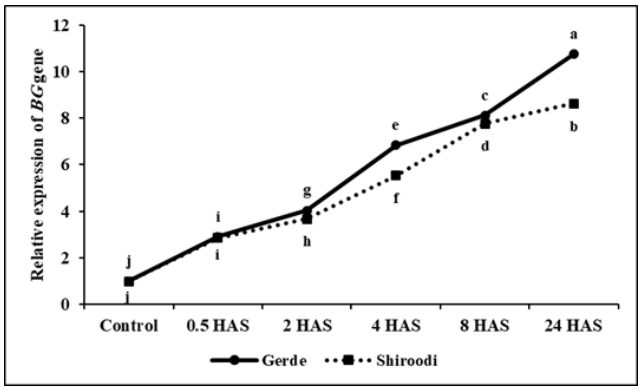
(شکل ۲–ب). نتایج مقایسه میانگین نشان داد، سرما موجب افزایش معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) غلظت MDA در هر دو رقم نسبت به حالت شاهد شد. در رقم حساس شیرودی غلظت MDA با شدت بیش‌تری افزایش یافت در حالی‌که، در رقم گرده افزایش MDA روند پایدارتری را نشان داد. همچنین میزان MDA تولید شده توسط رقم شیرودی در تمام طول سرما بالاتر از میزان تولید شده در رقم گرده بود (شکل ۲–ب). تحقیقات گذشته نشان داده که سرما به‌همراه شدت بالای نور، موجب افزایش معنی‌دار محتوی MDA در رقم حساس *indica* نسبت به رقم متحمل *japonica* می‌شود (Ji and Jiao 2001). مولکول‌های $H_2O_2$ قادر به تولید رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$)، اصلی‌ترین رادیکال فعال القا کنند پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشند (Farmer and Mueller 2013; Yin et al. 2011) که این رادیکال خود از $H_2O_2$ تولید می‌شود (Chen and Schopfer 1999)، به‌نظر می‌رسد در نتیجه ظرفیت ژنتیکی پایین‌تر رقم شیرودی در سرکوب ROS مازاد تولید شده در اثر تنش سرما، مقادیر بالاتری از $H_2O_2$ در این رقم تجمع یافته که منجر به تولید مقادیر بالاتری از $OH^{\cdot}$ و در نهایت موجب پراکسیداسیون لیپیدی و تولید سطوح بالاتری از MDA می‌شود.

بررسی الگوی بیان ژن *BG*

آنزیم BG با شکستن پیوند گلیکوزیدی، موجب جدا شدن هورمون ABA از گلوکز شده و از این طریق فرم فعال ABA حاصل می‌شود. از این‌رو این آنزیم در تنظیم پاسخ‌های دفاعی وابسته به ABA نقش مهمی را ایفا می‌کند (Bowles et al. 2005; Xu et al. 2002; Yonekura-Sakakibara and Hanada 2011).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد تنش سرما در هر دو رقم، موجب افزایش معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بیان ژن *BG* در مقایسه با حالت شاهد شد. همچنین اختلاف معنی‌دار بیان ژن *BG* در این دو رقم در ساعات انتهایی تنش (هشت تا ۲٤ ساعت پس از اعمال سرما) مشاهده شد. بیش‌ترین میزان بیان ژن در ۲٤ ساعت پس از سرما مشاهده شد. در این زمان میزان بیان ژن *BG* افزایش ۱۰/۷ برابری را در رقم گرده و افزایش ۸/٦ برابری را در رقم شیرودی نسبت به حالت شاهد نشان داد (شکل ۳).

به‌نظر می‌رسد با افزایش مدت زمان تنش سرما، گیاه برای فعال‌نمودن سازوکارهای دفاعی، نیاز به تولید مقادیر بالاتری از ABA دارد. بنابراین، افزایش بیان ژن و تولید پروتئین BG می‌تواند یکی از مسیرهای انتخابی گیاه برای افزایش سطوح ABA درون سلولی باشد. به‌منظور مقایسه سهم آزادسازی فرم فعال ABA از طریق فعالیت آنزیم BG با بیوسنتز این آنزیم، لازم است تا الگوی بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز ABA نیز مورد بررسی قرار گیرد.




