



Investigation of regulatory elements related to superoxide dismutase enzyme genes in wheat

Armin Saed-Moucheshi¹✉ & Hooshmand Safari²

¹ Research Assistant Professor, Department of Crop and Horticulture Research, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran.

² Assistant Professor, Forests and Rangelands Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: saedmoucheshi@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Wheat, like other plants, uses antioxidant enzymes to deal with the high production of free oxygen radicals. Antioxidant enzymes are proteins or polypeptides that are activated in cooperation with cellular substances or mineral elements and are responsible for detoxifying reactive oxygen species in organisms. Superoxide dismutase (SOD) is an important antioxidant enzyme responding to plants' abiotic stresses. This study was performed to identify significant regulatory elements within the promoter regions of superoxide dismutase genes in the wheat genome.

Materials and methods: To investigate the regulation of gene expression and the effective factors in regulating superoxide dismutase enzyme using bioinformatics methods, the promoter region of Mn-SOD, Cu/Zn-SOD and Fe-SOD genes was investigated. The reason for selecting these genes is their ability to scavenge the free radicals of oxygen in plants. Also, their gene expression pattern are crucial under stressful conditions. In order to perform the promoter analysis of these genes, first, the sequence of the genes encoding this enzyme from wheat was downloaded using the NCBI site. After receiving the desired gene sequence, all three sequences of this gene were searched to find different versions of the SOD gene in the wheat genome against the genomic sequence of this plant that has been identified and reported on this site so far. Each received promoter sequence was analyzed and their regulatory elements were identified. Fifteen genes encoding superoxide dismutase were identified and annotated in different chromosomes of A and D genomes of wheat. Then, the promoter regions of these genes, including 1500 bp upstream sequences, were separated to identify the corresponding regulatory elements. The promoter sequences were analyzed to detect the statistically significant over-represented regulatory elements.

Results: The results showed that various regulatory elements involved in different biochemical pathways might influence wheat's transcription of superoxide dismutase genes. G-Box, I-box, MBS, TGA-element, A-box, ABRE, and ARE, are regulatory elements annotated by individual and grouping promoter analysis. In this study, genes encoding superoxide dismutase were mainly identified on different chromosomes of wheat's A and D genomes. This indicates that these genes were probably transferred from the parents of wheat that had these two main genomes to wheat.

Conclusion: Finally, the analysis showed that the important regulatory elements identified in this pathway could include ABRE, ARE, CCAAT-box, G-Box, Skn-1_motif, and circadian, which respectively have a role in the pathway of response to abscisic acid, and response to other reactions such as aerobic reactions, the binding site of elements related to genes encoding MYB transcription factor, response to light conditions, endosperm expression pathway and the pathway of regulation of periodic light responses. Most of the regulatory elements of these genes are involved in light reactions and environmental stresses, which protect the plant against their injury effects.

Keywords: Promoter, Environmental stress, SOD, Regulatory elements, Wheat.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 11 Jan 2023, Revised: 20 Feb 2023, Accepted: 26 Mar 2023, Published online: 28 Mar 2023

Cite this article: Saed-Moucheshi, A. & Safari, H. (2023). Investigation of regulatory elements related to superoxide dismutase enzyme genes in wheat. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 2 (1), 64-73. DOI: [10.22126/cbb.2023.8692.1034](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.8692.1034)





بررسی عناصر تنظیم کننده ژن های کدکننده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گندم

آرمین ساعدموچشی^۱ و هوشمند صفری^۲

^۱ استادیار پژوهش بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

^۲ استادیار، بخش تحقیقات جنگل ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

✉ نویسنده مسئول: رایانامه: saedmoocheshi@gmail.com

چکیده

مقدمه: گندم نیز مانند سایر گیاهان در مقابله با تولید بالای رادیکال های آزاد اکسیژن از آنزیم های آنتی اکسیدانی جهت تخریب آن ها استفاده می کند. آنزیم های آنتی اکسیدان، پروتئین یا پلی پپتیدهایی هستند که در همکاری با مواد سلولی یا عناصر معدنی فعال شده و در موجودات نقش سمیت زدایی گونه های فعال اکسیژن را بر عهده دارند. سوپراکسید دیسموتاز یکی از آنزیم های آنتی اکسیدانی مهم در پاسخ گیاهان به تنش های غیرزنده است. این پژوهش با هدف بررسی ناحیه پروموتوری مربوط به ژن های رمزکننده سوپراکسید دیسموتاز در ژنوم گندم جهت یافتن عناصر تنظیمی تأثیرگذار بر بیان آن ها انجام شد.

