Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 17, Issue 1, 2025 p: 117-128 OPEN ACCESS

Research Paper

The Study of Farnesyl Diphosphate and Squalene Synthase Gene Expression Levels in *Artemisia absinthium* Exposed to Environmental Gamma Radiation

Sadegh Rahbarnejad[1], Ali Asghari[2], Noraddin Hosseinpour Azad[3] and Ehsan Shokri[4]

1- Ph.D. student in Plant Genetics, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Professor, Department of Crop and Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3- Associate Professor, Department of Plant Sciences and Medicinal Plants, Meshgin Shahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding Author: gmplant21@gmail.com)
4- Assistant Professor, Nanotechnology Department, Agricultural Biotechnology Research Institute, Karaj, Iran

Received:7 June, 2024 Revised: 30 September, 2024 Accepted: 22 October, 2024

Extended Abstract

Background: *Artemisia absinthium*, commonly known as Afsantin, is an important perennial medicinal herb native to Asia, the Middle East, Europe, and North Africa. During the evolutionary process, plants have developed mechanisms that not only allow them to survive under the most severe radiation doses but also respond effectively to small changes in radiation intensity through physiological adjustments. One of the plant defense mechanisms against radiation is evolutionary changes in gene expression levels. Among these genes, farnesyl diphosphate synthase (FDS) is a key enzyme in the terpenoid metabolic pathway that catalyzes the synthesis of sesquiterpenoid compounds from the farnesyl pyrophosphate (FPP) precursor and plays an important role in regulating plant growth and development. The present study investigated the effects of radiation from radioactive waste in an abandoned uranium mine on the expression changes of the FDS and squalene synthase (SQS) genes in *A. absinthium*, grown for many years in the radioactive sampling site environment.

Methods: Plant material was sampled from the altitudes of Kojanaq village located 18 km northwest of Meshginshahr City with the geographical coordinates of 38° 29' 17.7" N and 47° 30' 15.1" E. All calculations related to the geographical position were performed using a Garmin satellite positioning device (Oregon model, 650). For complete access to radiation contamination information in the study area, a point-by-point radon radiation map was prepared at 10 points using a radiation meter over two consecutive years with a Victoreen 451 radiation meter (Fluke Biomedical Company, USA). These measurements included points at the same altitude on two opposite mountains (mountains with radioactive material points A and non-radioactive B). *A. absinthium* shoots were sampled systematically in three different biological replicates. Total RNA was extracted from the sampled plant leaves, and the first cDNA strand was synthesized afterward. The Primer 3 Plus online software was used to design qPCR primers, which were then analyzed using the Oligo Analyzer tool and the NCBI/Primer-BLAST plugin in the NCBI genetic database. Initially, the gene regions controlling the farnesyl diphosphate and squalene synthase enzymes were amplified using the synthesized cDNA for all control and non-control samples as templates to ensure the accuracy of the designed primers. Quantitative analysis of the target gene expression was performed by the Real-Time PCR method using the Corbett Real-Time PCR (3000) and the CyberGreen kit (Sinaclon Company). The gene expression pattern changes in all synthesized cDNAs from the studied samples were measured using the Amplicon SYBR Green High ROX master mix.

Results: Statistical analysis using GraphPad Prism 10 software showed that the expression levels of both studied genes were higher in samples collected from radioactive points than in non-radioactive points. The highest relative increase in gene expression was observed in the squalene synthase-controlling gene, which is one of the key genes in the biosynthetic pathway of the isoprenoid metabolite group. Statistical comparison of the relative expression pattern of the SQS gene in non-radioactive (Bsqs) and radioactive (Asqs) samples showed a significant difference in the SQS gene expression levels between samples collected from radioactive and non-radioactive areas at a 99% probability level. Furthermore, statistical analysis of the relative expression pattern of the FDS gene in non-radioactive (Bfds) and radioactive (Afds) samples revealed no significant difference in FDS gene expression levels between samples collected from radioactive and non-

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

Copyright ©2025 Rahbarnejad et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

radioactive areas at a 99% probability level. Additionally, the P-value for the relative expression of the SQS gene in radioactive and non-radioactive area samples was calculated as 0.0077, and it was 0.6039 for the FDS gene.

Conclusion: Considering that the expression level of the SQS gene was highest at an altitude of 860-900 m with an average radiation intensity of 0.567 mSv, and at an altitude of 910-930 m with the highest radiation level (1.25 mSv), the squalene gene expression level showed a severe decrease. It can be inferred that the optimal radiation intensity for inducing the SQS gene expression is around 0.5 mSv, and an increase in radiation intensity leads to a significant reduction in the expression of this gene. Presumably, with an increase in radiation intensity and ionizing rays, the plant intelligently modulates the biosynthetic pathway of squalene and directs the biosynthetic pathway toward the synthesis of sesquiterpenoids, which compete with the SQS enzyme for the common precursor farnesyl diphosphate. Since the mutagenic effect of radioactive elements has been proven, it can be concluded that long-term exposure of perennial plants to radioactive radiation leads to genetic changes. These mutations alter the structure and behavior of enzymes involved in the biosynthetic pathways of secondary metabolites and likely represent a genetic-biochemical protective response of the plant to combat the damage caused by free radicals generated by radioactive materials.

Keywords: *Artemisia absinthium*, Gene Expression, Farnesyl Diphosphate, Squalene Synthase

How to Cite This Article: Rahbarnejad, S., Asghari, A., Hosseinpour Azad, N., &, Shokri, E. (2025). The Study of Farnesyl Diphosphate and Squalene Synthase Gene Expression Levels in *Artemisia absinthium* Exposed to Environmental Gamma Radiation. *J Crop Breed,* 17(1), 117-128. DOI: 10.61186/jcb.17.1.117

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

OPEN ACCESS

مقاله پژوهشی

بررسی الگوی بیان ژن‌های فارنسیل دی‌فسفات و اسکوآلن سنتاز تحت تأثیر اشعه گامای محیطی در گیاه درمنه کوهی

صادق رهبرنژاد[۱]، علی اصغری[۲]، نورالدین حسین‌پور آزاد[۳]، احسان شکری[۴]

۱- دانشجوی دکترای ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دانشیار، گروه علوم گیاهی و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشگین‌شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسوول: gmplant21@gmail.com)
۴- استادیار، بخش فناوری نانو، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۸/۰۱
صفحه ۱۱۷ تا ۱۲۸

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: درمنه کوهی (*Artemisia absinthium*) که معمولاً با نام افسنطین شناخته می‌شود، یک گیاه دارویی بوته‌ای و چندساله مهم بومی آسیا، خاورمیانه، اروپا و شمال آفریقا است. در فرآیند تکامل، گیاهان مکانیسم‌هایی را توسعه داده‌اند که نه‌تنها تحت شدیدترین دزهای تشعشعات زنده می‌مانند، بلکه از طریق تنظیمات فیزیولوژیکی به تغییرات کوچک در شدت تشعشعات پاسخ مؤثری می‌دهند. یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر تشعشعات، تغییرات تکاملی در سطوح بیان ژن‌ها می‌باشد. از جمله این ژن‌ها، فارنسیل دی فسفات سنتاز (FDS)، آنزیم کلیدی مسیر متابولیکی ترپن‌ها است که سنتز ترکیبات سسکوئی ترپن از پیش ماده فارنسیل پیرو فسفات (FPP) را کاتالیز نموده و نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاهان ایفا می‌کند. در تحقیق حاضر اثرات پرتوهای حاصل از پسماندهای مواد رادیواکتیو در یک معدن متروکه اورانیوم بر روی تغییر بیان ژن‌های فارنسیل دی فسفات (FDS) و اسکوآلن سنتاز (SQS) در گیاه درمنه کوهی که به‌دلیل چندساله بودن، سالیان متمادی در محیط رادیواکتیویته محل نمونه‌برداری رشد یافته بود بررسی شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری مواد گیاهی از ارتفاعات روستای کوجنق واقع در هیجده کیلومتری شمال غربی شهرستان مشگین شهر با موقعیت جغرافیایی 47° 30' 15.1" E و 38° 29' 17.7" N انجام شد. کلیه محاسبات مربوط به موقعیت جغرافیایی با استفاده از دستگاه مکان‌یاب ماهواره‌ای گارمین (مدل اورگون ۶۵۰) صورت پذیرفت. برای دسترسی کامل به اطلاعات آلودگی تابشی منطقه مورد مطالعه، نقشه تشعشعات رادونی نقطه به نقطه در ۱۰ نقطه با استفاده از دستگاه تابش سنج Victoreen 451 (Fluke biomedical company, USA) طی دو سال متمادی تهیه شد. این اندازه‌گیری‌ها مشتمل بر نقاط هم ارتفاع در دو کوه مقابل هم (کوه دارای نقاط حاوی مواد رادیواکتو A و فاقد مواد رادیواکتیو B) بود. نمونه‌برداری از سرشاخه‌های گیاه درمنه کوهی (*A. absinthium*) به‌صورت سیستماتیک و در سه تکرار مختلف زیستی انجام پذیرفت. RNA کل از برگ‌های گیاهان نمونه‌برداری شده استخراج و رشته اول cDNA سنتز شد. برای طراحی آغازگرهای qPCR از نرم‌افزار آنلاین Plus ۳Primer استفاده شد و سپس با ابزار Oligo analyzer و افزونه NCBI/Primer-BLAST در پایگاه ژنتیکی NCBI بررسی شدند. در مرحله اول، با به‌کارگیری cDNA سنتز شده برای تمامی نمونه‌های کنترل و غیرکنترل به‌عنوان الگو، نواحی ژنی کنترل کننده آنزیم‌های فارنسیل دی‌فسفات و اسکوآلن سنتاز برای اطمینان از صحت آغازگرهای طراحی شده تکثیر یافتند. بررسی کمی بیان ژن‌های مورد نظر به‌روش Real Time PCR با دستگاه Real Time PCR set Corbett (۳۰۰۰) و با به‌کارگیری کیت CyberGreen (شرکت سینا کلون) انجام شد. برای سنجش الگوی تغییر بیان ژن‌ها در تمامی cDNAهای سنتز شده از نمونه‌های مورد مطالعه از مستر میکس Ampliqon SYBR green Master Mix High ROX استفاده شد.