شکل ۳- تغییر الگوی بیان ژن *BG* در ارقام برنج گرده (خط ممتد) و شیرودی (خط منقطع) در شرایط شاهد و نیم، دو، چهار، هشت و ۲٤ ساعت پس از تنش سرما (HAS). حروف مشابه، عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد نمایش می‌دهد.

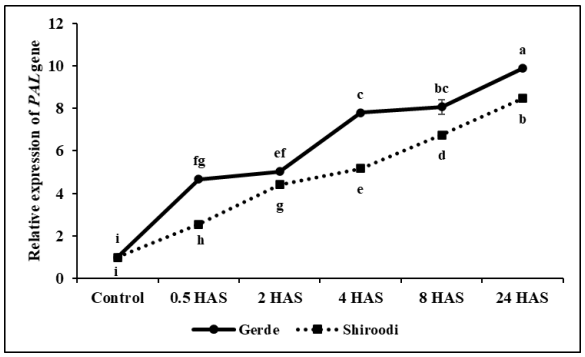
القای بیان *OsNAC5*، که یکی از ژن‌های خانواده ژنی *NAC* در برنج می‌باشد، توسط ABA گزارش شده است. افزایش بیان این ژن موجب افزایش سطوح پرولین و قندهای محلول شده که افزایش تحمل به سرما را به دنبال داشت (Song et al. 2011; Takasaki et al. 2010). با توجه به نقش افزایش بیان ژن‌های کد کننده *BG* در افزایش سطوح ABA، به‌نظر می‌رسد رقم گرده با بیان سطوح بالاتری از رونوشت‌های کدکننده آنزیم *BG*، در امتداد با طولانی‌تر شدن زمان تنش سرما (شکل ۳)، زمینه تجمع مقادیر بالاتری از هورمون ABA را تحت شرایط تنش فراهم می‌آورد. این هورمون با به راه انداختن مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به ABA، زمینه بیان ژن‌های پاسخ به تنش سرما را فراهم کرده و سبب بهبود تحمل به سرما خواهد شد، فرضیه‌ای که با کاهش میزان خسارت‌های سلولی از جمله $H_2O_2$ و MDA به‌خصوص در رقم گرده تأیید می‌شود.

بررسی الگوی بیان ژن *PAL*



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

آنزیم PAL، با دآمیناسیون فنیل‌آلانین تولید شده طی مسیر شیکیمات، جریان کربن را از متابولیسم اولیه به متابولیسم ثانویه هدایت می‌کند. این مسیر در تولید انواعی از ترکیبات ثانویه همچون فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، لیگنین‌ها، آنتوسیانین‌ها، کومارین‌ها و غیره، نقش دارد و از این جهت آنزیمی کلیدی در تولید ترکیبات دفاعی می‌باشد (Kong 2015). نتایج بررسی تغییرات الگوی بیان ژن *PAL* در دو رقم گرده و شیرودی، افزایش معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بیان این ژن را در اثر سرما نشان داد (شکل ٤). میزان بیان این ژن در رقم گرده در تمام طول دوره تنش سرما، بالاتر از رقم شیرودی بود. در رقم شیرودی بیان این ژن، همراه با افزایش مدت زمان تنش، به‌صورت یکنواختی افزایش یافت. اما در رقم گرده، در فواصل زمانی نیم تا دو ساعت و چهار تا هشت ساعت، مقادیر بیان *PAL* ثباتی نسبی داشت و تغییر معنی‌داری را نشان نداد. با افزایش ۹/۸ و ۸/٤ برابری بیان این ژن در ارقام گرده و شیرودی در ٢٤ ساعت پس از اعمال تنش سرما، بیش‌ترین میزان سطوح رونوشت ژن *PAL* در این زمان مشاهده شد (شکل ٤). تجمع ترکیبات فنلی، یکی از رویدادهای به‌خوبی شناخته شده‌ای است که در گیاهان تحت شرایط تنش رخ می‌دهد و نشان دهنده بازآرایی‌های متابولیکی گیاه برای مقابله با تنش‌های غیرزیستی می‌باشد. این ترکیبات به عنوان یکی از سازوکارهای دفاعی گیاه در اعطای تحمل به تنش‌های مؤثر هستند (Cheynier et al. 2013). همبستگی مثبت میان سطوح بیان ژن آنزیم *PAL* و فعالیت این آنزیم در گذشته گزارش شده است (Griffith and Yaish 2004; Ma et al. 2014; Zhou et al. 2018; Gharibi et al. 2019). بنابراین به‌نظر می‌رسد سطوح بالاتر رونوشت‌های ژن *PAL* در رقم گرده می‌تواند با ظرفیت بالاتر این رقم در تولید ترکیبات فنلی همراه باشد. این ترکیبات به سبب ساختار شیمیایی خود، ظرفیت بالایی در اهدای الکترون و هیدروژن دارند. همچنین این ترکیبات با مهار واکنش تبدیل $H_2O_2$ به $OH^{\cdot}$ قابلیت کاهش تولید این رادیکال بسیار سمی را دارا هستند (Rice-Evans et al. 1997). بنابراین می‌توان یکی از علل سطوح کاهش یافته $H_2O_2$ و MDA در رقم گرده (شکل ۲-الف و شکل ۲-ب) را به توانایی این رقم در بیوسنتز مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی و فنیل‌پروپانوئیدی، نسبت داد. همچنین ترکیبات لیگنینی و سوبرینی که از طریق مسیر فنیل‌پروپانوئیدی تولید می‌شوند، در افزایش ضخامت دیواره سلولی نقش داشته و از این طریق موجب حفاظت از سلول در برابر آسیب‌های حاصل از سرما می‌شوند (Chalker-Scott and Fuchigami 2018)




