

مطالعه اثر تنش‌های شوری و اسمزی بر واکنش بیوشیمیایی گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.) و ارزیابی بیوانفورماتیک خانواده ژنی SOD

مصطفی حق‌پناه^۱، اسماعیل بخشنده^{۲*} و سید حمیدرضا هاشمی پطودی^۲

^۱ مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کهگیلویه و بویراحمد، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گچساران، ایران
^۲ پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۸/۲۹)

چکیده

کنجد از مهم‌ترین دانه‌های روغنی مورد استفاده انسان است که بخش قابل‌توجهی از تولید روغن با کیفیت جهان را به خود اختصاص می‌دهد. در این مطالعه اثر مقادیر مشابه تنش شوری (حاصل از NaCl) و اسمزی (حاصل از PEG600) بر واکنش بیوشیمیایی گیاه کنجد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که الگوی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پراکسیداز (POD) ها به‌طور نسبتاً مشابه تحت تأثیر این تنش‌ها قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم POD در دو بافت ریشه و اندام‌هوایی در هر دو تنش مشابه بود. میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و APX در هر دو بافت در تنش شوری بیشتر از تنش اسمزی بود. فعالیت آنزیم CAT در بافت ریشه بیشتر تحت تأثیر تنش شوری نسبت به تنش اسمزی بود، درحالی‌که در اندام‌هوایی بیشتر تحت تأثیر تنش اسمزی نسبت به تنش شوری بود. در بافت ریشه از نظر تجمع مالون دآلدئید (MDA) اختلاف آماری مشاهده نشد ولی در اندام‌هوایی بیشترین مقدار تجمع MDA در تنش شوری مشاهده شد. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک خانواده ژنی SiSOD نشان داد که این خانواده ژنی در سه کلاستر و در دو خوشه بزرگ طبقه‌بندی شدند. ژن‌های متعلق به خوشه اول دارای ناحیه CU/ZN-SOD و ژن‌های خوشه دوم دارای ناحیه Mn/Fe-SOD بودند. در مجموع، یافته‌های این بررسی حاکی از تأثیر شدیدتر تنش شوری به واسطه ایجاد فشار اسمزی و یونی نسبت به تنش اسمزی تنها بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت واکنش سیستم دفاعی کنجد به این دو تنش، نسبتاً متفاوت است.

واژه‌های کلیدی: پلی‌اتیلن گلیکول، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کشت هیدروپونیک

مقدمه

غذایی قابل ملاحظه‌ای است (Wei et al., 2022). این گیاه یک محصول روز کوتاه می‌باشد که در مناطق نیمه‌گرمسیری نظیر آسیای مرکزی و شمال آفریقا بطور گسترده کشت می‌شود. تولید سالانه این محصول در جهان ۶/۳ میلیون تن است

کنجد (*Sesamum indicum* L.)، از خانواده Pedaliaceae، یکی از اولین دانه‌های روغنی مورد استفاده انسان است. دانه کنجد سرشار از پروتئین و لیپید بوده و برای انسان دارای ارزش

فرآیندهای متابولیکی مربوط با انواع مختلف تنش‌ها دیده می‌شود که می‌توانند آسیب جبران‌ناپذیری به سلول‌ها وارد کند. بنابراین، تعادل مناسب بین تولید ROS و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان برای بقای گیاه در شرایط تنش محیطی بسیار مهم است (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). در مطالعات گوناگون مشاهده شده است که فعالیت این آنزیم تحت شرایط تنش در گیاهان ذرت (Carrasco-Rios and Pinto, 2014) و کنجد (Wang *et al.*, 2020) افزایش می‌یابد.

فناوری توالی‌یابی نسل بعد (NGS) با ارائه توالی‌های ژنوم مرجع که تحقیقات گسترده ژنوم را در مورد عملکرد و بیان ژن و سازماندهی ژنومی امکان‌پذیر می‌سازد، زیست‌شناسی را متحول کرد (Hashemipetroudi and Bakhshandeh, 2020). بیوانفورماتیک نیز به‌عنوان علمی است که با استفاده از محاسبات پیچیده مبتنی بر رایانه، داده‌های بیولوژیکی را جمع‌آوری، ذخیره، تجزیه و تحلیل می‌کند. یکی از کاربردهای بیوانفورماتیک در زمینه ژنتیک، شناسایی و مطالعه خانواده‌های ژنی مرتبط با عملکردهای مختلف سلول‌ها و بافت‌ها می‌باشد. ایزوفرم‌های متمایز SODها شناسایی، شبیه‌سازی و در گونه‌های مختلف گیاهی توصیف شده‌اند. به عنوان مثال، یک بررسی گسترده ژنومی از توالی کل‌کننده SOD در ژنوم برنج و آرآیدوپسیس، هشت ژن *OsSOD* و نه ژن *AtSODs* را شناسایی کرده است که مشخصات بیان *AtSODs* را در مراحل مختلف رشد رویشی و زایشی تغییر می‌دادند (Yadav *et al.*, 2019). با این حال، سه گروه از ایزوآنزیم‌های SOD با کوفاکتورهای فلزی مختلف، از جمله آهن (Fe-SOD)، منگنز (Mn-SOD) و مس/روی (Cu/Zn-SOD)، با محلی‌سازی (Localization) مختلف درون سلولی گزارش شده‌اند (Hashemipetroudi and Bakhshandeh, 2020). علی‌رغم اینکه مطالعات متعددی در خصوص واکنش سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه به تنش‌های شوری و اسمزی انجام شده است ولی مطالعات اندکی به مقایسه تأثیر این دو تنش بر فعالیت‌های آنزیم‌های مرتبط با مسیر آنتی‌اکسیدان پرداخته‌اند. از این‌رو هدف از این تحقیق، بررسی تغییر فعالیت آنزیم‌های

(FAO, 2021). براساس آمارنامه جهاد کشاورزی (۱۴۰۰) سطح زیرکشت این محصول در ایران حدود ۳۷۵۵۹ هکتار با تولید سالانه بیش از ۳۷/۵ هزار تن است.

خشکی و شوری دو تنش غیرزیستی مهم بوده که باعث کاهش قابل‌توجه تولید محصولات زراعی می‌شوند. این تنش‌ها از طریق سازوکارهای گوناگون بر رشد گیاه اثر می‌گذارند که برخی از این اثرات در بین این تنش‌ها مشترک است. به عنوان مثال، تنش خشکی باعث ایجاد تنش‌های اسمزی و اکسیداتیو شده در حالی که تنش شوری سبب بروز تنش‌های اسمزی، اکسیداتیو و یونی در گیاه می‌شود (Hoque *et al.*, 2023). تنش اسمزی می‌تواند اثرات مختلفی، از جمله تغییر در پارامترهای تبادل گاز، محتوای کلروفیل، ریخت‌شناسی گیاهچه، وضعیت آب، پتانسیل اسمزی، محتوای لیپید و محتوای املاح سازگار روی گیاهان داشته باشد (Marcinska *et al.*, 2013). همچنین، گیاهان از طریق سازوکارهای مختلفی مانند تجمع پرولین (Chun *et al.*, 2018)، تغییر در متابولیسم کربن و تنظیم رویکردهای مبارزه با تنش مانند تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به تنش اسمزی پاسخ می‌دهند. از سوی دیگر، مطالعات در خصوص تأثیر تنش شوری بر گیاهان نشان داد که تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، همچنین افزایش تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و مالون دی‌آلدید (MDA) می‌شود (Wang *et al.*, 2022). نتایج مشابهی توسط شهبازی و همکاران (۱۴۰۰) ارائه شد که حاکی از افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، گایاکل پروکسیداز (POD) گیاه کنجد تحت تنش شوری است.

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) محصولات جانبی متابولیسم طبیعی اکسیژن در سلول هستند. ROS در علامت‌دهی و هم‌ایستایی سلولی نقش دارد و حفظ سطح پایه ROS در سلول‌ها برای زندگی ضروری است. با این حال، تجمع بیش از حد ROS می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو و اثرات مخرب بعدی در گیاهان شود (Mittler, 2017). تجمع ROS در

۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس از فاز رویی به عنوان عصاره آنزیمی جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. لازم به ذکر است برای بررسی فعالیت آنزیم APX به بافر فسفات پتاسیم مقدار ۵ درصد PVP و ۲ میلی‌مولار آسکوربات اضافه گردید. برآورد میزان پروتئین استخراج شده با استفاده از روش بردفورد و منحنی استاندارد آلومین سرم گاوی در طول موج ۵۳۵ نانومتر ($R^2=0.98$, $Y=0.019X+0.027$) انجام گرفت (Bradford, 1976). از مقدار پروتئین استخراج شده جهت تصحیح میزان فعالیت آنزیمی استفاده شد.

فعالیت آنزیم SOD: مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر، ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (دارای EDTA ۰/۱ میلی‌مولار)، ربیوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار و NBT (Nitroblue tetrazolium) ۱۳ میلی‌مولار بود. به یک لوله آزمایش تمامی مواد واکنش به غیر از عصاره آنزیمی افزوده شد و به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تمامی لوله‌های آزمایش به مدت سه دقیقه در معرض نور شدید (سفید حدود ۱۲ هزار لوکس) قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد و از نمونه شاهد جهت تخمین میزان فعالیت آنزیم طبق رابطه ذیل استفاده شد:

$$\frac{U}{ml} = \left(\frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 0.5 \right) \times 100$$

فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده ثبت کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر بررسی شد (Aebi, 1984). اجزا واکنش شامل ۲/۴۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۰/۵ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. پس از اضافه کردن H_2O_2 ، واکنش آغاز و کاهش جذب ۲۴۰ نانومتر در بازه زمانی سه دقیقه (هر ۳۰ ثانیه) اندازه‌گیری شد. از تفاضل اولین جذب با آخرین جذب میزان تخریب H_2O_2 برآورد شد.

