

The Effect of Ultraviolet-C radiation on Expression Pattern of some enzymes involved in the Programmed Cell Death of Bread Wheat

Zahra Shokrgozar¹, Sodابه Jahanbakhsh Godehkahriz^{2*}, Seyede Yalda Raeisi Sadati³

- 1- M.Sc. Graduate of Biotechnology of Agriculture, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
- 2- Professor, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of agriculture and natural resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
- 3- PhD. Plant Breeding (genetic molecular), Department of plant genetics and production engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Citation: Jahanbakhsh Godehkahriz, S., Shokrgozar, Z., & Raeisi Sadati, S. Y. (2022). The Effect of Ultraviolet-C radiation on Expression Pattern of some enzymes involved in the Programmed Cell Death of Bread Wheat. *Plant Productions*, 45(4), 589-601.

Abstract

Introduction

Wheat is one of the plants that is important in terms of diet and business, and the global demand for it is increasing. One of the harmful and dangerous stresses is ultraviolet light, which affects the growth and production of plants and leads to the production of reactive oxygen species, which are very toxic. The present study was evaluated in order to investigate the effect of C type ultraviolet light on seedlings of three varieties of wheat in order to identify the systems involved in transmitting the defense message of this plant from biochemical and molecular aspects.

Materials and Methods

The experiment was carried out in a factorial manner based on a completely randomized design with three replications at Mohaghegh University of Ardabil. The investigated factors included the first factor of Control and treatment with ultraviolet light (type C with a wavelength of 254 nm) and the second factor of wheat cultivars (Sardari, Morvarid, and Gaspard). Type C ultraviolet light stress was applied at the stage of three-four

* **Corresponding Author:** Sodابه Jahanbakhsh Godehkahriz

E-mail: jahanbakhsh@uma.ac.ir



leaves for 20 minutes and then sampling of the treated leaves at zero, 1, 2, 4, 6, 10, 18, 24 and 48 hours later. The treatment was done.

Results and Discussion

The results showed that the quantitative activity of peroxidases in Sardari and Gaspard cultivars was not significantly different in front of type C ultraviolet light, while in Morvarid cultivar, this enzyme increase had an upward trend from the very first hours. Also, the results of the qualitative examination of peroxidase enzymes against C type ultraviolet light showed the number of 5, 6 and 9 peroxidase isoenzymes in three of Sardari, Morvarid and Gaspard wheat cultivars. Qualitative analysis of catalase enzymes in Sardari and Gaspard cultivars identified 4 isoenzymes and 3 isoenzymes in Morvarid cultivar. On the other hand, in DNA electrophoresis, the effect of type C ultraviolet light on the DNA of three wheat cultivars showed that DNA breakage occurred in Sardari and Gaspard cultivars 48 hours after treatment compared to control samples and in Morvarid cultivar, from the first hours after treatment. Investigation the changes in expression of genes involved in metabolism such as hexokinase and plant defense such as PR1 in three wheat cultivars as a result of treatment with type C ultraviolet light shows that the expression changes of these two genes in Sardari and Gaspard cultivars follow almost the same pattern and 10 hours after From the treatment, they have shown a decrease in expression, but in Morvarid cultivar, the expression of HK and PR1 genes increased from the very first hours.

Conclusion

In general, the results show that the increase in the activity of peroxidase and catalase enzymes and changes in the expression of PR1 and HK genes in the path of transmission of ultraviolet light C type in three cultivars Sardari, Morvarid and Gaspard gives. DNA breakage along with other changes in wheat indicate the possibility of programmed cell death in wheat.

Keywords: Catalase, DNA breakage, Gene expression, Peroxidase, Programmed death, Type C ultraviolet light

تأثیر اشعه ماورای بنفش (UV-C) بر الگوی بیان برخی آنزیم‌های دخیل در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی گندم نان

زهرا شکرگزار^۱، سدابه جهانبخش گده کهریز^{۲*}، سیده یلدا رئیسی سادانی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دکتری اصلاح نباتات- ژنتیک مولکولی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

گندم از جمله گیاهانی است که از نظر رژیم غذایی و تجاری اهمیت دارد و تقاضای جهانی برای آن در حال افزایش است. یکی از تنش‌های مضر و خطرناک، نور ماورای بنفش می‌باشد که رشد و تولید گیاه را تحت تأثیر قرار داده و منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن، که بسیار سمی هستند، می‌شود. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر نور ماورای بنفش نوع C بر روی گیاهچه‌های سه رقم گندم جهت شناسایی سیستم‌های دخیل در انتقال پیام دفاعی این گیاه از جنبه بیوشیمیایی و مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیل اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل فاکتور اول شاهد و تیمار با نور ماورای بنفش (نوع C با طول موج ۲۵۴ نانومتر) و فاکتور دوم ارقام گندم، مروارید و گاسپارد) بودند. تنش نور ماورای بنفش نوع C در مرحله سه- چهار برگی، به مدت ۲۰ دقیقه اعمال گردید و سپس نمونه برداری از برگ‌های تیمار شده در زمان‌های صفر، ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۰، ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار انجام گرفت. نتایج نشان داد فعالیت کمی پراکسیدازها در ارقام سرداری و گاسپارد در مقابل نور ماورای بنفش نوع C تفاوت معنی‌داری نداشت، در صورتی که در رقم مروارید، این افزایش آنزیمی از همان ساعات اولیه، سیر صعودی داشت. همچنین نتایج بررسی کیفی آنزیم‌های پراکسیداز در مقابل نور ماورای بنفش نوع C به ترتیب تعداد ۵، ۶ و ۹ ایزوآنزیم پراکسیدازی را در سه رقم گندم سرداری، مروارید و گاسپارد نشان داد. بررسی کیفی آنزیم‌های کاتالازی در ارقام سرداری و گاسپارد، ۴ ایزوآنزیم و در رقم مروارید ۳ ایزوآنزیم را مشخص کرد. از طرف دیگر در الکتروفورز DNA، اثر نور ماورای بنفش نوع C روی DNA سه رقم گندم نشان داد که شکستگی DNA در ارقام سرداری و گاسپارد، ۴۸ ساعت پس از تیمار نسبت به شاهد و در رقم مروارید، از همان ساعات اولیه پس از تیمار رخ داده است. بررسی تغییرات بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم مانند هگزوکیناز و دفاع گیاهی مانند PR1 مانند در سه رقم گندم در اثر تیمار با نور ماورای بنفش نوع C می‌رساند که تغییرات بیان این دو ژن در ارقام سرداری و گاسپارد تقریباً از یک مدل پیروی می‌کنند و ۱۰ ساعت پس از تیمار کاهش بیان از خود نشان داده‌اند. اما در رقم مروارید، بیان دو ژن HK و PR1 از همان ساعات اولیه افزایش داشت. به‌طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیدازی و کاتالازی و تغییرات بیان ژن‌های PR1 و HK در مسیر انتقال پیام نور ماورای بنفش نوع C در سه رقم سرداری، مروارید و گاسپارد رخ می‌دهد. شکستگی DNA به همراه دیگر تغییرات در گندم نشان از احتمال وقوع مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در گندم است.