مواد و روش ها: برای بررسی نحوه تنظیم بیان ژن و فاکتورهای مؤثر در تنظیم ژن مربوط به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش های بیوانفورماتیک، بررسی ناحیه پروموتوری در ژن های MnSOD, Cu/Zn-SOD, FeSOD انجام شد. دلیل انتخاب این ژن ها، اهمیت آن ها در کنترل شرایط تنش و حذف رادیکال های آزاد اکسیژن است. همچنین نحوه تنظیم بیان این ژن ها در شرایط تنش بسیار حایز اهمیت است. برای بررسی ناحیه پروموتوری این ژن ها، ابتدا با استفاده از سایت NCBI توالی مربوط به ژن های رمزکننده این آنزیم در گیاه گندم دانلود شد. پس از دریافت توالی ژن های مورد نظر، توالی مربوط به ژن های MnSOD, Cu/Zn-SOD با هدف یافتن نسخه های مختلف ژن SOD در ژنوم گندم در مقابل توالی ژنومی این گیاه که تا زمان نگارش این مقاله در این سایت شناسایی و گزارش شده است، جستجو شد. هر یک از این توالی های پروموتوری دریافت شده مورد بررسی قرار گرفته و عناصر تنظیمی موجود در آن ها مشخص شد. پانزده ژن رمزکننده سوپراکسید دیسموتاز در کروموزم های مختلف ژنوم های A و D گندم شناسایی شدند و سپس ۱۵۰۰ جفت نوکلئوتید از توالی های بالادست به عنوان ناحیه پروموتوری جهت شناسایی عناصر تنظیمی مؤثر و معنی دار از لحاظ آماری بررسی شدند. توالی های جدا شده به صورت تک تک و گروهی تجزیه و تحلیل شده و عناصر تنظیمی آن ها مشخص گردید. بررسی تکی پروموتورها با استفاده از ابزار آنالین در سایت PlantCare و بررسی گروهی نیز با استفاده از سایت RSAT انجام گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که عناصر تنظیمی متنوعی که در مسیرهای بیوشیمیایی مختلف دخالت دارند، می توانند بر میزان بیان ژن های سوپراکسید دیسموتاز در گندم تأثیرگذار باشند. از جمله عناصر تنظیمی که بوسیله آنالیز گروهی و تکی پروموتور شناسایی گردید، می توان G-Box, I-box, MBS, TGA-element, A-box, ABRE ARE را نام برد. در این بررسی ژن های رمزکننده سوپراکسید دیسموتاز اکثراً روی کروموزم های مختلف ژنوم های A و D گندم شناسایی شدند. این، نشان دهنده این است که این ژن ها احتمالاً از والدینی از گندم که دارای این دو ژنوم اصلی بوده اند، به گندم انتقال یافته است.

نتیجه گیری: در نهایت تحلیل ها نشان داد که عناصر تنظیمی مهم شناسایی شده در این مسیر می تواند شامل ARE, ABRE, CCAAT-box, G-Box, Skn-1 motif و circadian باشد که به ترتیب دارای نقش در مسیر پاسخ به آبسزیک اسید، پاسخ به واکنش ها غیر هوزی، مکان اتصال عناصر مربوط به ژن های رمزکننده عامل رونویسی MYB، واکنش به شرایط نوری، مسیر بیانی آندوسپرم و مسیر تنظیم واکنش های دوره ای نور هستند. اکثر عناصر تنظیمی این ژن ها به گونه ای در پاسخ به واکنش های نوری و همچنین تنش های محیطی درگیر بوده و موجب حفاظت از گیاه در برابر آسیب های ناشی از آن می گردند.

واژه های کلیدی: پروموتور، SOD، تنش محیطی، عناصر تنظیمی، گندم.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۱ اصلاح: ۱۴۰۱/۱۲/۰۱ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۰۶، انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۰۱/۰۸

استناد: ساعدموچشی، آ. و صفری، ه. (۱۴۰۲). بررسی عناصر تنظیم کننده ژن های کدکننده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گندم. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات. ۲ (۱)،

DOI: [10.22126/cbb.2023.8692.1034](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.8692.1034) .۷۳-۶۴



