



## مطالعه الگوی بیان پروتئین و برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در پایه‌های پسته بادامی سفید و بادامی زرد تحت تنش شوری

الهه باقرزاده<sup>۱</sup>، حمیدرضا کاوسی<sup>۲</sup>، مسعود خضری<sup>۳\*</sup> و سعید میرزایی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار بخش بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

<sup>۳</sup> استادیار گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

<sup>۴</sup> استادیار پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

<sup>۵</sup> استادیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی، صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۴

### چکیده

یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی مؤثر در درختان پسته که به طور قابل توجهی باعث کاهش محصول می‌گردد، تنش شوری می‌باشد. در این آزمایش، الگوی بیان پروتئین و بررسی برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در پایه‌های پسته بادامی سفید و بادامی زرد تحت تنش شوری انجام گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و ۲۰ تکرار در گلخانه‌ای با شرایط کنترل شده اجرا شد. در این پژوهش سه سطح تنش شوری شامل تیمار شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) اعمال گردید. زمانیکه اندازه دانه‌ها به طول ۱۵-۲۰ سانتی‌متر رسید، تنش شوری اعمال و به مدت شش ماه ادامه یافت و در این مدت علائم تنش شوری (کاهش رشد رویشی و کاهش سطح برگ) مشخص و الگوی بیان پروتئین و برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تعیین گردید. نتایج نشان داد که الگوی بیان پروتئین و خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی تحت تأثیر تنش شوری واقع شدند و دو پایه عکس‌العمل‌های کاملاً متفاوتی نشان دادند، به‌طوری‌که کاهش شدت بیان و یا حذف باندهای پروتئینی در برگ پسته بادامی سفید بیشتر از برگ پسته بادامی زرد بود. نتایج نشان داد که کاهش رشد رویشی و کاهش میزان کلروفیل کل در پایه بادامی سفید بیشتر از پایه بادامی زرد تحت تنش شوری واقع شده است. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری، میزان پرولین برگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پایه بادامی زرد نسبت به پایه بادامی سفید افزایش یافت. با توجه به نتایج این پژوهش، به نظر می‌رسد پسته بادامی زرد توانایی بیش‌تری در حفظ پروتئین‌های برگ و مقاومت بالاتری نسبت به تنش شوری دارد.

**کلمات کلیدی:** پسته، تنش شوری، الگوی بیان پروتئینی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی.

## مقدمه

ارتباط گزارش شده است. همچنین تغییرات نیمرخ پروتئینی در طی مراحل رشد زیتون مورد بررسی قرار گرفته است (Vatankhah *et al.*, 2007). در بررسی اثر شوری روی الگوی پروتئینی ریشه‌های جو مشخص شد که الگوی پروتئینی گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش شوری از نظر تغییرات کیفی مشابه هستند، ولی شوری باعث کاهش یا افزایش تعدادی از پروتئین‌ها می‌گردد (Witzel *et al.*, 2009). در بررسی الگوی پروتئینی در ارقام مختلف پسته تحت تنش شوری مشخص گردید که، تنش شوری باعث تغییر در پروتئین‌ها می‌گردد، به طوریکه بعضی از پروتئین‌ها کاهش و بعضی از آنها در شرایط تنش شوری افزایش می‌یابد (Sohrabi *et al.*, 2011). زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه میزان اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد که مهمترین آنها، اسیدآمینه پرولین است. پرولین به عنوان یک ماده محلول، سبب افزایش پتانسیل اسمزی سلول، حفظ آماس سلولی، پایداری شکل طبیعی پروتئین‌ها و در نتیجه حفاظت پایداری غشا می‌گردد (Verslues *et al.*, 2006). در پژوهشی Garaghanipur *et al.* (2014) مشاهده کردند که تجمع میزان پرولین در وارپته‌های مقاوم به تنش خشکی بیشتر از وارپته‌های حساس می‌باشد. وجود تنش شوری ممکن است، سبب افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر و تنش اکسیداتیو شود و در نهایت به تسریع تشکیل انواع اکسیژن فعال، آسیب به غشا، پروتئین