فعالیت آسکوربات پراکسیداز: مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) ۲۵۰ میکرولیتر، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات یک میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن یک میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر

کلیدی مسیر ROS در اندام هوایی و ریشه گیاه کنگد تحت فشار اسمزی یکسان حاصل از کلرید سدیم (شوری) و PEG6000 (اسمزی) و بررسی بیوانفورماتیکی خانواده ژنی *SiSOD* در کنگد بود.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد گیاه، اعمال تنش و نمونه‌برداری: بذرهای گیاه کنگد (*Sesamum indicum* L.) رقم یلوایت (Yellow White) که از ارقام مهم تجاری کنگد در ایران می‌باشد از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیه شد. ابتدا بذرها در حوله کاغذی (روش ساندویچ) جوانه‌دار شدند. در این مرحله، از آب مقطر حاوی قارچ‌کش کربوکسیل تیرام به نسبت دو در هزار برای جلوگیری از آلودگی استفاده گردید. سپس گیاهچه‌ها ۱۰ روزه به گلدان‌های کشت هیدروپونیک در محلول هوگلند تحت شرایط کنترل‌شده (دما $25 \pm$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ درصد، دوره روشنایی ۱۶ ساعت در روز و شدت نور ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه منتقل شدند. ۳۵ روز بعد از رشد، تنش‌های شوری و اسمزی به صورت مستقل از هم و در بسترهای مجزا اعمال شدند. برای تنش شوری از محلول هوگلند با پتانسیل ۰/۵- مگاپاسکال (حاصل از کلرید سدیم (NaCl)؛ ۱۱۵ میلی‌مولار معادل ۶/۷ گرم در لیتر) و برای تنش اسمزی از محلول هوگلند با پتانسیل ۰/۵- مگاپاسکال (حاصل از پلی‌اتیلن گلیکول (PEG6000)؛ ۲۰۰ گرم در لیتر) استفاده شد. به گیاهان شاهد تنشی داده نشد. نمونه‌برداری (اندام هوایی و ریشه به صورت مجزا) در دوره‌های زمانی ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش انجام گرفت. برای مطالعات بعدی نمونه‌ها بلافاصله به فریزر ۸۰- منتقل شدند.

استخراج پروتئین: مقدار ۰/۱ گرم بافت ریشه و اندام هوایی گیاه کنگد با استفاده از ازت مایع پودر شد و سپس به آن ۱۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم سرد (pH ۷/۵) همراه با PVP (Polyvinylpyrrolidone) یک درصد افزوده شد. مخلوط مذکور به مدت ۲۰ دقیقه با نیروی ۱۲۰۰۰ g در دمای

اختصاصی بررسی نواحی پروتئینی یعنی Pfam, Hmmscan, SMART, InterProScan و Prosite بررسی و مورد تأیید قرار گرفت (Letunic and Bork, 2018). وزن مولکولی (kDa) و نقطه ایزوالکتریک (Ip) پروتئین‌های CBL با استفاده از نرم‌افزار ProtParam موجود در پایگاه اطلاعاتی Expasy محاسبه شد. مکان‌یابی درون سلولی پروتئین‌ها با استفاده از برنامه WoLF PSORT پیش‌بینی شد. در پایگاه Expasy-Prosite ساختار دمین شناسایی و ترسیم شد (Sigrist et al., 2012). در برنامه MEME موتیف‌های حفاظت‌شده، با پارامترهای تعیین‌شده، شناسایی شدند (Bailey et al., 2009). پیش‌بینی جایگاه‌های مرتبط با تغییرات پس از ترجمه palmitoylation و Myristoylation به‌ترتیب با استفاده از نرم‌افزار CSS-Palm 3.0 و PlantsP صورت گرفت.

شناسایی ساختار ژنی و روابط فیلوژنتیکی SiSOD: با استفاده از برنامه GSDS شناسایی ساختار ژنی گیاه کنجد انجام گرفت. از نرم‌افزار ClustalW به منظور هم‌ردیفی توالی‌های پروتئینی CBL استفاده شد و درخت فیلوژنتیک آن‌ها براساس روش اتصال همسایه و با انجام آزمون Bootstrap با ۱۰۰۰ تکرار توسط نرم‌افزار فیلوژنتیکی MEGA 6.0 ترسیم شد (Tamura et al., 2013).

پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای اصلی این تجزیه و تحلیل شامل عوامل تنش و زمان‌های نمونه‌برداری بودند. تجزیه واریانس صفت MDA به دلیل اینکه تنها در بازه زمانی ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش نمونه‌برداری شد به‌صورت کاملاً تصادفی انجام شد. لازم به ذکر است صفات در اندام هوایی و ریشه بصورت مجزا تجزیه و تحلیل شد. آزمون نرمال‌بودن داده‌ها براساس آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro-Wilk Test) انجام شد. داده‌های نرمال مورد تجزیه و تحلیل ANOVA قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از حداقل آزمون اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام شد. نرم‌افزارهای آماری مورد استفاده در این تحقیق شامل SAS ver. 9.1 (SAS Institute, Cary, NC) و Excel

عصاره آنزیمی بود. کاهش میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر طی یک دقیقه هر ۱۵ ثانیه ثبت شد (Nakano and Asada, 1987).
فعالیت آنزیم پراکسیداز: محلول واکنش جهت برآورد میزان فعالیت آنزیم POD شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر گایاکل ۵ میلی‌مولار بود. پس از افزودن عصاره آنزیم، میزان افزایش طی دو دقیقه (هر ۳۰ ثانیه) جذب در ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (Tang and Newton, 2005).

تجمع پراکسیداسیون لیپید: استخراج مالون دی‌آلدئید (MDA) اندام هوایی و ریشه گیاه کنجد با استفاده از محلول تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد انجام شد. بدین منظور، مقدار ۰/۲ گرم از بافت پودر شده در ازت مایع با مقدار ۱۸۰۰ میکرولیتر محلول TCA هم‌وزن شد. پس از سانتریفیوژ ۱۲۰۰۰g از فاز مایع جهت برآورد میزان MDA استفاده شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از فاز روایی با ۲ میلی‌لیتر محلول (TCA) ۲۰ درصد + TBA (اسید تیویاریبیتوئیک) ۰/۵ درصد مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. نمونه‌ها پس از سرد شدن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها در دو طول‌موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. از تفاضل بین جذب در دو طول‌موج مذکور و استفاده از ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ مقدار MDA بدست آمد (Ohkawa et al., 1979).

مطالعه بیان‌روماتیک خانواده ژنی SOD در گیاه کنجد:

برای شناسایی اعضای خانواده ژنی SOD گیاه کنجد نخست توالی‌های ژنومی، پروتئینی و CDS (Transcription Factor) ژن‌های خانواده SOD در کنجد، از پایگاه ژنوم NCBI دریافت شد. برای شناسایی ژن‌های همولوگ SOD در گیاه کنجد (SiSOD)، ابتدا توالی‌های پروتئینی خانواده ژنی SOD گیاه *Arabidopsis thaliana* (*AtSOD*) به‌عنوان گیاه مدل از سایت Tair اخذ و در ادامه با استفاده از این توالی، جستجوی با ابزار Local BLASTp در توالی پروتئین گیاه کنجد صورت گرفت. نواحی (Domain) این خانواده ژنی به‌ترتیب در پایگاه‌های

ver. 2013 بود.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده اعمال تنش (اسمزی و شوری)، زمان (۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش) و اثر متقابل تنش \times زمان در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، APX و POD در اندام هوایی و ریشه گیاه کنگد معنی‌دار بود (جدول ۱).

فعالیت آنزیم SOD: نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات ساده در اندام هوایی و ریشه گیاه کنگد نشان داد که فعالیت آنزیم SOD تحت تنش شوری و اسمزی نسبت به شرایط بدون تنش (شاهد) افزایش معنی‌داری داشته است (شکل ۱). بررسی اثرات متقابل نشان داد که فعالیت آنزیم SOD در اندام هوایی گیاه کنگد در ۶ و ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش اسمزی به ترتیب به مقدار ۳۳/۳ و ۳۰/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت ولی پس از ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری بین این نمونه‌ها با نمونه‌های شاهد مشاهده نشد. با این حال ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش مقدار فعالیت آنزیم مذکور به مقدار ۱/۳۲ برابر بیشتر از شاهد افزایش یافت و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش نیز اختلاف معنی‌داری بین تیمار اسمزی و شاهد وجود نداشت. فعالیت آنزیم SOD تحت تأثیر تنش شوری در بازه زمانی ۶ ساعت پس از اعمال تنش به شدت افزایش یافت (۱/۶۷ برابر بیشتر از شاهد) ولی پس از آن به تدریج فعالیت این آنزیم کاهش یافت به نحوی که در بازه‌های زمانی ۲۴ تا ۹۶ ساعت اختلاف معنی‌داری بین این نمونه و شاهد مشاهده نشد (شکل ۱a).

نتایج تجزیه و تحلیل اثرات متقابل برای فعالیت آنزیم SOD در ریشه گیاه کنگد نشان داد که اعمال تنش اسمزی سبب افزایش فعالیت آنزیم مذکور در دو بازه زمانی ۶ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش شد به نحوی که در بازه‌های زمانی مذکور فعالیت آنزیم SOD به ترتیب به مقدار ۱۵/۸۳ و ۲/۲ برابر بیشتر از شاهد برآورد شد. الگوی تغییر فعالیت آنزیم SOD پس از اعمال تیمار شوری نیز نتایج مشابه‌ای را نشان داد

به نحوی که ۶ ساعت پس از اعمال تنش فعالیت آنزیم مذکور به مقدار ۱/۵۷ برابر بیشتر از شاهد افزایش یافت و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش به حداکثر مقدار فعالیت ($3/87 \text{ U. mgProtein}^{-1}$) برابر ۳/۳ برابر بیشتر از شاهد رسید (شکل ۱b).