مقدمه

مؤثر است (Kliebenstein *et al.*, 1998). پژوهشگران دیگری اعلام کردند که مقدار بیان انواع مختلف سوپراکسید دیسموتاز در تنش‌های مختلف در اکثر گیاهان تا حدودی متفاوت است (Saed-*et al.*, 2002; Alscher *et al.*, 2013). با این حال، مقدار mRNA مربوط به انواع مختلف آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه آرابیدوپسیس در شرایط تنش اکسیداتیو افزایش یافت (Kliebenstein *et al.*, 1998). تنش اشعه UV در چند آزمایش توسط آگراوال و همکاران (Agrawal *et al.*, 2009) مورد بررسی قرار گرفت و تنظیم افزایش ژن‌های مرتبط با سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن را در شرایط اشعه UV-B گزارش کردند. به گزارش آنان، مکانیسم‌های تنظیمی این ژن‌ها در این شرایط، بلافاصله تحت تأثیر تنش قرار گرفته و با افزایش مقدار گونه‌های فعال اکسیژن همراه بوده است که پس از آن با ارسال سیگنال‌های مختلف مولکولی افزایش بیان آن‌ها را در این شرایط به دنبال داشت. پژوهشگران دیگری (Oberoi *et al.*, 2014) تفاوت تنظیم بیان متفاوت را برای اکثر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه نخود گزارش کردند. شوران و همکاران (Sheoran *et al.*, 2018) افزایش بیان قابل ملاحظه را برای آنزیم Mn-SOD در گندم نان در شرایط تنش خشکی گزارش کردند و بیان نمودند که به احتمال قوی، این آنزیم تأثیر زیادی در مقاومت ارقام متحمل گندم به شرایط تنش خشکی دارد.

گندم یکی از مهمترین گیاهان مورد استفاده جهت تغذیه انسان در دنیا می‌باشد که از لحاظ اقتصادی و فرهنگی نیز در بسیاری از کشورها تأثیر بسزایی دارد. امروزه تنش خشکی به صورت معنی‌داری تأثیر منفی بر عملکرد و تولید ناخالص این گیاه در سطح بین‌المللی داشته و بر این اساس، لزوم دستیابی به مکانیسم مقاومت و تحمل این گیاه به شرایط خشکی، بیش از پیش آشکار شده است (Saed-*et al.*, 2022). گندم نیز مانند سایر گیاهان در مقابل با تولید بالای رادیکال‌های آزاد اکسیژن از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جهت تخریب آن‌ها استفاده می‌کند (Tabarzad *et al.*, 2017). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین یا پلی‌پپتیدهایی هستند که در همکاری با مواد سلولی یا عناصر معدنی فعال شده و در موجودات نقش سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن را بر عهده دارند (Saed-Moucheshi *et al.*, 2017; Vosough *et al.*, 2015). برای مثال آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس نوع کوآنزیم آن به سه گروه عمده شامل FeSOD، MnSOD و Cu-ZnSOD تقسیم می‌شود (Alscher *et al.*, 2002). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سایر پروتئین‌ها توسط ژن‌هایی رمز می‌شوند و با تغییرات بیان ژن‌ها، مقدار غلظت و فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یا کاهش می‌یابد. بر این اساس، در آزمایشی نشان داده شد که FeSOD در مسیر تغییرات ژن‌های تنظیم‌کننده ساعت زیستی موجودات زنده

مربوط به Fe-SOD در گندم به صورت نسبی و نه کامل (Complete CDS) در این سایت تا این لحظه شناسایی شده و بنابراین در این بررسی از این توالی نسبی برای آنالیز پروموتور استفاده نشد. پس از دریافت توالی ژن‌های مورد نظر، با استفاده از سایت PlantEnsemble (<http://plants.ensembl.org/index.html>)، هر سه توالی این ژن با هدف یافتن نسخه‌های مختلف ژن SOD در ژنوم گندم در مقابل توالی ژنومی این گیاه که تا این لحظه در این سایت شناسایی و گزارش شده است جستجو شد. در ادامه، توالی‌هایی با مقدار شباهت زیاد (مقدار e-value کمتر از 10^{-11}) انتخاب شدند و سپس هریک برای تعیین کارکرد پروتئین حاصل در سایت NCBI بلاست شدند. سرانجام توالی‌هایی که به صورت قطعی مربوط به ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز بودند انتخاب گردیده و ۱۵۰۰ جفت نوکلئوتید از بالادست آنها جهت بررسی ناحیه پروموتوری مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار ابتدا شماره اولین نوکلئوتید ناحیه شناسایی شده یادداشت گردیده و سپس برای دریافت توالی پروموتوری، از شماره این نوکلئوتید تا ۱۵۰۰ نوکلئوتید بالادست آن دانلود شد.

