

بررسی واکنش افتراقی برخی ژن‌ها تحت تأثیر تنش اکسیداتیو در سه رقم گندم نان

سمیه دماندی^۱، سعید نواب‌پور^{۲*}، ابوالفضل مازندرانی^۳، سید مجتبی ملائی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. دانش آموخته دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۴. دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۰

چکیده

با هدف ارزیابی تأثیر سطوح تنش اکسیداتیو بر برخی ژن‌ها مطالعه‌ای بر روی سه رقم گندم نان (احسان، کلاته و گنبد) در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. در این راستا، دو آزمایش مجزا مشتمل بر بررسی سطوح نیترات نقره (در سه سطح ۰، ۱ و ۲ میلی‌مولار) به‌عنوان عامل اکسیداتیو و اسید آسکوربیک (در سه سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) به‌عنوان پاداکسیدان عمومی انجام گرفت. آزمایش دوم برای تعیین اثر اختصاصی یون سوپراکسید و اکسیژن اتمی به‌عنوان عوامل سیگنالی یا اکسیداتیو انجام شد که از پاک‌کننده‌های اختصاصی آن‌ها به ترتیب تیرون (با غلظت ۰، ۲ و ۴ میلی‌مولار) و دیکو (با غلظت ۰، ۱۵ و ۳۰ میلی‌مولار) به‌عنوان پیش‌تیمار نیترات نقره استفاده گردید. اعمال تمامی تیمارها با انجام محلول‌پاشی (مه‌پاشی) در محدوده مرحله ۶۰ زادکس (۸ برگی) انجام شد. کلیه تیمارهای آزمایشی با هدف ارزیابی بیان برخی ژن‌ها اعم از GPX، CAT، MAPK3 و MAPK6 انجام گرفت. بیان نسبی ژن‌های MAPK3 و MAPK6 همبستگی مثبتی با افزایش میزان آسکوربیک اسید در رقم احسان نشان داد. همچنین مشخص شد MAPK6 از طریق مسیرهای سیگنالینگ خود باعث القای بیان ژن و افزایش بیان کاتالاز می‌گردد. در عین حال مشخص شد رقم احسان نسبت به سایر ارقام، تحت تأثیر آسکوربیک اسید عملکرد بهتری نسبت به تأثیر پاداکسیدان‌های اختصاصی داشته و در شرایط تنش واکنش بهتری دارد. یافته‌ها نشان دادند که استفاده از پاداکسیدان‌ها، به‌ویژه آسکوربیک اسید، در بهبود پاسخ‌های التیامی و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو موثر است. به‌طور خاص، افزایش غلظت آسکوربیک اسید منجر به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند MAPK6 و کاتالاز شد و این امر نشان‌دهنده نقش مهم پاداکسیدان‌ها در تنظیم مسیرهای سیگنالی و افزایش مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو است. در نتیجه، استفاده از مواد پیش‌تیمار حاوی پاداکسیدان‌ها می‌تواند راهکار مؤثری در بهبود مقاومت ژنتیکی گیاهان در مقابل تنش‌های اکسیداتیو باشد، به‌ویژه در رقم احسان که نشان داد در شرایط تنش عملکرد بهتری دارد. بنابراین، توجه به نقش پاداکسیدان‌ها و مواد پیش‌تیمار در مدیریت استرس‌های اکسیداتیو در کشاورزی می‌تواند به توسعه روش‌های زراعی مقاوم‌تر کمک کند.

کلیدواژگان: تنش اکسیداتیو، کاتالاز، گلووتاتیون پراکسیداز، گندم، MAPK، نیترات نقره

مقدمه

گیاه گندم با نام علمی *Triticum aestivum* به عنوان منبع اصلی غذا در بسیاری از کشورهای جهان کشت می شود. همچنین به عنوان منبع اصلی تامین کالری و پروتئین از اهمیت خاصی برخوردار است (Navabpour et al., 2020). گندم به عنوان یکی از رایج ترین غلات کشت شده در جهان در کنار برنج و ذرت، ۲۲۰ میلیون هکتار از اراضی زیر کشت را در سراسر جهان به خود اختصاص داده است (Dudziak et al., 2019). این گیاه به دلیل داشتن استحکام، ارزش غذایی و بافت همه کاره خمیر آن محبوبیت بالایی داشته و مورد مصرف بیشتر از ۵۰٪ مردم جهان می باشد (Dutta et al., 2019). سرعت بالای صنعتی شدن و تخلیه کنترل نشده فلزات به محیط زیست نگرانی جهانی را در رابطه با تولید غلات ایجاد کرده است (Rizvi & Khan, 2017). حضور و ذخیره مازاد فلزات سنگین در انواع مختلف از موجودات زنده از موجودات میکروسکوپی تا جانوران و گیاهان سمی و مخرب است (Singh & Rathore, 2018). برخلاف آلودگی های آلی که به مولکول های ایمن بسیار کوچکتر تخریب می شوند، فلزات سنگین سالم و دست نخورده باقی مانده و خاک را آلوده می کنند (Navabpour et al., 2020). نیترات نقره به عنوان یک عامل تنش زا اثرات سلولی مولکولی منفی روی گیاهان گذاشته که یکی از آن ها واکنش با دیواره سلولی و غشای سلولی است که منجر به تغییرات در نفوذپذیری غشا، اختلال در نیروی محرکه پروتون، مهار سنتز ATP، واکنش با آمینواسید و مهار فعالیت آنزیم از طریق اتصال با گروه های سولفیدریل (SH-) آمینواسید و جایگاه فعال آن ها، مهار حرکت الکترون در چرخه تنفسی و سیتوکروم ها، به هم خوردن تنظیم ساخت DNA و RNA، تخریب ساختار ریبوزوم و مهار ساخت پروتئین و در نهایت تولید گونه های فعال اکسیژن یا ROSهاست (Karimi et al., 2017). در نتیجه مقدار بیش از حد نیاز یک عنصر ضروری یا غیر ضروری می تواند اثر مخربی روی رشد و نمو گیاه داشته باشد. بنابراین، گیاهان باید عناصر ضروری را تا حد پایین تر از آستانه سمیت، جذب و از جذب عناصر غیر ضروری اجتناب ورزند (Navabpour et al., 2020; Mazandarani, 2017). نقطه مشترک بسیاری از تنش های زیستی و غیر زیستی در سطح سلولی تولید و تجمع رادیکال های فعال اکسیژن (ROS) است (Navabpour et al., 2020). حضور ROSها در غلظت های

