



Assessment of Differential Gene Expression and Biochemical Traits in Bread Wheat Cultivars in response to Silver Nitrate Stress

Saeid Navabpour¹  , Hourieh Najafi² , Mehrnesa Gharekhani³ , & Reyhaneh Navabpour⁴ 

¹ Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Iran.

² PhD student in Plant Genetics and Breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Iran.

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

⁴ Graduate in Molecular Cell Biology, Ferdowsi University of Mashhad, Razavi Khorasan, Iran.

 Corresponding author. E-mail: s.navabpour@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: Metal stress poses a significant challenge to crop production globally. This type of stress induces phenotypic, enzymatic (cellular oxidation), and gene expression alterations in plants. Therefore, an experiment was conducted to explore the impact of silver nitrate at the molecular and biochemical levels in three bread wheat cultivars (Khalete, Gonbad, and Ehsan).

Materials and methods: The experiment was conducted as a factorial experiment in a completely randomized basic design with three replications under greenhouse conditions. A separate experiment was carried out to examine the effects of silver nitrate (at levels of 0, 2, and 4 mM) as an oxidative agent, as well as ascorbic acid (at levels of 0, 10, and 20 mM) as an antioxidant agent, on wheat cultivars (Ehsan, Kelate, Gonbad). All treatments were administered through foliar spraying on the leaves at the 60 Zadex stage (8 leaves). In addition to individual applications of silver salt and ascorbic acid, a combined treatment was applied by administering the antioxidant treatment one hour before the oxidative silver nitrate treatment. Biochemical traits, including the rate of cellular oxidation and the expression of genes such as *MAPK3*, and *MAPK6*, were assessed.

Results: The results indicated that chlorophyll a and b content in the Ehsan cultivar, which exhibited relatively higher resistance compared to other cultivars, was better preserved and restored with increasing levels of antioxidant ascorbic acid. The relative expression of *MAPK3* and *MAPK6* genes positively correlated with increased ascorbic acid pretreatment in the Ehsan cultivar.

Conclusion: The results showed that under silver nitrate stress, some bread wheat cultivars are able to exhibit positive responses and increase the expression of genes related to tolerance to environmental stresses. The findings of this study can also aid in a better understanding of the molecular and biochemical mechanisms associated with stress tolerance in bread wheat, offering solutions for enhancing cultivation methods and genetic resource management. Ultimately, identifying stress-resistant cultivars can enhance plant adaptation to adverse environmental conditions.


Keywords: Stress, Gene Expression, Silver Nitrate, Wheat.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 29 Sep 2024, Revised: 21 Oct 2024, Accepted: 18 Nov 2024, Published online: 27 Dec 2024

Cite this article: Navabpour, S., Najafi, H., Gharekhani, M. & Navabpour, R. (2024). Assessment of Differential Gene Expression and Biochemical Traits in Bread Wheat Cultivars in response to Silver Nitrate Stress. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(4), 479-497. DOI: [10.22126/cbb.2025.11451.1094](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.11451.1094)



© The Author(s).
 [10.22126/cbb.2025.11451.1094](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.11451.1094)

Publisher: Razi University



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات



شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

ارزیابی بیان افتراقی برخی ژن ها و صفات بیوشیمیایی تحت تاثیر تنش نیترا نقره در سه رقم گندم نان

سعید نواب پور^۱✉، حوریه نجفی^۲، مهرنسا قره خوانی^۳ و ریحانه نواب پور^۴

^۱ استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گرگان، ایران.

^۲ دانشجوی دکتری ژنتیک و به نژادی گیاهی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گرگان، ایران.

^۳ دانش آموخته دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گرگان، ایران.

^۴ دانش آموخته زیست شناسی سلولی مولکولی دانشگاه فردوسی مشهد، خراسان رضوی، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: s.navabpour@yahoo.com

چکیده

مقدمه: تنش ناشی از عناصر فلزی یکی از مشکلات جدی بازراننده تولید محصول در سراسر جهان است. تنش فلزی باعث تغییرات فنوتیپی، آنزیمی (اکسیداسیون سلولی) و بیان ژن در گیاهان می‌شود، به همین منظور آزمایشی جهت بررسی اثر نیترا نقره در سطح مولکولی و بیوشیمیایی در سه رقم گندم نان (کلاته، گنبد و احسان) انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه اجرا گردید. آزمایش مجزا مشتمل بر بررسی سطوح نیترا نقره (در سه سطح ۰، ۲ و ۴ میلی مولار) به عنوان عامل اکسیداتیو و اسید آسکوربیک (در سه سطح ۰، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) به عنوان عامل پاداکسیدان و ارقام گندم (احسان و کلاته، گنبد) انجام شد. اعمال تمام تیمارها با انجام محلول پاشی (مه پاش) بر روی برگ در محدوده مرحله ۶۰ زادکس (۸برگی) انجام گرفت. علاوه بر مه پاش تیمار نمک نقره و آسکوربیک اسید به تنهایی، تیمار ترکیبی با اعمال تیمار پاداکسیدان یک ساعت قبل از تیمار اکسیداتیو نیترا نقره انجام شد. صفات بیوشیمیایی شامل میزان اکسیداسیون سلولی و همچنین ارزیابی بیان برخی ژن ها شامل *MAPK3* و *MAPK6* انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد محتوای هر دو نوع کلروفیل a و b در رقم احسان، به دلیل مقاومت نسبتا بالای آن نسبت به سایر ارقام، با افزایش آنتی اکسیدان آسکوربیک اسید بیشتر حفظ و احیا شد. بیان نسبی ژن های *MAPK3* و *MAPK6* همبستگی مثبتی با افزایش میزان پیش تیمار آسکوربیک اسید در رقم احسان نشان داد. **نتیجه گیری:** نتایج نشان داد که تحت تنش نیترا نقره، برخی از ارقام گندم نان قادر به نشان دادن واکنش های مثبت و افزایش بیان ژن هایی هستند که با تحمل به تنش های محیطی مرتبط اند همچنین نتایج این تحقیق می تواند به درک بهتر مکانیسم های مولکولی و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل به تنش در گندم نان کمک کند و راهکارهایی برای بهبود روش های کشت و مدیریت منابع ژنتیکی ارائه دهد. در نهایت، شناسایی ارقام مقاوم به تنش می تواند به بهبود سازگاری گیاهان در شرایط محیطی نامساعد کمک کند.

واژه های کلیدی: تنش، بیان ژن، نیترا نقره، گندم.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۸ **اصلاح:** ۱۴۰۳/۰۷/۳۰ **پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۸/۲۸، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۱۰/۰۷

استناد: نواب پور، س.، نجفی، ح.، قره خوانی، م. و نواب پور، ر. (۱۴۰۳). ارزیابی بیان افتراقی برخی ژن ها و صفات بیوشیمیایی تحت تاثیر تنش نیترا نقره در سه

رقم گندم نان. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۳(۴)، ۴۷۹-۴۹۷. DOI: [10.22126/cbb.2025.11451.1094](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.11451.1094)



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه رازی

مقدمه

است (Reactive Oxygen Species-ROS)