یافته‌ها: آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار Graph Pad Prism 10 نشان داد که سطح بیان هر دو ژن مورد بررسی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از نقاط حاوی تشعشعات رادیواکتیو نسبت به نقاط فاقد تشعشعات رادیواکتیو بیشتر است. بیشترین افزایش نسبی بیان ژنی در ژن کنترل کننده اسکوآلن سنتاز مشاهده شد که این ژن از جمله ژن‌های کلیدی در مسیر بیوسنتزی گروه متابولیتی ایزوپرونوئیدها است. مقایسه آماری الگوی نسبی بیان ژن اسکوآلن (SQS) در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته (Bsqs) و در نمونه‌های رادیواکتیویته (Asqs) نشان داد که بین میزان بیان ژن اسکوآلن سنتاز در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو در سطح اطمینان ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین، آنالیز آماری الگوی نسبی بیان ژن فارنسیل دی فسفات (FDS) در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته (Bfds) و نمونه‌های رادیواکتیویته (Afds) نشان داد که بین میزان بیان ژن فارنسیل دی فسفات در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو در سطح احتمال ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند. علاوه بر این، مقدار ارزش p (*p value*) برای بیان نسبی ژن اسکوآلن سنتاز در نمونه‌های مناطق رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو ۰/۰۰۷۷ و برای ژن فارنسیل دی فسفات مقدار ۰/۶۰۳۹ محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری کلی: با توجه به اینکه میزان بیان ژن اسکوآلن سنتاز در ارتفاع ۹۰۰–۸۶۰ متر با متوسط شدت تشعشع (۰/۵۶۷ میلی‌سیورت)، در بالاترین مقدار خود بود که در ارتفاع ۹۳۰–۹۱۰ با بالاترین میزان تشعشع (۱/۲۵ میلی سیورت) میزان بیان ژن اسکوآلن افت شدیدی پیدا کرد. می‌توان استنباط نمود که بهینه شدت تشعشع برای تحریک بیان ژن اسکوآلن سنتاز در محدوده ۰/۵ میلی‌سیورت بوده و افزایش شدت تشعشعات منجر به کاهش شدید بیان این ژن می‌گردد و احتمالاً با افزایش شدت تشعشعات و پرتوهای یونیزان، گیاه هوشمندانه فعالیت مسیر بیوسنتزی ماده اسکوآلن را تعدیل نموده و مسیر بیوسنتزی را به‌سمت سنتز سسکوئی‌ترپن‌ها که برای استفاده از پیش ماده مشترک فارنسیل دی فسفات با آنزیم اسکوآلن سنتاز در رقابت هستند، هدایت می‌نماید. با توجه به این‌که جهش‌زایی عناصر پرتوزا اثبات شده است، می‌توان نتیجه گرفت که قرار گرفتن طولانی‌مدت گیاهان چندساله در معرض تابش‌های رادیواکتیو منجر به ایجاد تغییرات ژنتیکی می‌شود. احتمالاً این جهش‌ها با تغییر ساختمان و رفتار آنزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، یک نوع واکنش محافظتی ژنتیکی- بیوشیمیایی گیاه برای مقابله با آسیب‌های عناصر رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در اثر تشعشعات مواد پرتوزا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسکوآلن سنتاز، بیان ژن، تشعشعات رادیواکتیو، درمنه کوهی، فارنسیل دی فسفات

مقدمه

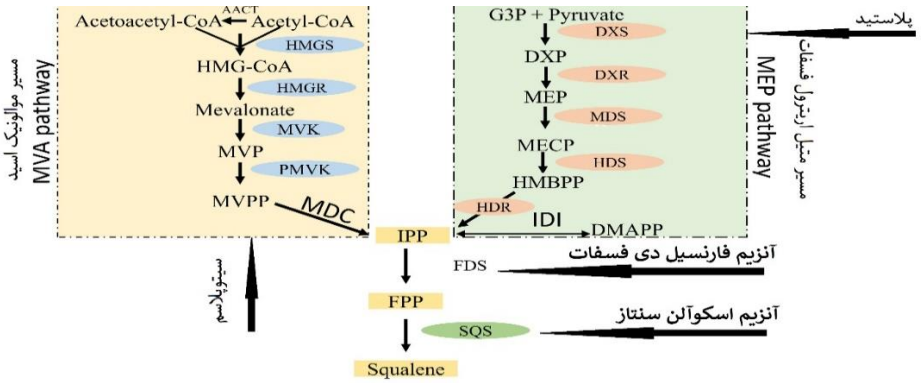
درمنه کوهی (*Artemisia absinthium*) که معمولاً با نام افسنطین شناخته می‌شود، یک گیاه دارویی بوته‌ای و چندساله مهم بومی آسیا، خاورمیانه، اروپا و شمال آفریقا است (Sharopov *et al.*, 2012). جنس *Artemisia* یکی از غالب‌ترین و پراکنده‌ترین جنس‌ها در خانواده Asteraceae است که دارای بیش از ۵۰۰ گونه مختلف است و به‌عنوان گیاهان طبیعی یکساله، چند ساله و دو ساله یا درختچه‌های

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

کوچک طبقه‌بندی می‌شوند (Batiha *et al.*, 2019). گیاهان به‌دلیل سبک زندگی بی‌نظیرشان نمی‌توانند از بسیاری از فشارهای نامطلوب محیطی فرار کنند. بنابراین، مجموعه‌ای از تنظیمات مورفو تشریحی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را برای سازگاری با طیف گسترده‌ای از شرایط محیطی ایجاد کرده‌اند (Moller & Mousseau, 2015; Shabala *et al.*, 2015; Vodeneev *et al.*, 2015; Sukhov, 2016). به‌عنوان مثال، گیاهان می‌توانند در برابر اثرات مضر پرتوهای یونیزان (IR) در محدوده غلظتی مقاومت کنند که برای سایر موجودات زنده از جمله انسان کشنده است. برای مثال، دوز کشنده برای یک انسان تنها ۵ Gy است (Joiner *et al* 2009). در حالی‌که، بیشتر گیاهان دوزهای ۵۰Gy و بالاتر را تحمل می‌کنند. هم‌چنین، گزارش شده است که برخی از گیاهان می‌توانند دوزهایی تا سطح ۱۰۰۰ Gy را تحمل نمایند (Caplin & Willey, 2018; Sparrow & Miksche, 1961). در فرآیند تکامل، گیاهان مکانیسم‌هایی را توسعه داده‌اند که نه‌تنها تحت شدیدترین دوزهای تشعشعات زنده می‌مانند، بلکه از طریق تنظیمات فیزیولوژیکی به تغییرات کوچک در شدت تشعشعات پاسخ مؤثری می‌دهند (Vanhoudt *et al.*, 2014; Geras'kin *et al.*, 2017). یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر تشعشعات، تغییرات تکاملی در سطوح بیان ژن‌ها می‌باشد. از جمله این ژن‌ها، فارنسیل دی فسفات سنتاز (FPS)، آنزیم کلیدی مسیر متابولیکی ترپن‌ها است که سنتز ترکیبات سسکوئی‌ترپن از پیش ماده فارنسیل دی فسفات (FPP) را کاتالیز نموده و نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاهان ایفا می‌کند. آنزیم فارنسیل دی‌فسفات‌سنتاز با کاتالیز اتصال سر به دم واحدهای دی متیل دی فسفات (DMAPP;C5) و ایزوپنتیل دی فسفات (IPP; C5) منجر به ایجاد متابولیت ژرانیل دی فسفات (GPP; C10) می‌گردد. نهایتاً با اتصال بیشتر واحدهای IPP، متابولیت ۱۵ کربنه فارنسیل دی فسفات ایجاد می‌شود (Dhar *et al.*, 2013). هم‌چنین، مطالعات متعدد نشان داده که اسکوآلن سنتاز (SQS)، دیگر ژن بررسی شده در این تحقیق، ژن کلیدی در مسیر بیوسنتز تری ترپنوئیدها است (Gao *et al.*, 2019). تری‌ترپن‌ها، ترپن‌های فرار بوده و پیش‌ساز آن‌ها FPP است که توسط FPS سنتز می‌شود. بیان و فعالیت FPS بر تولید سسکوئی ترپن‌ها در گیاهان تأثیر می‌گذارد.