کلیدواژه‌ها: بیان ژن، پراکسیداز، شکستگی DNA، کاتالاز، مرگ برنامه‌ریزی شده، نور ماورای بنفش نوع C

* نویسنده مسنول: سدابه جهانبخش گده کهریز
رایانامه: jahanbakhsh@uma.ac.ir



مقدمه

گندم از جمله گیاهانی است که به طور گسترده‌ای در سراسر جهان به خصوص در کشورهای در حال توسعه مورد کشت و کار قرار گرفته و یک پنجم از کالری مورد نیاز انسان را فراهم می‌نماید (Beasley et al., 2019). تنش‌های زنده و غیرزنده، اغلب منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که شامل رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسید (OH^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است. این مولکول‌ها در برخی از فرآیندها مانند رشد، چرخه سلولی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده شرکت می‌کنند. گونه‌های فعال اکسیژن، به پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA آسیب می‌رسانند و در نهایت، تولید تنش اکسیداتیو می‌کنند (Singh and Gill, 2010). مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، یک فرآیند فعال سلولی است که در طول نمو گیاهان و در پاسخ به تنش‌های محیطی از جمله ماورای بنفش و تنش‌های اکسیداتیو رخ می‌دهد (Breusegem and Dat, 2006). یکی از عوامل غیر زنده مهم، تابش نور ماورای بنفش است که ایجاد شکستگی در DNA سلول‌های گیاهی می‌کند که خود نشانه‌ای از مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است (Piri et al., 2011). در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، DNA به دلیل یک اندونوکلاز به نام CAD¹ با آنزیم کاسپاز فعال می‌شود (De Pinto et al., 2012). نور UV به خصوص نور ماورای بنفش نوع C منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که به غشای سلولی، پروتئین‌ها و DNA آسیب می‌رساند (Piri et al., 2011). استفاده از مواد جهش‌زای فیزیکی و شیمیایی باعث ایجاد واریته‌های مقاوم به انواع بیماری، مقاوم به شرایط نامطلوب محیطی و حتی سبب بروز خصوصیات جدید در تولیدات کشاورزی در نقاط مختلف جهان شده است (Saeiaahagh et al., 2020). محققان دریافته‌اند که تیمار اشعه ماورای بنفش نوع C با حفظ اسیدهای آلی در سیب باعث تثبیت pH شده، اما تأثیر این تیمار به نوع میوه بستگی دارد (Jalili Marandi et al., 2012). اشعه ماوراء بنفش موجب آسیب رساندن به ساختارهای اصلی بیوشیمیایی بافت‌های گیاهی می‌شود، این اثر در ژنوتیپ‌های حساس مهم است (Kurdziel et al., 2018). اشعه UV-C نسبت به بقیه اشعه‌های فرابنفش پرنرژی‌تر است و ممکن است صدماتی را به غشاهای سلولی وارد کند (Rasaei et al., 2018). زمانی که گیاهان تحت تأثیر تابش‌های کیهانی قرار می‌گیرند به علت آسیب دیدگی DNA، رشد غیر طبیعی در گیاه مشهود است. به طور کل این نمونه تشعشعات تأثیر مخربی بر رشد گیاهان دارند و کاهش رشد آن‌ها را منجر می‌شوند (Narici and Casolino, 2015). در

گیاهان، شکستگی DNA در موقعیت‌های مختلفی از نمو شامل مرگ لایه آلورون تک لپه‌ای‌ها و آندوسپرم، پیری گلبرگ و در طول نمو بساک همانند مرگ القا شده با تنش‌هایی مثل شوری، سرما، تابش نور ماورای بنفش و غیره گزارش شده است (Wang et al., 1996; Young et al., 1997; Wang and Wang, 1999). درک و فهم پاسخ گیاهان به تنش‌های مختلف یا سایر عوامل محدود کننده عملکرد، کاملاً ضروری است. بخش مهمی از توسعه کشاورزی و افزایش تولید مرهون کشت ارقام پر محصول اصلاح شده در بسیاری از محصولات زراعی از جمله گندم است که غالباً ساختار ژنتیکی مشابه دارند (Van de Wouw et al., 2011). گیاهان دارای ساز و کارهای ضد اکسیداسیونی در جهت کاهش اثر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. سیستم‌های دفاعی گیاهان در برابر گروه‌های فعال اکسیژن شامل آنزیم‌هایی است که قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و واسطه‌های دارای اکسیژن هستند. آنزیم‌هایی مثل پراکسیداز (POD)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) هستند که به صورت ایزوفرم‌های مختلف در یاخته‌ها ظاهر می‌شوند و این گروه‌های فعال اکسیژن را روبش می‌کنند (Mathé et al., 2010). گیاهان برای به حداقل رساندن آسیب ترکیبات مضر گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های تنظیمی را برای سازگاری در برابر تنش‌های مختلف محیطی درگیر می‌کنند و نیز گیاهان متحمل در مقایسه با گیاهان حساس دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری می‌باشند (Abedini and Hassani-Daei, 2015). ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری *E. coli* کشف شد (Ahsani et al., 2019a). بیان ژن‌های یوکاریوتی تحت کنترل موقت و چندبعدی می‌باشد (Masoudzadeh et al., 2020). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است (Ahsani et al., 2019b). همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (Mohammadabadi, 2021). یکی از اقدامات اساسی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات اقتصادی و مطالعه آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Jafari Darehdor et al., 2016). هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثرات نور ماورای بنفش نوع C روی گیاهچه‌های گیاه گندم جهت شناسایی سیستم‌های دخیل در انتقال پیام دفاعی این گیاه استراتژیک است. بدین منظور علاوه بر بررسی اثر آن روی DNA، از جنبه بیوشیمیایی نیز اثر آن به کمک بررسی بیان و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با دفاع مانند پراکسیداز و کاتالاز مورد ارزیابی قرار گرفته است.