شکل ٤- تغییر الگوی بیان ژن PAL در ارقام برنج گرده (خط ممتد) و شیرودی (خط منقطع) در شرایط شاهد و نیم، دو، چهار، هشت و ٢٤ ساعت پس از تنش سرما (HAS). حروف مشابه، عدم اختلاف معنی‌دار را بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد نمایش می‌دهد.

## نتیجه‌گیری کلی

تغییرات اقلیمی، که در اثر فعالیت‌های بشر تشدید شده، نقش به‌سزایی را در وقوع شرایط آب و هوایی نامساعد و مواجهه گیاهان زراعی با تنش‌های غیرزیستی از جمله سرما ایفا می‌کند. در این مطالعه، پاسخ‌های ارقام متحمل و حساس برنج به تنش سرما به منظور درک سازوکارهای مؤثر در بهبود تحمل بررسی شد. توانایی رقم متحمل در حفظ سطوح رنگیزه‌های فتوسنتزی در امتداد با تعدیل خسارت‌های سلولی از جمله $H_2O_2$ و MDA از دلایل تحمل بالاتر این رقم نسبت به سرما بود. بخشی از پاسخ‌های متمایز رقم متحمل با القای بیان ژن‌های *BG* و *PAL* و به ترتیب با فعالیت هورمون ABA و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی در ارتباط بود. چنین پاسخ‌های زودهنگام پیش‌نیاز تولید متابولیت‌های دفاعی تحت تنش‌های دیرهنگام و الگوی زیربنایی در برنامه‌های اصلاحی و یا تحقیقات مهندسی ژنتیک هدفمند جهت توسعه گیاهان متحمل به تنش برنج می‌باشد. بنابراین رقم گرده با به‌کارگیری سازوکارهایی همچون



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

بهره‌گیری از مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به ABA، حفظ هموستازی ردوکس و افزایش بیوسنتز ترکیبات ثانویه‌ای قادر به تحمل بهتر تنش سرما می‌باشد.

## منابع

Aghaee A, Moradi F, Zare-Maivan H, Zarinkamar F, Irandoost HP, Sharifi P (2011) Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. African Journal of Biotechnology 10:7617-7621.

Agurla S, Gahir S, Munemasa S, Murata Y, Raghavendra AS (2018) Mechanism of stomatal closure in plants exposed to drought and cold stress. Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation: Adaptation Mechanisms and Their Applications 215-232.

Amini S, Maali-Amiri R, Kazemi-Shahandashti SS, López-Gómez M, Sadeghzadeh B, Sobhani-Najafabadi A, Kariman K (2021) Effect of cold stress on polyamine metabolism and antioxidant responses in chickpea. Journal of Plant Physiology 258-259, 153387.