بالا و مدت زمان طولانی با وقوع اختلالات مختلفی همراه خواهد بود که با سازوکارهای مختلفی تظاهر پیدا می کند (Poblete Aro et al., 2015). در شرایط افزایش سطوح گونه های فعال اکسیژن، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی که متشکل از انواع آنزیم ها از جمله کاتالاز (CAT) و گلوکاتاتیون پروکسیداز (GPX) است با مهار ROSها از طریق تبدیل H_2O_2 به آب و اکسیژن باعث کاهش آنتی اکسیدان ها می گردد (Dudziak et al., 2019; Navabpour et al., 2019; Sousa et al., 2019; Sharma et al., 2020). گیاهان علاوه بر سازوکار دفاعی آنزیمی از دیگر سازوکارها و ترکیبات موجود استفاده می کنند. ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و آسکوربیک اسید از جمله عوامل آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی بوده که با تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش ROS مقابله می کنند (Singh & Rathore, 2018). آسکوربیک اسید که با نام عمومی ویتامین C شناخته شده است به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی، نقش حیاتی را در تنظیم مقاومت به تنش در گیاهان بازی می کند. علاوه بر این به عنوان کوفاکتور برای آنزیم های موجود در مسیرهای متابولیکی متنوع عمل کرده و یک محافظت کننده موثر برای پروتئین ها و لیپیدهای در معرض تنش های غیر زیستی است (Farooq et al., 2020). علاوه بر آسکوربیک اسید، اسپری های پاک کننده اختصاصی همچون تیرون و دبکو نیز به عنوان سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی شناخته می شوند. دبکو یک ترکیب آلی دو حلقه ای و یک کاتالیزور بسیار واکنش پذیر برای ساخت چارچوب های آلی است و به عنوان یک پاداکسیدان در خنثی سازی اثر اکسیژن های منفرد نقش دارد. تیرون ترکیب شیمیایی دیگری است که توانایی بالایی در ترکیب با عناصری همچون تیتانیوم و آهن داشته و در اینجا برای خنثی کردن اثر سوپراکسیدها مورد استفاده قرار می گیرد (Navabpour et al., 2003). تیرون به عنوان یک کیلاتور مؤثر برای برخی یون های فلزی و همچنین بستر در چندین واکنش آنزیمی گزارش شده است. اندازه کوچک آن ورود به سلول را تسهیل می کند و بنابراین به عنوان یک آنتی اکسیدان با جمع آوری رادیکال های آزاد، واکنش های انتقال الکترون داخل سلولی را تنظیم می کند. تیرون به عنوان عامل کلات کننده یون های فلزی برای تعیین و دفع مقادیر کم یون های فلزی استفاده می شود (Taiwo, 2008). به عنوان شکارگر رادیکال

هدف این تحقیق بررسی واکنش افتراقی برخی ژن‌ها تحت تأثیر تنش اکسیداتیو در سه رقم مختلف گندم نان است. این مطالعه به دنبال شناسایی و تحلیل سطوح بیان ژن‌های مرتبط با پاسخ به تنش اکسیداتیو، شامل ژن‌های مؤثر در سازوکارهای دفاعی و سازگاری به این نوع تنش می‌باشد. با ارزیابی واکنش‌های ژنومی و مقایسه آنها در ارقام مختلف، ما قصد داریم تا نقش هر یک از این ارقام در تحمل به تنش اکسیداتیو را مشخص کرده و به بهبود ویژگی‌های مقاومتی گندم نان کمک کنیم.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ارقام گندم به نام‌های کلاته، گنبد و احسان استفاده شد که به دلیل رواج کاشت در منطقه (استان گلستان) و تنوع در عملکرد و اجزای عملکرد مورد استفاده قرار گرفتند. ارقام کلاته و احسان جزو ارقامی می‌باشند که به تازگی معرفی شده‌اند و رقم گنبد جزو ارقامی هست که به صورت رایج در منطقه کشت می‌شود. بذور ارقام کلاته، گنبد و احسان با اتانول ۱۰٪ ضد عفونی و در گلدان‌هایی با ظرفیت هفت کیلوگرم خاک در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان کشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل سه رقم گندم، نیترات نقره به عنوان عامل ایجاد کننده تنش اکسیداتیو در سه سطح (صفر، یک و دو میلی مولار) و آسکوربیک اسید به عنوان پاداکسیدان عمومی در سه سطح (صفر، ده و بیست میلی مولار) بودند. در مرحله ظهور سنبله یا هشت برگی، تنش اکسیداتیو با محلول پاشی نیترات نقره به صورت مه پاش و در غلظت‌های ذکر شده اعمال گشت. علاوه بر این برای ارزیابی مقدار افزایش میزان مقاومت به تنش، تعدادی از گلدان‌ها یک ساعت قبل از اعمال نیترات نقره، جداگانه با غلظت‌های گفته شده از آسکوربیک اسید به عنوان پاک کننده عمومی رادیکال‌های فعال اکسیژن محلول پاشی گردید. همچنین در یک آزمایش به صورت جداگانه اثر مستقیم دو نوع مهم از رادیکال‌های فعال اکسیژن شامل یون سوپراکسید و اکسیژن منفرد مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش برای ارزیابی اثر حذف این رادیکال‌ها بر بیان ژن‌های مورد بررسی، پاک کننده‌های اختصاصی شامل تیرون (پاک کننده یون سوپراکسید در سه سطح صفر، دو و چهار میلی مولار) و دیکو (پاک کننده اکسیژن منفرد در سه سطح صفر، پانزده و سی میلی مولار)

سوپراکسید، شکارگر رادیکال نفوذپذیر ترجیحی به سلول، و سوپسترا در واکنش‌های انتقال الکترون است (Majumdar & Kar, 2023). دیکو با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به کاهش آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو کمک کند و به بهبود رشد و توسعه گیاهان تحت شرایط استرس، در صورت استفاده در دوزهای کم و کنترل شده می‌شود (Liang et al., 2020). در مطالعه‌ای اثر مخرب تنش شوری با تیمار دیکو کاهش یافت (Rout & Shaw, 2001). تعدادی از واکنش‌های تنش محیطی در گیاهان توسط مسیرهای انتقال سیگنال MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) تنظیم می‌شود (Liu et al., 2017). تعداد ۵۴ ژن MAPK و ۱۸ ژن MAPKK در گیاه گندم با استفاده از جدیدترین اطلاعات ژنتیکی شناسایی شده است. آبشارهای MAPK نقشی حیاتی در رشد و نمو گیاه و نیز پاسخ به تنش‌ها ایفا می‌کنند که در مسیرهای انتقال سیگنال یوکاریوت‌ها بسیار محافظت شده هستند (Wang et al., 2016). دو زیرگروه MAPK3 و MAPK6 در این مسیر برای برطرف کردن شرایط تنش درگیر می‌باشند. MAPK3 و MAPK6 نقش مهمی در پیشرفت تقسیم سلولی در پوشش‌ها مخصوصاً در نمو تخمک و نیز در رشد و تمایز گیاه، پاسخ به هورمون‌ها، ایمنی گیاه و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارا هستند (Wang et al., 2016; Zhan et al., 2017). تعداد ژن‌های MAPK در گندم بسیار بیشتر از این تعداد در گیاهان برنج و ذرت است. مکان ژن‌های آبشار MAPK در طول کروموزوم‌های گندم تصادفی نبوده و هر کدام از ژن‌های گروه‌های مختلف آن در مکان‌های مختلفی از کروموزوم‌های مختلف هستند. تعدادی از ژن‌های MAPK بیان بیشتری در بعضی از بافت‌های اختصاصی دارند که حاکی از نقش آنها در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه است (Zhan et al., 2017). MAPKها مبدل‌های سیگنالی اصلی سلولی در پاسخ به تنش اکسیداتیو بوده و علاوه بر این نشان داده شده که ساخت اشکال پراکسیداسیون سلولی در ترکیب با انواع کینازهای دیگر منجر به فعال شدن آنها می‌گردد (Fang et al., 2021). آبشارهای MAP کینازها در انتقال هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، میکروب‌ها، یا در الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب نقش داشته و محرک‌های برون سلولی را به پاسخ‌های درون سلولی تبدیل کرده در حالی که پیام انتقال را تقویت می‌کنند (Liu et al., 2017).