(Navabpour *et al.*, 2020). تنش اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید مازاد ROSها و یا کمبود در سطوح دفاع آنتی‌اکسیدانی درون زا و برون زا ایجاد می‌شود (Ahn *et al.*, 2006; Aro *et al.*, 2015) که این امر موجب تحریک مرگ سلولی از طریق اکسیداسیون ماکرومولکول‌هایی چون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدنوکلیک‌ها می‌شود یا به صورت غیر مستقیم باعث تحریک غیرطبیعی و به‌هم‌خوردن تنظیم چرخه سلولی می‌گردد (Ahn *et al.*, 2006). حضور ROSها در غلظت‌های بالا و مدت زمان طولانی با وقوع اختلالات مختلفی همراه خواهد بود (Aro *et al.*, 2015) که با سازوکارهای متنوعی تظاهر پیدا می‌کنند. یکی از این ساختارها شامل فعال‌کننده‌های ROS است که به عنوان پیام‌رسان درون سلولی ثانویه عمل کرده و منجر به القای منحصر به فرد انتقال سیگنال یا signal transduction می‌شود (Suzuki *et al.*, 2006). ROSها در غلظت بالا علاوه بر اکسیداسیون اجزای مهم سلولی، باعث مهار فعالیت فتوسنتزی و مهار تولید ATP می‌شوند (Navabpour *et al.*, 2020). با ادامه افزایش تولید و غلظت ROSها، آنزیم‌های موثر در مهار آنها افزایش یافته و به تعدیل رادیکال‌های آزاد می‌پردازند. یان ژن‌های تولید و فعال شده برای مقابله با ROSها را می‌توان از طریق Realtime PCR ب‌شناسایی کرد (Karimi *et al.*, 2017). از ژن‌هایی که در این مسیر درگیر می‌شوند ژن‌های رمز کننده پروتئین کینازهای فعال شده با

گندم یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی و تأمین‌کننده بخش عمده‌ای از نیازهای غذایی جمعیت روزافزون جهان است و منبع اصلی برای کالری و پروتئین است که سهم زیادی از زمین‌های زراعی قابل کشت در دنیا به خود اختصاص داده است (Wang *et al.*, 2020). بیشتر خاک‌های کشاورزی در سرتاسر جهان با فلزات سنگینی چون کادمیم، آرسنیک، جیوه، سرب، کرومیوم و نقره آلوده شده‌اند. حضور و ذخیره مازاد فلزات سنگین در انواع مختلف حیات از موجودات میکروسکوپی تا جانوران و گیاهان سمی و مخرب است (Singh & Rathore, 2018). یکی از نتایج غلظت بالای فلزات سنگین به‌ویژه در گیاهان، تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS¹) است که اکسیداسیون کنترل نشده و آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای با اجزای سلولی مانند DNA، لیپیدها و پروتئین‌های هسته‌ای را به‌دنبال خواهد داشت که در نهایت منجر به تنش اکسیداتیو و تخریب سلولی می‌گردد (Navabpour *et al.*, 2020). گیاهان حساس به این متابولیت‌ها عوارضی چون تغییر متابولیسم، کاهش رشد، کاهش زیست توده و عملکرد را نشان خواهند داد. گیاه دارای عملکردهای متنوعی برای مقابله با تنش اکسیداتیو بوده که یکی از آنها سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی است (Naeem *et al.*, 2020). نقطه مشترک بیشتر تنش‌های بیولوژیکی و غیر بیولوژیکی در سطح سلولی تولید و تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن

¹ Reactive Oxygen Species

H₂O₂ و NO، که این تعاملات موجب تقویت پاسخ‌های دفاعی و هماهنگی بهتر در برابر تنش می‌شود (Yao *et al.*, 2022). در این تحقیق آسکوربیک اسید به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش سطوح ROS و در نتیجه کنترل و مهار تنش اکسیداتیو خواهد شد. آسکوربیک اسید (AsA) باعث بهبود وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، ارتفاع گیاه و کلروفیل آن می‌شود. آسکوربیک اسید دارای فعالیت پروکسیدازی (POD)³ به‌ویژه در شرایط کمبود آب است و از دیگر نقش‌های آن تجمع پرولین در بافت برگ، ذخیره فنول و پروتئین‌های محلول و کاهش محتوای هیدروژن پراکسید (H₂O₂) و مالون دی‌آلدئید (MDA)⁴ است (Farooq *et al.*, 2020). در مجموع آسکوربیک اسید اثرات مثبتی در رشد گیاه داشته و این سیستم دفاعی در شرایط مشابه تنش اکسیداتیو حاصل از کمبود آب هم به خوبی عمل کرده است (Farooq *et al.*, 2020). با توجه به مطالب ذکر شده در این پژوهش میزان بیان ژن‌های *MAPK3* و *MAPK6* و برخی از صفات بیوشیمیایی در برابر آلودگی با تیمار نقره نیترا ت (AgNO₃) بررسی شد تا مشخص شود در هر یک از ارقام کلاته، گنبد و احسان چگونه و به چه میزان به غلظت‌های مختلف آلودگی واکنش نشان داده و دفاع خواهند کرد.

مواد و روش‌ها

میتوژن² (MAPKs) را می‌توان نام برد که در این تحقیق دو گروه *MAPK3* و *MAPK6* مورد بررسی قرار می‌گیرند. MAPKها پروتئین کینازهایی هستند که مبدل‌های علامت‌دهی اصلی سلولی در پاسخ به تنش اکسیداتیو بوده و علاوه بر این نشان داده شده که تولید اشکال پراکسیداسیون سلولی در ترکیب با انواع کینازهای دیگر منجر به فعال شدن آن‌ها می‌شود (Fang *et al.*, 2021). نقش MAPKها در پاسخ به تنش اکسیداتیو به عنوان محور اصلی سیگنال‌دهی در گیاهان و دیگر ارگانیسم‌ها قابل توجه است، این کینازها به عنوان حسگرهایی برای تشخیص استرس عمل کرده و با تنظیم فعالیت ژن‌ها و آنزیم‌های کلیدی، به دفاع از سلول‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون کمک می‌کنند. درک بهتر از این فرآیندها می‌تواند به توسعه استراتژی‌های بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی کمک کند (Xie *et al.*, 2023). *MAPK3* و *MAPK6* در تنظیم سیگنال‌های متابولیکی مرتبط با متابولیسم ثانویه گیاهان نیز نقش دارند که این متابولیت‌های ثانویه می‌توانند در افزایش تحمل به تنش‌های اکسیداتیو از طریق محافظت از سلول‌ها و کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد نقش ایفا کنند (Shu *et al.*, 2022). وجود *MAPK3* و *MAPK6* در پاسخ به تنش اکسیداتیو به تعامل با سایر مسیرهای سیگنال‌دهی کمک می‌کند، مانند مسیرهای

³ Peroxidase activity

⁴ Malondialdehyde (MDA)

² Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKs)

عمومی رادیکال های فعال اکسیژن محلول پاشی شد (Pirzada *et al.*, 2024). برای اندازه گیری سطوح بیان ژن ها پنج گرم نمونه برگی به صورت تصادفی در تیمارهای متفاوت برداشت و در ازلت مایع منجمد و تا مرحله استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. استخراج RNA توسط کیت بایوزول از نمونه های برگ منجمد صورت گرفت. با الکترو فورز ژل آگارز ۱/۵ درصد کیفیت RNA استخراجی، تعیین و از دستگاه اسپکتروفتومتر هم برای ارزیابی کمی میزان استخراج RNA استفاده شد. برای ساخت cDNA از روش پیشنهادی فرمنتاز استفاده شد. آغازگرهای مورد استفاده از منابع گرفته شد (Dudziak *et al.*, 2019) و کارایی ۱۰۰ درصد داشتند. از دستگاه iQ5 شرکت Bio Rad برای ارزیابی الگوی افتراقی بیان ژن های *MAPK3* و *MAPK6* استفاده شد.