هر یک از این توالی‌های پروموتوری دریافت شده، در سایت PlantCare

(http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plan_tcare/html) مورد بررسی قرار گرفته و عناصر تنظیمی

جهت بررسی ساختار تنظیم کننده ژن سوپراکسید دیسموتاز در گندم، مطالعه پیش‌رو با استفاده از تحلیل‌های بیوانفورماتیک روی آیزوژن‌های مختلف این ژن در گندم با استفاده از ابزارهای آنلاین PlantCare، PlantEnsemble، NCBI و RSAT انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

آنالیز پروموتور ژن‌های رمزکننده سوپراکسید دیسموتاز

برای بررسی نحوه تنظیم بیان ژن و فاکتورهای مؤثر در تنظیم ژن مربوط به آنزیم SOD، با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک، بررسی ناحیه پروموتوری در ژن‌های Mn-SOD، Cu/Zn-SOD و Fe-SOD انجام شد. دلیل انتخاب این ژن‌ها اهمیت آن‌ها در کنترل شرایط تنش و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. همچنین نحوه تنظیم بیان این ژن‌ها در شرایط تنش بسیار حایز اهمیت است. جهت بررسی توالی پروموتوری ژن‌های سوپراکسید دیسموتاز در گندم، ابتدا با استفاده از سایت NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>) توالی مربوط به ژن‌های رمزکننده این آنزیم شامل Cu/Zn-SOD (Accession number: U69536-1) با شناسه SOD1.1، Mn-SOD (Accession number: U72212.1) با شناسه SOD3.1 و Fe-SOD (Accession number: JX398977) را استخراج کردیم. لازم به ذکر است که توالی

¹ Upstream

موجود در آن‌ها مشخص شد. تک تک ویژگی‌های این عناصر تنظیمی در یک فایل گردآوری شده و سپس بر اساس تعداد این عناصر تنظیمی و عملکرد ویژه آن‌ها، مورد بررسی قرار گرفت. همچنین علاوه بر بررسی تکی توالی‌ها، جهت بررسی گروهی توالی‌های مورد نظر و شناسایی عناصر تنظیمی مهم آن‌ها، از سایت RSAT (<http://rsat.ulb.ac.be/rsat>) استفاده شد. در این سایت نیز همه توالی‌های پروموتوری مورد تجزیه گروهی قرار گرفتند و عناصر تنظیمی مؤثر و معنی‌دار (مقدار e-value بزرگتر از 10^{-11}) از لحاظ آماری بر اساس معیارهای پیش‌فرض این سایت شناسایی شوند.

نتایج و بحث

سوپراکسید دیسموتاز یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان فعال در مسیر سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. این آنزیم در تجزیه سوپراکسید (O_2^-) و تبدیل آن به هیدروژن پراکساید (H_2O_2) در بدن موجودات زنده نقش دارد (Saed-Moucheshi et al., 2014a). بررسی نحوه تنظیم و مقدار بیان ژن رمزکننده این آنزیم در سلول، یکی از راه‌کارهای مهم جهت مطالعه پاسخ مولکولی گیاه برای مقابله با تنش‌های مختلف و از جمله تنش‌های غیرزیستی است (Saed-Moucheshi et al., 2014b). معمولاً در بافت‌ها با افزایش مقدار تنش، مقدار تولید رادیکال‌های آزاد زیاد می‌شود و بنابراین سلول نیز مقدار بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و از جمله سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد (Saed-Moucheshi et al., 2019). برای تنظیم

بیان ژن مربوط به این آنزیم در سلول، مانند سایر ژن‌ها، تعدادی عناصر تنظیمی سیس^۲ در ناحیه پروموتور باید وجود داشته باشند که بر اساس تغییرات داخل سلولی بتوانند بر بیان این ژن تأثیر بگذارند. بیشتر بخش تنظیمی بیان ژن‌های گیاهی در ۱۰۰۰ تا ۱۵۰۰ جفت نوکلئوتید که بالادست جایگاه آغاز رونویسی است قرار دارد و این مکان نقش کلیدی در تنظیم بیان ژن‌ها در مراحل مختلف را دارا است. این عناصر تنظیمی نیز به نوبه خود تحت تأثیر ژن‌های دیگری قرار دارند که از طریق عناصر رونویسی تولید شده توسط آن‌ها تأثیر می‌پذیرند (Saed-Moucheshi et al., 2021). بنابراین ارزیابی ناحیه پروموتوری مربوط به ژن‌های رمزکننده سوپراکسید دیسموتاز در ژنوم گندم جهت یافتن مهم‌ترین عناصر تنظیمی تأثیرگذار بر بیان آن‌ها جهت پی‌بردن به ژن‌ها و فاکتورهای رونویسی مهم در این مسیر، انجام شد.