¹ CysteinyI aspartate-specific proteinase (caspase) - activated DNase

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۰ اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل فاکتور اول شاهد، کنترل و تیمار با نور ماورای بنفش (نوع C با طول موج ۲۵۴ نانومتر) و فاکتور دوم ارقام گندم (سرداری، مروارید و گاسپارد) بودند. بذور تهیه شده از مرکز تحقیقات مغان، بعد از ضد عفونی در گلخانه به تعداد ۵ عدد بذر از هر رقم درون گلدان‌های پلاستیکی کوچک به قطر ۵ سانتی‌متر که حاوی مخلوط ۵۰ درصد پیت‌ماس، ۳۰ درصد کود دامی، ۱۰ درصد ماسه، ۵ درصد پرلیت و ۵ درصد خاک برگ سترون شده در اتوکلاو بود، کشت شدند و در گلخانه با رطوبت ۷۰ و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تنش نور ماورای بنفش نوع C در مرحله سه-چهار برگی، به مدت ۲۰ دقیقه اعمال گردید (Pombo et al., 2011). سپس نمونه برداری از برگ‌های شاهد و تیمار شده در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۰، ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار انجام گرفت. نمونه‌ها در ازت مایع پودر شده و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز با استفاده از روش کار و میشراندازه‌گیری شد (Kar and Mishra, 1976). ابتدا مخلوط ۳ میلی‌لیتر محلول پیروگالل ۰/۰۵ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره نمونه آنزیمی به دو کوت (Cuvette) اضافه شدند و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Smart Spec Plus شرکت سازنده Bio-RAD، آلمان) با استفاده از این محلول، صفر شد. سپس در طول موج ۴۳۰ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت ویژه آنزیم بر اساس میکرومول پیروگالل مصرف شده در میلی‌گرم پروتئین محلول استخراجی از گندم در دقیقه محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری کاتالاز به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر تریس HCl (۵۰ میلی‌مولار pH=۷/۵)، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن اضافه شد. سپس ۶۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد و در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

برای انجام الکتروفورز پروتئین‌ها (ایزوزایم‌های پراکسیداز و کاتالاز) (Native PAGE) از روش Hames and Rickwood (1999) استفاده شد. بدین ترتیب که یک ژل با غلظت متراکم‌کننده ۸ درصد و جداکننده ۱۰ درصد تهیه شد. آن‌گاه پس از ریختن ۲۵ میکروگرم پروتئین از هر نمونه به داخل چاهک‌ها، الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

برای رنگ‌آمیزی و ظهور ایزوزایم‌های پراکسیداز، پس از خارج کردن ژل الکتروفورز طبیعی پروتئین‌ها از بین صفحات

شیشه‌ای و چندین بار شستشو با آب مقطر، به‌طور هم‌زمان پراکسید هیدروژن ۳ درصد و محلول بنزیدین ۰/۰۴ مولار روی ژل ریخته شد. پس از حدود نیم ساعت، باندهای قهوه‌ای در زمینه سفید ژل دیده شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Anderson et al. (1995) استفاده شد. پس از خارج کردن ژل الکتروفورز طبیعی پروتئین‌ها از بین صفحات شیشه‌ای و چندین بار شستشو با آب مقطر، محلول پراکسید هیدروژن ۳ درصد اضافه شد و به مدت ۲۵ دقیقه روی شیکر و به دور از نور قرار گرفت. در نهایت، بعد از چندین بار شستشو با آب مقطر، محلول پتاسیم فری‌سیانید و فریک کلراید یک درصد به ژل اضافه شد که پس از ۱۰ دقیقه باندهای زرد رنگ در زمینه سبز تیره ژل قابل رویت شد.

جهت استخراج DNA از روش تغییر یافته Dellaporta et al. (1983) استفاده شد. ابتدا به نمونه‌های پودر شده در نیتروژن مایع، سه حجم از بافر لیز سلولی و ۱۰ درصد سدیم دو سولفات (SDS) اضافه شد. سپس نمونه‌ها به آرامی هم‌زده شد و در حمام آب با حرارت ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفتند. آن‌گاه، نمونه‌ها در ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس مخلوط کلروفرم و ایزوآمیل‌الکل به نسبت ۱:۲۴ اضافه شد. پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها، رسوب حاصل در دمای اتاق، خشک و در آب دیونیزه سترون حل شدند. سپس غلظت و کیفیت نمونه‌ها به ترتیب از طریق خواندن جذب در ۲۶۰ نانومتر و الکتروفورز بر روی ژل ۱ درصد آگارز در بافر تانک TBE با ولتاژ ۲۱ تعیین شدند.

استخراج RNA و RT-PCR به‌منظور استخراج RNA، از کیت استخراج خریداری شده از شرکت سیناکلون استفاده و طبق روش پیشنهادی آن شرکت، استخراج انجام شد. ابتدا یک میلی‌لیتر از محلول کیت به نمونه‌های کنترل و تیمار اضافه و به‌طور کامل هم‌وزن و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس، به هر نمونه معادل ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه و به شدت تکان داده شد. آن‌گاه، بر روی یخ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و پس از آن نمونه‌ها در 11000g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و محلول رویی به تیوب‌های RNase-free انتقال یافت و هم حجم مایع، ایزوپروپانول سرد اضافه شد تا RNA رسوب کند. سپس، به آرامی هم زده و روی یخ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. نمونه‌ها در 11000g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. آن‌گاه، رسوب RNA با اتانول ۷۵ درصد شستشو و پس از خشک شدن در آب مقطر