یک ساعت قبل از محلول پاشی نیترات نقره بر روی گیاه مه پاشی گردید.

استخراج RNA و ساخت cDNA

برای اندازه گیری سطوح بیان ژن ها، پنج گرم نمونه برگ در تیمارهای متفاوت برداشت و در ازت مایع منجمد و تا مرحله استخراج RNA در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. استخراج RNA توسط کیت بایوزول از نمونه های برگ منجمد صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد

تعیین سنتز cDNA از روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز بهره گرفته شد.

طراحی آغازگرها

آغازگرهای مورد نیاز بر اساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم افزار پرایمر ۳ و در نظر گرفتن خصوصیات مطلوب برای استفاده در روش qRT-PCR طراحی گردیدند. اطلاعات و توالی پرایمرهای Forward و Reverse ژن های مورد استفاده در جدول زیر آورده شده است.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

Initiator name	Primer sequence	Melting temperature
CAT-F	CACCTGGTGGAGAAGATCGC	61
CAT-R	TCACCTCGAAGAAGCCCTTG	61
GPX-F	GCGGTGACACCAACATCAAC	61
GPX-R	GTCCAGGTTCTCCAGGTTGG	61
MAPK3-F	CTTTAACCCGCTGCAGAGGA	61
MAPK3-R	GTCAAAGGAGAAGGGGTCCG	61
MAPK6-F	GAGGTCACCGCCAAGTACAA	60
MAPK6-R	CTTGTTGTGGAAGGCGTTGG	60
GAPDH-F	TCACCACCGACTACATGACC	60
GAPDH-R	ACAGCAACCTCCTTCTCACC	60

واکنش زنجیره ای پلیمرز در زمان واقعی

پس از رقیق سازی cDNA ساخته شده، واکنش real-time PCR با استفاده از رنگ SYBR Green I و کیت 2X SYBR Green Real Time PCR (سایبرگرین پارس طوس) در دستگاه iQ5 (شرکت BioRad، آمریکا) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

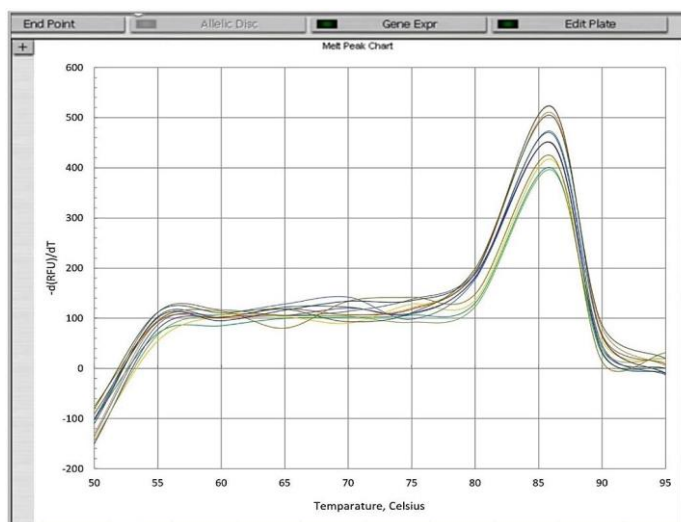
نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم گردید. بیان نسبی ژن های مورد بررسی با استفاده از فرمول پیفافل (Pfaffl, 2002) محاسبه گردید.

Ratio =

$$(E_{target})^{\Delta C_{Ptarget}(control-sample)} / ((E_{ref})^{\Delta C_{Pref}(control-sample)})$$

آزمایش، نمونه‌ها نسبت به یک ژن خانه‌دار که در اینجا *GAPDH* که تحت همه شرایط بیان یکسانی داشت سنجیده می‌شود. در پایان واکنش و پس از دریافت نمودارها، اطلاعات به نرم افزار REST منتقل شده و تجزیه داده‌ها انجام گرفت.

در این معادله نسبت سطح بیان یک ژن هدف بر اساس راندمان واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (E) برای ژن هدف و مرجع و تفاوت (Δ) نقطه تقاط (CP) Crossing point یک نمونه ناشناخته در مقابل کنترل CP (Control- Sample Δ) محاسبه می‌شود. ارزیابی میزان بیان ژن توسط نرم افزار Excel انجام شد. در این



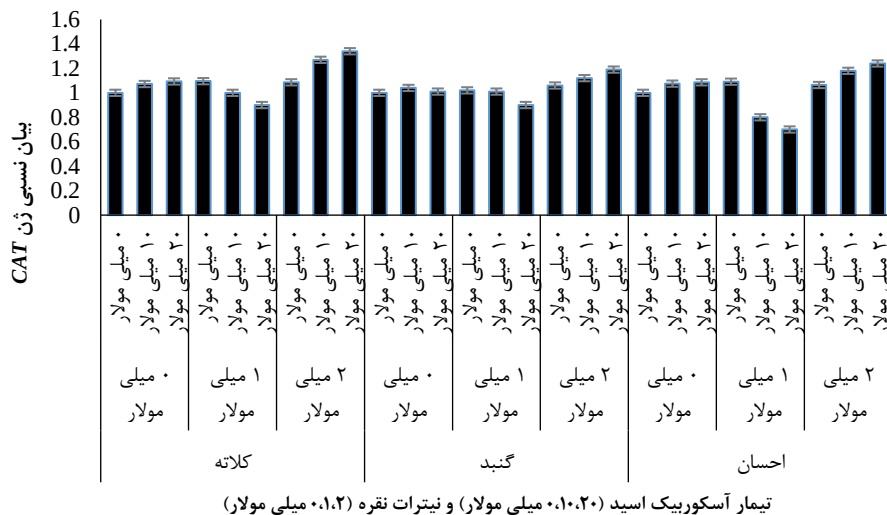
شکل ۱- منحنی ذوب ژن‌های مورد بررسی در Real Time PCR

از فعالیت کاتالاز، زمانی که در معرض مقادیر بالای ویتامین C قرار گرفتند، بیشتر مستعد آسیب و مرگ بودند (Hafez, 2016)؛ البته آسکوروبات با توجه به نوع سلول و در سلول‌های گیاهی با توجه به غلظت بالای آسکوربیک اسید سیگنالی را می‌سازد که باعث کاهش فعالیت کاتالاز می‌گردد (Agnieszka Gęgotek, 2022) که در ارقام متحمل می‌توان گفت ترکیب آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی کارایی بیشتری دارد. در مطالعه‌ای الگوی کلی بیان ژن کاتالاز، افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطوح رونویسی بعد از گذشت ساعات مختلف از اعمال تیمار بوده است (Dudziak et al., 2019). افزایش بیان ژن کاتالاز در تنش خشکی که در گندم اعمال شد نیز در اکثر ارقام مورد بررسی مشاهده شد (Rashid et al., 2021).