Anjum NA, Sofo A, Scopa A, Roychoudhury A, Gill SS, Iqbal M, Lukatkin AS, Pereira E, Duarte AC, Ahmad I (2015) Lipids and proteins--major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants. Environmental Science and Pollution Research 22:4099-4121.

Arnon DI (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant physiology 24:1.

Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Biology 50:601-639.

Ashraf M, Harris PJ (2013) Photosynthesis under stressful environments: An overview. Photosynthetica 51:163-190.

Bhattacharya, A., 2022. Effect of low temperature stress on photosynthesis and allied traits: A review. Physiological Processes in Plants Under Low Temperature Stress 199-297.

Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany 91:179-194.

Bowles D, Isayenkova J, Lim EK, Poppenberger B (2005) Glycosyltransferases: managers of small molecules. Current Opinion in Plant Biology 8:254-263.

Chalker-Scott L, Fuchigami L (2018) The role of phenolic compounds in plant stress responses, Low temperature stress physiology in crops. CRC Press 67-80.

Chaudhry S, Sidhu GPS (2022) Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: A comprehensive review. Plant Cell Reports 41:1-31.

Chen SX, Schopfer P (1999) Hydroxyl-radical production in physiological reactions: a novel function of peroxidase. European Journal of Biochemistry 260:726-735.

Cheng C, Yun KY, Ressom HW, Mohanty B, Bajic VB, Jia Y, Yun SJ, de los Reyes BG (2007) An early response regulatory cluster induced by low temperature and hydrogen peroxide in seedlings of chilling-tolerant japonica rice. BMC Genomics 8:175.

Cheynier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S (2013) Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiology and Biochemistry 72:1-20.

Cruz RPd, Sperotto RA, Cargnelutti D, Adamski JM, de FreitasTerra T, Fett JP (2013) Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. Food and Energy Security 2:96-119.

Das K, Roychoudhury A (2014) Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Frontiers in Environmental Science 2:53.

Davies MJ (2005) The oxidative environment and protein damage. Biochimica et Biophysica Acta 1703:93-109.

Dhankher OP, Foyer CH (2018) Climate resilient crops for improving global food security and safety. Wiley Online Library 877-884.

Dixon RA, Paiva NL (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. The Plant Cell 7:1085.

Duncan DB (1955) Multiple range and multiple F tests. biometrics 11:1-42.

Farmer EE, Mueller MJ (2013) ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. Annual review of plant biology 64:429-450.

Foyer CH, Shigeoka S (2010) Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. Plant Physiology 155:93-100.

Gnanamanickam SS (2009) Biological control of rice diseases. Springer Science and Business Media.

Habibi G (2014) Chapter 19 - Hydrogen Peroxide ($H_2O_2$) Generation, Scavenging and Signaling in Plants, in: Ahmad, P. (Ed.) Oxidative Damage to Plants. Academic Press, San Diego 557-584.

Hasani Z, Pirdashti H, Yaghoubian Y, Nouri MZ (2013) Comparative effects of cold air and cold-water stress on chlorophyll parameters in rice (*Oryza sativa* L.). International Journal of Farming and Allied Sciences 21:918-921.

Heidarvand L, Maali Amiri R (2010) What happens in plant molecular responses to cold stress? Acta Physiologiae Plantarum 32:419-431.

Hörtensteiner S, Kräutler B (2011) Chlorophyll breakdown in higher plants. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics 1807:977-988.

Hörtensteiner S, Vicentini F, Matile P (1995) Chlorophyll breakdown in senescent cotyledons of rape, Brassica napus L.: enzymatic cleavage of phaeophorbidea in vitro. New Phytologist 129:237-246.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

Ji BH, Jiao DM (2001) Photoinhibition and photooxidation in leaves of indica and japonica rice under different temperatures and light intensities. Acta Botanica Sinica 43:714-720.

Kaplan F, Kopka J, Haskell DW, Zhao W, Schiller KC, Gatzke: N, Sung DY, Guy CL (2004) Exploring the temperature-stress metabolome of Arabidopsis. Plant Physiology 136 4159-4168.

Khanal N, Bray GE, Grisnich A, Moffatt BA, Gray GR (2017) Differential mechanisms of photosynthetic acclimation to light and low temperature in Arabidopsis and the extremophile *Eutrema salsugineum*. Plants 6:32.