در بررسی نتایج، ذکر این نکته قابل تأمل است که تاکنون تجزیه و تحلیل ناحیه پروموتوری مربوط به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه گندم گزارش نشده است. در این بررسی، ژن‌های رمزکننده سوپراکسید دیسموتاز اکثراً روی کروموزم‌های مختلف ژنوم‌های A و D گندم شناسایی شدند. این نشان‌دهنده این است که این ژن‌ها احتمالاً از والدینی از گندم که دارای این دو ژنوم اصلی بوده‌اند، به گندم انتقال یافته است. از طرفی در جا به جایی‌های

² Cis-acting elements

اسید، پاسخ به واکنش‌ها غیر هوازی، مکان اتصال عناصر مربوط به ژن‌های رمزکننده عامل رونویسی MYB، واکنش به شرایط نوری، مسیر بیانی آندوسپرم و مسیر تنظیم واکنش‌های دوره‌ای نور می‌باشند. این عناصر معمولاً به صورت حفاظت شده در گونه‌های مختلف گیاهی دیده می‌شوند، با این حال در بعضی موارد تفاوت‌هایی نیز مشاهده گردیده است (Shamloo-Dashtpajardi *et al.*, 2015). همانطور که مشاهده می‌گردد، اکثر این موتیف‌ها به گونه‌ای در پاسخ به شرایط محیطی درگیر هستند و از این‌جا می‌توان نقش مهم این آنزیم را در شرایط تنش‌های محیطی مشاهده کرد (Nakashima *et al.*, 2014; Riasat *et al.*, 2019). با توجه به تعداد تکرار فراوان Skn-1_motif که در مسیر بیان ژن‌های مربوط به آندوسپرم دخالت دارد، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً این آنزیم می‌تواند در دوره جوانه‌زنی بذر گیاه نیز در کنترل واکنش‌های تولید و مصرف انرژی از طریق آندوسپرم مؤثر باشد. آبسزیک اسید نیز یکی از هورمون‌های گیاهی مهم است که در شرایط تنش محیطی باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش مصرف انرژی می‌گردد. موتیف ABRE نیز تحت تأثیر مستقیم مقدار آبسزیک اسید است و بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مقدار این هورمون در گیاه می‌تواند نقش مهمی در تنظیم مقدار بیان این آنزیم در شرایط تنش محیطی داشته باشد. عنصر رونویسی MYB نیز از جمله ژن‌هایی است که در مسیر پاسخ به تنش‌های کم‌بود آب عمل می‌کند. مقدار

کروموزومی یا انتقال کروموزوم در مهندسی ژنتیک، با هدف افزایش مقاومت به تنش با جلا بردن میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان، احتمالاً می‌توان از این دو ژنوم بهره جست. نتایج حاصل از Blast پروموتورها و توالی‌های تنظیمی این ژن‌ها منجر به شناسایی انواع مختلفی از عناصر تنظیمی شد. پرتکرارترین عناصر تنظیمی که در ناحیه پروموتوری بسیاری از این ژن‌ها وجود داشتند، در جدول ۱ آورده شده است. این جدول بر اساس نتایج به دست آمده از بررسی جداگانه و گروهی نواحی پروموتوری این ژن‌ها به دست آمده است. در جدول ۱، موتیف‌هایی که هم با روش آنالیز گروهی حاصل از Blast پروموتورها و توالی‌های تنظیمی و هم با روش جداگانه توسط سایت PlantCare تشخیص داده شده بودند، به صورت ایتالیک نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد، بیشترین تعداد تکرار مربوط به عناصر تنظیمی عمومی CAAT-Box (تکرار ۲۶۸) و TATA-Box (۲۹۴ تکرار) است. این نواحی محل اتصال فاکتورهای رونویسی^۳ و عناصر افزایش رونویسی^۴ عمومی هستند که معمولاً اهمیت آن‌ها در نزدیک‌ترین پروموتور است و در صورت فاصله‌دار بودن آن‌ها از ژن، تأثیرگذار نخواهند بود (Shamloo-Dashtpajardi *et al.*, 2015). از دیگر عناصر تنظیمی مهم شناسایی شده می‌توان ARE، ABRE، ARE، G-Box، CCAAT-box، Skn-1_motif و Circadian را نام برد که به ترتیب دارای نقش در مسیر پاسخ به آبسزیک

³ Transcription Factor

⁴ Enhancer

در مسیرهای بیوشیمیایی دخالت دارند، می‌توانند بر مقدار بیان ژن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تأثیرگذار باشند. اکثر این مسیرها، به گونه‌ای در پاسخ به واکنش‌های نوری و همچنین تنش‌های محیطی درگیر بوده و موجب حفاظت از گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از این تنش‌ها می‌گردند.