نتایج و بحث:

بیان ژن کاتالاز

در بیان نسبی ژن کاتالاز اختلاف معنی‌داری بین ارقام مختلف گندم مشاهده شد. بیان ژن کاتالاز هم تحت تأثیر عوامل سیگنالینگ و تنش دچار افزایش شد که در سطح یک میلی مولار نیترات نقره با افزایش آسکوربیک اسید بیان ژن کاهش داشت. با افزایش تولید و تجمع ROS، ارقام گنبد و احسان روند افزایشی و مناسبی را جهت مقابله با تنش اتخاذ کردند که با اعمال آسکوربیک اسید، و کاهش محتوای هیدروژن پروکسید، بیان ژن کاتالاز در رقم احسان روند مناسب‌تری به خود گرفت و دچار کاهش شد. در حالی که این روند در دو رقم دیگر در سطح اول و دوم آسکوربیک اسید تغییرات چندانی نداشت. همچنین در رابطه با روند افزایشی بیان ژن کاتالاز در رقم گنبد، محققین کشف کردند که سلول‌های با میزان کمتری



تیمار آسکوربیک اسید (۰، ۱۰، ۲۰ میلی مولار) و نیترات نقره (۰، ۱، ۲ میلی مولار)

شکل ۲- بیان نسبی ژن CAT تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات نقره و آسکوربیک اسید در ارقام مختلف گندم

تیرون افزایش بیان ژن را نشان داد که در ادامه با افزایش غلظت آن بیان ژن هم کاهش یافت. اینجا می‌توان این تحلیل را داشت که به احتمال زیاد رادیکال سوپراکسید باعث افزایش سطوح تنش شده که با اعمال تیرون تنش اکسیداتیو به حالت ریداکس بازگشت. از طرفی ارقام کلاته و گنبد با افزایش تیمارهای تنش و دبوکو دچار کاهش بیان ژن کاتالاز گردیدند. این در حالی است که رقم احسان با افزایش دبوکو باز هم افزایش بیان را نشان داد که می‌تواند حاکی از اثر گونه‌های مختلف رادیکالی باشد که با هم باعث واکنش بیشتر رقم احسان به تنش شده‌اند.

برای بررسی میزان برخی رادیکال‌های فعال اکسیژن همان طور که پیشتر بحث گردید، از اسپری‌های پاک کننده اختصاصی یعنی تیرون و دبوکو استفاده شد. تیرون برای حذف رادیکال سوپر اکسید و دبوکو برای حذف رادیکال اکسیژن منفرد به کار رفت (Navabpour et al., 2003). در تحلیل بیان نسبی ژن کاتالاز تحت تیمارهای ترکیبی تیرون و دبوکو با نیترات نقره اختلاف معنی‌داری بین ارقام مختلف گندم مشاهده گردید (شکل ۳). با افزایش تیرون همه ارقام در تنش ۱ میلی‌مولار افزایش بیان کاتالاز را نشان دادند که با بیشتر شدن غلظت نیترات نقره به ۲ میلی‌مولار دچار کاهش شدند. اما در این سطح تنش، رقم احسان با اعمال

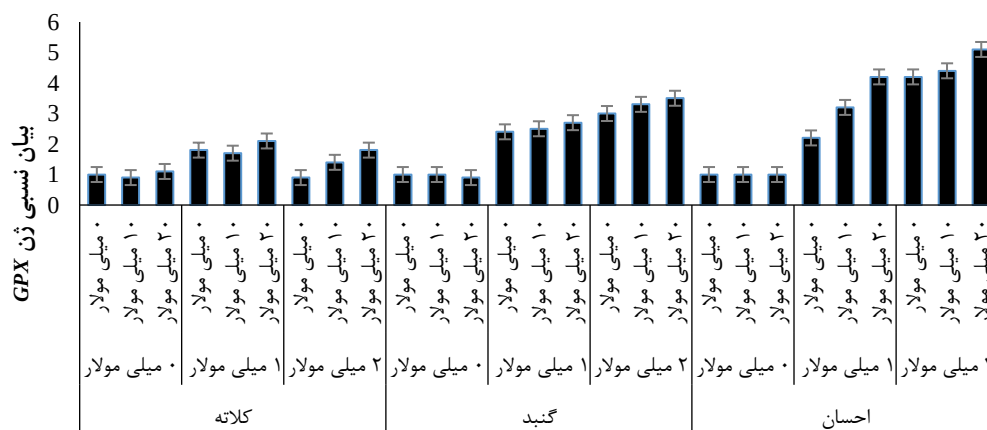


شکل ۳- بیان نسبی ژن CAT تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات نقره و تیرون و دبوکو

ژن گلوکاتایون پروکسیداز

در نمودارهای بیان نسبی ژن گلوکاتایون پروکسیداز نسبت به شاهد، افزایش قابل ملاحظه‌ای در هر سه رقم به ازای افزایش نیترات نقره مشاهده شد که با افزایش آسکوربیک اسید، تنها در رقم احسان سیر افزایشی قابل توجهی داشت که از این نظر معنی دار شد (شکل ۴). با افزایش عامل تنش

رقم کلاته، روند افزایشی با افزایش آسکوربیک اسید نشان داد ولی نسبت به سطح تنش قبلی بیان این ژن کاهش چشمگیری داشت. احتمال می‌رود به علت افزایش رادیکال‌ها، این ROSها بر سیستم دفاعی گیاه برتری یافتند. ارقام گنبد و احسان با افزایش آسکوربیک اسید بیان این ژن را در پاسخ به افزایش ROSها بهبود بخشیدند.

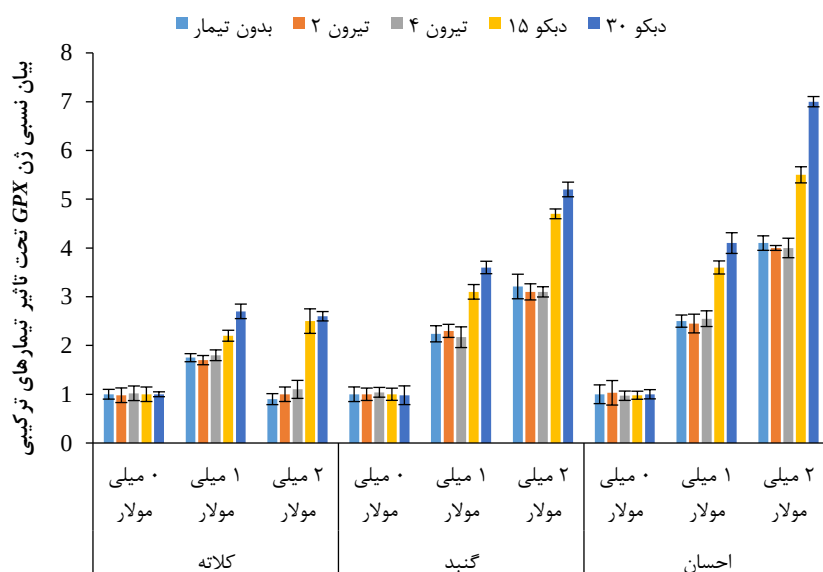


تیمار آسکوربیک اسید (۰، ۱، ۲ میلی مولار) و نیترات نقره (۰، ۱، ۲ میلی مولار)

شکل ۴- بیان نسبی ژن GPX تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات نقره و آسکوربیک اسید در ارقام مختلف گندم