Kong JQ (2015) Phenylalanine ammonia-lyase, a key component used for phenylpropanoids production by metabolic engineering. RSC advances 5:62587-62603.

Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148:350-382.

Loreto F, Velikova V (2001) Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. Plant Physiology 127:1781-1787.

Manasa SL, Panigrahy M, Panigrahi KCS, Rout GR (2022) Overview of cold stress regulation in plants. Botanical Review 88:359-387.

Mehrotra R, Bhalothia P, Bansal P, Basantani MK, Bharti V, Mehrotra S (2014) Abscisic acid and abiotic stress tolerance–Different tiers of regulation. Journal of Plant Physiology 171:486-496.

Naderi S, Fakheri BA, 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.

Pfaffl M, Bustin S (2004) AZ of quantitative PCR. Quantification strategies in real-time PCR 1:87-112.

Rice-Evans C, Miller N, Paganga G (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science 2:152-159.

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany 217037.

Shin YK, Bhandari SR, Lee JG (2021) Monitoring of salinity, temperature, and drought stress in grafted watermelon seedlings using chlorophyll fluorescence. Frontiers in Plant Science 12:786309.

Sochor J, Ruttkay-Nedecky B, Babula P, Adam V, Hubalek J, Kizek R (2012) Automation of methods for determination of lipid peroxidation. Lipid peroxidation. InTech.

Song SY, Chen Y, Chen J, Dai XY, Zhang WH (2011) Physiological mechanisms underlying OsNAC5-dependent tolerance of rice plants to abiotic stress. Planta 234:331-345.

Sun T, Rao S, Zhou X, Li L (2022) Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. Molecular Horticulture 2:3.

Takahashi N, Tsunoda S (1984) Biology of rice. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.

Takasaki H, Maruyama K, Kidokoro S, Ito Y, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Nakashima K (2010) The abiotic stress-responsive NAC-type transcription factor OsNAC5 regulates stress-inducible genes and stress tolerance in rice. Molecular Genetics and Genomics 284:173-183.

Tian S, Wang X, Li P, Wang H, Ji H, Xie J, Qiu Q, Shen D, Dong H (2016) Plant aquaporin AtPIP1;4 links apoplastic $H_2O_2$ induction to disease immunity pathways. Plant Physiology 171:1635-1650.

Vogt T (2010) Phenylpropanoid biosynthesis. Molecular Plant 3:2-20.

Xu ZJ, Nakajima M, Suzuki Y, Yamaguchi I (2002) Cloning and characterization of the abscisic acid-specific glucosyltransferase gene from adzuki bean seedlings. Plant Physiology 129:1285-1295.

Xu ZY, Lee KH, Dong T, Jeong JC, Jin JB, Kanno Y, Kim DH, Kim SY, Seo M, Bressan RA (2012) A vacuolar β-glucosidase homolog that possesses glucose-conjugated abscisic acid hydrolyzing activity plays an important role in osmotic stress responses in Arabidopsis. The Plant Cell 24:2184-2199.

Yin H, Xu L, Porter NA (2011) Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chemical Reviews 111:5944-5972.

Yonekura-Sakakibara K, Hanada K (2011) An evolutionary view of functional diversity in family 1 glycosyltransferases. The Plant Journal 66:182-193.

Yun KY, Park MR, Mohanty B, Herath V, Xu F, Mauleon R, Wijaya E, Bajic VB, Bruskiewich R, de los Reyes BG (2010) Transcriptional regulatory network triggered by oxidative signals configures the early response mechanisms of japonica rice to chilling stress. BMC Plant Biology 10:16.

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 7:1-12.

Zhao Y, Han Q, Ding C, Huang Y, Liao J, Chen T, Feng S, Zhou L, Zhang Z, Chen Y (2020) Effect of low temperature on chlorophyll biosynthesis and chloroplast biogenesis of rice seedlings during greening. International Journal of Molecular Sciences 21:1390.

محدثی ع، اشراقی ا، نصیری م، بهرامی م، الهقلی‌پور م، کیانوش غ، توسلی ف، اسکو، عارفی، ح، صالحی م (۲۰۰۹). شیرودی، رقم جدید برنج پرمحصول و دارای کیفیت مطلوب. نهال و بذر ۲۵:۶۵۶-۶۵۵.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]