شده در انجام واکنش PCR با توالی ۵' GCTTTCAACAACCTTCTCAG و طول نوکلئوتیدی ۲۰ و دمای ذوب ۵۵/۳ درجه سانتی‌گراد و هم‌چنین آغازگر معکوس با توالی ۵' GGGGCGTAGGAGGAAAGCA و طول نوکلئوتیدی ۱۹ و دمای ذوب ۶۱ درجه سانتی‌گراد بودند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

مطابق جدول تجزیه واریانس، اثر متقابل تیمار × رقم بر میزان فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز و نیز اثرات ساده ارقام گندم و زمان اعمال تیمار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بررسی فعالیت کمی آنزیم پراکسیداز در ارقام سرداری، مروارید و گاسپارد گندم در تیمار با نور UV-C نشان داد که آنزیم پراکسیداز در نمونه‌های شش ساعت پس از تیمار رقم سرداری نسبت به نمونه‌های کنترل بیشترین فعالیت (۰/۰۳۷۷ میکرومول بر میلی-گرم بر دقیقه) را داشت. در رقم مروارید از یک ساعت تا شش ساعت پس از تیمار، فعالیت پراکسیدازها در نمونه‌های تیمار نسبت به

حاوی DEPC^۲ حل و کیفیت نمونه‌ها با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفتند. پس از بررسی کیفیت RNA و تعیین غلظت آن، به مقدار مساوی از نمونه‌ها برداشته شد و با استفاده از کیت ساخت cDNA از شرکت ویوانتیس، RT-PCR انجام شد. بدین صورت که ۵ میکروگرم از هر نمونه با یک میکرولیتر از اولیگو- dT و یک میکرولیتر از مخلوط 10 dNTP میلی‌مولار با آب به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. آنگاه، نمونه‌ها در ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند و پس از ۲ دقیقه ماندن روی یخ، سانتریفیوژ شدند. سپس ۲ میکرولیتر از بافر واکنش ۱۰ برابر و ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم (M-MULV Reverse Transcriptase) به نمونه‌ها اضافه و سانتریفیوژ شدند. آنگاه، به ترتیب به مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۵ دقیقه در ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از ساخت cDNA، واکنش PCR بر روی نمونه‌ها مطابق جدول ۱ انجام گرفت. اجزای واکنش با هم مخلوط و با استفاده از دستگاه (PCR مدل BioRad)، واکنش به تعداد ۳۳ چرخه به منظور تکثیر قطعه موردنظر انجام شد. پس از انجام واکنش PCR، ۸ میکرولیتر از محصولات واکنش بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد به همراه استاندارد DNA الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفتند.

آغازگرهای اختصاصی طراحی شده با برنامه Oligo بر اساس ژنوم گندم برای ژن tub β (توبولین): آغازگر رو به جلو استفاده

Table 1. The type and volume of compounds for each cycle of PCR reaction

volume of compound (μ l)	name of compound
1.5	cDNA
0.5	dNTP
2	Buffer 10X
1	Forward
1	Reverse
0.5	Taq Polymerase
18.5	Water

Table 2. Analysis of variance of the effect of ultraviolet light (type C) on the specific activity of enzymes (Catalase and Peroxidase) in wheat cultivars

SOV	df	Mean Square	
		Peroxidase enzyme	Catalase enzyme
Wheat cultivar (A)	2	0.00032**	0.000175**
Treatment (B)	5	0.00019**	0.0000075 ^{ns}
A × B	16	0.000002**	0.0000007 ^{ns}
Error	54	0.000024	0.0000089
C.V. (%)	-	28.6	20.3

** Significant at 1 probability level, respectively.

² Diethyl pyrocarbonate

Table 3. Mean comparisons of quantity activity of peroxidase enzyme in wheat cultivars under UV-C treatment

Wheat cultivars	Treat time (hr)	Activity of peroxidase enzyme ($\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$)	
		Control	Treat
Sardari	0	0.0147	0.0147
	1	0.0139	0.0268
	2	0.0149	0.0157
	4	0.0165	0.0108
	6	0.0170	0.0377
Morvarid	0	0.0100	0.0100
	1	0.0104	0.0141
	2	0.0110	0.0152
	4	0.0115	0.0172
	6	0.0120	0.0210
Gaspard	0	0.0170	0.0170
	1	0.0173	0.0236
	2	0.0177	0.0243
	4	0.0180	0.0166
	6	0.0185	0.0248

همانطور که ملاحظه می‌شود در الگوهای الکتروفوری شاهد و تیماری رقم سرداری گندم، ایزوآنزیم‌هایی با وزن زیاد در بالا و با وزن متوسط در وسط ژل از یکدیگر جدا شده‌اند (شکل ۱ و ۲)، نه ایزوآنزیم در رقم سرداری تشخیص داده شد که شش ایزوآنزیم در قسمت بالا و سه ایزوآنزیم در وسط ژل بودند و در هر یک از شاهد در مقایسه با تیمار در هر زمان افزایش بیان ملاحظه شد. در همه نمونه‌ها، باندهای ایزوآنزیمی یک تا پنج در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد بیان بیشتری داشتند. به عبارت دیگر، فعالیت آنزیم‌ها در باندهای ایزوآنزیمی پراکسیدازها در نمونه‌های تیماری نسبت به شاهد افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. در رقم مروارید شش ایزوآنزیم دیده شد که پنج ایزوآنزیم در بالا و یک ایزوآنزیم در وسط ژل قرار گرفته‌اند. شدت بیان باند اولیه در نمونه‌های تیماری بیشتر از شاهد بود. باند دوم در زمان‌های یک و دو ساعت پس از تیمار شدت بیان بیشتری نسبت به شاهد در این ساعات داشت. اما در زمان‌های چهار و شش ساعت تغییر چندانی دیده نشد. باند سوم در ساعات یک، دو و چهار بیان بیشتری در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد نشان دادند و پس از شش ساعت تغییر کمی در بیان دیده شد. شدت بیان باند چهارم در یک ساعت پس از تیمار، در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد زیاد بود و در ساعات دیگر شدت بیان باند کاهش یافت. باند پنجم در تمام ساعات، بیان بیشتری داشت اما یک ساعت پس از تیمار، شدت بیان باند بیشتر از زمان‌های دیگر بود.