شکل ۵ میزان بیان نسبی ژن گلوکاتایون پروکسیداز با پیش تیمارهای دبکو و تیرون را نشان می‌دهد. اختلاف معنی داری در میزان بیان گلوکاتایون پروکسیداز در سطوح مختلف تیمار ترکیبی تیرون و نیترات نقره بین ارقام مشاهده شد. رقم کلاته با افزایش تنش نیترات نقره و اعمال تیرون و دبکو سیر کاهشی یافت در حالی که ارقام گنبد و احسان افزایش قابل ملاحظه‌ای را مخصوصاً با اعمال دبکو نشان دادند. افزایش بیان ژن مخصوصاً وقتی پاداکسیدان‌های اختصاصی برای دفع رادیکال‌های بخصوصی استفاده می‌شود می‌تواند حاکی

از آن باشد که رادیکال‌های مهم دیگری هم در این تنش نقش داشته‌اند که باعث افزایش بیان ژن گلوکاتایون پروکسیداز شدند. البته می‌توان این احتمال را هم در نظر داشت که کاهش اندک بیان ژن با اعمال تیرون در تنش شدید احسان و گنبد می‌تواند نشان دهنده حذف رادیکال سوپراکسید هم باشد که تا حدی تنش را کاهش داد. از طرفی با توجه به منابع، هرچه بیان ژن گلوکاتایون پروکسیداز در ارقام گندم بیشتر باشد نشان دهنده مقاومت بیشتر آن گیاه به شرایط تنش است (Hasanuzzaman, 2019).

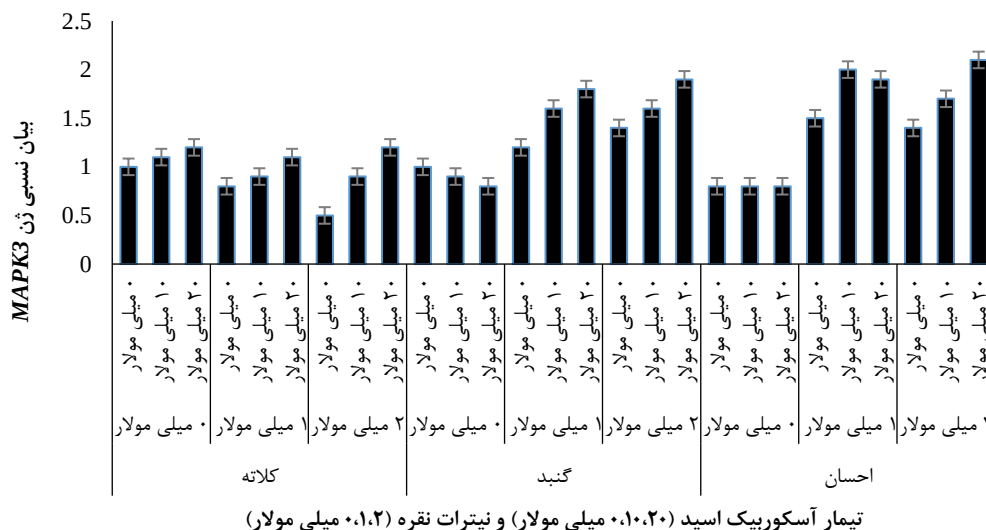


شکل ۵- بیان نسبی ژن GPX تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات نقره و تیرون و دبکو

ژن MAPK3

ژن‌های خانواده MAPK در انتقال سیگنالینگ نقش داشته و سیگنال دریافت شده را به پاسخ درونی تبدیل کرده و تقویت می‌کنند. نتایج ارزیابی تأثیر تنش اکسیداتیو بر بیان ژن MAPK3 نشان داد که با افزایش نیترات نقره بیان نسبی ژن در همه ارقام افزایش داشت که با افزایش اعمال آسکوربیک اسید بیشتر هم شد. اختلاف معناداری در سطوح تنش ۲ میلی مولار بین ارقام مشاهده شد که نشان داد رقم کلاته در این سطح و بدون اعمال ASA کاهش چشمگیری در بیان نسبی ژن حتی کمتر از بیان شاهد داشت. احتمال می‌رود که با افزایش رادیکال‌ها مسیر سیگنالینگ این گیاه دچار اختلال شده و یا سازوکار مناسبی را جهت حذف رادیکال‌های اکسیژن اعمال نکرده است. با افزایش آسکوربیک اسید اما، افزایشی در بیان نسبی خود داشت که نشان می‌دهد کلاته نسب به ارقام دیگر بیشتر به آنتی اکسیدان جهت بازگشت به حالت ریداکس سلولی یا حذف تنش ایجاد شده نیاز دارد. در

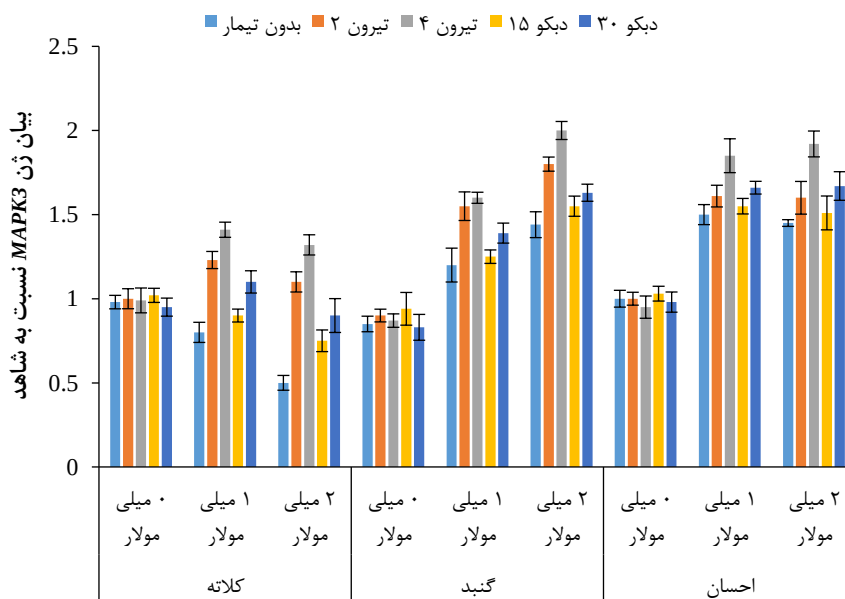
بررسی‌های دودزیاک و همکاران، سطوح رونویسی MAPK3 به‌طور قابل ملاحظه‌ای بعد از ۶ ساعت در معرض قرارگیری با عامل تنش در بیشتر لاین‌های تست شده روند کاهشی داشت. لاین‌هایی که حاوی کروموزوم‌های همولوگ بودند واکنش سریع و کاهش آنی در سطوح MAPK3 داشتند و لاین‌های معدودی دارای افزایش بیان در سطوح این ژن بودند. در عین حال، الگوی بیان ژن ثابتی برای MAPK3 وجود ندارد. در تحقیقی هیچ تغییر قابل توجهی در بیان این ژن در گیاه گندم مشاهده نشد ولی در تحقیقی دیگر در بیان ژن MAPK3 افزایش سطوح رونویسی مشاهده شد. سطوح بالای بیان MAPK3 در گیاه ذرت و آرابیدوپسیس تالیانا نیز مشاهده شد (Dudziak et al., 2019).