بذرهای سه رقم گندم نان (*Triticum aestivum* L.) شامل ارقام کلاته، گنبد و احسان با اتانول ده درصد ضدعفونی و در گلدان های بیبا ظرفیت هفت کیلوگرم خاک در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان کشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. ترکیب نیترات نقره ($AgNO_3$) به عنوان عامل ایجاد کننده تنش اکسیداتیو در سه سطح (صفر، دو و چهار میلی مولار) و آسکوربیک اسید به عنوان پاداکسیدان در سه سطح (صفر، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) به همراه سه رقم گندم فاکتورهای آزمایشی بودند. ایجاد تنش اکسیداتیو با محلول پاشی نقره نیترات در مرحله ظهور سنبله و در غلظت های گفته شده انجام شد. علاوه بر این برای ارزیابی میزان افزایش میزان مقاومت به تنش تعدادی از گلدان ها یک ساعت قبل از اعمال تیمار نقره نیترات جداگانه با غلظت های گفته شده از آسکوربیک اسید به عنوان عامل پاک کننده

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

Table 1- Characteristics of the primers used

آغازگر Primer	توالی آغازگر (5'-3') Primer sequence	دمای اتصال (C°) Annealing temperature (C°)
<i>MAPK3-F</i>	CTTTAACCCGCTGCAGAGGA	60
<i>MAPK3-R</i>	GTCAAAGGAGAAGGGGTCCG	60
<i>MAPK6-F</i>	GAGGTCACCGCCAAGTACAA	60
<i>MAPK6-R</i>	CTTGTTGTCTGAAGGCGTTGG	60
<i>GAPDH-F</i>	TCACCACCGACTACATGACC	60
<i>GAPDH-R</i>	ACAGCAACCTCCTTCTCACC	60

اندازه گیری میزان کلروفیل

مدل S2000UV/vis ثبت شد. میزان کلروفیل a) a

کلروفیل b) b (chl) و کلروفیل b) b (chl) بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (Porra *et al.*, 1989).

$$\text{Chl a(mg.ml-1)} = 12.25 A_{663.6} + 2.55 A_{646.6}$$

$$\text{Chl b(mg.ml-1)} = 20.31 A_{646.6} + 4.91 A_{663.6}$$

جذب نوری (BR-Technologies مدل BT 600) اندازه

گیری گردید (Hagege *et al.*, 1990).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مقادیر کلروفیل و شاخص TBARM در جدول (۲) ارائه شده است. تمام اثرات اصلی برای هر سه صفت معنی دار شد. در حالی که اثرات متقابل دو جانبه الگوی متفاوتی در صفات مورد ارزیابی نشان دادند که مبین عدم استقلال اثرات اصلی در ارتباط با صفات مورد نظر بود. پایین بودن ضریب تغییرات نشان-دهنده میزان دقت آزمایش می‌باشد.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگ منجمد به‌طور کامل خرد شد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سرد به حجم رسانیده شد. پس از سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ g در مدت زمان ۱۵ دقیقه، میزان جذب (A) مایع رویی در طول موج‌های ۶۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر WAP

سنجش اکسیداسیون سلولی^۵ TBARM

در این سنجش که معیاری برای اندازه‌گیری میزان تنش اکسیداسیونی است، مقدار مالون دی‌آلدید که محصول نهایی و تا حدودی پایدار واکنش اکسیداسیون مولکول‌های بزرگ است، اندازه‌گیری شد. مقدار ۰/۵ گرم برگ هموژنیزه و یک میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک (15% w/v) به آن اضافه شد. محلول حاضر پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر استون ورتکس شد و با ۴۷۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل از سانتریفیوژ با پنج میلی‌لیتر استون شستشو داده شد. پس از ورتکس دوباره با همان دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد، آخرین مرحله چهار مرتبه تکرار شد. سپس به آن مقدار سه میلی‌لیتر اسید فسفریک (w/v) 1% و یک میلی‌لیتر اسید تیوباربیوریتیک (0.6% w/v) افزوده و محلول برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. واکنش با سرد کردن سریع لوله‌ها در داخل یخ متوقف شد و مقدار جذب محلول حاصل با طول موج ۵۳۲ و ۵۹۰ نانومتر توسط دستگاه

⁵ Thiobarbituric Acid Reactive Materia

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی

Table 2- Factorial analysis of variance of biochemical traits in a completely randomized design

میانگین مربعات Mean squares			DF	SOV
کلروفیل b chlorophyll b	کلروفیل a chlorophyll a	اکسیداسیون سلولی (TBARM)		
1.13**	3.53**	65.01**	2	تنش (نیترات نقره) Stress (Silver nitrate)
0.183*	0.323*	25.4*	2	رقم variety
1.12**	1.23**	51.8**	2	آسکوربیک اسید Ascorbic acid
0.78 ^{ns}	0.109 ^{ns}	11.55 ^{ns}	4	تنش*آسکوربیک اسید Variety × Ascorbic acid
0.053 ^{ns}	0.305*	37.2**	4	رقم × تنش Variety × Stress
0.072 ^{ns}	0.093 ^{ns}	30.4*	4	رقم × آسکوربیک اسید Variety × Ascorbic acid
0.108 ^{ns}	0.082 ^{ns}	12.1*	8	رقم × آسکوربیک اسید × تنش Variety × Ascorbic acid × Stress
0.065	0.058	7.18	54	خطا Error
1.08	3.69	2.18	-	ضریب تغییرات % CV

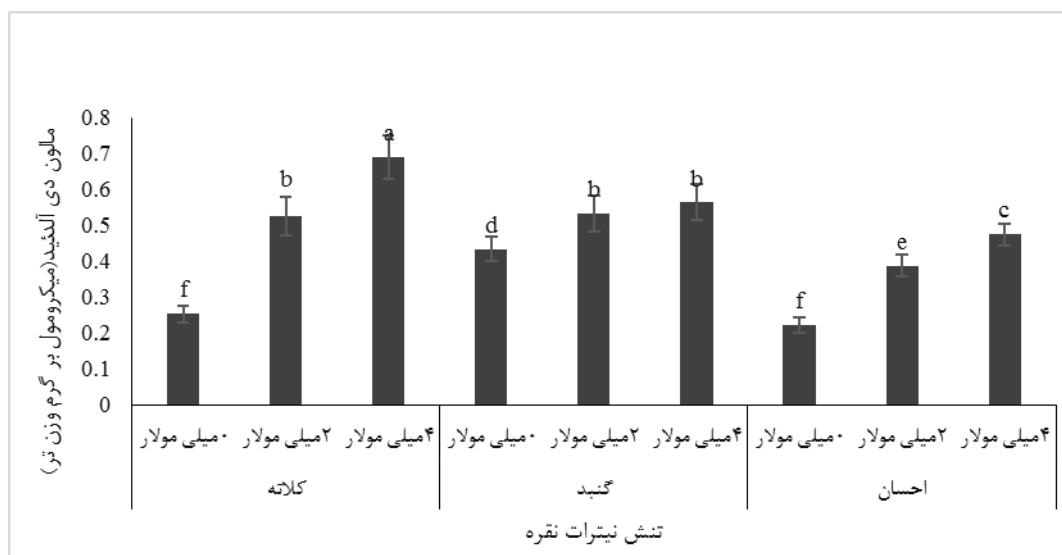
^{ns}، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** are non-significant and significant at the five and one percent probability levels, respectively

ارقام دیگر بوده و با افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن به میزان بیشتری روند صعودی پیدا کرده است. این نتایج در مطالعات دیگر هم مشاهده شد (Navabpour & Mazandarani, 2017; Juknys, 2012). افزایش سطوح MDA در همه ارقام گندم ناشی از تنش خشکی (Rashid & Shah, 2021) و تنش اکسیداتیو ناشی از فلز بور در گیاه گندم نیز مشاهده شد (Catav *et al.*, 2018).