شاهد روند صعودی داشت. به طوری که، افزایش فعالیت دو برابری آنزیم پراکسیداز (0.210 میکرومول بر میلی‌گرم بر دقیقه) در شش ساعت پس از تیمار با اشعه UV-C نسبت به شاهد (0.100 میکرومول بر میلی‌گرم بر دقیقه) ملاحظه شد. در نمونه‌های رقم گاسپارد با این که همه تیمارها نسبت به کنترل افزایش فعالیت آنزیم را نشان دادند، اما نمونه‌های دو و شش ساعت پس از تیمار، از افزایش بیشتری برخوردار بودند (جدول ۳).

Mahdavian (2016) گزارش کرد پرتوهای UV-B و UV-C باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌چه‌های فلفل شد، که با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با افزایش فعالیت آنزیمی پراکسیداز در ارقام گاسپارد و سرداری مطابقت داشت. تعیین فعالیت کمی و کیفی آنزیم‌های پراکسیدازی به عنوان یک آنزیم مهم در حذف پراکسید هیدروژن نشان می‌دهد که در ارقام سرداری، مروارید و گاسپارد فعالیت آنزیم به ترتیب پس از چهار و شش ساعت فعالیت آنزیم سیر صعودی داشته است. بنابراین بررسی اثر نور ماورای بنفش نوع C در پاسخ دفاعی گیاه سبب روشن شدن مسیرهای بیوشیمیایی و مولکولی دفاع می‌شود. تأثیر اشعه UV-B در رشد، خصوصیات بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده، با افزایش شدت نور، میزان پرولین و گونه‌های اکسیژن فعال افزایش می‌یابد که منجر به مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی در برابر اشعه می‌گردد (Parlak et al., 2016).

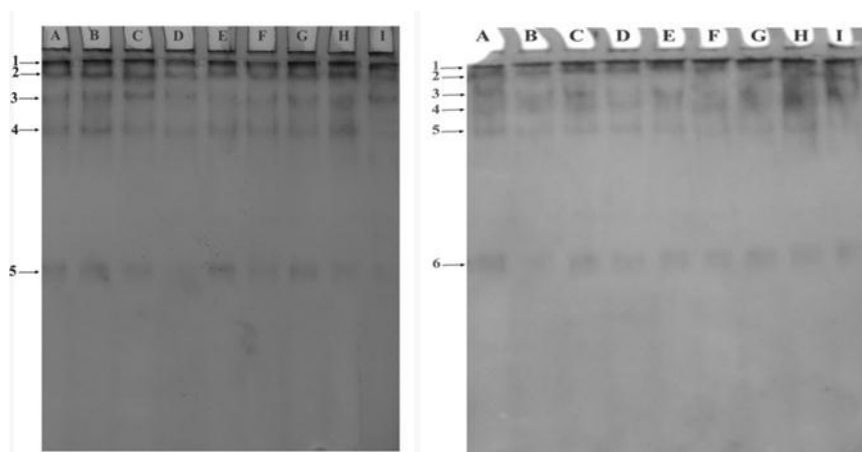


Figure 1. Qualitative activity gel of peroxidases in wheat Sardari seedlings (right) and Morvarid varieties (left) with UV-C. A (zero hour control), B (control wheat plant after one hour), C (one hour after treatment), D (control wheat plant after two hours), E (two hours after treatment), F (plant Control wheat after four hours), G (four hours after treatment), H (control wheat plant after six hours) and I (six hours after treatment)

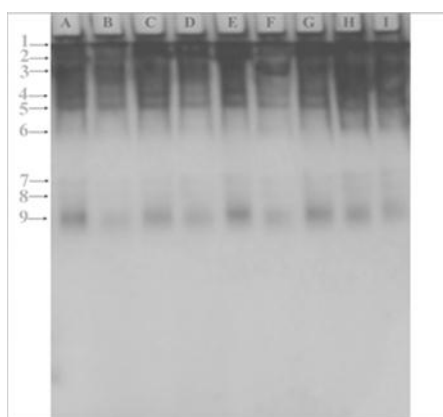


Figure 2. Peroxidase Activity Gel in Cultured Gaspard Seedlings of Cultured UV-C. A (zero hour control), B (control wheat plant after one hour), C (one hour after treatment), D (control wheat plant after two hours), E (two hours after treatment), F (plant Control wheat after four hours), G (four hours after treatment), H (control wheat plant after six hours) and I (six hours after treatment)

آنزیمی در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳). در رقم مروارید ۳ ایزوآنزیم که در همه زمان‌ها به جز شش ساعت، نمونه‌های تیماری فعالیت کمتری نسبت به شاهد نشان دادند. در رقم گاسپارد چهار ایزوآنزیم دیده شد که در زمان‌های چهار و شش ساعت، فعالیت در نمونه‌های تیماری نسبت به شاهد زیاد شده بود (شکل ۴). این نتایج نشان داد که ارقام سرداری و گاسپارد، تعداد ایزوآنزیم‌های مساوی و بیشتری در مقایسه با مروارید دارند. نتایج تعیین کیفی آنزیمی نشان می‌دهد که بیشترین ایزوآنزیم‌های دخیل در حذف پراکسید هیدروژن، در رقم سرداری است، البته در تمام ارقام مذکور ایزوآنزیم‌ها در دو قسمت ژل قرار گرفته‌اند که مربوط به وزن مولکولی آن‌ها است. در رقم سرداری نه ایزوآنزیم از هم تفکیک شده‌اند که در تمام نمونه‌ها شدت بیان باندهای نمونه‌های تیمار بیشتر از شاهد بود.