بر اساس بررسی‌های انجام شده ایزوپنتیل دی فسفات (IPP) و دی متیل پیرو فسفات (DMAPP) از پیش ماده‌های سازنده در مسیر بیوسنتزی ایزوپرونوئیدها بوده و با پیوستن به‌هم دیگر به‌واسطه آنزیم فارنسیل دی فسفات (FDS)، فارنسیل دی فسفات را می‌سازند. هم‌چنین، در این مسیر بیوسنتزی فارنسیل دی فسفات (FPP) به‌واسطه آنزیم اسکوآلن سنتاز (SQS) به متابولیت اسکوآلن تبدیل می‌گردد (Kirby & Keasling, 2009). در این مسیر بیوسنتزی، ژن‌های انتخاب شده بیان آبشاری داشته و ماده هدف فارنسیل دی فسفات (FPP) برای آنزیم فارنسیل دی فسفات (FDS) به‌عنوان پیش‌ماده برای آنزیم اسکوآلن سنتاز (SQS) می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱- مسیر بیوسنتزی پیشنهاد شده برای ایزوپرونوئیدها در گیاهان و ریز جلبک‌ها (Kirby & Keasling, 2009)

Figure 1. Proposed Biosynthetic Pathway for Isoprenoids in Plants and Microalgae (Kirby & Keasling, 2009)

ثابت شده است که افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در پاسخ به تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی امکان‌پذیر است. در تحقیقی افزایش ۵ تا ۲۰ برابری با دوز تابش ~۲۰ گری مشاهده شد. افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های بیوسنتزی کلیدی تحت تنش تشعشعات، بازده تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد. شناسایی دوز بهینه تشعشعات گام مهمی در تولید متابولیت‌های ثانویه در مقیاس بزرگ و صنعتی است (Vardhan & Shukla, 2017). گیاهانی که در زیستگاه‌های طبیعی خود رشد می‌کنند، به‌طور خودبه‌خود با انواع تنش‌ها از جمله تنش‌های ناشی از تابش نور خورشید مواجه می‌شوند. برای حفظ فعالیت سلولی و بقا، گیاهان از مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی پاسخ‌های گیاهی استفاده می‌کنند که شامل فعالیت شبکه‌های آنزیمی متابولیک مرتبط با پروتئین‌های پاسخ‌دهنده است (Kong & Chi *et al.*, 2019; Okajima, 2016). بهبود در تولید ترکیبات زیستی فعال، با القاء قابل توجهی از ژن‌های کلیدی در مسیر بیوسنتزی متابولیت آرتمیزینین پس از تابش اشعه فرابنفش رخ داد. احتمال داده شد که تشعشعات با سرکوب آنزیم‌های رقابتی در این مسیر بیوسنتزی و در عین حال افزایش بیان ژن‌های کلیدی باعث افزایش تولید ماده آرتمیزینین در گیاه درمنه شده است (Zhang *et al.*, 2018). تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات تشعشعات مواد رادیواکتیو

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

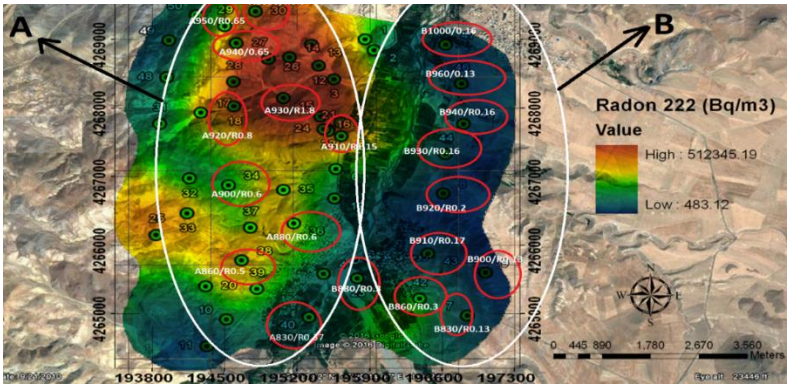
بر الگوی بیان ژن‌های کلیدی فارنسیل دی فسفات و اسکوآلن سنتاز مسیر متابولیتی ایزوپرونوئیدها در گیاه درمنه کوهی رویش یافته تحت تاثیر اشعه گامای محیطی انجام شد.