بیان این عناصر نیز می‌تواند بر بیان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از طریق عنصر تنظیمی CCAAT-box تأثیرگذار باشد. واکنش‌های نوری نیز با توجه به عناصر تنظیمی مربوطه (G-Box, Sp1, GT1-motif) می‌تواند بر مقدار بیان این ژن تأثیرگذار باشد. به طور کلی مشخص می‌گردد که عناصر تنظیمی فراوانی که

جدول ۱- تعداد فاکتورهای رونویسی (موتیف) موجود در ناحیه پرموتوری ژن‌های SOD در گندم با استفاده از پایگاه PlantCare

Table 1- The number of transcription factors (motifs) present in the promoter region of SOD genes in wheat

P	O	N	M	L	K	J	I	H	G	F	E	D	C	B	A*	کروموزوم	ژن
1	0	0	30	3	1	0	1	1	1	0	1	23	0	4	1	2A	Mn
1	1	2	25	0	4	0	1	1	1	2	2	20	1	4	2	2A	Mn
1	1	0	27	1	4	0	2	1	1	0	2	11	1	1	3	2A	Mn
0	1	0	28	3	3	1	2	1	1	0	1	26	1	2	0	2A	Mn
1	1	2	22	0	3	1	2	1	2	2	1	11	1	2	5	2B	Mn
1	0	4	23	0	3	0	4	2	4	4	1	22	0	4	2	2B	Mn
0	0	1	0	7	6	0	1	0	0	2	2	14	0	1	2	2D	Mn
1	0	4	20	2	3	0	3	1	3	4	1	16	0	3	4	2D	Mn
0	1	0	19	4	2	1	1	0	1	0	0	18	1	1	7	2D	Mn
1	1	3	11	6	2	0	0	1	0	5	1	7	1	0	4	7A	CuZn
0	0	2	30	6	4	2	1	0	1	2	0	9	0	1	5	7A	CuZn
0	1	1	12	1	7	3	1	1	0	1	2	31	1	1	0	7A	CuZn
0	1	0	13	1	4	4	1	0	0	0	1	29	1	1	0	7B	CuZn
7	0	0	26	0	8	0	2	0	0	0	2	16	0	0	9	7B	CuZn
0	0	1	18	7	4	3	1	0	1	1	1	11	0	1	5	7B	CuZn
2	0	0	7	0	1	2	0	0	1	0	0	7	0	0	8	7D	CuZn
0	1	1	20	1	6	4	2	0	0	1	1	21	1	0	0	7D	CuZn

P: Circadian, O: W-box and P: Circadian, I: MBS, J: O2-site, K: Skn-1-motif, L: Sp1, M: TATA-box, N: TGACG-motif, O: W-box and P: Circadian, *A: G-Box, B: ARE, C: Box-W1, D: CAAT-box, E: CAT-Box, F: CGTCA-motif, G: GT1-motif, H: I-box, I: MBS, J: O2-site, K: Skn-1-motif, L: Sp1, M: TATA-box, N: TGACG-motif, O: W-box and P: Circadian.

مختلف ایفا می‌کند. یک بررسی (Wang et al., 2018) روی ویژگی‌های بیان ژن‌های SOD نشان داد که مکانیسم‌های تنظیم بیان ژن‌های SOD در سطوح رونویسی، پس از

SOD نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر اثرات سمی گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در اثر فعالیت متابولیک سلولی طبیعی یا در نتیجه تنش‌های محیطی