در رقم گاسپارد، ۵ ایزوآنزیم دیده شد که ۴ ایزوآنزیم در بالا و ۱ ایزوآنزیم در وسط ژل از هم جدا شدند (شکل ۲). باند اول و دوم که در بالای ژل قرار گرفتند در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد به غیر از تیمار پس از شش ساعت، افزایش بیان داشتند. باند سوم در نمونه‌های تیمار پس از زمان‌های یک و چهار ساعت از تیمار نسبت به شاهد فعالیت بیشتری از خود نشان دادند و در زمان‌های دیگر تغییر چندانی نکردند. باند چهارم در نمونه‌های تیمار پس از زمان‌های یک و شش ساعت از تیمار کم‌رنگ‌تر از شاهد بودند. در حالی که در زمان دو و چهار ساعت نسبت به شاهد افزایش فعالیت از خود نشان دادند. باند پنجم در وسط ژل در نمونه‌های تیمار پس از یک و چهار ساعت از تیمار بیان بیشتری نسبت به شاهد داشت. بررسی فعالیت کیفی آنزیم کاتالاز ارقام سرداری، مروارید و گاسپارد گندم در تیمار با نور ماورا بنفش نوع C: چهار ایزوآنزیم در رقم سرداری مشاهده شد که به‌طور کلی در تمام نمونه‌ها فعالیت

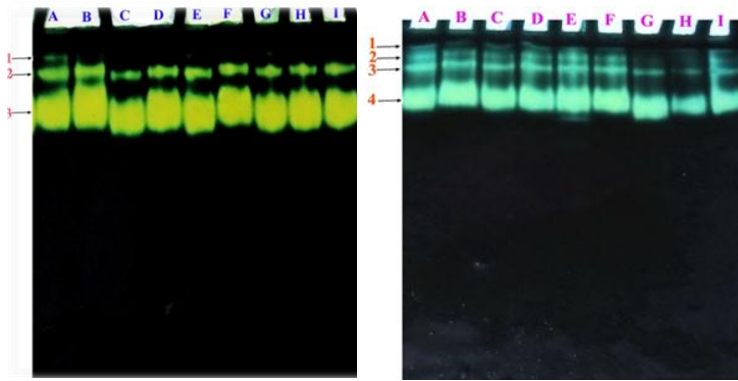


Figure 3. Catalase enzyme activity gel in Sardari cultivars (right) and Morvarid (left) cultivar in UV-C treatment. A (zero hour control), B (control wheat plant after one hour), C (one hour after treatment), D (control wheat plant after two hours), E (two hours after treatment), F (plant Control wheat after four hours), G (four hours after treatment), H (control wheat plant after six hours) and I (six hours after treatment)

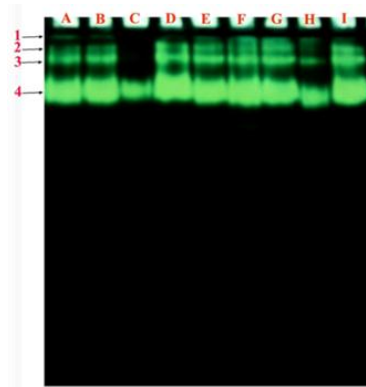


Figure 4. Catalase enzyme gel activity in wheat Gaspard seedlings in UV-C treatment. A (zero hour control), B (control wheat plant after one hour), C (one hour after treatment), D (control wheat plant after two hours), E (two hours after treatment), F (plant Control wheat after four hours), G (four hours after treatment), H (control wheat plant after six hours) and I (six hours after treatment)

شاهد هستند، در حالی که در زمان دو و چهار ساعت نسبت به شاهد قوی تر هستند. باند پنجم در پائین ژل، در یک و چهار ساعت پس از نمونه‌های تیمار شدت بیان بیشتری نسبت به شاهد خود دارند. نتایج حاصل از فعالیت کیفی آنزیم‌های پراکسیدازی در ارقام ذکر شده گندم مشخص کرد که رقم سرداری با توجه به تعداد ایزوآنزیم‌های پراکسیدازی بیشتر، در جهت حذف پراکسید هیدروژن تولید شده در اثر ماورای بنفش نوع C فعالیت پراکسیدازی بیشتری نسبت به دو رقم دیگر دارد. افزایش فعالیت پراکسیدازها در اثر نور ماورای بنفش نوع C در فلفل (Mahdavian et al., 2016)، برنج و گندم (Chawla et al., 2013; Abedini and Daei-Hassani, 2015) مشاهده شده است که با نتایج این پژوهش منطبق است. همچنین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز از نظر کیفی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که ارقام سرداری و گاسپارد تعداد ایزوآنزیم مساوی و بیشتر از رقم مروارید دارند. این موضوع نشان دهنده فعالیت بیشتر این آنزیم در این دو رقم است. با مطالعه روی گیاهان *Capsicum annuum* L. و گندم نشان داده شده که

در رقم مروارید شش ایزوآنزیم دیده شد که شدت بیان باند یک در نمونه‌های تیمار بیشتر از شاهد بود اما باند دوم در دو و چهار ساعت پس از نمونه‌های تیمار شدت بیان بیشتری نسبت به کنترل داشت که باند سوم در ساعات یک، دو و چهار شدت بیان بالایی در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد نشان داد و در ساعت شش تغییر بیان کمی دیده شد. شدت بیان باند چهارم در یک ساعت پس از نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد زیاد بود و در ساعات دیگر شدت بیان باند کاهش یافته و باند پنجم در تمام ساعات شدت بیان داشت اما در یک ساعت پس از نمونه‌های تیمار شدت بیان باند بیشتر از زمان‌های دیگر بود. پنج ایزوآنزیم پراکسیدازی در گاسپارد دیده شد که باند اول و دوم که در بالای ژل قرار گرفته‌اند در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد به غیر از نمونه‌های تیمار پس از شش ساعت، شدت بیان یافته‌اند. باند سوم که در وسط ژل دیده می‌شود، در زمان‌های یک و چهار نسبت به شاهد قوی تر هستند و در زمان‌های دیگر تغییر چندانی نکرده‌اند. باند چهارم در زمان‌های یک و شش ساعت کم‌رنگ‌تر از

افزایش یافت. در رقم گاسپارد در هر دو زمان ۴ و ۱۰ ساعت پس از تیمار، بیان ژن هگزوکیناز در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد کاهش یافت. با این تفاوت که در زمان ۴ ساعت، این کاهش بیان خیلی کمتر از کاهش بیان در زمان ۱۰ ساعت بود (شکل ۶).

تا به حال مشخص شده است که در اثر نور ماورای بنفش نوع C، سلول‌ها تغییراتی را از نظر سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داده‌اند که احتمالاً آن‌ها را به سمت مرگ سلولی می‌برد که نتایج حاصل از وقوع شکستگی در DNA این مطلب را تأیید می‌کند. این نتایج، وقوع شکستگی در DNA را در برخی زمان‌ها نشان می‌دهد. همان‌طور که ذکر شد مرگ سلولی از پاسخ‌های دفاعی سلول‌های گیاهی در مقابل تنش‌های زنده و غیر زنده است. از ابتدای در معرض قرار گرفتن گیاه در مقابل عوامل مذکور تا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، یکسری واکنش‌های بیوشیمیایی آبشاری رخ می‌دهد که از آن جمله می‌توان شکست DNA را نام برد. نتایج الکتروفورز ژل آگارز نشان می‌دهد که در رقم مروارید شش ساعت پس از تیمار با نور ماورای بنفش نوع C، DNA دچار شکستگی شده اما در رقم گاسپارد پس از ۴۸ ساعت، این حالت دیده می‌شود.