شاخص اکسیداسیون سلولی (TBARM)

نتایج حاصل از اثرات متقابل تنش در رقم بیان داشت که با افزایش سطوح ROS ناشی از نیترات نقره، افزایش اکسیداسیون سلولی در همه ارقام مشاهده شد. در این میان رقم کلاته بیشترین میزان تولید مالون دی‌آلدئید را در شدیدترین سطح تنش یعنی چهار میلی مولار نشان داد. بعد از آن بیشترین میزان اکسیداسیون سلولی به ترتیب مربوط به ارقام گنبد و احسان بود. افزایش اکسیداسیون سلولی در رقم کلاته ممکن است به علت حساسیت بالای این رقم نسبت به بیماری در مقایسه با

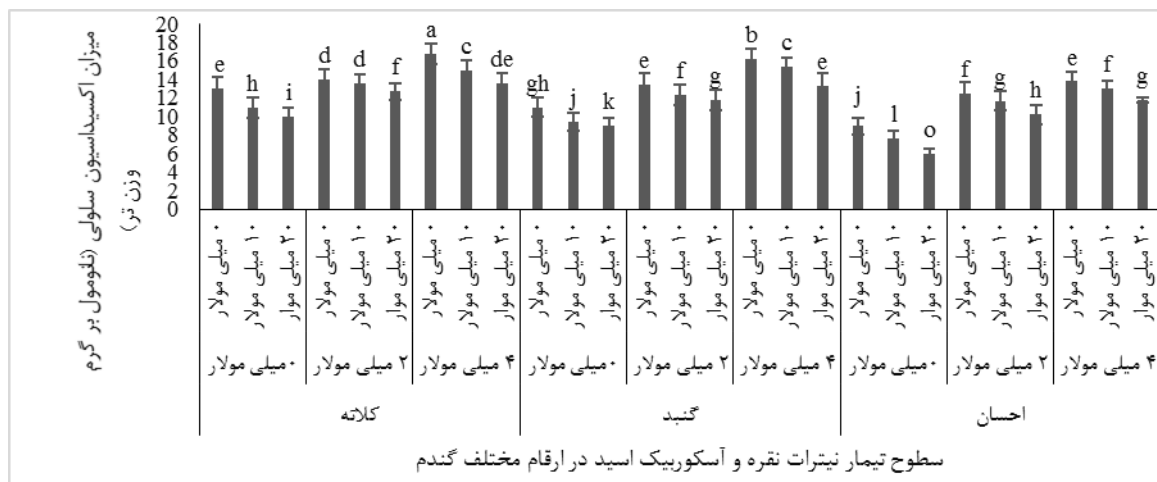


شکل ۱- تغییرات میزان مالون دی آلدئید در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش نیترات نقره

Figure 1. Changes in malondialdehyde levels in different wheat varieties under the influence of different levels of silver nitrate stress

اعمال آسکوربیک اسید میزان اکسیداسیون سلولی کمتری نسبت به ارقام کلاته و گنبد داشت. در ارزیابی دیگر در گیاه جو، کمترین میزان غلظت انواع فلزات سنگین، منجر به افزایش قابل ملاحظه‌ای در تولید مالون دی آلدئید شد (Juknys, 2012). همچنین در این ارزیابی، میزان تولید MDA و تجمع هیدروژن پروکسید در ارقام متحمل، کمتر از ارقام حساس و مقدار زیست توده تولیدی و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم‌ها، بیشتر از ارقام حساس گزارش شد که با میزان رشد گیاه همبستگی مثبتی نشان داد. در گیاه گلرنگ نیز افزایش آسکوربیک اسید منجر به کاهش میزان اکسیداسیون سلولی و کاهش هیدروژن پروکسید گردیده و در شرایط کم آبی توانسته اثرات مثبتی روی رشد گیاه اعمال کند (Farooq et al., 2020).

مالون دی آلدئید یکی از محصولات نهایی پروکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در سلول می‌باشد. با افزایش رادیکال‌های آزاد، تولید MDA هم افزایش می‌یابد. محتوای مالون دی آلدئید غالباً به عنوان شاخصی برای میزان پروکسیداسیون لیپیدها و وضعیت آنتی اکسیدان‌ها در سلول در نظر گرفته می‌شود که در تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد. با توجه به ارزیابی‌های اکسیداسیون سلولی، اختلاف معنی داری در روند کاهش بین ارقام کلاته، گنبد و احسان با اعمال تیمارهای آسکوربیک اسید و نیترات نقره مشاهده شد. در هر دو سطح دو و چهار میلی مولار تنش در همه ارقام با افزایش آسکوربیک اسید کاهش پروکسیداسیون لیپید و تولید MDA مشاهده شد. رقم احسان تحمل بیشتری نسبت به سطوح افزایش یافته تنش از خود نشان داده و در مقادیر بالای نیترات نقره با



شکل ۲- تغییرات میزان مالون دی آلدئید در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره و آسکوربیک اسید

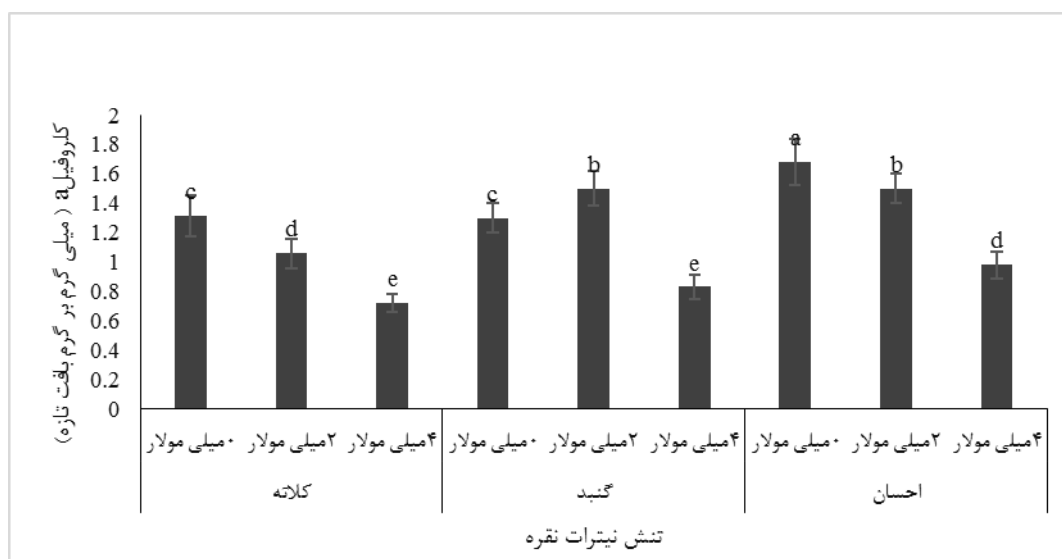
Figure 2. Changes in malondialdehyde levels in different wheat varieties under the influence of different levels of silver nitrate and ascorbic acid treatment

برتری داشت. در رقم احسان هم در چنین شرایطی کاهش محتوای این رنگدانه فتوسنتزی مشاهده شد اما دارای اندک تفاوتی از نظر محتوا با بقیه ارقام بود. به بیان دیگر کاهش محتوای کلروفیل با افزایش تنش نیترات نقره و اعمال پیش تیمار آسکوربیک اسید در رقم احسان کمتر از سایر ارقام بود. آسکوربیک اسید به عنوان پاک کننده عمومی رادیکال‌های آزاد اکسیژن تا حدی توانست شرایط تنش اکسیداتیو را به حالت تعادل سلولی برگرداند ولی به‌طور کلی این روند برای همه ارقام خیلی کارآمد نبود و رقم احسان با کمترین میزان اکسیداسیون سلولی بیشترین محتوای کلروفیل را نشان داد. در مطالعه‌ای در گیاه گندم تحت تنش خشکی هم میزان هر دو نوع کلروفیل و نیز کلروفیل کل با روند کاهشی در همه ارقام مواجه شد (Rashid & Shah, 2021). در مطالعه‌ای

محتوای کلروفیل نتایج ارزیابی اثرات متقابل نیترات نقره و آسکوربیک اسید در ارقام مختلف نشان داد که در رقم کلاته تغییرات محتوای کلروفیل a در تیمار بدون تنش با افزایش آسکوربیک اسید ناچیز بود. اما در سطوح یک میلی مولار تنش (نیترات نقره)، محتوای کلروفیل به نصف محتوای سطح شاهد رسید. در عین حال با افزایش آسکوربیک اسید روند افزایشی در محتوای کلروفیل دیده شد. روند کاهش میزان کلروفیل در تنش شدید هم مشاهده شد که نتیجه‌ی افزایش آسکوربیک اسید، افزایش جزئی در تولید و محتوای کلروفیل بود. رقم گندم هم با افزایش سطح تنش، شاهد کاهش مقدار کلروفیل a بود اما در سطح یک و دو میلی‌مولار تنش، با افزایش عامل آسکوربیک اسید روند افزایشی پیدا کرد و نسبت به رقم کلاته از این نظر