پسته یکی از مهم‌ترین محصولات باغی ایران است که سطح زیر کشت درختان بارور این محصول حدود ۳۱۶ هزار هکتار است. علیرغم سطح زیر کشت بالا متأسفانه عملکرد پسته در ایران پایین بوده و حدود ۷۵۶ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (Anonymous, 2015). یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر میزان عملکرد درختان پسته، تنش‌های محیطی به خصوص تنش شوری می‌باشد (Sohrabi *et al.*, 2011). تنش شوری بسیاری از فرآیندهای رشد گیاه از جمله ارتفاع، وزن تر و خشک اندام‌های گیاه، سطح برگ و همچنین فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌ها، بیان ژن‌ها و پروتئین‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kamiab *et al.*, 2012, Zinati *et al.*, 2015). در سال‌های اخیر به منظور مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش از روش‌های مختلف مولکولی در سطح ژنومیکس<sup>۱</sup> و پروتئومیکس<sup>۲</sup> استفاده شده است (Niazi *et al.*, 2014). مطالعه نیمرخ پروتئین‌های بیان شده تحت تنش شوری نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به‌طوریکه در برخی گیاهان مانند نیشکر، جو و انگور الگوی بیان پروتئینی در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته است (Gomathi *et al.*, 2013, Ghaffari *et al.*, 2014; Mohammadkhani, 2014) و در مواردی الگوی بانندی خاصی در این

<sup>1</sup>. Genomics

<sup>2</sup>. Proteomics

بیوشیمیایی پایه‌های پسته بادامی سفید و بادامی زرنده، تحت تنش شوری می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش مورد نظر در گلخانه فیتوترون دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان با موقعیت جغرافیایی ۳۰ درجه شمالی و طول ۵۷ درجه شرقی و دمای کنترل شده در حدود  $3 \pm$  ۲۵ درجه سلسیوس اجرا گردید. در این آزمایش از دو پایه پسته بادامی زرنده و بادامی سفید خراسان استفاده گردید. بذور پسته بادامی زرنده از یک باغ تجاری واقع در شهرستان زرنده در استان کرمان و بذور پسته بادامی سفید از یک باغ تجاری واقع در شهرستان بجستان در استان خراسان جنوبی جمع‌آوری گردید.

در این آزمایش از خاک با بافت لوم شنی با  $EC = 4/5$  و  $pH = 7/8$  استفاده گردید. بذرهاى دو پایه پسته پس از جوانه‌زنی اولیه در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند. پس از استقرار گیاه و زمانیکه اندازه دانهال به طول ۱۵-۲۰ سانتی‌متر رسید، اعمال تنش شوری آغاز گردید.

جهت اعمال تنش شوری، گیاهان شاهد با آب مقطر و گیاهان تحت تنش متوسط با محلول کلرید سدیم ۶۰ میلی‌مولار و گیاهان تحت تنش شدید با محلول کلرید سدیم ۱۲۰ میلی‌مولار مورد آبیاری قرار گرفتند. برای هر سطح شوری ۲۰ گلدان برای رقم بادامی زرنده و ۲۰ گلدان برای بادامی سفید در نظر گرفته شد. اعمال تیمارهای تنش شوری به مدت ۶ ماه ادامه یافت و در این

و DNA، القای تغییر در رشد و ساختار فیزیولوژیک سلول و تخریب آنزیم‌ها منجر گردد (Xu et al., 2008). سلول‌های گیاهی از جمله سلول‌های فتوسنتزی توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی در برابر اثرات مضر گونه‌های اکسیژن و اکنشگر و تنش اکسیداتیو حفاظت می‌شوند و این امر باعث تحمل گیاهان به تنش‌ها می‌گردد (Kamiab et al., 2013).

با توجه به این‌که درختان پسته از طریق پیوند تکثیر می‌شوند استفاده از پایه‌های مناسب پسته که مقاومت بالایی به تنش‌های محیطی از جمله شوری داشته باشند، اهمیت ویژه‌ای دارد. مهم‌ترین پایه‌هایی که در ایران برای درختان پسته استفاده می‌شود، پایه بادامی زرنده (مناطق مختلف استان کرمان)، بادامی سفید (استان‌های خراسان رضوی و جنوبی) و قزوینی (استان‌های قزوین، سمنان، تهران) می‌باشند (Panahi et al., 2001).