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به خصوص پراکسیدازها و کاتالاز می‌تواند اثرهای نور ماورای بنفش را به حداقل برساند (Mahdavian et al., 2016) که با توجه به افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیدازی و کاتالاز در برخی زمان‌های پس از نمونه‌های تیمار ارقام مذکور گندم می‌توان گفت که اثرهای نور ماورای بنفش در این زمان‌ها کاهش یافته است.

شکستگی DNA در ارقام مختلف گندم تیمار با نور ماورای بنفش نوع C نشان داد که در رقم سرداری، شکستگی DNA در زمان ۴۸ ساعت با شدت بیشتری رخ داد. اما در زمان‌های ۶، ۱۸ و ۲۴ ساعت شدت شکستگی در DNA خیلی کم و نسبت به شاهد سالم‌تر بود (شکل ۵). در رقم مروارید، در زمان‌های ۶، ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار شکستگی دیده شد. به طوری که در شش ساعت پس از تیمار شدت شکستگی کم و به ترتیب این شکستگی در نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت. از طرف دیگر، این شکستگی در ۴۸ ساعت بیشترین مقدار را داشت، اما در رقم گاسپارد، تا ۲۴ ساعت پس از تیمار، نمونه‌های تیمار نسبت به شاهد شکست کمتری از خود نشان دادند تا این که پس از ۴۸ ساعت شکستگی در DNA مانند رقم سرداری و مروارید در ۴۸ ساعت

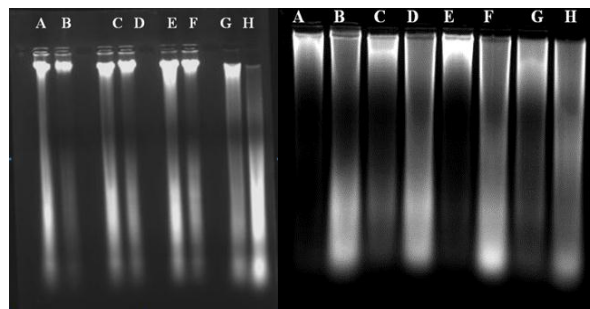


Figure 5. Effect of UV-C on DNA fracture of wheat Sardari (right) and Mrvarid (left). A (zero hour control), B (control wheat plant after one hour), C (one hour after treatment), D (control wheat plant after two hours), E (two hours after treatment), F (plant Control wheat after four hours), G (four hours after treatment), H (control wheat plant after six hours) and I (six hours after treatment)

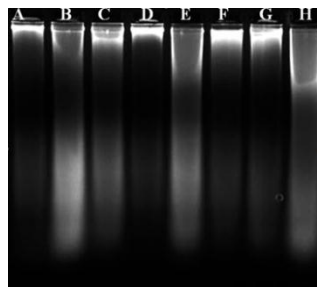


Figure 6. Effect of UV-C on DNA fracture of wheat Gaspard seedlings. A (zero hour control), B (control wheat plant after one hour), C (one hour after treatment), D (control wheat plant after two hours), E (two hours after treatment), F (plant Control wheat after four hours), G (four hours after treatment), H (control wheat plant after six hours) and I (six hours after treatment)

این که در سالیان اخیر ایران از نظر تولید گندم به خودکفایی رسیده و کاهش لایه استراتوسفر اوزون به دلیل رها شدن کلروفلوئوروکربن آنتروپوژنیک و دیگر آلاینده‌ها منجر به افزایش مقادیر نور ماورای بنفش به سطح زمین می‌شود، با جستجو در عملکرد اثر نور UV-C در گیاه گندم می‌توان با برنامه‌ریزی‌های دقیقی سبب ایجاد و تقویت مقاومت شده و مقدار محصول سالم مورد نظر را افزایش دهیم و با احتیاط در عدم استفاده از ترکیبات حاوی هالوژن و مواد عاری از اوزون بکوشیم تا از تقلیل رفتن لایه استراتوسفر جلوگیری کنیم.

سپاس‌گزاری

از مرکز تحقیقات کشاورزی مغان که بذور ژنوتیپ‌های مورد مطالعه این تحقیق را فراهم نمودند و از تمامی عزیزانی که نگارندگان مقاله را در انجام این امر یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

در رقم سرداری، شکستگی DNA در ۴۸ ساعت با شدت بیشتری رخ داده است اما در زمان‌های ۶، ۱۸ و ۲۴ ساعت، شدت شکستگی در DNA خیلی کم است و نسبت به شاهد سالم‌تر است. بنابراین می‌توان گفت گیاهچه‌های گندم در سه رقم با کمی تغییر در عملکرد زمانی، در اثر نور ماورای بنفش نوع C وارد مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شوند.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در پژوهش حاضر، تحت تأثیر نور ماورای بنفش نوع C فعالیت آنزیم‌های پراکسیدازی و کاتالاز در ارقام سرداری و گاسپارد سیر صعودی داشته است. همچنین شکستگی DNA در ارقام سرداری و گاسپارد ۴۸ ساعت پس از تیمار نسبت به کنترل و در رقم مروارید، از همان ساعات اولیه پس از تیمار رخ داده است. بنابراین ارقام سرداری و گاسپارد به شکستگی DNA متحمل‌تر بودند. در رقم گاسپارد بیان ژن هگزوکیناز در نمونه‌های تیماری نسبت به شاهد کاهش یافت. با توجه به