شکل ۶- بیان نسبی ژن *MAPK3* تحت تیمار نیترات نقره و آسکوربیک اسید در ارقام مختلف گندم

دبکو، در شرایط بدون تنش هم مشابه تیرون، با افزایش دبکو همه ارقام روند کاهشی در بیان ژن نشان دادند ولی با اعمال تنش اسپری دز بالاتری از دبکو هم بیان ژن‌ها را افزایش داد که بیشترین بیان ژن *MAPK3* در تنش ۲ و دبکو ۳۰ میلی مولار رقم احسان مشاهده گردید. در رابطه با تیمارهای ترکیبی و تأثیر آن‌ها روی ژن‌های *MAPK* نیاز به تحقیق و بررسی بیشتری است تا به یک نقطه نظر مشترک در سازوکار سیگنالینگ سلولی رسید (شکل ۷).

در ارزیابی تیمارهای ترکیبی آنتی اکسیدان‌های اختصاصی و نیترات نقره بر بیان نسبی ژن *MAPK3*، با افزایش تنش، بیان هم افزایش داشت که اعمال بیشتر تیرون باعث افزایش بیان ژن در هر سه رقم گردید. بیشترین بیان نسبی ژن در سطح ۲ میلی مولار نیترات نقره در رقم گند و سطح ۴ میلی مولار تیرون بوده که در اینجا می‌توان اظهار داشت احتمالاً رادیکالی غیر از سوپر اکسید نقش مهمی در ایجاد پیام سیگنالینگ سلولی داشته است. در رابطه با اعمال

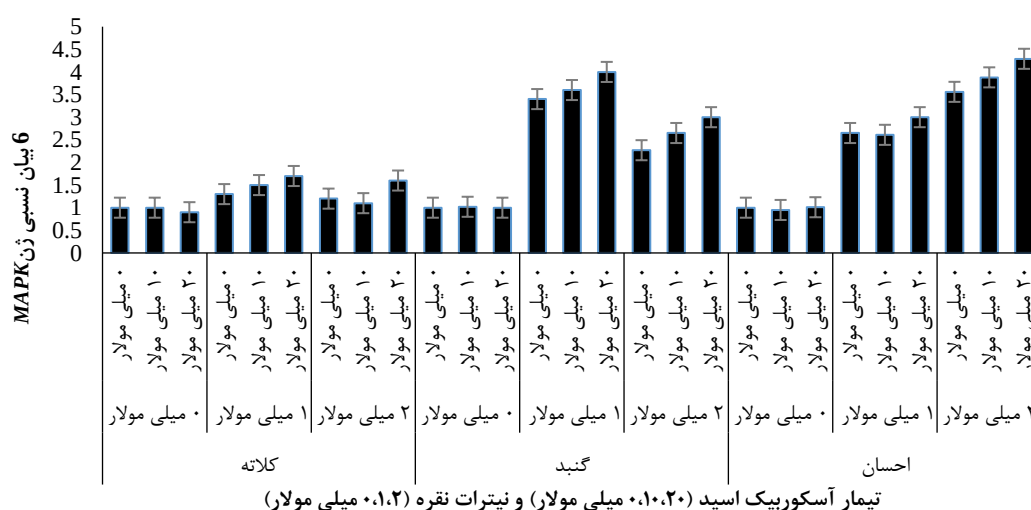


شکل ۷- بیان نسبی ژن *MAPK3* تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات نقره و تیرون و دبکو

ژن *MAPK6*

نتایج حاصل از بررسی نمودارهای بیان نسبی ژن *MAPK6*، تحت تأثیر نیتрат نقره و آسکوربیک اسید اختلاف معناداری را نشان داد. در شرایط اعمال تنش ۱ میلی مولار بیان نسبی ژن در همه ارقام دچار افزایش شد که رقم گنبد بیشترین بیان نسبی ژن را با اعمال بالاترین سطح آسکوربیک اسید نشان داد. اما با ادامه افزایش غلظت نیترات نقره، ارقام کلاته و گنبد، دچار کاهش بیان ژن شدند در حالی که در رقم احسان روند این تغییرات صعودی بود. در این سطح با افزایش آسکوربیک اسید بیان ژن همه ارقام افزایشی را نشان داد. این نتایج نشانگر این است که در این سطح از

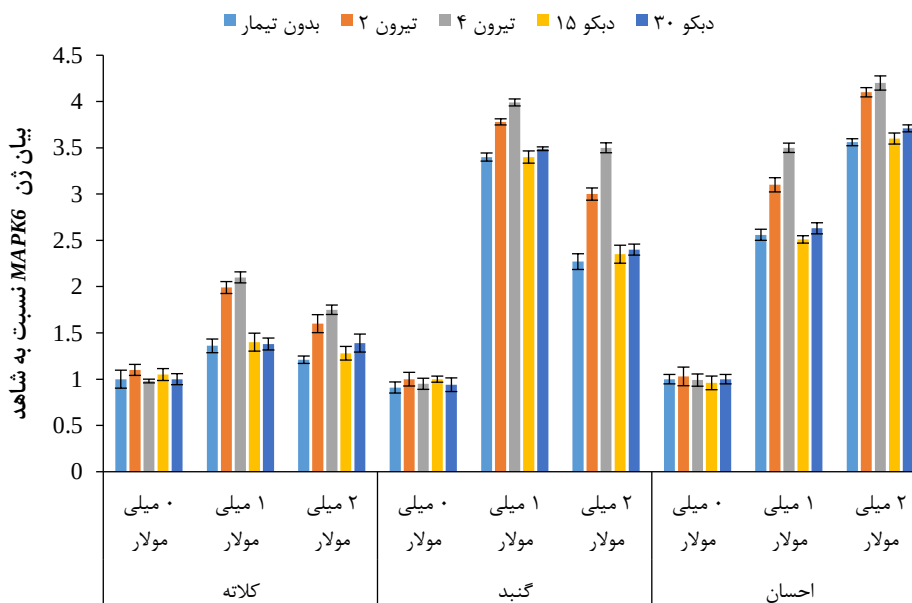
تنش سیستم گیاهی به آسکوربات برای احیای رادیکال‌های افزایش یافته نیاز بیشتری دارد تا از اثرات سوی آن جلوگیری کند. احسان با تقویت این سیگنال‌ها و ارسال پاسخ واکنش عملکرد بهتری را نسبت به ارقام دیگر نشان داد. در مطالعات دیگری که روی گیاه گندم انجام شد، با اینکه الگوهای بیانی مختلفی در بیان ژن *MAPK6* وجود داشت، سطوح بیان این ژن در تقریباً همه رقم‌ها روند افزایشی داشت. در تنش ناشی از خشکی هم در گیاه گندم و هم آرابیدوپسیس افزایش بیان ژن *MAPK6* در بیشتر لاین‌های تست شده مشاهده شد. هرچند تعدادی هیچ نوع تغییری در میزان بیان ژن نشان ندادند (Dudziak et al., 2019).



شکل ۸- بیان نسبی ژن *MAPK6* تحت تیمار نیترات نقره و آسکوربیک اسید در ارقام مختلف گندم

رقم احسان با افزایش تنش و کاهش قابل ملاحظه‌ای در رقم گنبد با افزایش تنش و اعمال دبوکو مشاهده گردید در حالیکه در گندم کلاته این روند جزئی بود. این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش تنش، رقم احسان به تقویت و انتقال سیگنال آبشاری بیشتر واکنش نشان داده و از این نظر بیان ژن‌های دخیل در انتقال سیگنال را افزایش می‌دهد. مطالعات مشابه در تنش‌های شوری و خشکی هم افزایش تعدادی از ژن‌های *MAPK* را گزارش کردند (Goyal et al., 2018).