مطالعه گیاه توتون ترانسژنیک تولید شد یک ژن برای Cu/Zn SOD در کلروپلاست به آن انتقال داده و باعث افزایش بیان این ژن شدند. گزارش شده است که این گیاهان ۳۰ تا ۵۰ برابر فعالیت SOD بیشتر نسبت به گیاهان شاهد غیر ترانسژنیک را داشتند (Tepperman and Dunsmuir, 1990). در آزمایش دیگری، مقدار بیان ژن Mn-SOD در ژنوتیپ‌های C306 و KAW3717 گندم در شرایط تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت (Sheoran et al., 2018) و مشخص شد که افزایش میزان بیان این ژن به طول قابل ملاحظه‌ای با روند فعالیت آنزیم SOD سازگار است. بر این اساس، این پژوهشگران اعلام کردند که احتمالاً Mn-SOD نقش مهمی در تحمل به خشکی دارد. علاوه بر شرایط تنش، پژوهشگران (Wang et al., 2018) تأکید می‌کنند که بیان ژن‌های مربوط به مسیر سنتز آنزیم SOD در زمان رشد و تقسیم سلولی نیز نقش بسزایی در گیاه بازی می‌کنند. در ارتباط با اهمیت اثر SOD در سول‌های گیاهی در یک پژوهش روی گیاه تربیتیکاله (Zur et al., 2014) مشخص گردید که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش بیان آن‌ها به ویژه SOD نمی‌تواند حتی با افزایش بیان و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی جبران شود. در نهایت تحلیل‌ها نشان داد که عناصر تنظیمی مهم شناسایی شده در این مسیر می‌تواند شامل ARE, ABRE, circadian و Skn-1_motif, G-Box, CCAAT-box باشد که به ترتیب دارای نقش در مسیر پاسخ به آبسزیک

رونویسی، و ترجمه فعال هستند و نقش‌های کاربردی آن‌ها در طول توسعه و در پاسخ به تنش‌های زیستی یا غیرزیستی متمرکز است. یافته‌های یک پژوهش (Zhao et al., 2018) نشان داد که کاهش میزان ROS و میزان مالون دی‌آلدهید در برنج همبستگی معنی‌داری داشت. فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در ارقام حساس برنج در برابر تنش گرمایی بسیار کمتر از ارقام مقاوم بود. در میان انواع مختلف آنزیم‌های SOD, Cu/Zn-SOD به طور قابل توجهی در برنج بیان شده و حساسیت بالایی را نسبت به تنش گرمایی نشان داد، در حالی که Fe-SOD به یانگر ضعیف بودن در سلول‌های برنج و به طور عمده در برگ برنج بود. از این رو، Cu/Zn-SOD ممکن است نقش مهمی در تنظیم فعالیت SOD و سم زدایی ROS در برنج تحت تأثیر گرمایی داشته باشد. گزارش شده که SOD یک آنزیم کلیدی در تنظیم مقادیر ROS داخل سلولی و حفظ شرایط فیزیولوژیکی طبیعی تحت تنش اکسیداتیو است (Mao et al., 2018). بنابراین، افزایش بیان SOD می‌تواند گیاهان را از تنش‌های فیزیکی محافظت کند. تلاش برای دست‌ورزی سطوح Cu/Zn در کلروپلاست‌های گیاهی از طریق انتقال ژن‌های هسته‌ای موفق بوده است، و با این شرایط گیاهان تراریخته با تغییرات بیان در ارتباط با ژن Cu/Zn-SOD حاصل شده است. گزارش شده است که Overexpression ژن‌های SOD در برخی از گیاهان تراریخته توانایی تحمل تنش‌ها (Allen, 1995) افزایش داده است. همچنین در یک

اسید، پاسخ به واکنش‌ها غیر هوازی، مکان اتصال عناصر به شرایط نوری، مسیر بیانی آندوسپرم و مسیر تنظیم
مربوط به ژن‌های رمزکننده عامل رونویسی MYB، واکنش واکنش‌های دوره‌ای نور هستند.