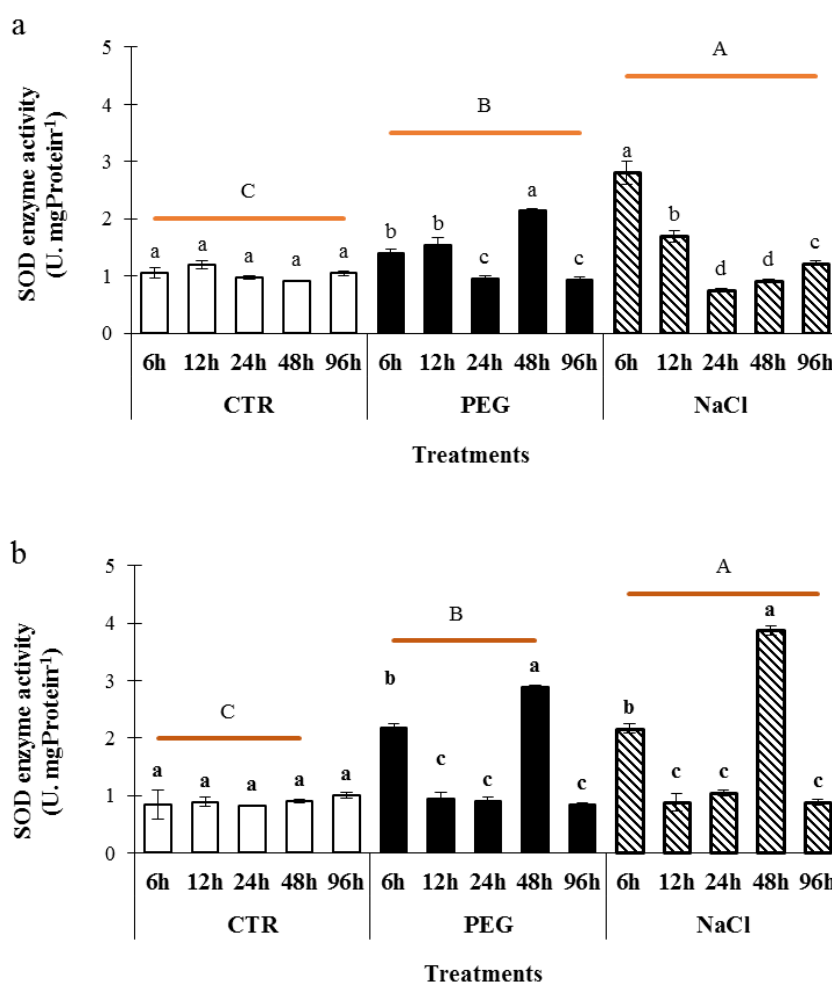
فعالیت آنزیم CAT: مقایسه میانگین‌های اثرات ساده تنش بر اندام هوایی کنگد حاکی از افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم CAT تحت تنش اسمزی نسبت به هر دو شرایط تنش شوری و شاهد بود. همچنین فعالیت آنزیم مذکور تحت تنش شوری نسبت به شرایط بدون تنش (شاهد) افزایش معنی‌دار نشان داد. فعالیت آنزیم CAT در ریشه گیاه کنگد تحت تأثیر تنش شوری نسبت به شرایط تنش اسمزی و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. همچنین اعمال تنش اسمزی نیز سبب افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به شرایط بدون تنش (شاهد) شد (شکل ۲). مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل فعالیت آنزیم CAT در اندام هوایی گیاه کنگد نشان داد که اعمال تنش اسمزی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در بازه‌های زمانی ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش شد به نحوی که بیشترین افزایش میزان فعالیت آنزیم CAT در بازه‌های ۶ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش به ترتیب به مقدار ۸/۱۵ و $7/93 \text{ U. mgProtein min}^{-1}$ (به ترتیب به مقدار ۱۵۳۷ و ۱۱۱۶ درصد بیش از شاهد) مشاهده شد. اعمال تنش شوری نیز سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در اندام‌های هوایی گیاه کنگد در بازه‌های زمانی ۶، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش شد که به ترتیب به مقدار ۸۰۵، ۲۸۷، ۹۷۰ و ۱۳۷ درصد بیش‌تر از شاهد بود (شکل ۲a).

آنالیز اثرات متقابل برای فعالیت آنزیم CAT در ریشه گیاه کنگد نشان داد که تحت تأثیر اعمال تنش اسمزی در تمامی بازه‌های زمانی مطالعه‌شده به غیر از ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش به طور معنی‌داری افزایش یافت به نحوی که در ابتدا در بازه‌های ۶ و ۱۲ ساعت پس از اعمال تیمار به ترتیب مقدار ۷/۴ و ۳/۰۴ برابر بیش‌تر از شاهد افزایش یافت و سپس در بازه‌های زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به ترتیب به مقدار

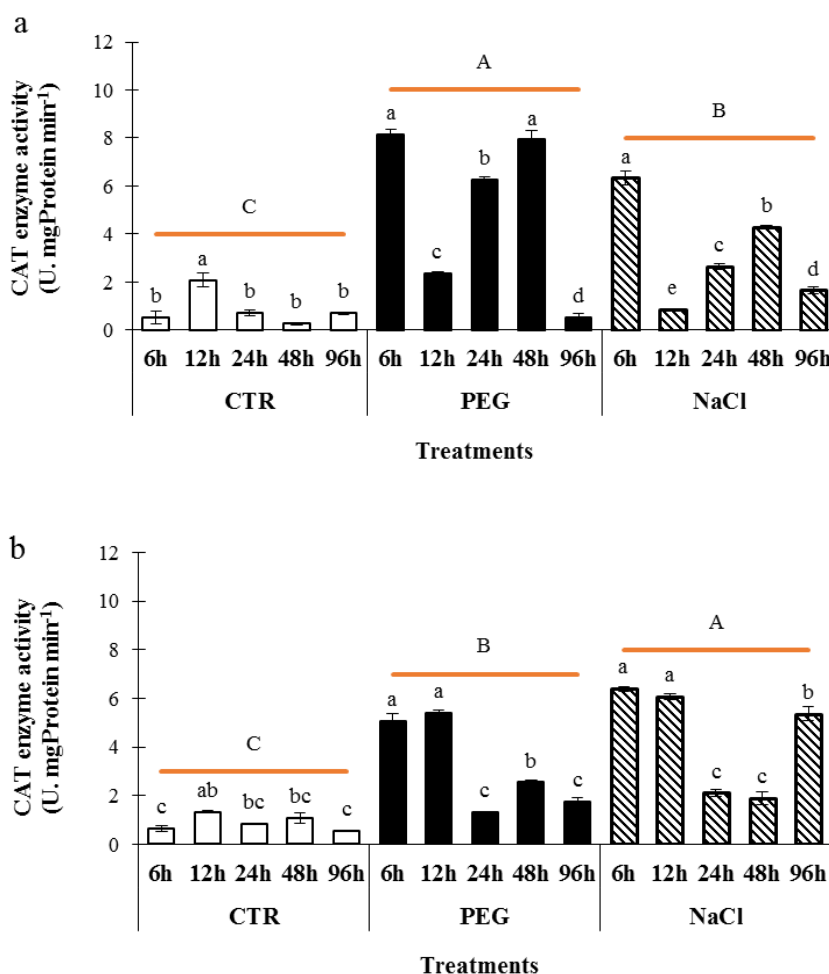
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش شوری و اسمزی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پروکسیداز (APX) و پروکسیداز (POD) در اندام‌هوایی و ریشه گیاه کنجد

میانگین مربعات ریشه				میانگین مربعات اندام‌هوایی				درجه آزادی	منابع تغییرات
POD	APX	SOD	CAT	POD	APX	SOD	CAT		
۷۳۷۳/۴**	۳۴۶۹۶/۳**	۳/۱۴**	۴۷/۲**	۱۶۲۲/۳**	۶۴۰۴/۲**	۰/۸۲**	۶۵/۸**	۲	تنش
۱۳۴۱۹/۸**	۸۷۶۳/۸**	۴/۷۹**	۱۴/۸**	۱۰۸۶/۸**	۴۰۲۴/۷**	۱/۰۲**	۲۴/۹**	۴	زمان
۳۴۰۹/۴**	۳۶۴۹/۳**	۱/۳۹**	۵/۴**	۹۷۰/۸**	۶۸۱/۹**	۰/۹**	۱۳/۱**	۸	تنش × زمان
۵۶/۳	۱۶۶/۷	۰/۰۳	۰/۰۸	۸/۶	۱۱/۳	۰/۰۱	۰/۱۱	۳۰	خطا
۱۷/۹	۱۱	۱۱/۶	۱۰/۲	۱۱/۳	۶/۹	۸	۱۰/۹		ضرب تغییرات (%)

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد



شکل ۱- تأثیر تنش اسمزی (PEG) و شوری (NaCl) بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در بافت‌های اندام‌هوایی (a) و ریشه (b) گیاه کنجد طی بازه‌های مختلف (۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) پس از اعمال تنش. CTR نشان‌دهنده تیمار شاهد در بازه‌های زمانی مختلف است. مقایسه میانگین‌های اثرات ساده بین تنش‌ها با حروف لاتین بزرگ نشان داده شده است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها با استفاده از آزمون LSD ($P < 0.01$) است.



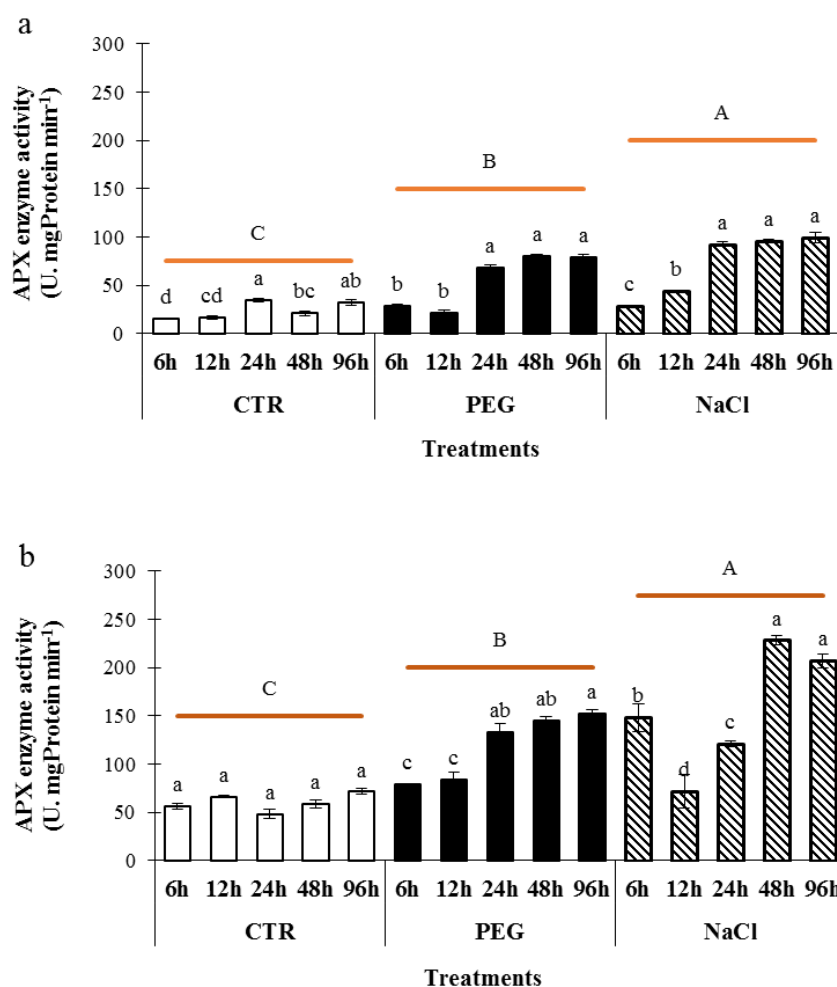
شکل ۲- تأثیر تنش اسمزی (PEG) و شوری (NaCl) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در بافت‌های اندام هوایی (a) و ریشه (b) گیاه کنجد طی بازه‌های مختلف (۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) پس از اعمال تنش. CTR نشان‌دهنده تیمار شاهد در بازه‌های زمانی مختلف است. مقایسه میانگین‌های اثرات ساده بین تنش‌ها با حروف بزرگ لاتین نشان داده شده است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها با استفاده از آزمون LSD ($P < 0.01$) است.