مواد و روش‌ها

طبق گزارشات متعدد مراجع علمی، در کشور ما بالغ بر ۱۷ گونه از جنس آرتمیزیا موجود می‌باشد. در منطقه مورد پژوهش، چهار گونه از جنس آرتمیزیا از جمله *A. vulgare*، *A. siberi*، *A. absinthium* و *A. annua* وجود داشت. درمنه کوهی (*A. absinthium*) برای بررسی اثرات تشعشع بر الگوی بیان ژن‌های مورد مطالعه انتخاب شد. با توجه به این‌که آلودگی به مواد رادیواکتیو در منطقه در سطح نسبتاً وسیعی پراکنده بود، برای دستیابی به نتایج با تکرارپذیری بالا از نمونه‌گیری سیستماتیک بر اساس اهداف آزمایش استفاده گردید. در هرنقطه مشخص شده از نقشه پراکنش شدت تشعشع، نمونه‌گیری‌های گیاهی با سه تکرار بیولوژیک از یک بوته صورت گرفت. نمونه‌برداری مواد گیاهی از ارتفاعات روستای کوجنق واقع در هیجده کیلومتری شمال غربی شهرستان مشگین شهر با موقعیت جغرافیایی "15.1 '30 °47 E و "17.7 '29 °38 N انجام شد. کلیه محاسبات مربوط به موقعیت جغرافیایی با استفاده از دستگاه مکان‌یاب ماهواره‌ای گارمین (مدل اورگون ۶۵۰) صورت پذیرفت. فرض بر این بود که طی سالیان متمادی، گیاهان منطقه تأثیرپذیری تدریجی از تابش‌های رادیواکتیو محیطی داشته باشند. معمولاً تغییرات حاصل از این گونه تابش‌ها که بیشتر از نوع به تابش‌های گاما می‌باشند، منجر به تغییرات عمده‌ای در ماده ژنتیکی موجودات می‌شوند که این تغییرات (جهش‌ها) به صورت‌های مختلف خود را نمایان می‌سازند. هر اثر جهشی که ممکن است ناشی از آسیب‌های ژنی یا ژنومی باشد، می‌تواند به صورت تغییرات مورفولوژیکی (تغییرات ظاهری) و یا تغییرات بیوشیمیایی (تغییر در سنتز مواد مؤثره گیاهی یا متابولیت‌های ثانویه) یا ترکیبی از این تغییرات یعنی مورفوشیمیایی باشد. جهت اثبات فرضیه جهش‌زایی مواد رادیواکتیو منطقه نیاز بود که برای تفکیک اثرات پارامترهای مختلف از جمله تأثیرات تشعشعات، عناصر موجود در خاک و ارتفاع، منطقه‌هایی انتخاب می‌شد که دارای پارامترهای یکسان از نظر موقعیت جغرافیایی، ارتفاع و عناصر خاک باشند و تنها فاکتور متفاوت بین آن‌ها، شدت تابش حاصل از وجود مواد رادیواکتیو باشد. برای این منظور، دو کوه مجاور در روستای کوجنق از توابع شهرستان مشگین شهر که روبه‌روی هم با موقعیت مشابه (E۴۷°۴۱′۵۵″,N۳۸°۲۲′۵۶″) قرار داشتند، انتخاب شدند. در کوه اول (A) معدن متروکه اورانیوم قرار داشت و کوه دوم (B) فاقد پسماندهای مواد رادیواکتیو بود (شکل ۲، جدول ۱). موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه‌گیری با سیستم جی‌پی‌اس گارمین مدل ۷۵۰ (ساخت کشور آمریکا) به‌طور کامل یادداشت‌برداری شد. این منطقه از استان اردبیل دارای میانگین دمایی سالانه متغیر در دامنه °C ۱۴- در زمستان تا °C۳۱+ در تابستان می‌باشد. جهت دسترسی کامل به اطلاعات آلودگی تابشی نواحی منطقه مورد مطالعه، نقشه تشعشعات رادونی نقطه به نقطه در ۵۰ نقطه با استفاده از دستگاه تابش‌سنج Victoreen 451 (Fluke biomedical company, USA) طی دو سال متمادی مورد سنجش قرار گرفت (شکل ۲). این اندازه‌گیری مشتمل بر نقاط هم ارتفاع در هر دو کوه مورد مطالعه (کوه حاوی مواد رادیواکتیو A و کوه فاقد مواد رادیواکتیو B) بود. در محل نمونه‌برداری از منطقه B (منطقه بدون رادیواکتیو) و A (منطقه رادیواکتیو) تعداد ۱۰ منطقه انتخاب شده با کدهای اختصاصی جهت سهولت در آنالیزهای بعدی مشخص گردیدند. به‌عنوان مثال نقطه‌گذاری شده B1000/R0/16 بیانگر محل نمونه‌گیری از شاهد (B) از ارتفاع ۱۰۰۰ متری بود که دارای شدت تشعشع ۰/۱۶ میلی سیوورت می‌باشد. هم‌چنین، نقطه کدگذاری شده A1000/R0/5 بیانگر محل نمونه‌گیری از منطقه رادیو اکتیو (A) از ارتفاع ۱۰۰۰ متری) بود که دارای شدت تشعشع ۰/۵میلی‌سیوورت است. بدین ترتیب نقاط مختلف نمونه‌برداری به‌صورت دوبه‌دو در روبروی هم در ارتفاع مشخص قرار گرفته بودند. تمامی این پارامترها برای جلوگیری از بروز اشتباهات آزمایشی و تحلیل دقیق اطلاعات حاصله از آنالیزهای بیان ژن و متابولیت بود که در نتیجه مقایسات میانگین حاصل از تجزیه آماری نقاط هم ارتفاع حاصل می‌گردید. برای بررسی تغییر الگوی بیان ژن‌های فارنسیل دی فسفات (FDS) و اسکوآلن سنتاز (SQS)، RNA کل با استفاده از معرف ترایزول طبق دستورالعمل سازنده استخراج شد. علاوه بر این، RNA استخراج شده با DNase فاقد RNase (ساخت شرکت سیناکلون) طبق دستورالعمل سازنده برای حذف هرگونه آلودگی DNA ژنومی تیمار شد و برای اطمینان از عدم تکثیر آلودگی احتمالی با DNA ژنومی، از دو استراتژی استفاده شد: (۱) انجام واکنش PCR با الگوی RNA برای هر جفت آغازگر، (۲) انجام واکنش PCR با جفت آغازگرهای طراحی شده برای هر دو ژن از نواحی ژنی اگزون–اگزون. کیفیت و کمیت RNA به ترتیب با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتر نانودراپ (ترمو، آلمان) ارزیابی شد. رشته اول cDNA با ۱ میکروگرم از RNA کل با استفاده از کیت سنتز cDNA (شرکت یکتا تجهیز) طبق پروتکل شرکت سازنده به منظور به دست آوردن ۲۰ میکرولیتر حجم از محصول سنتز شد. برای طراحی آغازگرهای qPCR از نرم افزار آنلاین Primer 3 Plus استفاده شد و سپس با ابزار Oligo analyzer و افزونه NCBI/Primer-BLAST در پایگاه ژنتیکی NCBI بررسی شدند (جدول ۲). بر اساس مطالعات مو و همکاران (Mu *et al.*, 2023) توالی‌های ژنی اکتین (Actin) و توالی ریبوزومال (rps18) به عنوان ژن مرجع انتخاب شدند (جدول ۲).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]



شکل ۲- نقشه آلودگی به تشعشعات رادیواکتیو در نقاط نمونه‌گیری از سرشاخه‌های گیاه درمنه کوهی (*A. absinthium*)
(شدت پرتوزایی به‌صورت تغییر رنگ نشان داده شده است)
Figure 2. Radioactive contamination map at sampling points of *A. absinthium*
(Radiation intensity indicated by color change)

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی ثبت شده برای نقاط نمونه‌برداری از نواحی رادیو اکتیو (A) و غیر رادیواکتیو (B)
Table1. Recorded geographical characteristics for sampling points from Radioactive (A) and Non-Radioactive (B) Areas

A					B				
Location	Exposure (mSv)	Altitude (m)	Longitude	Latitude	Location	Exposure (µSv)	Altitude (m)	Longitude	Latitude
A830/R0.37	0.37	830	38°30′08/90″	47°31′30/09″	B830/R0.13	0.13	830	38°20′08/93″	47°31′20/11″
A860/R0.5	0.5	860	38°30′08/91″	47°31′80/09″	B860/R0.3	0.3	860	38°20′08/83″	47°31′20/13″
A880/R0.6	0.6	880	38°30′08/93″	47°31′20/08″	B880/R0.3	0.3	880	38°20′08/63″	47°31′20/15″
A900/R0.6	0.6	900	38°30′08/99″	47°31′20/85″	B900/R0.13	0.13	900	38°30′08/73″	47°31′20/14″
A910/R1.15	1.15	910	38°30′08/92″	47°31′20/84″	B910/R0.17	0.17	910	38°30′08/43″	47°31′20/09″
A920/R0.8	0.8	920	38°30′08/96″	47°31′20/19″	B920/R0.2	0.2	920	38°20′08/23″	47°31′20/11″
A930/R1.8	1.18	930	38°30′08/97″	47°31′20/29″	B930/R0.16	0.16	930	38°30′08/63″	47°31′20/14″
A940/0.65	0.65	940	38°30′08/95″	47°31′20/18″	B940/R0.16	0.16	940	38°30′08/43″	47°31′20/15″
A950/R0.65	0.65	950	38°30′08/9″	47°31′20/01″	B960/0.13	0.13	950	38°20′08/13″	47°31′20/18″
A1000/R0.5	0.5	1000	38°30′08/98″	47°31′20/05″	B1000/0.16	0.16	1000	38°30′08/53″	47°31′20/15″

جدول ۲- آغازگرهای طراحی شده با نرم‌افزار Primer 3 Plus برای تکثیر نواحی ژنی SQS و FDS
Table 2. Designed primers using Primer 3 Plus software for amplification of Gene regions SQS and FDS

ردیف No	نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر(5' -> 3') Primer sequence (5' -> 3')	طول قطعه تکثیر یافته Amplicons' length
1	rps18-F	AGA TTG ACC TTG AAA CAA CAA CGA	150
2	rps18-R	GGC TCT AAG ACT AGG AGT TCT AG	-
3	actin-F	CCA GGC TGT TCA GTC TCT GTA T	180
4	actin-R	CGC TCG GTA AGG ATC TTC ATC A	-
5	sqs-F	AAT GAG GGA CAC ATA CCA ACC AC	175
6	sqs-R	GAG GTT CAG AGA CAG CCC ATT C	-
7	fds1-F	GAC GAG TCT CAT ACA CGC AGA G	150
8	fds1-R	ATC CAC ATA GTA AGG CTT TCC TC	-

در مرحله اول، با بکارگیری cDNA سنتز شده برای تمامی نمونه‌های کنترل و غیرکنترل به‌عنوان الگو، نواحی ژنی کنترل کننده آنزیم‌های فارنسیل دی فسفات و اسکوآلن سنتاز برای اطمینان از صحت آغازگرهای طراحی شده تکثیر یافتند. بررسی کمی بیان ژن‌های مورد نظر به‌روش Real Time PCR با استفاده از دستگاه Real Time PCR set Corbett (3000) با استفاده از کیت CyberGreen (شرکت سینا کلون) انجام شد. برای سنجش الگوی تغییر بیان ژن‌ها در تمامی cDNAهای سنتز شده از نمونه‌های مورد مطالعه از مستر میکس Ampliqon SYBR green Master Mix High ROX استفاده شد. واکنش‌های PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر (۱۰ میکرولیتر از مستر میکس، سه پیکومول از جفت آغازگرها