اعمال تیمارهای ترکیبی آنتی اکسیدان‌های اختصاصی قبل عامل نیترات نقره در ارقام کلاته و گنبد نشان داد که با افزایش تنش بیان ژن *MAPK6* کاهش می‌یابد که با افزایش تیرون تا حدی بیان ژن سیر صعودی پیدا می‌کند و مسیر انتقال سیگنال واکنش تقویت می‌گردد. در رقم احسان اما با افزایش تنش میزان بیان هم افزایش داشت که سطوح بالاتر تیرون این مقدار را بیشتر افزایش داد. که از این نظر اختلاف معناداری بین ارقام مشاهده گردید. افزایش قابل ملاحظه ای در



شکل ۹- بیان نسبی ژن *MAPK6* تحت تیمار غلظت‌های مختلف نیترات نقره و تیرون و دبکو

دفاعی گیاه کمک نموده است. این فرآیند، به‌خصوص در حضور آسکوربیک اسید، نقش مهمی در احیای مجدد و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند و مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو افزایش می‌دهد. در بررسی مسیرهای سیگنالینگ، ژن‌های *MAPK6* و *MAPK3* مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پس از دریافت سیگنال‌های اکسیداتیو، این ژن‌ها از طریق مسیرهای آبخاری فسفریلاسیون متوالی، فعال شده و فرآیندهای تقویت و توسعه سیگنال‌ها را در داخل هسته کنترل می‌کنند. در این راستا، اختلاف معناداری در سطوح بیان این ژن‌ها در ارقام مختلف مشاهده شد؛ به‌طوری که ارقام حساس‌تر به اکسیداتیو، سریع‌تر تحت تنش قرار گرفته و کاهش در بیان ژن *MAPK3* را نشان دادند. همچنین، کاربرد پاداکسیدان‌های خاص، تأثیرات متفاوتی بر برابری ژنی داشت که نیازمند مطالعات بیشتر است. علاوه بر این، همبستگی مثبت میان افزایش بیان ژن *MAPK6*، افزایش سطح آسکوربیک اسید و فعالیت آن مشاهده شد؛ به‌گونه‌ای که افزایش فعالیت این ژن در رقم احسان، همزمان با افزایش مقدار آسکوربیک اسید، نقش کلیدی در تنظیم سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و مقاومت گیاهان در مقابل تنش‌های اکسیداتیو ایفا می‌کند. این یافته‌ها فرضیه می‌سازند که فعالیت بالا و فعال‌سازی ژن *MAPK6*، ممکن است به تقویت سیستم دفاعی گیاه و در نتیجه افزایش مقاومت ارقام مقاوم در برابر استرس‌های محیطی

در بررسی‌های انجام شده روی ژن‌های *MAPK* و اعمال تنش‌های چهارگانه خشکی، سرما، شوری و گرما مشخص شد که همه *MAPK*ها دارای الگوی بیان افتراقی بودند و بیشتر آن‌ها در پاسخ به تنش‌های بیشتر از یکی، بیان افزایش یافته‌ای داشتند. بیشتر بیان این ژن‌ها در بافت‌های برگ و ریشه مشاهده شد تا در دانه، ساقه و سنبله. تفاوت در پروفایل‌های بیانی بین ژن‌های همولوگ نشان داد که بعضی از این ژن‌ها ممکن است بعد از پلی‌پلوئیدی یا دو برابر شدن در روند تکاملی گندم کارکرد خود را از دست داده یا در مقابل کارکرد جدیدی به دست آورده باشند (Wang et al., 2016).

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، نتایج نشان داد که رقم احسان در مقایسه با ارقام کلاته و گنبد، از نظر عملکرد ژنی و ثبات در مواجهه با تنش‌های اکسیداتیو، برتری قابل توجهی دارد. به‌ویژه، تنش‌های ناشی از فلزات سنگین، به‌ویژه نیترات نقره، منجر به تولید زیاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن (*ROS*) شده که می‌تواند منجر به تخریب ماکرومولکول‌های حیاتی نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها و نیز صدمات به ساختارهای غشایی سلول شود. در رقم احسان، بیان ژن گلوکاتایون پروکسیداز در شرایط تنش، نسبت به سایر ارقام افزایش یافته است. افزون بر این، افزایش مقدار آسکوربیک اسید در این رقم، با تقویت بیان ژن‌های مرتبط، به راه‌براندازی چرخه آسکوربات-گلوکاتایون و بهبود سیستم

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت تامین مالی این پژوهش سپاسگزاری می شود.

منجر شود. در کل، رقم احسان با دارا بودن ویژگی‌های مقاومتی برتر، در مواجهه با تنش‌های اکسیداتیو، عملکرد بهتری نسبت به سایر ارقام نشان می‌دهد، که این مسأله نمایانگر مقاومت بیشتر این رقم در برابر آسیب‌های اکسیداتیو است.

منابع

- Agnieszka Gęgotek, E. S. (2022). Antioxidative and anti-inflammatory activity of ascorbic acid. *MDPI*, 11, 18. <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>
- Dudziak, K., Zapalska, M., Borner, A., Szczerba, H., Kowalczyk, K., & Nowak, M. (2019). Analysis of wheat gene expression related to the oxidative stress response and signal transduction under short-term osmotic stress. *scientific reports*, 9(1), 2743. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39154-w>
- Dutta, S., Jha, S.K., Prabhu, K.V., Kumar, M., & Mukhopadhyay, K. (2019). Leaf rust (*Puccinia tritricina*) mediated RNAi in wheat (*Triticum aestivum* L.) prompting host susceptibility. *Funct Integr Genomics*, 19(3), 437-452. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00655-6>
- E.M. Hafez, H.S.G. (2016). Effect of exogenous application of ascorbic acid on physiological and biochemical characteristics of wheat under water stress. *international journal of Plant Production*, 10(4), 18. <https://doi.org/10.22069/IJPP.2016.3051>
- Fang, S., Sun, S., Cai, H., Zou, X., Wang, S., Hao, X., Wan, X., Tian, J., Li, Z., He, Z., Huang, W., Liang, C., Zhang, Z., Yang, L., Tian, J., Yu, B., & Sun, B. (2021). IRGM/Irgm1 facilitates macrophage apoptosis through ROS generation and MAPK signal transduction: Irgm1 (+/-) mice display increases atherosclerotic plaque stability. *Theranostics*, 11(19), 9358-9375. <https://doi.org/10.7150/thno.62797>
- Farooq, A., Bukhari, S. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Wijaya, L., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2020). Exogenously applied ascorbic acid-mediated changes in osmoprotection and oxidative defense system enhanced water stress tolerance in different cultivars of safflower (*Carthamus tinctorious* L.). *Plants (Basel)*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/plants9010104>
- Goyal, R. K., Tulpan, D., Chomistek, N., González-Peña Fundora, D., West, C., Ellis, B. E., & Foroud, N. A. (2018). Analysis of MAPK and MAPKK gene families in wheat and related Triticeae species. *BMC genomics*, 19(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4545-9>
- Karimi, J., Mohsenzadeh, S., Niazi, A., & Moghadam, A. (2017). Differential expression of mitochondrial manganese superoxide dismutase (SOD) in *Triticum aestivum* exposed to silver nitrate and silver nanoparticles. *Iran Journal Biotechnol*, 15(4), 284-288. <https://doi.org/10.15171/ijb.1311>
- Liu, X., Lin, Y., Liu, D., Wang, C., Zhao, Z., Cui, X., Liu, Y., & Yang, Y. (2017). MAPK-mediated auxin signal transduction pathways regulate the malic acid secretion under aluminum stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Reports*, 7(1), 1620. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01803-3>
- Liang, P. P., Chen, Z. H. A. O., Yuan, L. I. N., Geng, J. J., Yuan, C. H. E. N., Chen, D. H., & Zhang, X. (2020). Effects of sodium benzoate on growth and physiological characteristics of wheat seedlings under compound heavy metal stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(4), 1010-1018. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62723-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62723-1)
- Hasanuzzaman, M. B., Anee, T. I., Parvin, K., Nahar, K., Mahmud, J., & Fujita, M. (2019). Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress [Review]. *MDPI*, 8, 50. <https://doi.org/10.3390/antiox8090384>
- Majumdar, A., & Kar, R. K. (2023). Polyamines and their metabolism play pivotal role in ROS-mediated regulation of early root growth in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8), 5280-5293
- Rashid, M. A. Nosheen, S., Noor Elahi, N., Sibgha, N., & Shah, K. H. (2021). Antioxidant defense system is a key mechanism for drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) 11. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2021/37.2.348.358>
- Navabpour, S., & Mazandarani, A. (2017). Molecular and biochemical evaluation of two bread wheat cultivars under oxidative stress, 7(3), 357-367. (In Persian) <https://doi.org/10.22124/c.2018.5178.1202>
- Navabpour, S., Morris, K., Allen, R., Harrison, E., S, A. H.M., & Buchanan-Wollaston, V. (2003). Expression of senescence-enhanced genes in response to oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 54(391), 2285-2292. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg267>