شرایط بدون تنش (شاهد) افزایش یافت، به طوری که فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری نسبت به شرایط تنش اسمزی افزایش بیشتری داشت (شکل ۳).

فعالیت آنزیم APX در اندام هوایی تحت تنش‌های اسمزی و شوری در مقایسه با شاهد در تمامی بازه‌های زمانی مورد مطالعه به طور معنی‌داری افزایش نشان داد. تحت تنش اسمزی در بازه‌های زمانی ۶ و ۱۲ ساعت فعالیت آنزیم APX به ترتیب به مقدار ۸۵ و ۲۸ درصد بیش‌تر از شاهد بود و در بازه‌های زمانی بعدی به طور معنی‌داری افزایش یافت و به ترتیب به مقدار ۹۹، ۲۸۱ و ۱۴۵ درصد بیش‌تر از شاهد رسید. فعالیت

۱/۳۹ و ۲/۲۸ برابر بیش‌تر از شاهد رسید. فعالیت این آنزیم در ریشه گیاه کنجد تحت تنش شوری در تمامی بازه‌های نمونه‌برداری افزایش معنی‌دار نشان داد. در بازه‌های زمانی ۶ و ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش فعالیت آنزیم مذکور به مقدار ۱۰/۱۴ و ۴/۵۶ برابر بیش‌تر از شاهد افزایش یافت ولی در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش کاهش یافت و در نهایت در ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به مقدار ۹/۱۳ برابر بیش‌تر از شاهد افزایش یافت (شکل ۲b).

فعالیت آنزیم APX: تأثیر تنش‌های اسمزی و شوری بر فعالیت آنزیم APX در ریشه و اندام هوایی کنجد نسبت به

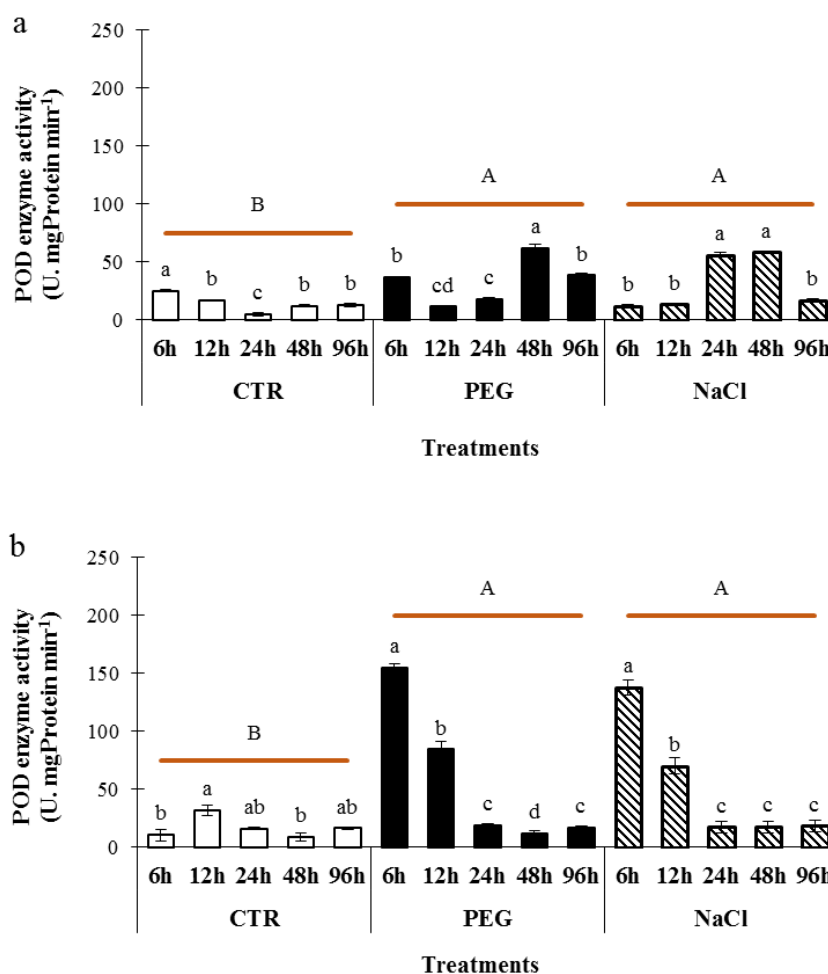


شکل ۳- تأثیر تنش اسمزی (PEG) و شوری (NaCl) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز (APX) در بافت‌های اندام هوایی (a) و ریشه (b) گیاه کنجد طی بازه‌های مختلف (۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) پس از اعمال تنش. CTR نشان‌دهنده تیمار شاهد در بازه‌های زمانی مختلف است. مقایسه میانگین‌های اثرات ساده بین تنش‌ها با حروف بزرگ لاتین نشان داده شده است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها با استفاده از آزمون LSD ($P < 0.01$) است.

بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به ترتیب به مقدار ۱/۷۶، ۱/۴۹ و ۱/۱۳ برابر بیشتر از شاهد شد. این درحالی است که فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری در بازه زمانی ۶ ساعت پس از اعمال تنش نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت (۱/۱۷ برابر بیشتر از شاهد). با این حال در بازه زمانی ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش اختلاف معنی‌دار بین تیمار تنش شوری و شاهد مشاهده نشد. در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش فعالیت آنزیم مذکور تحت تأثیر این تنش نسبت به قبل افزایش یافت و به مقدار ۵۴ درصد نسبت به شاهد رسید و سپس در بازه زمانی ۴۸ ساعت پس از اعمال

آنزیم APX تحت تنش شوری در بازه‌های زمانی ۶ و ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش به ترتیب به مقدار ۸۵ و ۱۴۳ درصد بیش‌تر از شاهد بود ولی در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش به مقدار ۱۷۰ درصد بیش‌تر از شاهد افزایش یافت. همچنین در بازه زمانی ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش فعالیت این آنزیم به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (به ترتیب به مقدار ۳/۵۵ و ۲/۰۷ برابر بیش‌تر از شاهد افزایش یافت (شکل ۳a)).

نتایج مشابهی در فعالیت آنزیم APX ریشه گیاه کنجد مشاهده شد. تنش اسمزی سبب افزایش فعالیت این آنزیم در



شکل ۴- تأثیر تنش اسمزی (PEG) و شوری (NaCl) بر میزان فعالیت پراکسیداز (POD) در بافت‌های اندام هوایی (a) و ریشه (b) گیاه کنجد طی بازه‌های مختلف (۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) پس از اعمال تنش. CTR نشان‌دهنده تیمار شاهد در بازه‌های زمانی مختلف است. مقایسه میانگین‌های اثرات ساده بین تنش‌ها با حروف بزرگ لاتین نشان داده شده است. حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها با استفاده از آزمون LSD ($P < 0.01$) است.

اسمزی، فعالیت آنزیم مذکور در بازه‌های زمانی ۶، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به‌ترتیب به مقدار ۴۵/۶۲، ۲۳۸/۴، ۴۲۲/۷ و ۲۰۴/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. درحالی‌که، فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری نیز در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش به‌ترتیب به مقدار ۱۱۱۶/۷ و ۳۹۶ درصد بیشتر از شاهد بود (شکل ۴a).

حداکثر فعالیت آنزیم POD ($154/9 \text{ U. mgprotein min}^{-1}$) در بافت ریشه ۶ ساعت پس از اعمال تنش اسمزی مشاهده شد که بیش از ۱۴ برابر بیشتر از شاهد بود. فعالیت این آنزیم در بازه زمانی ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش اسمزی نیز به طور

تنش حداکثر فعالیت این آنزیم ($228/49 \text{ U. mgProtein min}^{-1}$) معادل ۱/۱۷ برابر بیشتر از شاهد) مشاهده شد. در بازه زمانی ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش نیز فعالیت آنزیم مذکور به طور معنی‌داری (۸۹ درصد بیشتر از شاهد) بیش‌تر از شاهد برآورد شد (شکل ۳b).

فعالیت آنزیم POD: مشابه فعالیت سایر آنزیم‌ها، فعالیت آنزیم POD تحت تأثیر تنش اسمزی و شوری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت، با این حال اختلاف معنی‌داری بین تنش اسمزی و شوری مشاهده نشد (شکل ۴). فعالیت آنزیم POD در اندام‌هوایی گیاه کنجد نشان داد که تحت تأثیر تنش

معنی داری (۱/۶۸ برابر بیشتر از شاهد) نسبت به شاهد افزایش یافت. با این حال تغییرات معنی داری در فعالیت آنزیم مذکور تحت تأثیر تنش اسمزی در بازه‌های زمانی بعدی (۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش) مشاهده نشد. بررسی فعالیت آنزیم POD تحت تنش شوری نیز نشان داد که در بازه‌های زمانی اولیه پس از اعمال تنش (۶ و ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش) فعالیت این آنزیم به ترتیب به مقدار ۱۲/۳۵ و ۱/۲۲ برابر بیشتر از شاهد افزایش یافت و در بازه‌های زمانی بعدی (۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش) اختلاف معنی داری نسبت به شاهد مشاهده نشد (شکل ۴b).

پراکسیداسیون لیپید غشایی: شاخص تجمع MDA جهت برآورد میزان خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش‌های شوری و اسمزی (۹۶ ساعت پس از اعمال تنش) بر سلول‌های اندام‌هوایی و ریشه کنگد استفاده شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین تیمارهای تنش (شرایط بدون تنش، تنش اسمزی و تنش شوری) وجود داشت (جدول ۲).