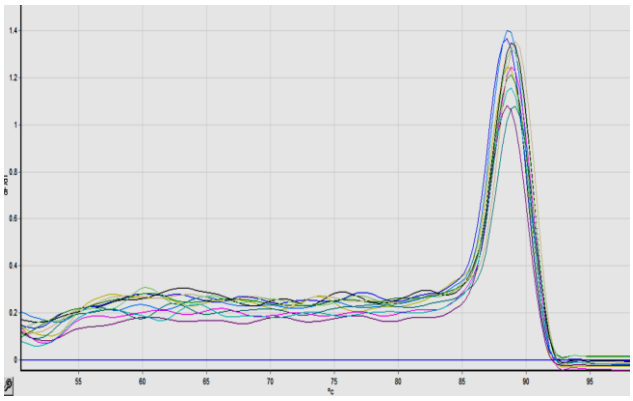
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

و یک میکرولیتر از cDNA) در چرخه‌های: واسرشت اولیه به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد ، سپس۴۰ چرخه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (۲۰ ثانیه)، ۵۷ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه) و در نهایت طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. qPCR با سه تکرار بیولوژیکی برای هر نمونه و سه تکرار فنی برای هر نمونه بیولوژیکی انجام پذیرفت. کنترل منفی Master Mix علاوه بر آغازگرها در تمام اجزاء qPCR در نظر گرفته شد. داده‌های فلورسانس ویژگی خوبی را برای محصولات PCR نشان داد. منحنی تکثیر برای هر جفت آغازگر به شکل سیگموئید بود و منحنی ذوب تنها یک پیک را نشان داد که مربوط به یک محصول خاص بود (شکل‌های ۳ و ۴). برای تجزیه و تحلیل نسبت بیان ژن‌های هدف SQS و FDS در مقایسه با ژن‌های کنترل rps18 و Actin برای تمام تیمارها از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. میزان بازده PCR برای هر ژن از فرمول $\text{Ratio}= 2^{-\Delta\Delta CT}$ بدست آمد. هم‌چنین، برای بررسی و تأیید عدم وجود آلودگی ژنومی از نمونه کنترل منفی (No RT Control) استفاده شد. پس از بررسی میزان تکثیر از طریق PCR Time Real، برای دستیابی به چرخه آستانه و میزان غلظت بیان ژن‌ها از نرم افزار دستگاه استفاده شد. پس از مرتب کردن اعداد مربوط به چرخه آستانه، داده‌ها برای تجزیه واریانس در نرم افزار گراف پد پریسم (GraphPad Prism10) وارد و تجزیه شدند. آزمون T برای مقایسات دو به دو در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام و علاوه بر این، خطای استاندارد (SEM) نیز محاسبه گردید.

نتایج و بحث

در منطقه مورد مطالعه و در دو کوه رادیواکتیو A و غیر رادیواکتیو B، ۱۰ نقطه با شدت‌های تابشی متفاوت جهت نمونه‌برداری سیستماتیک تعیین شدند که هرکدام در ارتفاع متفاوتی قرار گرفته بودند. بدین‌منظور برای جلوگیری از اتلاف هزینه و کاهش خطاهای آزمایشی ناشی از تفاوت جغرافیایی، دو کوه هم ارتفاع در یک نقطه مشابه جغرافیایی جهت نمونه‌برداری انتخاب گردید. این نقاط به‌صورت روبروی هم در ارتفاع یکسانی واقع شده بودند. وجود مقادیر متفاوت از عناصر پرتوزا همچون اورانیوم، توریوم و پتاسیم، شدت‌های متفاوتی از تشعشع را در نقاط مختلف انتخاب شده ایجاد می‌کرد و همبستگی مثبتی بین مقادیر این عناصر با شدت تابش مشاهده شد. تفاوت اصلی نمونه‌های برداشته شده از این نقاط به‌دلیل تحت تأثیر قرار گرفتن از مقدار شدت تشعشع و خاک محل رویش بود. طبیعتاً انتظار می‌رفت نقاط شاهد دارای بافت یکسانی از نظر ترکیبات عناصری باشند و هم‌چنین ارتفاع مختلف در نقاط شاهد به‌دلیل عدم وجود عناصر رادیواکتیو در محل دارای تشعشع شبیه حالت نقاط غیر رادیواکتیو بودند. در این صورت مقایسه متابولیتی نمونه‌ها در دو منطقه نمونه‌گیری (A و B) برای جدا نمودن اثرات شدت تشعشع امکان‌پذیر به‌نظر می‌رسید. دلیل انتخاب گیاه درمنه کوهی (*A. absinthium*) داشتن شرایط رشدی چندساله این گیاه بود که طبیعتاً سالیان سال تحت شرایط تشعشعات محیطی ساتع شده از پسماندهای مواد رادیواکتیو در منطقه، رشد یافته بود و می‌توانست الگوی بهتری برای مطالعه اثر تشعشعات نسبت به دیگر گیاهان با شرایط رشدی یکساله باشد. منحنی ذوب حاصل از سنجش کمی ژن کد کننده فارنسیل دی فسفات (FDS) شدت نورفلورسانس را تقریباً ۸۵ درجه سانتی‌گراد (شکل ۳) و برای ژن کدکننده آنزیم اسکوآلن سنتاز (SQS) ۸۱ درجه سانتی‌گراد (شکل ۴) نشان داد. وجود پیک در یک دما برای تمامی تیمارها نشان از اختصاصی بودن محصول واکنش بود. پس از اتمام فرایند Real time PCR با توجه به مشاهده منحنی‌های ذوب (شکل‌های ۳ و ۴) می‌توان گفت که آغازگرها به‌صورت اختصاصی عمل کرده‌اند و یک نمونه منفرد از cDNA را تکثیر نمودند.

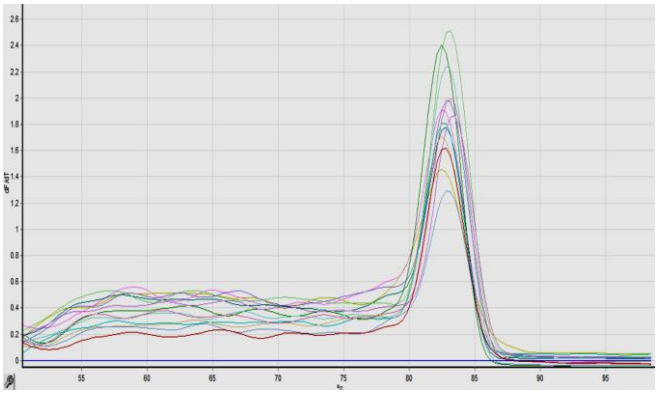


شکل ۳- آنالیز منحنی ذوب PCR Real time ژن کدکننده فارنسیل دی فسفات (FDS) در گیاه درمنه کوهی (*A. absinthium*)

Figure 3. Real-time PCR Melting curve analysis of Farnesyl Diphosphate Synthase (FDS) Gene in *A. absinthium*

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

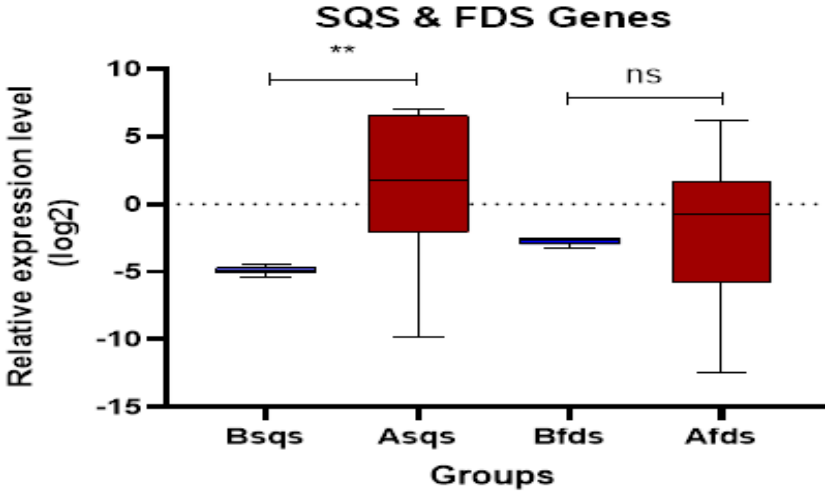
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]



شکل ۴- آنالیز منحنی ذوب PCR Real time ژن کدکننده آنزیم اسکوآلن سنتاز (SQS) در گیاه درمنه کوهی (*A. absinthium*)

Figure 4. Real-time PCR melting curve analysis of the Squalene Synthase (SQS) Gene encoding enzyme in *A. absinthium*

مقایسه آماری الگوی نسبی بیان ژن اسکوآلن (SQS) در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته (Bsqs) و در نمونه‌های رادیواکتیویته (Asqs) نشان داد که بین میزان بیان ژن اسکوآلن سنتاز در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو در سطح احتمال ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین، آنالیز آماری الگوی نسبی بیان ژن فارنسیل دی فسفات (FDS) در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته (Bfds) و نمونه‌های رادیواکتیویته (Afds) نشان داد که بین میزان بیان ژن فارنسیل دی فسفات در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو در سطح احتمال ۹۹ درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند (شکل ۵). میزان تغییرات بیان ژن‌های مورد مطالعه در شکل ۶ آورده شده است. علاوه بر این، مقدار ارزش *P* (*P value*) برای بیان نسبی ژن اسکوآلن سنتاز در نمونه‌های مناطق رادیواکتیو و غیر رادیواکتیو ۰/۰۰۷۷ و برای ژن فارنسیل دی فسفات مقدار ۰/۶۰۳۹ محاسبه گردید.