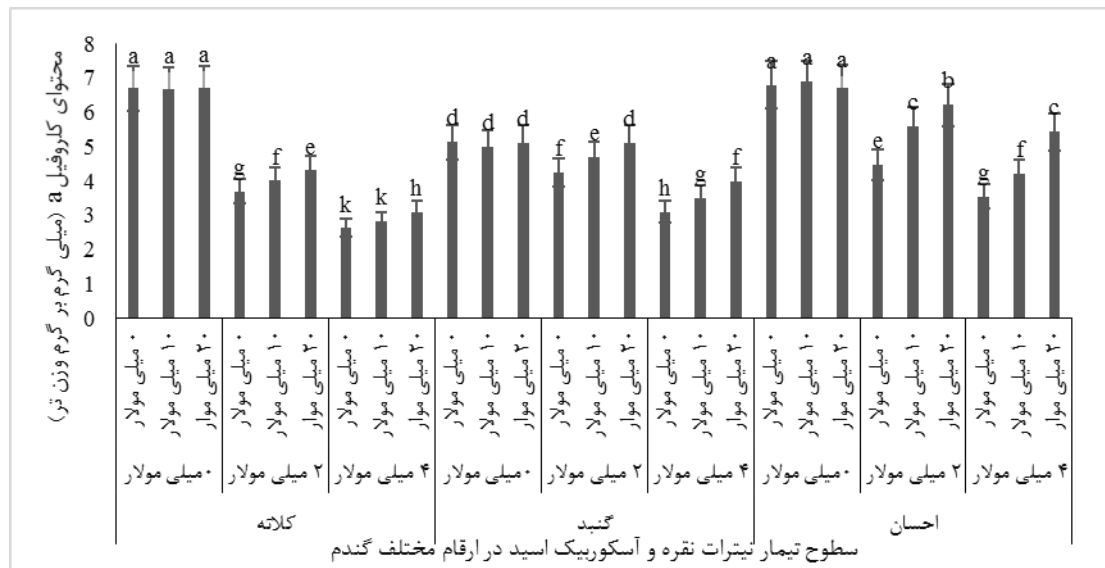
نقره، در محتوای کلروفیل داشت. همچنین رقم احسان کاهش کمتری در سطح شدید تنش، نسبت به سایر ارقام داشت. در تحقیقی که روی گیاه اسفناج تحت تنش فلزات سنگین انجام شد، کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها را تحت ذخیره مازاد فلزات سنگین گزارش داد که با گذشت زمان و در معرض قرار گرفتن بیشتر گیاه با این عوامل، کاهش بیشتر محتوای کلروفیل a و همچنین کلروفیل b مشاهده گردید (Pandey *et al.*, 2009).

دیگر، در تنش آبی نیز کاهش میزان فتوسنتز در نتیجه کاهش محتوای کلروفیل در گیاه گندم مشاهده شد که با اعمال آسکوربیک اسید رشد و تقسیم سلولی گیاه به علت افزایش سطح برگ پرچم و محتوای کلروفیل و در نتیجه افزایش فتوسنتز بهبود پیدا کرد (Hafez & Gharib, 2016). همچنین در رابطه با اثر متقابل تنش \times رقم اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش در همه ارقام در محتوای کلروفیل مشاهده شد. چنانچه در شکل (شماره سه) مشاهده می‌شود، افزایش سطوح نیترات نقره منجر به کاهش محتوای کلروفیل a در همه سطوح شد. رقم کلاته کاهش قابل ملاحظه‌ای با افزایش غلظت نیترات



شکل ۳- تغییرات میزان کلروفیل a در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش نیترات نقره

Figure 3. Changes in chlorophyll a content in different wheat varieties under the influence of different levels of silver nitrate stress



شکل ۴- تغییرات میزان کلروفیل a در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره و

آسکوربیک اسید

Figure 4. Changes in chlorophyll a content in different wheat varieties under the influence of different levels of silver nitrate and ascorbic acid treatment

می‌تواند دلیلی بر مقاومت بیشتر این رقم در برابر تنش

اکسیداتیو باشد. از طرفی کاهش محتوای کلروفیل a نسبت

به کلروفیل b در شرایط تنش بالاتر، می‌تواند حاکی از این

باشد که فتوسیستم II نسبت به فتوسیستم I حساسیت

بالاتری نسبت به تنش داشته و از آنجا که حاوی کلروفیل

b بیشتری است با کاهش بیشتر محتوای کلروفیل b همراه

است (Navabpour & Mazandarani, 2017). همچنین

در پژوهشی اذعان شد که تحت تنش خشکی در گندم،

تولید مالون دی‌آلدئید و نشت الکترولیت‌ها در ارقام حساس

خیلی بیشتر از ارقام نیمه متحمل و متحمل است، از این رو

با کاهش بیشتری در محتوای کلروفیل‌ها از جمله کلروفیل

b مواجه است (Mohammadkhani & Sharifi, 2016).

ارزیابی‌های اثر متقابل تنش \times رقم بر محتوای کلروفیل b

کلروفیل b

در شکل (شماره پنج) محتوای کلروفیل b، با افزایش تیمار

نیترات نقره به ازای آسکوربیک اسید، اختلاف معنی‌داری از

نظر محتوای کلروفیل b بین ارقام مختلف گندم مشاهده

نشود. در همه ارقام در شرایط تیمار شاهد با افزایش

آسکوربیک اسید، میزان کلروفیل b بیشتر از سه میلی گرم

بر گرم وزن تر مشاهده شد. با افزایش تنش در سطح یک

میلی مولار، محتوای کلروفیل b هم در همه ارقام با کاهش

روبرو شد، اما با افزایش آسکوربیک اسید بار دیدگر سیر

صعودی یافت. اثرات تخریبی رادیکال‌های فعال اکسیژن در

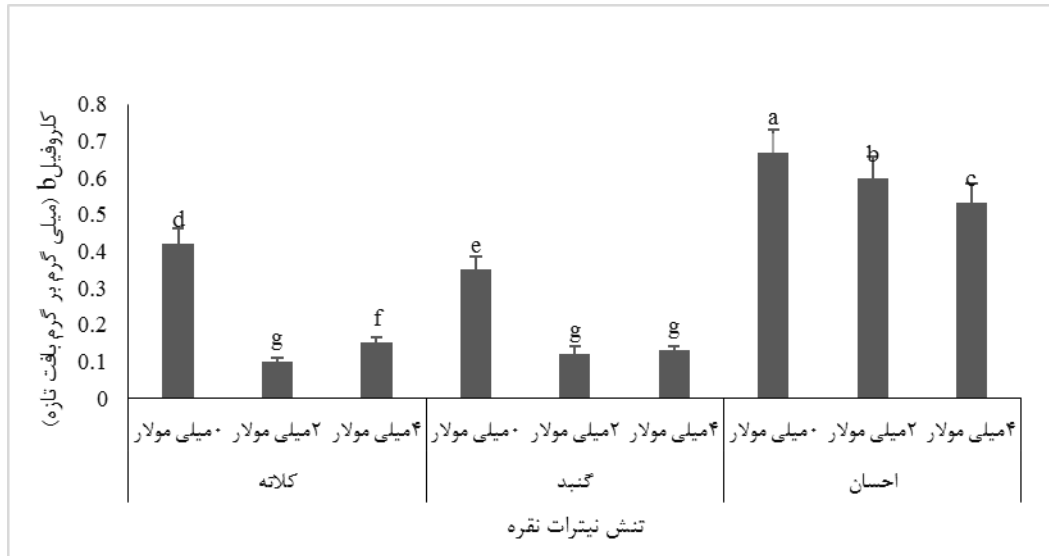
سطح دو میلی مولار نیترات نقره باعث کاهش بیشتر