همچنین اثرات متقابل اندام × تنش نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین‌های پراکسیداسیون لیپید غشایی نشان داد که اعمال تنش‌های شوری و اسمزی سبب افزایش تجمع MDA در اندام‌هوایی و ریشه کنگد شد. بیشترین میزان تجمع MDA در اندام‌هوایی و تحت تأثیر تنش شوری مشاهده شد (32 nmol gFW^{-1}) که به مقدار ۱۱۳ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بود. تنش اسمزی نیز سبب افزایش ۶۶/۶ درصدی (25 nmol gFW^{-1}) تجمع MDA در اندام هوایی گیاهچه‌های کنگد شد. در بافت ریشه اختلاف معنی داری بین تنش‌های شوری و اسمزی وجود نداشت و میزان تجمع MDA در این تیمارها ۵۰ درصد بیش‌تر از شاهد بود (شکل ۵).

پایش ویژگی‌های فیزیوشیمیایی پروتئین‌های SOD در گیاه کنگد: با توجه به نقش حائز اهمیت آنزیم SOD در کاهش خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو، در این تحقیق سعی شد تا اطلاعات بیشتری در خصوص ماهیت این آنزیم در گیاه کنگد بررسی شود. پایش ویژگی‌های فیزیوشیمیایی

پروتئین‌ها می‌تواند در تعیین فرایندهای بیولوژیکی، کارکرد مولکولی و جانمایی آن‌ها در سلول تأثیرگذار باشد. ارزیابی ویژگی‌های فیزیوشیمیایی در پروتئین‌های SiSOD به آشکارسازی وزن مولکولی متغیر در محدوده ۱۴۳۳۰ الی ۳۴۶۳۸ دالتون، محدوده pH ایزوالکتریک اسیدی ۴/۹ تا ۸/۳ درصد و شاخص آلفاتییک ۷۵/۶ تا ۹۷/۱ منجر شد (جدول ۳). طبق نتایج پروتئین SiSOD5 بیشترین وزن مولکولی را داشته، منفی‌ترین بار الکتریکی به SiSOD8 و مثبت‌ترین بار الکتریکی به SiSOD4 اختصاص داشت (جدول ۳). بیشترین و کمترین شاخص آلفاتییک به ترتیب متعلق به SiSOD2 و SiSOD4 بود.

شناسایی روابط فیلوژنتیکی و موتیف‌های حفاظت‌شده پروتئین‌های SiSOD: بر مبنای ترسیم درخت فیلوژنتیکی با استفاده از برنامه MEGA 6.0 به روش اتصال همسایه، همه SiSODها به سه کلاستر تقسیم و در دو خوشه بزرگ طبقه‌بندی شدند. ژن‌های *SiSOD1*، *SiSOD2*، *SiSOD3*، *SiSOD4* و *SiSOD5* دارای دمین CU/ZN-SOD با کد دسترسی pfam00080 و ژن‌های *SiSOD6*، *SiSOD7*، *SiSOD8* و *SiSOD9* دارای دمین Mn/Fe-SOD با کد دسترسی Pfam00081 و Cl02809 هستند.

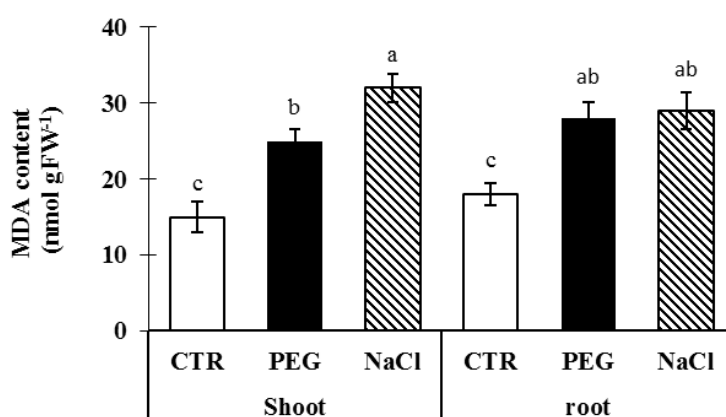
برای شناسایی موتیف‌های حفاظت‌شده و تعیین موقعیت این موتیف‌ها، تمام پروتئین‌های SiSOD کنگد با استفاده از نرم‌افزار MEME مورد آنالیز قرار گرفتند (شکل ۶). تجزیه و تحلیل MEME با توجه به پارامترهای پیش‌فرض نرم‌افزار نشان داد که SiSODها دارای ۱۰ موتیف متفاوت حفاظت‌شده بوده که به صورت Motif-1 تا Motif-10 نامگذاری شده‌اند.

ژن‌های *SiSOD1*، *SiSOD2*، *SiSOD3* و *SiSOD4* که دارای دمین Cu/zn-SOD بوده، دارای موتیف‌های ۱، ۲، ۳ و ۷ است و همه بجز *SiSOD2* دارای موتیف ۵ هستند و *SiSOD3* دارای موتیف ۱۰ هم است. در گیاه کنگد، *SiSOD5* فقط دارای موتیف یک بوده، موتیف ۳ در همه بجز *SiSOD5* وجود دارد. ژن‌های *SiSOD6*، *SiSOD7*، *SiSOD8* و *SiSOD9* که دارای دمین Mn/Fe-SOD هستند، دارای موتیف‌های ۴، ۶، ۳ و ۸ بوده که ترتیب قرارگیری موتیف ۸ در ژن‌های *SiSOD8* و

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری و اسمزی بر میزان تجمع مالون دی آلدئید (MDA) در اندام هوایی و ریشه گیاه کنجد ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش

منابع تغییرات	درجه آزادی	مالون دی آلدئید
اندام	۱	۴/۵
تنش	۲	۳۲۱**
اندام × تنش	۲	۱۸*
خطا	۱۲	۳/۷۳
ضریب تغییرات (%)		۷/۸۹

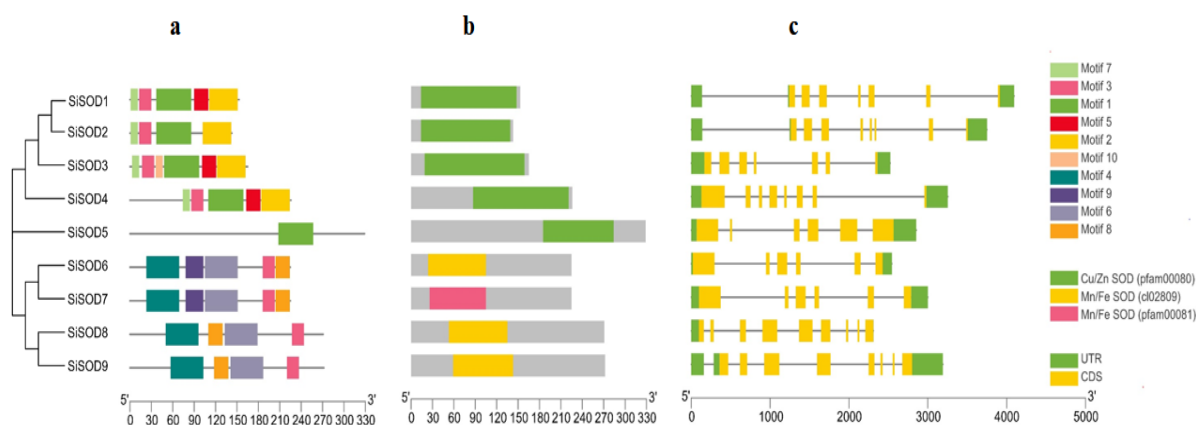
** و * به ترتیب معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد



شکل ۵- تأثیر تنش اسمزی (PEG) و شوری (NaCl) بر میزان تجمع مالون دی آلدئید (MDA) در بافت های اندام هوایی و ریشه گیاه کنجد، ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش. CTR نشان دهنده تیمار شاهد است. حروف مشترک نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال یک درصد با استفاده از آزمون LSD ($P < 0.01$) است.

جدول ۳- خصوصیات خانواده ژنی SOD در گیاه کنجد

اسم ژن	تعداد اسید آمینه	وزن مولکولی	نقطه ایزوالکتریک تئوری	شاخص آلفاتیک	متوسط هیدروپاتی کل (GRAVY)
<i>SiSOD1</i>	۱۵۳	۱۵۴۰۰/۱	۵/۷۲	۸۰/۲	-۰/۱۴۲
<i>SiSOD2</i>	۱۴۳	۱۴۳۳۰/۷	۴/۹۵	۷۵/۶	-۰/۲۰۶
<i>SiSOD3</i>	۱۶۵	۱۶۷۸۵/۷	۶/۴۷	۸۷/۴	-۰/۱۳۸
<i>SiSOD4</i>	۲۲۶	۲۲۸۵۸/۸	۵/۸۹	۹۷/۱	۰/۱۷۷
<i>SiSOD5</i>	۳۲۹	۳۴۶۳۸/۴	۵/۸۹	۸۷/۱	۰/۰۰۱
<i>SiSOD6</i>	۲۲۵	۲۵۰۹۶/۶	۷/۸۵	۸۹/۲	-۰/۳۳۶
<i>SiSOD7</i>	۲۲۵	۲۵۲۲۵/۸	۷/۱۳	۹۴/۴	-۰/۳۰۲
<i>SiSOD8</i>	۲۷۱	۳۰۲۰۳/۱	۷/۰۷	۷۹/۲	-۰/۳۴۳
<i>SiSOD9</i>	۲۷۲	۳۰۹۳۴/۳	۸/۳	۸۳/۹	-۰/۳۱۷



شکل ۶ - تجزیه و تحلیل ساختار خانواده ژن *SiSOD*. توزیع موتیف‌های حفاظت‌شده (a)، حوزه‌های عملکردی (b)، و اگزون/ایترون (c) در اعضای خانواده *SiSOD*

گیاه کنجد بررسی شد.