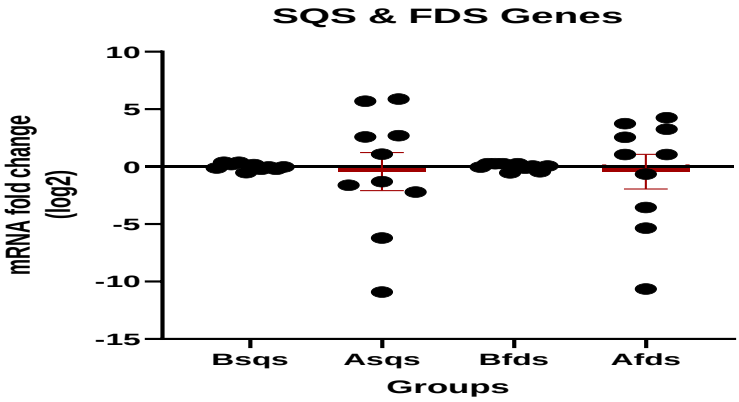


شکل ۵- مقایسه الگوهای بیان نسبی دو ژن SQS. (Bsqs: بیان ژن اسکوآلن در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته، Asqs: بیان ژن اسکوآلن در نمونه‌های رادیواکتیویته و FDS (Bfds: بیان ژن فارنسیل دی فسفات در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته، Afdp: بیان ژن فارنسیل دی فسفات در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته)

Figure 5. Comparison of Relative Expression patterns of two Genes, SQS (Bsqs: Squalene Gene Expression in Non-Radioactive Samples, Asqs: Squalene Gene Expression in Radioactive Samples) and FDP (Bfdp: Farnesyl Diphosphate Gene Expression in Non-Radioactive Samples, Afdp: Farnesyl Diphosphate Gene Expression in Radioactive Samples)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

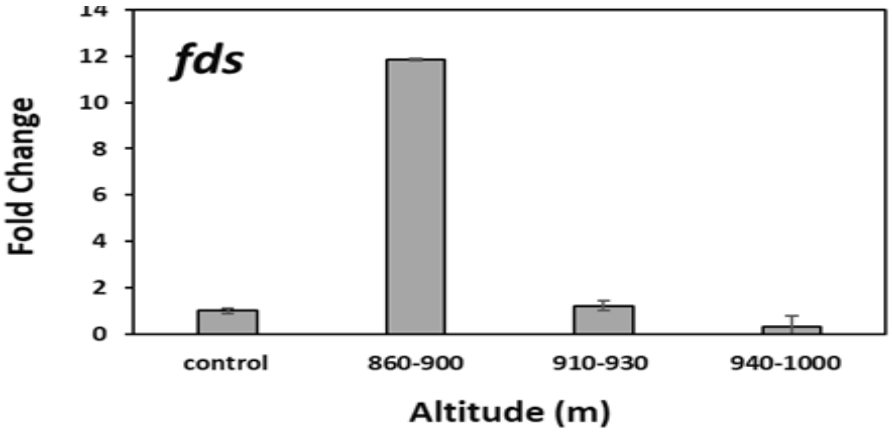
[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]



شکل ۶- نمودار مقایسه میزان تغییرات بیان دو ژن SQS (Bsqs: بیان ژن اسکوآلن در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته، Asqs: بیان ژن اسکوآلن سنتاز در نمونه‌های رادیواکتیویته) و FDP (Bfdp: بیان ژن فارنسیل دی فسفات در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته، Afdp: بیان ژن فارنسیل دی‌فسفات در نمونه‌های غیر رادیواکتیویته)

Figure 6. Comparative bar graph showing expression changes of two Genes, SQS (Bsqs: Squalene Gene Expression in Non-Radioactive Samples, Asqs: Squalene Synthase Gene Expression in Radioactive Samples) and FDS (Bfds: Farnesyl Diphosphate Gene Expression in Non-Radioactive Samples, Afds: Farnesyl Diphosphate Gene Expression in Non-Radioactive Samples)

برای تفکیک بهتر اثرات تشعشعات مواد رادیواکتیو در ارتفاعات مختلف میانگین تغییرات الگوی بیان دو ژن SQS و FDS در نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه رویش یافته در ارتفاعات مختلف مناطق رادیواکتیو (Radiation) و میانگین بیان نسبی ژن در ناحیه غیر رادیواکتیو (Control) نیز محاسبه شدند (شکل ۷ و ۸).

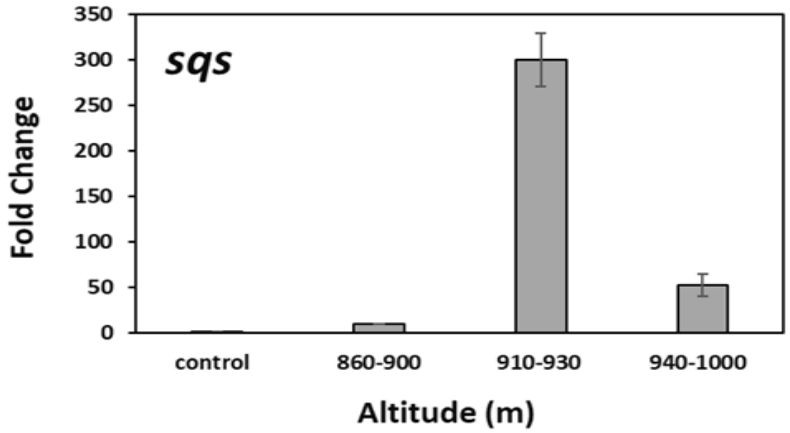


شکل ۷ – مقایسه تغییرات الگوی بیان ژن FDS در نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه رویش یافته در ارتفاعات مختلف مناطق رادیواکتیو و میانگین بیان نسبی ژن در ناحیه غیر رادیواکتیو (Control). میانگین تشعشعات برای (ناحیه کنترل: 0/18 میلی‌سیورت، ارتفاع 900-860: 0/567، ارتفاع 930-910: 1/25، ارتفاع 1000-940: 0/6 میلی سیورت) اندازه‌گیری شد.

Figure 7. Comparison of FDS Gene expression pattern changes in plant samples grown at different altitudes in radioactive areas and average Relative Gene Expression in Non-Radioactive Area (Control). Average Radiation for (Control Area: 0.18 mSv, Altitude 860-900: 0.567, Altitude 910-930: 1.25, Altitude 940-1000: 0.6 mSv) was Measured.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]



شکل ۸– مقایسه تغییرات الگوی بیان ژن SQS در نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه رویش یافته در ارتفاعات مختلف مناطق رادیواکتیو و میانگین بیان نسبی این ژن در ناحیه غیر رادیواکتیو (Control). میانگین تشعشعات برای (ناحیه کنترل: ۰/۱۸ میلی سیورت، ارتفاع 900-860: 0/567، ارتفاع 930-910: 1/25، ارتفاع 1000-940: 0/6 میلی‌سیورت) اندازه‌گیری شد.

Figure 8. Comparison of SQS Gene Expression Pattern Changes in plant samples grown at different altitudes in radioactive areas and average Relative Gene Expression in Non-Radioactive Area (Control). Average Radiation for (Control Area: 0.18 mSv, Altitude 860-900: 0.567, Altitude 910-930: 1.25, Altitude 940-1000: 0.6 mSv) was Measured.