محتوای کلروفیل شد. اما میزان این کاهش در رقم احسان

با افزایش آنتی‌اکسیدان ASA کمتر از سایر ارقام بود که

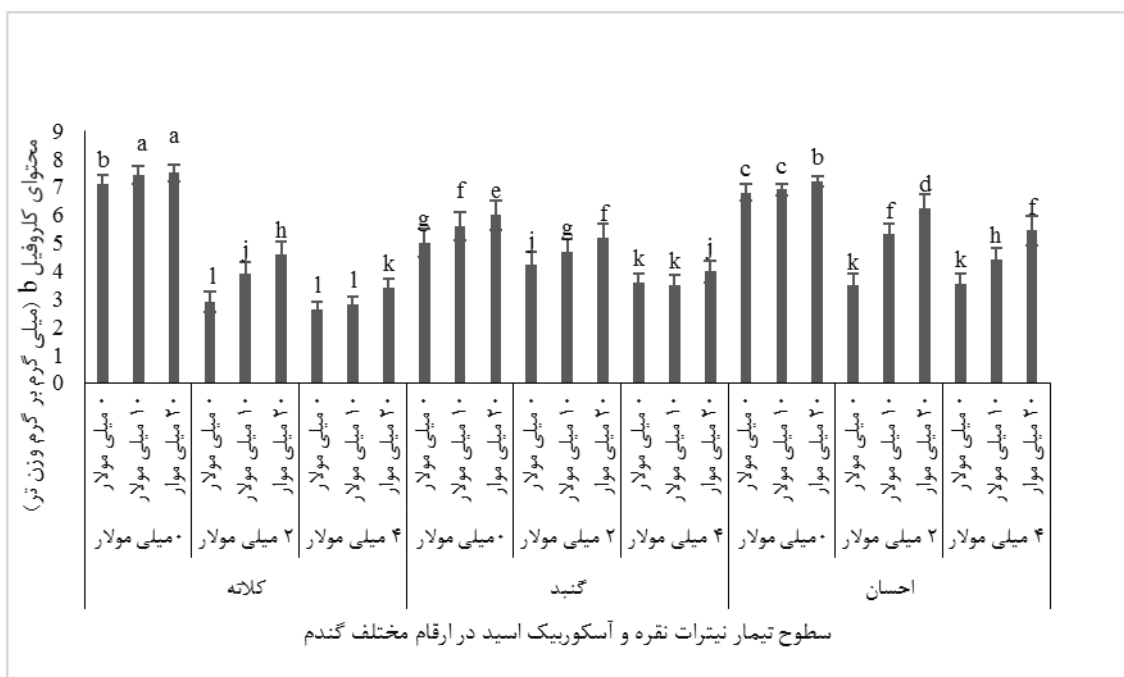
دیگر چشمگیرتر بود. رقم احسان و با اختلاف کمی گند، با میزان کاهش کمتر محتوای کلروفیل b در سطح شدید تنش مقاومت بالاتری را نسبت به ارقام دیگر نشان داد.

کاهش را به ازای افزایش سطوح تنش در همه ارقام گزارش کرد. کمترین میزان کلروفیل b در تنش شدید نیترات نقره در رقم کلاته گزارش شد و کاهش محتوای کلروفیل در این رقم با افزایش ROS ها نسبت به ارقام



شکل ۵- تغییرات میزان کلروفیل b در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش نیترات نقره

Figure 5. Changes in chlorophyll b content in different wheat varieties under the influence of different levels of silver nitrate stress



شکل ۶- تغییرات میزان کلروفیل a در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره و

آسکوربیک اسید

Figure 6. Changes in chlorophyll a content in different wheat varieties under the influence of different levels of silver nitrate and ascorbic acid treatment

این سطح و بدون اعمال اسید آسکوربیک کاهش چشمگیری در بیان نسبی ژن حتی کم تر از بیان شاهد داشت. احتمال می رود که با افزایش رادیکال ها مسیر علامت دهی این گیاه دچار اختلال شده و یا سازوکار مناسبی را جهت حذف رادیکال های اکسیژن اعمال نکرده است. اما با افزایش آسکوربیک اسید، افزایشی در بیان نسبی خود داشت که نشان می دهد کلاته نسبت به ارقام دیگر بیشتر به آنتی اکسیدان جهت بازگشت به حالت تعادل سلولی یا حذف تنش ایجاد شده نیاز دارد. در پژوهش های سطوح رونویسی *MAPK3* به طور قابل ملاحظه ای بعد از شش ساعت در معرض قرارگیری با

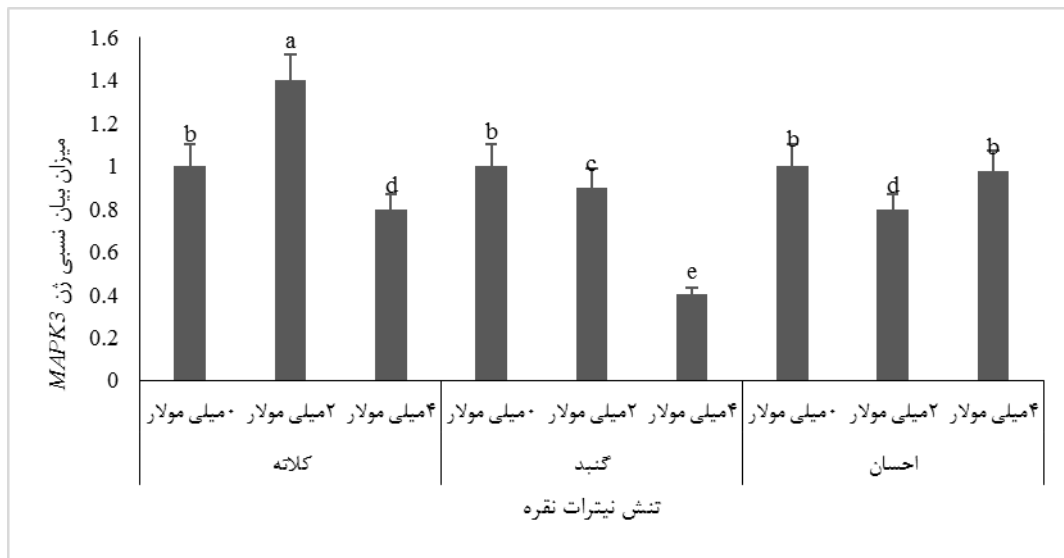
ژن *MAPK3*

ژن های خانواده *MAPK3* در پاسخ به تنش های ناشی از فلزات سنگین نقش مهمی دارند. وقتی که سلول ها در معرض فلزات سنگین مانند جیوه، آرسنیک، یا نقره قرار می گیرند، سیگنال هایی از طریق این ژن ها فعال می شود که به تولید پاسخ های حفاظتی و ترمیمی کمک می کند. نتایج ارزیابی تاثیر تنش اکسیداتیو بر بیان ژن *MAPK3* نشان داد که با افزایش نیترات نقره بیان نسبی ژن در همه ارقام افزایش یافت که با افزایش اعمال آسکوربیک اسید بیشتر هم شد. اختلاف معناداری در سطوح تنش دو میلی مولار بین ارقام مشاهده شد که نشان داد رقم کلاته در