آنزیم SOD اولین سد دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود که سبب تغییر شیمیایی رادیکال‌های آزاد به پروکسید هیدروژن می‌گردد (Saed-Moucheshi *et al.*, 2021). نتایج این تحقیق نشان داد که تحت تأثیر تنش شوری فعالیت آنزیم SOD در اندام‌هوایی و ریشه شش ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافت. فعالیت آنزیم SOD تحت تنش اسمزی در اندام ریشه نیز شش ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافت درحالی‌که در اندام‌هوایی تحت تأثیر تنش اسمزی فعالیت آنزیم مذکور ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافت. به هر حال، معماری سیستم ریشه نقش اساسی در پاسخ گیاهان زراعی به تنش‌های غیرزیستی دارد. از آنجایی که ریشه‌ها در زیر زمین رشد می‌کنند، اولین بافت گیاهی هستند که تنش‌های غیرزیستی را حس و به آن پاسخ می‌دهند (Khan *et al.*, 2016). این امر می‌تواند یافته‌های این بررسی را توجیه نماید. همچنین مطالعات بر روی گیاهان جو (Lee *et al.*, 2013)، پنبه (Meloni *et al.*, 2003) و آرابیدوپسیس (Zsigmond *et al.*, 2012) نیز نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم SOD سبب افزایش تحمل به تنش‌های شوری و اسمزی می‌شود. در مطالعه Fang و همکاران (۲۰۲۲) عنوان شد که فعالیت آنزیم SOD در گیاه کنجد تحت تنش اسمزی می‌تواند به عنوان متعادل‌کننده

SiSOD9 مشابه بوده، درحالی‌که ترتیب قرارگیری موتیف ۸ در ژن‌های *SiSOD6* و *SiSOD7* مشابه و این دو ژن دارای موتیف ۹ هم هستند (شکل ۶).

بحث

تنش شوری و اسمزی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی هستند که بر رشد و تولید گیاهان در کشاورزی تأثیر می‌گذارند (Oliveira *et al.*, 2013). تنش شوری باعث عدم تعادل یونی و اسمزی در گیاهان شده که می‌تواند منجر به کاهش جذب آب و جذب مواد مغذی شود و در نهایت منجر به توقف رشد، کاهش عملکرد و حتی مرگ گیاه شود (Ma *et al.*, 2020). از سوی دیگر، تنش خشکی منجر به عرضه محدود آب به گیاه می‌شود که باعث تغییراتی در فیزیولوژی گیاه مانند بسته شدن روزنه، کاهش فتوسنتز و تغییر سطح هورمون خواهد شد که همگی می‌توانند بر رشد و عملکرد گیاه تأثیر منفی بگذارند (Hussain *et al.*, 2018). در پاسخ به این تنش‌ها در گیاهان، تغییرات بیوشیمیایی و مولکولی مانند تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تغییر بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای دفاعی رخ می‌دهد (Oguz *et al.*, 2022). در این مطالعه، اثر مقادیر مشابه فشار اسمزی حاصل از تنش‌های اسمزی (PEG6000) و شوری بر فعالیت برخی از آنزیم‌های کلیدی آنتی‌اکسیدان در

(Liu et al., 2019). در این بررسی فعالیت آنزیم‌های APX تحت شرایط تنش اسمزی در اندام‌هوایی و ریشه و همچنین تحت تنش شوری در اندام‌هوایی ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافت. درحالی‌که فعالیت آنزیم مذکور تحت تنش شوری در ریشه گیاه کنگد ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم APX تحت تأثیر تنش شوری پیش‌تر در گیاهان زراعی مختلفی نظیر برنج (Feng et al., 2023)، گوجه‌فرنگی (Perez-Labrada et al., 2019) و گندم (Islam et al., 2015) گزارش شده است. همچنین در مطالعات Koca و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنزیم APX در هر دو رقم حساس و مقاوم گیاه کنگد تحت تنش شوری افزایش یافت. با این حال با توجه به مهار صفات رشدی گیاه تحت تأثیر تنش شوری آن‌ها نتیجه گرفتند که اگر چه فعالیت آنزیم APX در رقم مقاوم افزایش یافت ولی این افزایش فعالیت برای غلبه بر اثرات بازدارندگی تنش شوری بر صفات رشد کافی نبوده است. افزایش فعالیت آنزیم APX در گیاه کنگد تحت تنش خشکی در مطالعه Gholinezhad و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است. در آن بررسی حداکثر فعالیت این آنزیم تحت تأثیر تنش خشکی شدید مشاهده شد.

پراکسیداز (POD) یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بسیار مهم در مواجهه با تنش‌های غیرزیستی محسوب می‌شود. این آنزیم در بسیاری از فرآیندهای گیاهان، مانند سنتز لیگنین، اکسیداسیون فنول‌ها، تنظیم طول سلول، و سم‌زدایی ترکیباتی مانند H_2O_2 که در بافت‌های گیاه در نتیجه تنش اکسیداتیو تجمع می‌یابند، دخالت دارد (Scebba et al., 1998). در این بررسی فعالیت آنزیم POD در اندام‌هوایی تحت تأثیر تنش شوری و اسمزی به ترتیب ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافت ولی در اندام ریشه در هر دو شرایط تنش شوری و اسمزی شش ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم POD در گیاهان تحت تأثیر تنش‌های شوری (Bahari Saravi et al., 2022) و خشکی (Zahedi et al., 2023) در مطالعات مختلف گزارش شده است. افزایش فعالیت آنزیم POD در ریشه و اندام‌هوایی ارقام کنگد تحت

تولید و کنترل ROS باشد. نتایج Pan و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان داد که این آنزیم نقش کلیدی در کاهش میزان خسارت ناشی از تنش شوری و خشکی در گیاه شیرین بیان دارد و در این تنش‌ها الگوی نسبتاً مشابهی از فعالیت این آنزیم مشاهده شد. افزایش فعالیت آنزیم SOD در گیاه نارون تحت تنش شوری در مطالعه Song و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش شده است. در تحقیق آنها غلظت $1/5$ میلی‌مولار NaCl باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD شده است اما رشد گیاهچه‌ها کاهش نیافت و علائم خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو مشاهده نشد.

تحت شرایط تنش میزان پراکسید هیدروژن تولیدشده به واسطه فعالیت SOD به وسیله فعالیت آنزیم‌های CAT، POD و APX به هیدروژن و آب تبدیل می‌شوند (Liu et al., 2014). طبق نتایج، فعالیت آنزیم CAT در اولین بازه نمونه‌برداری (شش ساعت پس از اعمال تنش) در هر دو شرایط تنش اسمزی و شوری و در هر دو اندام‌هوایی و ریشه افزایش یافت. مطالعات Heydari و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که فعالیت آنزیم CAT در گیاه کنگد تحت تنش شوری افزایش یافت. بررسی تأثیر تنش شوری بر گیاه ذرت نیز حاکی از تأثیر معنی‌دار آنزیم CAT بر افزایش تحمل این گیاه به تنش بوده است (Gondim et al., 2012). بررسی ارقام گیاه آب چکان (*Oenanthe javanica*) نشان داد که بین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از جمله CAT، با تحمل این گیاه به تنش خشکی و شوری همبستگی مثبت وجود دارد (Kumar et al., 2021). Fazeli و همکاران (۲۰۰۷) عنوان کردند، هنگامی که یک گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی، از جمله CAT، افزایش می‌یابد و این فعالیت بالا می‌تواند با افزایش تحمل به خشکی مرتبط باشد.

در سلول‌های گیاهی، آسکوربات مهم‌ترین سوبسترای کاهنده برای سم‌زدایی H_2O_2 است و APX از آسکوربات برای تبدیل H_2O_2 به آب استفاده می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). آنزیم APX از طریق مسیر آسکوربات - گلوکاتیون سبب کاهش پراکسید هیدروژن در تنش اکسیداتیو می‌شود

برابر تنش فعال کنند. همچنین با توجه به نحوه اعمال تنش، ریشه گیاهان اولین بافت گیاهی هستند که در معرض تنش شوری و اسمزی قرار می‌گیرند از این رو پاسخ سریع تر و در برخی موارد شدیدتر بافت ریشه نسبت به اندام هوایی می‌تواند قابل توجه باشد.

مالون دی‌آلدهید محصول اصلی پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که به‌طور کلی به عنوان شاخص آسیب غشای سلولی در نتیجه تنش اکسیداتیو در گیاهان شناخته می‌شود (Filek *et al.*, 2012). در این بررسی اعمال هر دو تنش شوری و اسمزی سبب افزایش معنی‌دار تجمع MDA در اندام هوایی و ریشه گیاه کنجد شد. با این حال میزان تجمع MDA در اندام هوایی تحت تأثیر تنش اسمزی نسبت به تنش شوری کمتر بود. نتایج مطالعه Zhang و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که میزان MDA در دو رقم کنجد تحت تنش شوری افزایش می‌یابد. نتایج در مطالعات مختلف حاکی از ارتباط مستقیم بین تجمع MDA با H_2O_2 دارد به نحوی که با افزایش غلظت H_2O_2 میزان تجمع MDA نیز به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد (Bahari Saravi *et al.*, 2022). نتایج تحقیق در مورد تأثیر تنش غرقاب بر گیاه کنجد نشان داد که تجمع ROS، MDA و افزایش نشت الکترولیت در برگ این گیاه سبب پراکسیداسیون شدید لیپید و بی‌ثباتی غشاء می‌شود، در نتیجه آسیب غشای سلولی و پیری برگ را تقویت می‌کند (Keya *et al.*, 2022).

مهار رادیکال‌های آزاد و تبدیل آن‌ها به اجزایی با خطرات کمتر مهم‌ترین بخش از واکنش دفاعی به تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Das and Roychoudhury, 2014) و با توجه به اینکه آنزیم SOD نقش قابل‌توجهی در این زمینه ایفا می‌کند (Leonowicz *et al.*, 2018) در این بررسی سعی شد تا به جزئیات بیشتری از این خانواده پروتئینی در گیاه کنجد با استفاده از اطلاعات بیوانفورماتیک پرداخته شود. نتایج حاصل از آنالیز بیوانفورماتیک نشان داد که خانواده ژنی SOD در کنجد دارای ۹ عضو شناخته‌شده هستند که دارای خصوصیات متفاوت نسبت به یکدیگر می‌باشند.

Hashemipetroudi و Bakhshandeh (۲۰۲۰) الگوهای

تنش خشکی در مطالعات Fazeli و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شد. نتایج آن تحقیق نشان داد که تنش خشکی باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ و ریشه هر دو رقم داراب ۱۴ و یکتا کنجد می‌شود. Barzegargolchini و همکاران (۲۰۱۷) با مطالعه واکنش گیاه شورپسند *Aeluropus littoralis* به تنش شوری عنوان کردند که فعالیت آنزیم POD در ریشه این گیاه تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد و این آنزیم نقش مهمی در فرآیند تشکیل لیگنین و تحمل به تنش دارد.