آزمایشات با گیاهان رشد یافته از دانه‌های پرتودهی شده نشان داده است که دوزهای متوسط و بالای پرتوهای یونیزان باعث تجمع پروتئین محلول در بافت‌های گیاهی می‌شود (Alikamanoglu *et al.*, 2011; Desai & Rao., 2014). تغییرات در محتوا و فعالیت پروتئین‌ها پس از تابش می‌تواند نتیجه تغییرات در تعادل سرعت سنتز و تجزیه پروتئین باشد. رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در طول تابش باعث اکسیداسیون پروتئین‌ها شده که می‌تواند طول عمر عملکردی پروتئین‌ها را کاهش دهد. ثابت شده است که تشعشعات منجر به تجمع پروتئین‌های یوبی‌کوئیتین شده (پروتئین‌هایی که آسیب دیده و آماده تجزیه پروتئولیتیک هستند) می‌شود. با این حال، مشخص شده است که فعالیت پروتئازوم‌ها پس از تابش کاهش می‌یابد (Pervan *et al.*, 2005). اما فعالیت عملکردی بخشی از مولکول پروتئین علارغم افزایش در مقدار آن، ممکن است از بین برود. در تحقیقی حسن‌زاده و همکاران (Hassanzadeh *et al.*, 2022) به بررسی اثر پسماندهای معدن متروکه اورانیوم بر تغییرات بیوشیمیایی انسانس گیاه درمنه کوهی پرداخته و تغییرات معنی‌داری را در مقادیر متابولیت‌ها در هر دو نمونه مورد مطالعه تحت تابش رادیواکتیو و شاهد مشاهده نمودند. به‌طوری‌که، تغییرات افزایشی را در مقادیر متابولیت‌های گاما ترپینن، اکالیپتول، توژون و کامفور اثبات نموده و نتیجه گرفتند، قرار گرفتن طولانی‌مدت گیاهان چندساله در معرض تابش‌های محیطی منجر به تغییرات بیوشیمیایی شده که ممکن است در نتیجه جهش‌زایی عناصر پرتوزا در ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه باشد. در تحقیق حاضر تغییر در بیان ژن‌ها کاملاً مشهود بوده و افزایش چندین برابری بیان ژن فارنسیل دی فسفات و ژن اسکوآلن سنتاز می‌تواند تغییرات افزایشی در متابولیت‌های هدف این ژن‌ها را تقویت نماید. هم‌چنین، به‌دلیل بیان آبشاری ژن‌های مورد مطالعه در مسیر بیوسنتزی ایزوپرونوئیدها و نقش اساسی ماده اسکوآلن در مهار رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در اثر تشعشعات محیط نمونه‌برداری، احتمالاً نسخه‌برداری توالی ژنی کد کننده آنزیم اسکوآلن سنتاز با مقدار و سرعت بیشتری انجام پذیرفته است که نیاز است در زمینه تغییرات بیوشیمیایی حاصل شده در مسیر، مطالعات بیشتری انجام پذیرد. تشعشعات علاوه بر ایجاد تغییر در میزان کلی سنتز و تجزیه پروتئین‌ها، ویژگی پروتئین‌ها را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. این تغییرات در نتیجه اثر بر تنظیم رونویسی و ترجمه در سطح بیان ژن‌ها می‌باشند. با این حال، گزارش شده است که قرار گرفتن در معرض عوامل استرس‌زا، از جمله پرتوهای یونیزان، منجر به همبستگی ضعیف بین سطوح mRNA و پروتئین‌های مربوطه می شود (Lü *et al.*, 2006; Gicquel *et al.*, 2011). عدم وجود همبستگی با این واقعیت توضیح داده می شود که سنتز یک پروتئین نه تنها به فعالیت رونویسی ژن‌های مربوطه بلکه فعالیت‌های قبل و پس از ترجمه mRNA نیز بستگی دارد (Lü *et al.*, 2006; Braunstein *et al.*, 2009; Trivigno *et al.*, 2013). علاوه بر این، تعداد ژن‌هایی که فعالیت ترجمه‌ای آن‌ها توسط تشعشع تغییر داده شد، چندین برابر بیشتر از ژن‌هایی بود که رونویسی آن‌ها تحت تأثیر قرار گرفت. علاوه بر مسیرهای استاندارد پاسخ به استرس، ارگانیسم‌های تیمار یافته با تشعشعات، تغییراتی را در ترجمه پروتئین‌های دخیل در تنظیم رونویسی و بیان ژن مرتبط با آن نشان می‌دهند. پس می‌توان نتیجه گرفت که اثرات پرتوها در سطح ترجمه ممکن است بر روی برخی از عوامل رونویسی باشد (Lü et al., 2006).

میزان بیان ژن اسکوآلن سنتاز در ارتفاع ۸۶۰–۹۰۰ متر با متوسط شدت تشعشع (۰/۵۶۷ میلی‌سیورت)، در بالاترین مقدار خود بود که در ارتفاع ۹۱۰–۹۳۰ با بالاترین میزان تشعشع (۱/۲۵ میلی سیورت) میزان بیان ژن اسکوآلن افت شدیدی پیدا کرد. می‌توان استنباط نمود که بهینه شدت تشعشع برای تحریک بیان ژن اسکوآلن سنتاز در محدوده ۰/۵ میلی‌سیورت بوده و افزایش شدت تشعشعات منجر به کاهش شدید بیان

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

این ژن می‌گردد و احتمالا با افزایش شدت تشعشعات و پرتوهای یونیزان، گیاه هوشمندانه فعالیت مسیر بیوسنتزی ماده اسکوآلن را تعدیل نموده و مسیر بیوسنتزی را به سمت سنتز سسکوئی‌ترپن‌ها که برای استفاده از پیش ماده مشترک فارنسیل دی فسفات با آنزیم اسکوآلن سنتاز در رقابت هستند، هدایت می‌نماید. ثابت شده است که انواع سسکوئی ترپن‌ها در گیاهان، دارای اثرات فعال زیستی بوده و نقش جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد داشته و از فسادپذیری سلولی ممانعت می‌نمایند (Bartikova *et al.*, 2014). علاوه بر آسیب مستقیم به ماکرومولکول‌های زیستی که در چرخه‌های واکنشی شرکت دارند، پرتوهای یونیزان چندین فرایند تنظیمی را مختل می‌کند. از جمله، فرایندهایی که در سطح بیان ژنی حضور دارند، کنترل کننده‌هایی که وضعیت سایت‌های حساس به اکسایش آنزیم‌ها را کنترل می‌کنند و فرایندهایی که ترکیب چربی‌های غشاها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اثبات شده است که مشارکت این مکانیسم‌های مبتنی بر تنظیم در تأثیر کلی پرتوهای یونیزان بر فتوسنتز معنی‌دار است (Sukhov *et al.*, 2014; Shikanai, 2016; Sukhov, 2016). در تحقیقی حسن زاده و همکاران (Hassanzadeh *et al.*, 2022) با هدف مقایسه تغییر بیان برخی از ژن‌های مسیر بیوسنتزی تانشینون‌ها بین گیاهان با پایه کروموزومی دیپلوئید و تتراپلوئید در گیاه مریم گلی پرداختند، نتایج مقایسات کمی ژنها با استفاده از روش Real time PCR نشان داد که گیاهان پلی پلوئید افزایش بیان معنی‌داری نسبت به گیاهان دیپلوئید و پایه مادری دارند و این افزایش بیان منجر به افزایش متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژنهای این مسیر بیوسنتزی شده است (Madani *et al.*, 2021). اخیراً، فناوری‌هایی مانند ترانسکریپتومیکس برای ارائه پاسخ خاص به اثرات پرتو گاما بر ژنوم استفاده شده‌اند. با استفاده از مطالعات مرتبط با اعمال تنش از جمله تشعشعات یونیزان امکان شناسایی ژن‌های درگیر در مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های گیاهی و فعال در پاسخ به عوامل محیطی فراهم می‌گردد. هم‌چنین، با شناسایی فعالیت‌های ژنی در برابر انواع تنش‌ها امکان بکارگیری این عوامل در تحریک مسیرهای بیوسنتزی در شرایط کنترل شده برای تولید در مقیاس وسیع فراهم خواهد شد. با توجه به این‌که جهش‌زایی عناصر پرتوزا اثبات شده است، می‌توان نتیجه گرفت که قرار گرفتن طولانی‌مدت گیاهان چندساله در معرض تابش‌های رادیواکتیو منجر به ایجاد تغییرات ژنتیکی می‌شود. احتمالاً این جهش‌ها با تغییر ساختمان و رفتار آنزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، یک نوع واکنش محافظتی ژنتیکی بیوشیمیایی گیاه برای مقابله با آسیب‌های عناصر رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در اثر تشعشعات مواد پرتوزا باشد.