- Navabpour, S., Yamchi, A., Bagherikia, S., & Kafi, H. (2020). Lead-induced oxidative stress and role of antioxidant defense in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiol Mol Biol Plants*, 26(4), 793-802. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00777-3>
- Pfaffl, M. W., Horgan, G. W., & Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic acids research*, 30(9), 36. <https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36>
- Poblete Aro, C. E., Russell Guzman, J. A., Soto Munoz, M. E., & Villegas Gonzalez, B. E. (2015). Effects of high intensity interval training versus moderate intensity continuous training on the reduction of oxidative stress in type 2 diabetic adult patients: CAT. *Medwave*, 15(7), e6212. <https://doi.org/10.5867/medwave.2015.07.6212>
- Rizvi, A., & Khan, M. S. (2017). Biotoxic impact of heavy metals on growth, oxidative stress and morphological changes in root structure of wheat (*Triticum aestivum* L.) and stress alleviation by *Pseudomonas aeruginosa* strain CPSB1. *Chemosphere*, 185, 942-952. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.088>
- Rout, N. P., & Shaw, B. P. (2001). Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science*, 160(3), 415-423. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00406-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00406-4)
- Sharma, R., Bhardwaj, R., Thukral, A. K., Al-Huqail, A. A., Siddiqui, M. H., & Ahmad, P. (2019). Oxidative stress mitigation and initiation of antioxidant and osmoprotectant responses mediated by ascorbic acid in *Brassica juncea* L. subjected to copper (II) stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182, 109436. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109436>
- Singh, R., & Rathore, D. (2018). Oxidative stress defence responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) and chilli (*Capsicum annum* L.) cultivars grown under textile effluent fertilization. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123, 342-358. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.027>
- Sousa, R. H. V., Carvalho, F. E. L., Lima-Melo, Y., Alencar, V., Daloso, D. M., Margis-Pinheiro, M., Komatsu, S., & Silveira, J. A. G. (2019). Impairment of peroxisomal APX and CAT activities increases protection of photosynthesis under oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 70(2), 627-639. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery354>
- Taiwo, F. A. (2008). Mechanism of tiron as scavenger of superoxide ions and free electrons. *Journal of spectroscopy*, 22(6), 491-498. <https://doi.org/10.3233/SPE-2008-0362>
- Wang, M., Yue, H., Feng, K., Deng, P., Song, W., & Nie, X. (2016). Genome-wide identification, phylogeny and expressional profiles of mitogen activated protein kinase kinase kinase (MAPKKK) gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics*, 17, 668. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2993-7>
- Zhan, H., Yue, H., Zhao, X., Wang, M., Song, W., & Nie, X. (2017). Genome-wide identification and analysis of MAPK and MAPKK gene families in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genes (Basel)*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/genes8100284>

Study of the differential response of certain genes to oxidative stress in three bread wheat cultivars

Somaiyeh Damavandi¹, Saeid Navabpour^{*2}, Abolfazl Mazandarani³, Seyed Mojtaba Mollaei⁴

1. MSc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3. PhD. graduate, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4. PhD. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 28-04-2025

Accepted: 01-07-2025

Abstract

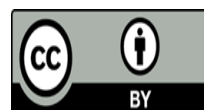
A study was conducted on three wheat cultivars (Ehsan, Kalateh, and Gonbad) in the research greenhouse of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources to evaluate the impact of oxidative stress levels on specific genes. Two separate experiments were carried out. The first experiment involved studying silver nitrate levels (at 0, 1, and 2 mM) as an oxidative agent and ascorbic acid (at 0, 10, and 20 mM) as a general antioxidant. The second experiment aimed to determine the specific effects of superoxide ion and atomic oxygen as signaling or oxidative agents. Specific scavengers, Tirone (at 0, 2, and 4 mM) and Debco (at 0, 15, and 30 mM), were used as pretreatments of silver nitrate. All treatments were applied through foliar spraying at the 60 Zadex stage (8 leaves). The study evaluated the expression of genes including CAT, GPX, MAPK3, and MAPK6. Results indicated a positive correlation between the relative expression of MAPK3 and MAPK6 genes and increased levels of ascorbic acid in the Ehsan cultivar. It was observed that MAPK6 induced gene expression and enhanced catalase expression through its signaling pathways. Additionally, the Ehsan cultivar exhibited superior performance under the influence of ascorbic acid compared to specific antioxidants and showed better responses to stress conditions than the other cultivars. The findings demonstrate that the use of antioxidants, particularly ascorbic acid, is effective in enhancing healing responses and reducing oxidative damage. Specifically, increasing the concentration of ascorbic acid resulted in upregulation of genes associated with antioxidant defense, such as MAPK6 and catalase. This highlights the crucial role of antioxidants in modulating signaling pathways and enhancing resistance to oxidative stress. Consequently, incorporating antioxidants into pretreatment materials can serve as a valuable strategy to bolster the genetic resistance of plants to oxidative stress, particularly in the Ehsan cultivar, which has shown superior performance under stress conditions. Therefore, recognizing the significance of antioxidants and pretreatment materials in mitigating oxidative stress in agriculture can facilitate the development of more resilient agronomic practices.

Keywords: Catalase, Glutathione peroxidase, MAPK, Oxidative stress, Silver nitrate, Wheat

Citation: Damavandi, S., Navabpour, S., Mazandarani, A., & Mollaei, S. M. (2025). Study of the differential response of certain genes to oxidative stress in three bread wheat cultivars. *Plant Production and Genetics*, 6(1), 161-174. <https://doi.org/10.22034/PLANT.2025.143480.1156>

Copyrights:

Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



*Corresponding Author Email: s.navabpour@gau.ac.ir