براساس مطالعات گذشته می‌توان پاسخ اندام‌های مختلف به تنش را از دو منظر بررسی نمود؛ اول، پاسخ عمومی است که در بافت‌ها و اندام‌های مختلف تقریباً مشابه است ولی دوم پاسخ اختصاصی است که مختص به اندام خاص می‌باشد (Abdelgawad *et al.*, 2016). به عنوان مثال، بررسی پاسخ گیاهچه‌های ذرت به تنش شوری نشان داد که ریشه‌های این گیاه دارای مجموعه وسیعی از متابولیت‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند و در پاسخ به تنش تنظیم می‌شوند. از سوی دیگر، به نظر می‌رسد که برخی ترکیبات موجود در گیاه مانند توکوفرول یک آنتی‌اکسیدان مخصوص ساقه است که نسبت به تنش پاسخ می‌دهد. همچنین مشاهده شد که برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر SOD، مونو دهیدرو آسکوربات و گلوکاتایون ردوکتاز تحت شرایط تنش فقط در بافت ریشه افزایش فعالیت داشتند (Abdelgawad *et al.*, 2016). در بررسی دیگری مشاهده شد که فعالیت آنزیم CAT در ریشه *Jatropha curcas* L. تحت تأثیر تنش شوری افزایش یافت ولی در اندام هوایی تغییرات معنی‌داری برای این آنزیم مشاهده نشد و فعالیت آنزیم POD در بافت ریشه نسبت به اندام هوایی به طور قابل‌توجهی بیشتر بود (Gao *et al.*, 2008). Abd Elgawad و همکاران (۲۰۱۶) در توجهی افزایش فعالیت و تجمع برخی از آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدان در بافت ریشه بیان کردند که مسیر ROS نقش احتمالی در پیام‌رسانی سیستمیک از ریشه به برگ را بر عهده دارد و به برگ‌ها اجازه می‌دهد تا مکانیسم‌های دفاعی خود را برای محافظت بهتر در

به عنوان یک مکانیسم پاسخ گیاه به تنش‌های مختلف عمل کنند و به گیاه کمک کنند تا با شرایط نامساعد محیطی سازگار شود. با توجه به نتایج این بررسی می‌توان عنوان داشت ریشه گیاه کنجد به عنوان اولین سد دفاعی در برابر وقوع تنش بیشتر خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را نشان داد. بررسی فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و APX نیز نشان داد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها تحت تنش شوری در اندام‌هوایی و ریشه بوده است درحالی‌که تحت تأثیر تنش اسمزی بیشترین فعالیت آنزیم CAT در اندام‌هوایی مشاهده شد. این نتایج نشان‌دهنده تأثیر تنش شوری به عنوان اعمال‌کننده هر دو فشار اسمزی و یونی است که سبب تأثیرات مضاعف تنش می‌گردد. در مجموع نتایج این بررسی نشان می‌دهد اعمال مقدار برابر فشار اسمزی به وسیله تنش شوری و اسمزی می‌تواند واکنش‌های متفاوت گیاه کنجد را به همراه داشته باشد. نتایج حاصل از این بررسی می‌تواند در مطالعات ژنتیکی و فیزیولوژیکی بعدی گیاه کنجد مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق توسط پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (GABIT-98/D/PI263) حمایت مالی شده است. نویسندگان همچنین از خدمات و امکاناتی که پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در طول این تحقیق در اختیار آن‌ها قرار داد قدردانی می‌کنند.

بیان هشت عضو خانواده SOD گیاه کنجد، از جمله *SiSOD1*، *SiSOD2*، *SiSOD3*، *SiSOD4*، *SiSOD5*، *SiSOD6*، *SiSOD7* و *SiSOD8* را تحت تنش‌های غیرزیستی مختلف (شوری، اسمزی، کاهش دما و افزایش دما) با استفاده از تکنیک RTqPCR بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که الگوهای بیان ژن‌های مورد بررسی در تمامی تنش‌های غیرزنده بسیار مشابه بوده است. همه اعضای خانواده ژن *SiSOD* در تنش‌های اسمزی و شوری کاهش را نشان دادند. با این حال تجزیه و تحلیل پروفایل‌های بیان ژن SOD در گیاه آرابیدوپسیس نشان داد که چندین ژن در این خانواده به روشی خاص در بافت‌های گیاهی بیان می‌شوند (Hashemipetroudi and Bakhshandeh, 2020). سطح بیان پنج ژن SOD، یعنی *HvMSD1*، *HvFSD2*، *HvFSD1*، *HvCSD3*، *HvCSD2* به طور قابل توجهی در طول رشدونمو گیاه نوسان دارند (Zhang et al., 2021). مشخصات بیانی این خانواده ژنی (*BnSOD*) در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش شوری، سرما، غرقابی و خشکی به میزان قابل توجهی افزایش یافت (Su et al., 2021). همچنین تجزیه و تحلیل ژنومی (Genomewide analysis) گیاه گندم (*Triticum aestivum*) نشان داد که بیان ژن‌های خانواده ژن *TaSOD* تحت تنش‌های محیطی مختلف (NaCl، مانیتول و PEG) متفاوت بیان می‌شوند (Jiang et al., 2019).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، تنش‌های اسمزی و شوری می‌توانند باعث تغییراتی در فعالیت آنزیم‌های گیاهی شوند. این تغییرات ممکن است

منابع

- آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی (۱۴۰۰). محصولات زراعی. تهران، دفتر آمار و فناوری اطلاعات.
- شهبازی، نادر، کاظمی تبار، سیدکمال، کیانی، غفار، پاکدین پاریزی، علی، و مهربان جوینی، پویان (۱۴۰۰). واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف کنجد (*Sesamum indicum*) در شرایط تنش شوری. *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۰ (۴۵)، ۲۰۷-۲۳۴.
- 20.1001.1.23222727.1400.10.45.18.6 .۲۳۴
- Abdelgawad, H., Zinta, G., Hegab, M. M., Pandey, R., Asard, H., & Abuelsoud, W. (2016). High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00276>

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Bahari Saravi, H., Gholami, A., Pirdashti, H., Baradaran Firouzabadi, M., Asghari, H., & Yaghoobian, Y. (2022). Improvement of salt tolerance in *Stevia rebaudiana* by co-application of endophytic fungi and exogenous spermidine. *Industrial Crops and Products*, 177, 114443. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114443>
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., Ren, J., Li, W. W., & Noble, W. S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Research*, 37(9), 202-208. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp335>
- Barzegargolchini, B., Movafeghi, A., Dehestani, A., & Mehrabanjoubani, P. (2017). Increased cell wall thickness of endodermis and protoxylem in *Aeluropus littoralis* roots under salinity: The role of LAC4 and PER64 genes. *Journal of Plant Physiology*, 218, 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.08.002>
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Carrasco-Rios, L. & Pinto, M. (2014). Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves in two contrasting corn, "Lluteno" and "Jubilee." *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74(1), 89-95. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392014000100014>
- Chun, S. C., Paramasivan, M., & Chandrasekaran, M. (2018). Proline accumulation influenced by osmotic stress in arbuscular mycorrhizal symbiotic plants. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02525>
- Das, K. & Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
- de Oliveira, A. B., Mendes Alencar, N. L., & Gomes-Filho, E. (2013). Comparison between the water and salt stress effects on plant growth and development. *Responses of Organisms to Water Stress*. In Tech. <https://doi.org/10.5772/54223>
- Fang, S., Yang, H., Wei, G., Shen, T., Wan, Z., Wang, M., Wang, X., & Wu, Z. (2022). Potassium application enhances drought tolerance in sesame by mitigating oxidative damage and regulating osmotic adjustment. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1096606. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1096606>
- Fazeli, F., Ghorbanli, M., & Niknam, V. (2007). Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum*, 51(1), 98-103. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0020-1>
- Feng, D., Gao, Q., Sun, X., Ning, S., Qi, N., Hua, Z., & Tang, J. (2023). Effects of foliage-applied exogenous γ -aminobutyric acid on seedling growth of two rice varieties under salt stress. *Plos One*, 18(2), e0281846. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281846>
- Filek, M., Walas, S., Mrowiec, H., Rudolphy-Skorska, E., Sieprawska, A., & Biesaga-Koscielniak, J. (2012). Membrane permeability and micro- and macroelement accumulation in spring wheat cultivars during the short-term effect of salinity- and PEG-induced water stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(3), 985-995. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0895-5>
- FAO. (2021). FAOSTAT/productionstat/crops [online]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Accessed Jan 18 2021.
- Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L., & Chen, F. (2008). Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. *Plant, Soil and Environment*, 54(9), 374-381. <https://doi.org/10.17221/410-PSE>
- Gholinezhad, E., Darvishzadeh, R., Siavash Moghaddam, S., & Popovic-Djordjevic, J. (2020). Effect of mycorrhizal inoculation in reducing water stress in sesame (*Sesamum indicum* L.): The assessment of agrobiological traits and enzymatic antioxidant activity. *Agricultural Water Management*, 238, 106234. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106234>
- Gondim, F. A., Gomes-Filho, E., Costa, J. H., Mendes Alencar, N. L., & Prisco, J. T. (2012). Catalase plays a key role in salt stress acclimation induced by hydrogen peroxide pretreatment in maize. *Plant Physiology and Biochemistry*, 56, 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.04.012>
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., Hossen, M., Zulfiqar, F., Alam, M., & Fujita, M. (2020). Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8695.
- Hashemipetroudi, S. & Bakhshandeh, E. (2020). Expression analysis of SiSOD gene family during *Sesamum indicum* L. seed germination under various abiotic stresses. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 8(2), 50-60. <https://doi.org/10.22058/jpmb.2022.548053.1251>
- Heydari, H., Rezayian, M., Niknam, V., & Ebrahimzadeh, H. (2019). Role of penconazole in salt stress