⁶ Signaling

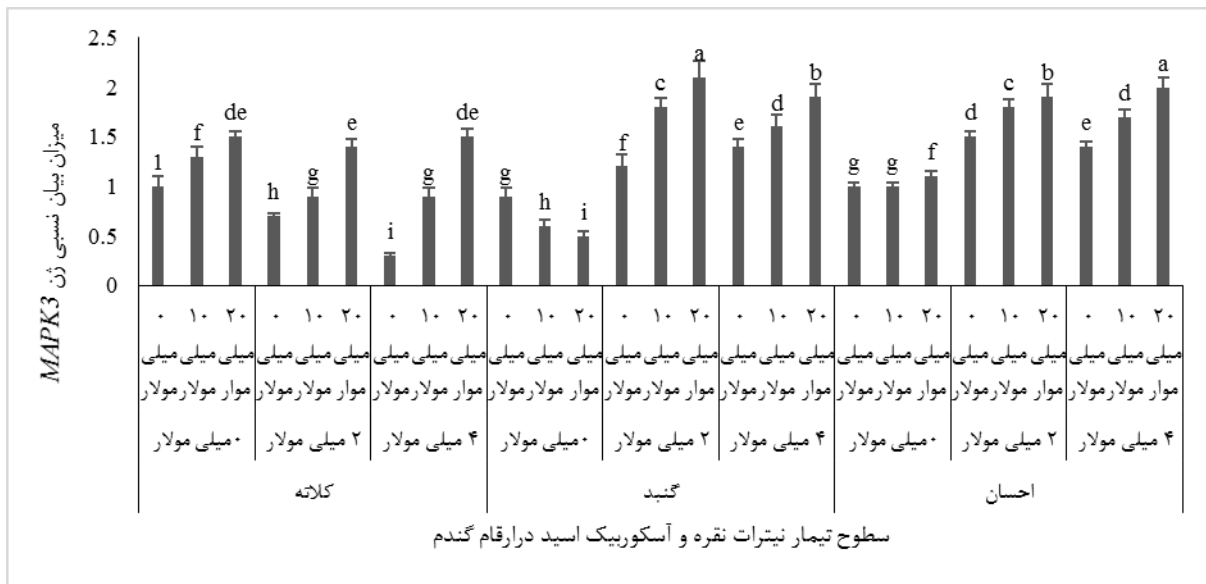
این ژن در گیاه گندم مشاهده نشد ولی در تحقیقی دیگر در بیان ژن *MAPK3* افزایش سطوح رونویسی مشاهده شد. سطوح بالای بیان *MAPK3* در گیاه ذرت و آرابیدوپسیس تالیانا نیز مشاهده شد (Dudziak *et al.*, 2019).

عامل تنش در بیشتر لاین‌های آزمایش 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



شکل ۷- میزان بیان نسبی ژن *MAPK3* در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره

Figure 7. Relative expression of *MAPK3* gene in different wheat cultivars under the influence of different levels of silver nitrate treatment



شکل ۸- میزان بیان نسبی ژن *MAPK3* در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره و آسکوربیک اسید

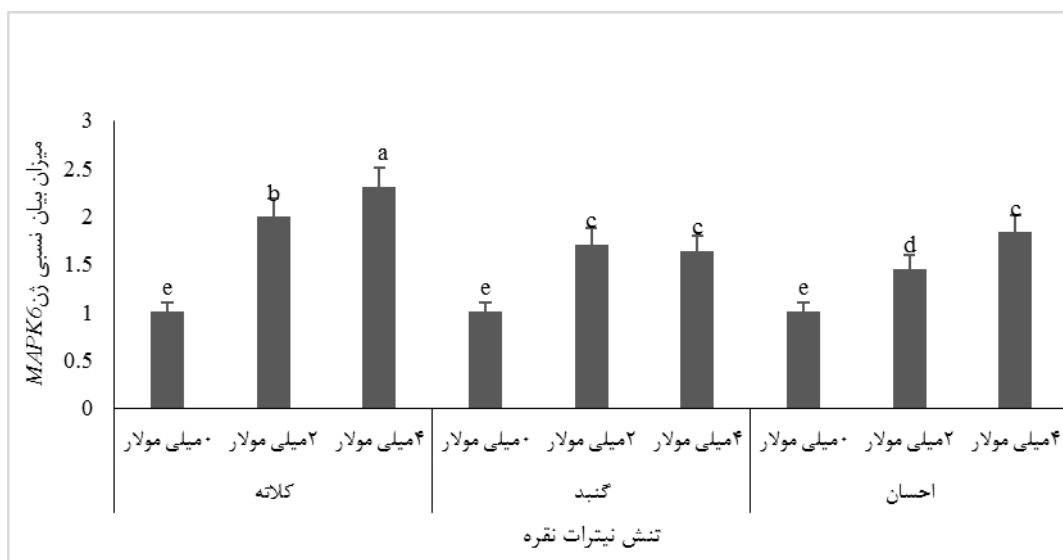
Figure 8. Relative expression of *MAPK3* gene in different wheat cultivars under the influence of different levels of silver nitrate and ascorbic acid treatment

تنش سیستیم گیاھی به آسکوربات برای احیای رادیکال‌های افزایش یافته نیاز بیشتری دارد تا از اثرات نامطلوب 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 تا حدودی در همه رقم‌ها روند افزایشی داشت. در تنش ناشی از خشکی هم در گیاه گندم و هم آرابیدوپسیس افزایش بیان ژن *MAPK6* در بیشتر لاین‌های مورد بررسی مشاهده شد. هرچند تعدادی

ژن *MAPK6*

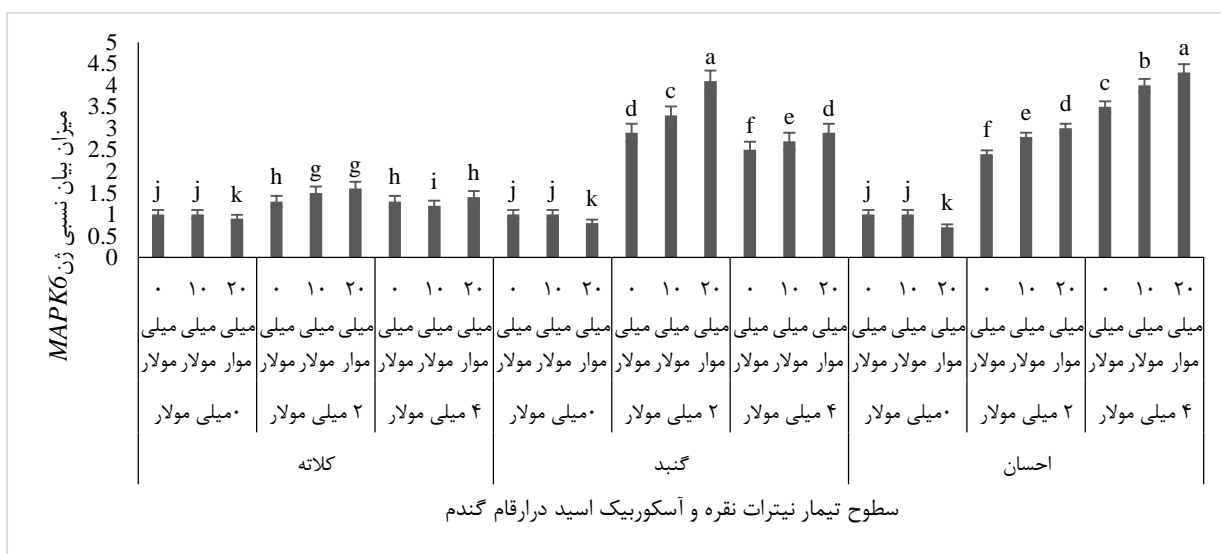
نتایج حاصل از بررسی بیان نسبی ژن *MAPK6* تحت تاثیر نیترات نقره و آسکوربیک اسید اختلاف معنی‌داری را نشان داد (شکل شماره ۱۰). بیان نسبی ژن در شرایط اعمال تنش نیترات نقره در غلظت یک میلی مولار در همه ارقام افزایش داشت، که رقم گنبد بیشتترین بیان نسبی ژن را با اعمال بالاترین سطح آسکوربیک اسید نشان داد. اما با ادامه افزایش غلظت نیترات نقره، ارقام کلاته و گنبد، دچار کاهش بیان ژن شدند در حالی که در رقم احسان روند این تغییرات افزایشی 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

هیچ نوع تغییری در میزان بیان ژن نشان ندادند (Dudziak et al., 2019).