References

- Abedini, M., & Daie-Hassani, B. (2015). Salicylic acid affects wheat cultivars antioxidant system under saline and nonsaline condition. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62, 604-610. [In Persian]
- Ahsani, M. R., Mohammadabadi, M. R., & Asadi Fozzi, M. (2019a). Effect of Roasted Soybean and Canola Seeds on Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Gamma (PPARG) Gene Expression and Cattle Milk Characteristics. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 9, 635-642. [In Persian]
- Ahsani, M. R., Mohammadabadi, M. R., & Asadi Fozzi, M. (2019b). Leptin gene expression in subcutaneous adipose tissue of Holstein dairy cattle using Real Time PCR. *Agricultural Biotechnology Journal*, 11, 135-150. [In Persian]
- Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isoenzyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiology*, 4, 1247-1257.
- Breusegem, F. V., & Dat, J. F. (2006). Reactive Oxygen Species in Plant Cell Death. *Plant Physiology*, 141, 384-390.
- Beasley, J. T., Bonneau, J. P., Sánchez-Palacios, J. T., Moreno-Moyano, L. T., Callahan, D. L., Tako, E., Glahn, R. P., Lombi, E., & Johnson, A. T. (2019). Metabolic engineering of bread wheat improves grain iron concentration and bioavailability. *Plant Biotechnology Journal*, 17(8), 1514-1526.
- Chawla, J., Zhu, C., Li, L., Sun, Z., & Pan, X. (2013). Effects of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. *Journal of Environmental Sciences*, 191, 44-49.
- De pinto, M. C., Locato, V., & De gara, L. (2012). Redox regulation in plant programmed cell death. *Plant, Cell and Environment*, 35, 234-244.
- Dellaporta, S. L., Wood, J., & Hicks, J. B. (1983). A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, 19-21.
- Fathi amirkhiz, K., Amini Dehaghi, M., Sanavi Modarres, S. A. M., & Heshmati, S. (2011). The Effects of Soil and Foliar Application of Fe on some Biochemical Characteristics of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Two Irrigation Regimes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 42, 509-518. [In Persian]
- Hames, B. D., & Rickwood, D. (1999). Gel electrophoresis of protein, a practical approach. Oxford University Press. Pp, 1-138.

- Jafari Darehdor, A. H., Mohammadabadi, M. R., Esmailizadeh Kashkoueieh, A., & Riahi Madvar, A. (2016). Investigating expression of *CIB4* gene in different tissues of Kermani Sheep using Real Time qPCR. *Journal of Ruminant Research*, 4(4), 119-132. [In Persian]
- Jalili Marandi, R., Naseri, L., Haji Taghilo, R., & Korsandi, A. (2012). Effect of UV-C Irradiation on Fruit Quality and Storage Life of Two Apple Cultivars. *Journal of plant productions*, 35(2), 53-63. [In Persian]
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
- Kurdziel, M., Filek, M., & Łabanowska, M. (2018). The impact of short-term UV irradiation on grains of sensitive and tolerant cereal genotypes studied by EPR. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 2607-2616.
- Levin, A., Tenhaken, R., & Dixon, R. (1994). H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 79, 583-593.
- Mahdavian, K. (2016). The effect of different bands of ultraviolet radiation on some growth characters and biochemical changes in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling. *Journal of Plant Process and Function Journal Iranian Society of Plant Physiology*, 23 (7), 219-233. [In Persian]
- Masoudzadeh, S. H., Mohammadabadi, M., & Khezri, A. (2020). Effects of diets with different levels of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder on *DLK1* gene expression in brain, adipose tissue, femur muscle and rumen of Kermani lambs. *Small Ruminant Research*, 193, e106276.
- Mohammadabadi, M. (2021). Tissue-specific mRNA expression profile of *ESR2* gene in goat. *Agricultural Biotechnology Journal*, 12(4), 167-181. [In Persian]
- Mathé, C., Barre, A., & Jourda, C. (2010). Evolution and expression of class III peroxidases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 500(1), 58-65.
- Narici, L., & Casolino, M. (2015). "Radiation survey in the International Space Station". *Journal of Space Weather and Space Climate*, 5, 2-14.
- Parlak, K. U. (2016). Differential response of growth, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes to UV-B radiation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin*, Pp, 4192.
- Piri, E., Babaeian, M., & Tavassoli, A. (2011). Effects of UV irradiation on plants. *African Journal of Microbiology Research*, 5, 1710-1716.
- Pombo, M. A., Dotto, M. C., Martínez, G. A., & Civello, P. M. (2011). UV-C treatment affects the expression and activity of defense genes in strawberry fruit (*Fragaria × ananassa*, Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, 59(1), 94-102.
- Rasaei, B., Jalali-Honarmand, S., Ghobadi, M., & Zhou, G. (2018). Effect of ultraviolet radiation and abscisic acid on activity of antioxidant enzymes and physiological and morphological traits of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under different irrigation intervals. *Journal of Crop Ecophysiology*, 12(40), 53-71. [In Persian]
- Santos, I., Almeida, J., & Salema, R. (1999). The influence of UV-Bradiation on the superoxide dismutase of maize, potato, sorghum and wheat leaves. *Canadian Journal of Botany*, 77, 70-76.
- Saeiahagh, H., Mousavi, M., & Pathirana, R. (2019). Determination of the Optimal Dosage of Physical and Chemical Mutagenesis Agents in Callus Tissue of Kiwifruit Leaf. *Journal of Plant Productions*, 42(4), 523-534. [In Persian]
- Sadat Asilan, K. (2016). Effect of water deficit stress on soluble sugars, proline, protein and chlorophyll content in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 47(2), 175-184. [In Persian]
- Singh Gill, S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Tohidi Nezhad, F., Mohammad Abadi, M. R., Esmaili Zadeh, A., & Najmi Nour, O. (2014). Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. *Agricultural Biotechnology Journal*, 6(4), 35-50. [In Persian]

- Van de Wouw, M., Van Hintum, T., & Kik, C. (2010). Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta-analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 120, 1241-1252.
- Wang, T. H., & Wang, H. S. (1999). Apoptosis: Characteristics of apoptosis. *Journal of the Formosan Medical Association*, 98, 531-42.
- Wang, M., Oppedijk, B. J., & Lu, X. (1996). Apoptosis in barley aleurone during germination and its inhibition by abscissic acid. *Plant Molecular Biology*, 32, 1125-1134.
- Young, T. E., Gallie, D. R., & Demason, D. A. (1997). Ethylenemediated programmed cell death during maize endosperm development of wild-type and shrunken2 genotypes. *Plant Physiology*, 115, 737-751.