References

- Allen, R.D., 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant physiology* 107, 1049-1065.
- Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S., 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of experimental botany* 53, 1331-1341.
- Kliebenstein, D.J., Monde, R.-A., Last, R.L., 1998. Superoxide dismutase in Arabidopsis: an eclectic enzyme family with disparate regulation and protein localization. *Plant physiology* 118, 637-650.
- Mao, H., Chen, M., Su, Y., Wu, N., Yuan, M., Yuan, S., Brestic, M., Zivcak, M., Zhang, H., Chen, Y., 2018. Comparison on Photosynthesis and Antioxidant Defense Systems in Wheat with Different Ploidy Levels and Octoploid Triticale. *International journal of molecular sciences* 19, 300-306.
- Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., 2014. The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Frontiers in plant science* 5, 170.
- Oberoi, H., Gupta, A., Kaur, S., Singh, I., 2014. Stage specific upregulation of antioxidant defence system in leaves for regulating drought tolerance in chickpea. *Journal of Applied and Natural Science* 6, 326-337.
- Riasat, M., Kiani, S., Saed-Moucheshi, A., Pessarakli, M., 2019. Oxidant related biochemical traits are significant indices in triticale grain yield under drought stress condition. *Journal of Plant Nutrition* 42, 111-126.
- Saed-Moucheshi, A., Heidari, B., Zarei, M., Emam, Y., Pessarakli, M., 2013. Changes in antioxidant enzymes activity and physiological traits of wheat cultivars in response to arbuscular mycorrhizal symbiosis in different water regimes. *Iran Agricultural Research* 31, 35-50.
- Saed-Moucheshi, A., Pakniyat, H., Pirasteh-Anosheh, H., Azooz, M.M., 2014a. Role of ROS as signaling molecules in plants, In: *Oxidative damage to plants*. Elsevier, pp. 585-620.
- Saed-Moucheshi, A., Pessarakli, M., Mikhak, A., Ostovar, P., Ahamadi-Niaz, A., 2017. Investigative approaches associated with plausible chemical and biochemical markers for screening wheat genotypes under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition* 40, 2768-2784.
- Saed-Moucheshi, A., Pessarakli, M., Mozafari, A.A., Sohrabi, F., Moradi, M., Marvasti, F.B., 2022. Screening barley varieties tolerant to drought stress based on tolerant indices. *Journal of Plant Nutrition* 45, 739-750.
- Saed-Moucheshi, A., Razi, H., Dadkhodaie, A., Ghodsi, M., Dastfal, M., 2019. Association of biochemical traits with grain yield in triticale genotypes under normal irrigation and drought stress conditions. *Australian Journal of Crop Science* 13, 272-281.
- Saed-Moucheshi, A., Shekoofa, A., Pessarakli, M., 2014b. Reactive oxygen species (ROS) generation and detoxifying in plants. *Journal of Plant Nutrition* 37, 1573-1585.
- Saed-Moucheshi, A., Sohrabi, F., Fasihfar, E., Baniasadi, F., Riasat, M., Mozafari, A.A., 2021. Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability. *BMC plant biology* 21, 1-19.
- Shamloo-Dashtpajardi, R., Razi, H., Aliakbari, M., Lindlöf, A., Ebrahimi, M., Ebrahimie, E., 2015. A novel pairwise comparison method for in silico discovery of statistically significant cis-regulatory elements in eukaryotic promoter regions: Application to Arabidopsis. *Journal of Theoretical Biology* 364, 364-376.
- Sheoran, S., Thakur, V., Narwal, S., Turan, R., Mamrutha, H., Singh, V., Tiwari, V., Sharma, I., 2018. Differential activity and expression profile of antioxidant enzymes and physiological changes in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought. *Applied biochemistry biotechnology, Agronomy, Society* 179, 1282-1298.

- Tabarzad, A., Ayoubi, B., Riasat, M., Saed-Moucheshi, A., Pessaraki, M., 2017. Perusing biochemical antioxidant enzymes as selection criteria under drought stress in wheat varieties. *Journal of Plant Nutrition* 40, 2413-2420.
- Tepperman, J.M., Dunsmuir, P., 1990. Transformed plants with elevated levels of chloroplastic SOD are not more resistant to superoxide toxicity. *Plant molecular biology* 14, 501-511.
- Vosough, A., Ghouchani, R., Saed-Moucheshi, A., 2015. Genotypic variation and heritability of antioxidant related traits in wheat landraces of Iran. *Biological Forum* 7, 43-47.
- Wang, Y., Mandal, A.K., Son, Y.-O., Pratheeshkumar, P., Wise, J.T., Wang, L., Zhang, Z., Shi, X., Chen, Z.J.T., pharmacology, a., 2018. Roles of ROS, Nrf2, and autophagy in cadmium-carcinogenesis and its prevention by sulforaphane. 353, 23-30.
- Zhao, Q., Zhou, L., Liu, J., Du, X., Huang, F., Pan, G., Cheng, F., 2018. Relationship of ROS accumulation and superoxide dismutase isozymes in developing anther with floret fertility of rice under heat stress. *Plant Physiology Biochemistry* 122, 90-101.
- Żur, I., Dubas, E., Krzewska, M., Janowiak, F., Hura, K., Pocięcha, E., Bączek-Kwinta, R., Płażek, A., 2014. Antioxidant activity and ROS tolerance in triticale (\times *Triticosecale* Wittm.) anthers affect the efficiency of microspore embryogenesis. *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 119, 79-94.