شکل ۹- میزان بیان نسبی ژن MAPK6 در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره

Figure 9. Relative expression of MAPK6 gene in different wheat cultivars under the influence of different levels of silver nitrate treatment



شکل ۱۰- میزان بیان نسبی ژن MAPK6 در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار نیترات نقره و آسکوربیک اسید

Figure 10. Relative expression of MAPK6 gene in different wheat cultivars under the influence of different levels of silver nitrate and ascorbic acid treatment

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق از میان ارقام مورد مطالعه، رقم احسان نسبت به دو رقم کلاته و گند برتری داشت و ثبات بیشتری را در شرایط تنش نشان داد. رقم احسان در سطوح شدید تنش نسبت به دو رقم دیگر، میزان اکسیداسیون کمتر و تخریب کمتر محتوای کلروفیل‌ها را نشان داد که از این نظر رقم خوبی محسوب می‌شود. در این ارزیابی، اختلاف معناداری در سطوح مختلف ژن‌های علامت‌دهی دیده شد و مشخص شد که ارقام حساس نسبت به عامل اکسیداتیو زودتر دچار تنش شده و دچار اختلال در مسیر انتقال علامت‌دهی می‌گردند که منجر به کاهش بیان ژن *MAPK3* می‌شوند. همچنین این امر پاداکسیدان‌های اختصاصی روند متفاوتی را بین ارقام مختلف نشان داد که نیاز به ارزیابی‌ها و بررسی‌های بیشتری در این زمینه دارد. در عین حال بیان ژن *MAPK6* با افزایش آسکوربیک اسید در رقم احسان بیشتر مشاهده شد که می‌تواند دلیلی بر تحمل بالای این رقم در شرایط تنش باشد. به طور کلی رقم احسان با داشتن خصوصیات بیوشیمیایی مطلوب، در شرایط تنش

اکسیداتیو حاصل از نیترات نقره عملکرد بهتری نسبت به سایر ارقام گندم از خود نشان داده که نشان دهنده تحمل بیشتر این رقم در شرایط نامطلوب تنش اکسیداتیو می‌باشد. استفاده از نتایج این پژوهش و تحقیقات بیشتری برای شناسایی و تجزیه و تحلیل ژن‌های کلیدی که در پاسخ به نیترات نقره فعال می‌شوند، می‌تواند به درک بهتر سازوکارهای ژنتیکی و بیوشیمیایی کمک کند. بررسی دقیق‌تر مسیرهای متابولیکی مرتبط با تنش نیترات نقره و شناسایی تغییرات در ترکیبات بیوشیمیایی گیاه، از جمله آن‌تیاکسیدان‌ها و متابولیت‌های ثانویه و اجرای مطالعات میدانی در شرایط مختلف اقلیمی و خاکی برای ارزیابی پاسخ‌های واقعی به تنش نیترات نقره و شناسایی ارقام مناسب برای به‌کارگیری در کشاورزی و اجرای این چشم‌اندازها و راهکارها می‌تواند به بهبود کیفیت و کمیت تولید گندم و امنیت غذایی کمک کند.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت تامین مالی این طرح سپاسگزاری می‌گردد.

References

- Ahn, J., Ambrosone, C. B., Kanetsky, P. A., Tian, C., Lehman, T. A., Kropp, S., Helmbold, I., von Fournier, D., Haase, W., Sautter-Bihl, M. L., Wenz, F., & Chang-Claude, J. 2006. Polymorphisms in genes related to oxidative stress (CAT, MnSOD, MPO and eNOS) and acute toxicities from radiation therapy following lumpectomy for breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(23), 7063-7070. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-0039>.
- Catav, S.S., Genc, T.O., Kesik Oktay, M., & Kucukakyuz, K. 2018. Effect of boron toxicity on oxidative stress and genotoxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(4), 502-508. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2292-x>.

- 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>.
- Hafez, E.M., & Gharib 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*, 9(1), 104. <https://doi.org/10.3390/plants9010104>.
- Hagege, D., Nouvelot, A., Boucard, J., & Gaspar, T. 1990. Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. *Phytochemical Analysis*, 1, 86-89. <https://doi.org/10.1002/pca.2800010208>.
- 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. *Iranian Journal of Biotechnology*, 15(4), 284-288. <https://doi.org/10.15171/ijb.1311>.
- Rashid, M., Sajid, M.A., Elahi, N.N., Noreen, S., & Shah, K.H. 2021. Antioxidant defense system is a key mechanism for drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sarhad Journal of Agriculture*, 37(2), 348-358. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2021/37.2.348.358>
- . Naeem, M., Ansari, A.A., Gill, S.S. (Eds.). 2020. Contaminants in agriculture: sources, impacts and management. Springer International Publishing: Cham, Switzerland, ISBN 978-3-030-41551-8.
- Pandey, N., Pathak, G.C., Pandey, D.K., & Pandey, R. 2009. Heavy metals, Co, Ni, Cu, Zn and Cd, produce oxidative damage and evoke differential antioxidant responses in spinach. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 21(2), 103-111. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202009000200003>.
- Navabpour, S., & Mazandarani, A. 2017. Molecular and biochemical evaluation of two bread wheat cultivars under oxidative stress. *Cereal Research*, 7(3), 357-367. <https://doi.org/10.22124/c.2018.5178.1202>. [In Persian]
- Navabpour, S., Yamchi, A., Bagherikia, S., & Kafi, H. 2020. Lead-induced oxidative stress and role of antioxidant defense in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26(4), 793-802. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00777-3>.
- Aro, C.E.P., Guzman, J. A.R., Munoz, M.E.S., & Gonzalez, B.E.V. 2015. Effect of high intensity interval training versus moderate intensity continuous training on the reduction of oxidative stress in type 2 diabetic adult patients: CAT. *Medwave*, 13, 15(7), e6212. <https://doi.org/10.5867/medwave.2015.07.6212>.

- Pirzada, A.M., Anwar, T., Qureshi, W.A., Qureshi, H., Siddiqi, E.H., Zaman, W., & Soufan, W. 2024. Salinity stress mitigation in wheat through synergistic application of ascorbic acid, nanoparticles and *Salvadora oleoides* extract. *Scientific Reports*, 28,14(1), 30687. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39730357/>.
- Porra, R.J., Thompson, W.A., & Kriedmann, P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975, 384-394. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(89\)80347-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0).
- Juknys, R., Vitkauskaitė, G., Račaitė, M., Vencloviene, J. 2012. The impacts of heavy metals on oxidative stress and growth of spring barley. *Central European Journal of Biology*, 7, 299-306. <https://doi.org/10.2478/s11535-012-0012-9>
- Mohammadkhani, N., & Sharifi, P. 2016. Anti-oxidative response of different wheat genotypes to drought during anthesis. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 6 (4), 1845-1854. <https://doi.org/10.30495/ijpp.2016.532655>
- 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>.
- Shu, P., Li, Y., Li, Z., Sheng, J., & Shen, L. 2022. SIMAPK3 enhances tolerance to salt stress in tomato plants by scavenging ROS accumulation and up-regulating the expression of ethylene signaling related genes. *Environmental and Experimental Botany*, 193, 104698. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104698>
- Suzuki, H., Frank, G.D., Utsunomiya, H., Higuchi, S., & Eguchi, S. 2006. Current understanding of the mechanism and role of ROS in angiotensin II signal transduction. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 7(2), 81-86. <https://doi.org/10.2174/13892010677659766>.
- Wang, J., Chatzidimitriou, E., Wood, L., Hasanalieva, G., Markellou, E., Iversen, P.O., Seal, C., Baranski, M., Vigar, V., Ernst, L., Willson, A., Thapa, M., Barkla, B., Leifert, C., & Rempelos, L. 2020. Effect of wheat species (*Triticum aestivum* vs *T. spelta*), farming system (organic vs conventional) and flour type (whole grain vs white) on composition of wheat flour Results of a retail survey in the UK and Germany 2. Antioxidant activity, and phenolic and mineral content. *Food Chemistry*, 6(30): 91-101. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100091>.
- Xie, C., Yang, L., & Gai, Y. 2023. MAPKKs in plants: multidimensional regulators of plant growth and stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 4117. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104698>.
- Yao, Y., Zhao, H., Sun, L., Wu, W., Li, C., & Wu, Q. 2022. Genome-wide identification of MAPK gene family members in *Fagopyrum tataricum* and their expression during development and stress responses. *BMC Genomics*, 23(1), 96. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08293-2>