- amelioration in *Sesamum indicum* L. *Soil Science and Plant Nutrition*, 65(3), 243-250. <https://doi.org/10.1080/00380768.2019.1595722>
- Hoque, Md. N., Hannan, A., Imran, S., Paul, N. C., Mondal, Md. F., Sathin, Md. M. R., Bristi, J. M., Dola, F. S., Hanif, Md. A., Ye, W., Brestic, M., & Rhaman, M. S. (2023). Plant growth-promoting rhizobacteria-mediated adaptive responses of plants under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 1307-1326. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10633-1>
- Hussain, H. A., Hussain, S., Khaliq, A., Ashraf, U., Anjum, S. A., Men, S., & Wang, L. (2018). Chilling and drought stresses in crop plants: Implications, cross talk, and potential management opportunities. *Frontiers in Plant Science*, 9, 393. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00393>
- Islam, F., Yasmeen, T., Ali, S., Ali, B., Farooq, M. A., & Gill, R. A. (2015). Priming-induced antioxidative responses in two wheat cultivars under saline stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(8), 153. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1897-5>
- Jiang, W., Yang, L., He, Y., Zhang, H., Li, W., Chen, H., Ma, D., & Yin, J. (2019). Genome-wide identification and transcriptional expression analysis of superoxide dismutase (SOD) family in wheat (*Triticum aestivum*). *PeerJ*, 7, e8062. <https://doi.org/10.7717/peerj.8062>
- Keya, S. S., Mostofa, M. G., Mezanur Rahman, Md., Das, A. K., Abiar Rahman, Md., Anik, T. R., Sultana, S., Arifur Rahman Khan, Md., Robyul Islam, Md., Watanabe, Y., Mochida, K., & Tran, L. S. P. (2022). Effects of glutathione on waterlogging-induced damage in sesame crop. *Industrial Crops and Products*, 185, 115092. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115092>
- Khan, M. A., Gemenet, D. C., & Villordon, A. (2016). Root system architecture and abiotic stress tolerance: Current knowledge in root and tuber crops. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01584>
- Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F., & Turkan, I. (2007). The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 60(3), 344-351. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.12.005>
- Kumar, S., Li, G., Yang, J., Huang, X., Ji, Q., Liu, Z., Ke, W., & Hou, H. (2021). Effect of salt stress on growth, physiological parameters, and ionic concentration of water dropwort (*Oenanthe javanica*) cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 12, 660409. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.660409>
- Lee, Y. P., Ahmad, R., Lee, H. S., Kwak, S. S., Shafiqat, M. N., Y., K. S., & Y., S. (2013). Improved tolerance of Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase expressing transgenic tobacco seeds and seedlings against multiple abiotic stresses. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15, 725-730.
- Leonowicz, G., Trzebuniak, K. F., Zimak-Piekarczyk, P., Slesak, I., & Mysliwa-Kurdziel, B. (2018). The activity of superoxide dismutases (SODs) at the early stages of wheat deetiolation. *Plos One*, 13(3), e0194678. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194678>
- Letunic, I. & Bork, P. (2018). 20 years of the SMART protein domain annotation resource. *Nucleic Acids Research*, 46(1), 493-496. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx922>
- Liu, J., Feng, K., Duan, A. Q., Li, H., Yang, Q. Q., Xu, Z. S., & Xiong, A. S. (2019). Isolation, purification and characterization of an ascorbate peroxidase from celery and overexpression of the AgAPX1 gene enhanced ascorbate content and drought tolerance in Arabidopsis. *BMC Plant Biology*, 19(1), 488. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2095-1>
- Liu, N., Lin, Z., Guan, L., Gaughan, G., & Lin, G. (2014). antioxidant enzymes regulate reactive oxygen species during pod elongation in *Pisum sativum* and *Brassica chinensis*. *Plos One*, 9(2), e87588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087588>
- Ma, Y., Dias, M. C., & Freitas, H. (2020). Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 591911. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.591911>
- Marcinska, I., Czyczylo-Mysza, I., Skrzypek, E., Filek, M., Grzesiak, S., Grzesiak, M. T., Janowiak, F., Hura, T., Dziurka, M., Dziurka, K., Nowakowska, A., & Quarrie, S. A. (2013). Impact of osmotic stress on physiological and biochemical characteristics in drought-susceptible and drought-resistant wheat genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(2), 451-461. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1088-6>
- Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A., & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49(1), 69-76. [https://doi.org/10.1016/s0098-8472\(02\)00058-8](https://doi.org/10.1016/s0098-8472(02)00058-8)
- Mittler, R. (2017). ROS Are Good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Nakano, Y. & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28(1), 131-140. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077268>
- Noctor, G. & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49(1), 249-279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>

- Oguz, M. C., Aycan, M., Oguz, E., Poyraz, I., & Yildiz, M. (2022). Drought stress tolerance in plants: Interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. *Physiologia*, 2(4), 180–197. <https://doi.org/10.3390/physiologia2040015>
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- Pan, Y., Wu, L. J., & Yu, Z. L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*, 49(2-3), 157-165. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9101-y>
- Perez-Labrada, F., Lopez-Vargas, E. R., Ortega-Ortiz, H., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., & Juarez-Maldonado, A. (2019). Responses of tomato plants under saline stress to foliar application of copper nanoparticles. *Plants*, 8(6), 151. <https://doi.org/10.3390/plants8060151>
- 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), 148. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02919-5>
- Scebba, F., Sebastiani, L., & Vitagliano, C. (1998). Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under cold acclimation. *Physiologia Plantarum*, 104(4), 747-752. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040433.x>
- Sigrist, C. J. A., de Castro, E., Cerutti, L., Cuche, B. A., Hulo, N., Bridge, A., Bougueleret, L., & Xenarios, I. (2012). New and continuing developments at PROSITE. *Nucleic Acids Research*, 41(1), 344-347. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1067>
- Song, F., Yang, C., Liu, X., & Li, G. (2006). Effect of salt stress on activity of superoxide dismutase (SOD) in *Ulmus pumila* L. *Journal of Forestry Research*, 17(1), 13-16. <https://doi.org/10.1007/s11676-006-0003-7>
- Su, W., Raza, A., Gao, A., Jia, Z., Zhang, Y., Hussain, M. A., Mehmood, S. S., Cheng, Y., Lv, Y., & Zou, X. (2021). Genome-wide analysis and expression profile of superoxide dismutase (SOD) gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.) under different hormones and abiotic stress conditions. *Antioxidants*, 10(8), 1182. <https://doi.org/10.3390/antiox10081182>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tang, W. & Newton, R. J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in *Virginia pine*. *Plant Growth Regulation*, 46(1), 31-43. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-6395-0>
- Wang, D., Gao, Y., Sun, S., Lu, X., Li, Q., Li, L., Wang, K., & Liu, J. (2022). Effects of salt stress on the antioxidant activity and malondialdehyde, soluble protein, proline, and chlorophyll contents of three malus species. *Life*, 12(11), 1929. <https://doi.org/10.3390/life12111929>
- Wang, D., Lu, X., Chen, X., Wang, S., Wang, J., Guo, L., Yin, Z., Chen, Q., & Ye, W. (2020). Temporal salt stress-induced transcriptome alterations and regulatory mechanisms revealed by PacBio long-reads RNA sequencing in *Gossypium hirsutum*. *BMC Genomics*, 21(1), 838. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07260-z>
- Wei, P., Zhao, F., Wang, Z., Wang, Q., Chai, X., Hou, G., & Meng, Q. (2022). Sesame (*Sesamum indicum* L.): A comprehensive review of nutritional value, phytochemical composition, health benefits, development of food, and industrial applications. *Nutrients*, 14(19), 4079. <https://doi.org/10.3390/nu14194079>
- Yadav, S., Gill, S. S., Passricha, N., Gill, R., Badhwar, P., Anjum, N. A., Francisco, J. B. J., & Tuteja, N. (2019). Genome-wide analysis and transcriptional expression pattern-assessment of superoxide dismutase (SOD) in rice and Arabidopsis under abiotic stresses. *Plant Gene*, 17, 100165. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2018.10.001>
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Fahadi Hoveizeh, N., Kadkhodaei, S., & Vaculík, M. (2023). Comparative morphological, physiological and molecular analyses of drought-stressed strawberry plants affected by SiO₂ and SiO₂-NPs foliar spray. *Scientia Horticulturae*, 309, 111686. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111686>
- Zhang, X., Zhang, L., Chen, Y., Wang, S., Fang, Y., Zhang, X., Wu, Y., & Xue, D. (2021). Genome-wide identification of the SOD gene family and expression analysis under drought and salt stress in barley. *Plant Growth Regulation*, 94(1), 49-60. <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00695-8>
- Zhang, Y., Wei, M., Liu, A., Zhou, R., Li, D., Dossa, K., Wang, L., Zhang, Y., Gong, H., Zhang, X., & You, J. (2019). Comparative proteomic analysis of two sesame genotypes with contrasting salinity tolerance in response to salt stress. *Journal of Proteomics*, 201, 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.04.017>
- Zsigmond, L., Szepesi, A., Tari, I., Rigo, G., Kiraly, A., & Szabados, L. (2012). Overexpression of the mitochondrial PPR40 gene improves salt tolerance in Arabidopsis. *Plant Science*, 182, 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.07.008>

Studying the effect of salinity and osmotic stresses on the biochemical reaction of sesame (*Sesamum indicum* L.) and bioinformatics evaluation of the *SOD* gene family

Mostafa Haghpanah^{1,2}, Esmail Bakhshandeh^{2*}, Seyed Hamidreza Hashemipetroudi²

¹Kohgiluyeh and Boyerahmad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gachsaran, Iran

²Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran

(Received: 2023/09/14, Accepted: 2023/11/20)

Abstract

Sesame (*Sesamum indicum* L.) is one of the most important oil seed crops used by humans and accounts for a remarkable portion of global high-quality oil production. In this study, the effect of the same osmotic pressure provided by NaCl (salt stress) and by PEG600 (osmotic stress) on the biochemical reaction of sesame was evaluated. Results showed that the activity patterns of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and peroxidase (POD) enzymes were similarly affected by these stresses. Means comparison results indicated that the activity of POD was similar in both root and shoot tissues under both conditions. Also, the activity of SOD and APX enzymes was higher under salinity than under osmotic stress in both sesame tissues. The CAT activity was higher under salinity as compared with the osmotic stress in sesame roots, while in shoots, its activity was higher under osmotic stress compared with salinity. No significant difference was observed in Malondialdehyde accumulation in roots, while it reached its maximum under salinity in shoots. The bioinformatics analysis of the *SiSOD* gene family revealed that it can be classified into three clusters and into two major groups. Genes belonging to the first cluster have the CU/ZN-SOD domain, while genes belonging to the second cluster have the Mn/Fe-SOD domain. In conclusion, our findings indicated that sesame was more affected by salinity than osmotic stress, which could be due to both osmotic and ionic pressure created by NaCl. Therefore, the response of sesame defense systems to both studied stresses can be relatively different.

Keywords: Antioxidant enzymes, Hydroponic cultivation, Polyethylene glycol

Corresponding author, Email: Bakhshandehesmail@gmail.com