References

Alikamanoglu, S., Yaycili, O., & Sen, A. (2011). Effect of gamma radiation on growth factors, biochemical parameters, and accumulation of trace elements in soybean plants (*Glycine max* L. Merrill). *Biological Trace Element Research,* 141, 283-293. https://doi.org/10.1007/s12011-010-8709-y

Bartikova, H., Hanusova, V., Skalova, L., Ambroz, M., & Bousova, I. (2014). Antioxidant, pro-oxidant and other biological activities of sesquiterpenes. *Current Topics in Medicinal Chemistry,* 14(22), 2478-2494. https://doi: 10.2174/1568026614666141203120833

Batiha, G. E., Beshbishy, A. M., Tayebwa, D. S., Adeyemi, O. S., Yokoyama, N., & Igarashi, I. (2019). Anti-piroplasmic potential of the methanolic Peganum harmala seeds and ethanolic Artemisia absinthium leaf extracts. *The Journal of Protozoology Research,* 29(1-2), 8-25. https://doi.org/10.32268/jprotozoolres.29.1-2_8

Braunstein, S., Badura, M. L., Xi, Q., Formenti, S. C., & Schneider, R. J. (2009). Regulation of protein synthesis by ionizing radiation. *Molecular and Cellular Biology,* 29(21), 5645-5656. https://doi.org/10.1128/mcb.00711-09

Caplin, N., & Willey, N. (2018). Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: from acute high doses to chronic low doses. *Frontiers in Plant Science,* 9, 375099. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00847

Chi, Y. H., Koo, S. S., Oh, H. T., Lee, E. S., Park, J. H., Phan, K. A. T., Wi, S. D., Bae, S. B., Paeng, S. K., & Chae, H. B. (2019). The physiological functions of universal stress proteins and their molecular mechanism to protect plants from environmental stresses. *Frontiers in Plant Science,* 10, 444151. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00750

Desai, A. S., & Rao, S. (2014). Effect of gamma radiation on germination and physiological aspects of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) millsp). Seedlings. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences,* 2(6), 47-52. https://doi: 10.1002/fsn3.50

Dhar, M. K., Koul, A., & Kaul, S. (2013). Farnesyl pyrophosphate synthase: a key enzyme in isoprenoid biosynthetic pathway and potential molecular target for drug development. *New Biotechnology,* 30(2), 114-123. https://doi: 10.1016/j.nbt.2012.07.001

Gao, R., Yu, D., Chen, L., Wang, W., Sun, L., & Chang, Y. (2019). Cloning and functional analysis of squalene synthase gene from *Dryopteris fragrans* (L.) Schott. *Protein Expression and Purification*, 155, 95-103. https://doi: 10.1016/j.pep.2018.07.011

Geras' kin, S., Vasiliyev, D., Makarenko, E., Volkova, P., & Kuzmenkov, A. (2017). Influence of long-term chronic exposure and weather conditions on Scots pine populations. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 11240-11253. https://doi.org/10.1007/s11356- 017-8692-3

Gicquel, M., Esnault, M.-A., Jorrín-Novo, J. V., & Cabello-Hurtado, F. (2011). Application of proteomics

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]

to the assessment of the response to ionising radiation in Arabidopsis thaliana. *Journal of Proteomics*, 74(8), 1364-1377. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.03.025

Hassanzadeh, F., Asghari Zakaria, R., Darvishzadeh, R., & Hosseinpour Azad, N. (2022). Enhanced Expression of Genes Involved in the Biosynthesis Pathway of Tanshinones in Tetraploid Plants of *Salvia Officinalis* L. *Journal of Crop Breeding*, 14(41), 184-193. https://doi:10.52547/jcb.14.41.184 [In Persian]

Hassanzadeh, M., Hosseinpour azad, N., & Zoulfagharpour, F. (2022). The Mutagenic Effects of Environmental Radon Gas Radiation on the Tanshinone Related Metabolites in *Artemisia Absinthium*. *Journal of Crop Breeding*, *14*(41), 129-137. https://doi:10.52547/jcb.14.41.129 [In Persian]

Joiner, M.C., van der Kogel, A.J. and Steel, G.G. (2009) Introduction: The Significance of Radiobiology and Radiotherapy for Cancer Treatment. In: Joiner, M. and van der Kogel, A., Eds., Basic Clinical Radiobiology Fourth Edition, Hodder Arnold Publication, London, 1-10. http://dx.doi.org/10.1201/b13224-2

Madani, H., Escrich, A., Hosseini, B., Sanchez-Muñoz, R., Khojasteh, A., & Palazon, J. (2021). Effect of Polyploidy Induction on Natural Metabolite Production in Medicinal Plants. *Biomolecules*, 11(6), 899. https://doi.org/10.3390/biom11060899

Mu, J., Wang, Y., Wang, M., Zhang, D., & Liu, M. (2023). Identification of reliable reference genes for gene expression studies in mouse models under microplastics stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 252, 114569. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114569

Kirby, J., & Keasling, J. D. (2009). Biosynthesis of plant isoprenoids: perspectives for microbial engineering. *Annual Review of Plant Biology*, 60, 335-355. https://doi: 10.1146/annurev.arplant.043008.091955

Kong, S.-G., & Okajima, K. (2016). Diverse photoreceptors and light responses in plants. *Journal of Plant Research*, 129, 111-114. https://doi 10.1007/s10265-016-0792-5

Lü, X., de la Peña, L., Barker, C., Camphausen, K., & Tofilon, P. J. (2006). Radiation-induced changes in gene expression involve recruitment of existing messenger RNAs to and away from polysomes. *Cancer Research*, 66(2), 1052-1061. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3459

Møller, A. P., & Mousseau, T. A. (2015). Strong effects of ionizing radiation from Chernobyl on mutation rates. *Scientific Reports*, 5(1), 8363. https://doi.org/10.1038/srep08363

Pervan, M., Iwamoto, K. S., & McBride, W. H. (2005). Proteasome structures affected by ionizing radiation. *Molecular Cancer Research*, 3(7), 381-390. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-05-0032

Shabala, S., White, R. G., Djordjevic, M. A., Ruan, Y.-L., & Mathesius, U. (2015). Root-to-shoot signalling: integration of diverse molecules, pathways and functions. *Functional Plant Biology*, 43(2), 87-104. https://doi.org/10.1071/FP15252

Sharopov, F. S., Sulaimonova, V. A., & Setzer, W. N. (2012). Composition of the Essential oil of Artemisia absinthium from Tajikistan. *Records of Natural Products*, 6(2). https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.946.949

Shikanai, T. (2016). Regulatory network of proton motive force: contribution of cyclic electron transport around photosystem I. *Photosynthesis Research*, 129, 253-260. https://doi. org/10.1007/s11120-016-0227-0

Sparrow, A. H., & Miksche, J. P. (1961). Correlation of nuclear volume and DNA content with higher plant tolerance to chronic radiation. *Science*, 134(3474), 282-283. https://doi.org/ 10.1126/science.134.3474.282

Sukhov, V. (2016). Electrical signals as mechanism of photosynthesis regulation in plants. *Photosynthesis Research*, 130, 373-387. https://doi.org/10.1007/s11120-016-0270-x

Sukhov, V., Sherstneva, O., Surova, L., Katicheva, L., & Vodeneev, V. (2014). Proton cellular influx as a probable mechanism of variation potential influence on photosynthesis in pea. *Plant, Cell & Environment*, 37(11), 2532-2541. https://doi.org/10.1111/pce.12321.

Trivigno, D., Bornes, L., Huber, S. M., & Rudner, J. (2013). Regulation of protein translation initiation in response to ionizing radiation. *Radiation Oncology*, 8, 1-12. https://doi.org/10. 1186/1748-717x-8-35

Vanhoudt, N., Horemans, N., Wannijn, J., Nauts, R., Van Hees, M., & Vandenhove, H. (2014). Primary stress responses in Arabidopsis thaliana exposed to gamma radiation. *Journal of Environmental Radioactivity*, 129, 1-6. https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2013.11.011

Vardhan, P. V., & Shukla, L. I. (2017). Gamma irradiation of medicinally important plants and the enhancement of secondary metabolite production. *International Journal of Radiation Biology*, 93(9), 967-979. https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1344788

Vodeneev, V., Akinchits, E., & Sukhov, V. (2015). Variation potential in higher plants: mechanisms of generation and propagation. *Plant Signaling & Behavior*, 10(9), e1057365. https:// doi.org/10.1080/15592324.2015.1057365

Zhang, D., Sun, W., Shi, Y., Wu, L., Zhang, T., & Xiang, L. (2018). Red and blue light promote the accumulation of artemisinin in *Artemisia annua* L. *Molecules*, 23(6), 1329. https://doi.org/10.3390/molecules23061329

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07]

[DOI: 10.61186/jcb.17.1.117]