اگر چه پژوهش‌هایی مبنی بر مقایسه پایه بادامی زرنده با پایه قزوینی و هیبرید بین آتلانتیکا و ورا تحت تنش خشکی (Maleki Kuhbanani & Karimi, 2013) و همچنین تأثیر تنش شوری بر پایه بادامی زرنده (Kamiab et al., 2012) انجام شده است، اما پژوهشی مبنی بر مقایسه مقاومت دو پایه بادامی زرنده و بادامی سفید از نظر الگوی بیان پروتئین و برخی پارامترهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تنش شوری انجام نشده است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی الگوی بیان پروتئین و برخی پارامترهای مورفولوژیکی و

تاریکی قرار داده شد و سپس ژل پس از شستشو به محلول توسعه‌دهنده<sup>۳</sup> (شامل ۳۰ گرم کربنات-سدیم و ۵ میلی‌گرم سدیم تیوسولفات پنتاهیدرات ۰.۵٪، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل و ۰/۵ میلی لیتر محلول فرمالدهید ۰.۳۷٪)، در مدت کمتر از سه دقیقه منتقل گردید. سپس ژل با آب مقطر شستشو داده شد و به مدت پنج دقیقه به محلول متوقف‌کننده<sup>۴</sup> (شامل ۲/۵ گرم گلاسیسین و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه)، منتقل گردید. در نهایت ژل با آب مقطر شستشو داده شد و مورد بررسی قرار گرفت (Blum et al., 1987).

طول ساقه با استفاده از خط‌کش و قطر ساقه با کولیس میلیمتری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ با استفاده از کاغذ شطرنج میلی‌متری مساحت برگ تعیین و بر حسب سانتی‌متر مربع بیان شد.

اندازه‌گیری رنگی‌ها به روش Lichtenthaler (1973) انجام شد و غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه گردیدند.

$$\text{Chl.a} = (12.25\text{A}663.2 - 2.79\text{A}646.8)$$

$$\text{Chl.b} = (21.21\text{A}646.8 - 5.1\text{A}663.2)$$

$$\text{Chl.T} = \text{Chl.a} + \text{Chl.b}$$

در این فرمول Chl.a، Chl.b و Chl.T به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل می‌باشند.

مدت علائم تنش شوری شامل کاهش رشد رویشی، زرد شدن حاشیه برگ و کاهش سطح برگ مشخص گردید.

از آنجائیکه هدف بررسی تفاوت الگوی باندی پروتئین بین دو پایه پسته بادامی سفید و بادامی زرد تحت تیمارهای تنش شوری بود، لذا پروتئین برگ دانه‌ها با استفاده از تکنیک Bradford (1976) استخراج و پس از رسم نمودار استاندارد، غلظت پروتئین نمونه‌ها تعیین گردید. تعیین غلظت نهایی پروتئین کل با استفاده از معادله زیر تعیین گردید.

$$y = 0.0006x + 0.0064$$

$$R_2 = 0.9743$$

Y: جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر

X: غلظت پروتئین کل (mg/l)

پس از تعیین پروتئین کل، میزان ۱۰۰ میکروگرم از هر نمونه بر روی ژل پلی‌اکریل آمید بارگذاری شد. در این پژوهش از روش SDS-PAGE (ژل پیوسته) با غلظت ۱۲ درصد برای تعیین الگوی پروتئین استفاده گردید (Laemmli, 1970). ژل پس از خاتمه الکتروفورز به مدت سه ساعت در محلول تثبیت‌کننده<sup>۱</sup> (شامل ۴۰۰ میلی-لیتر اتانول ۰.۴٪، ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک ۱۰٪ و آب مقطر استریل)، قرار داده شد و پس از شستشو با آب مقطر به مدت یک دقیقه در محلول حساس‌کننده<sup>۲</sup> (شامل ۱۰۰ میلی‌گرم سدیم تیوسولفات پنتاهیدرات ۰/۰۲٪ و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه)، قرار داده شد. در مرحله بعد ژل به مدت ۲۰ دقیقه در محلول نیترات‌نقره در

<sup>3</sup>. Developer solution

<sup>4</sup>. Stop solution

1. Fixing solution

2. Sensitizer solution

انجام گرفت. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل  $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Plewa *et al.*, 1991).

فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون اسید آسکوربیک در مدت یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این روش مقدار آسکوربات اکسید شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل  $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه گردید (Nakano & Asada, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش مهار واکنش احیای نوری نیترو بلوتترازولیوم<sup>۱</sup> (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر صورت گرفت. در واقع واکنش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با روشن شدن لامپ فلورسنت ۴۰w آغاز و پس از ۸ دقیقه با خاموش کردن لامپ، واکنش متوقف و جذب قرائت گردید (Gianopolitis & Ries, 1977). نتایج با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با رویه LS MEANS در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که نیمرخ بیان پروتئینی در پایه‌های بادامی سفید و بادامی زرد تحت تنش

<sup>1</sup>. Nitro blue tetrazolium

اندازه‌گیری پرولین با روش Bates *et al* (1973) صورت گرفت. در این روش، ۲ میلی‌لیتر از مایه رویی حاصل از سانتریفیوژ عصاره با ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال مخلوط شد و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از این مدت جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه و لوله‌ها به خوبی ورتکس شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه، دو لایه مجزا در آن‌ها تشکیل شد. از فاز رنگی بالایی که دارای تولوئن و پرولین بود برای اندازه‌گیری پرولین استفاده گردید. جذب این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل (Cary-50) ساخت کشور آمریکا، قرائت شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

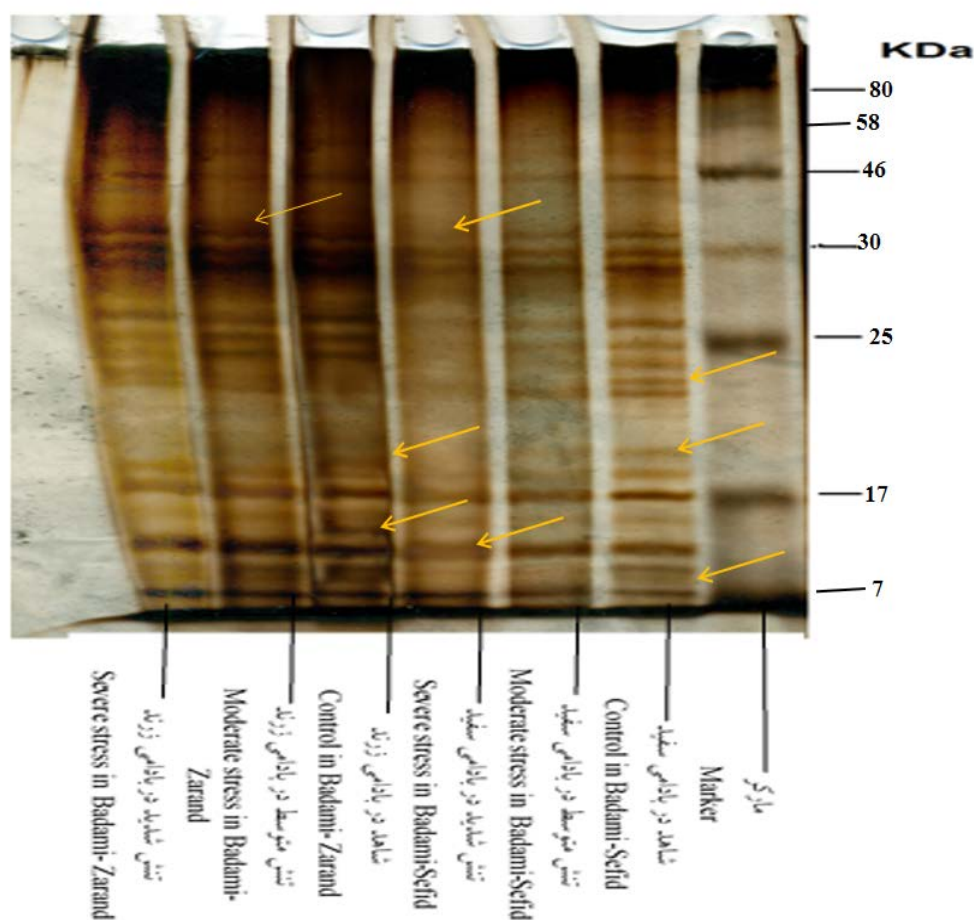
سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه سرعت تجزیه و کاهش جذب  $\text{H}_2\text{O}_2$  در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت. مقدار پراکسید هیدروژن تجزیه شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل  $40 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه گردید (Dhindsa *et al.*, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تترآگایاکل تشکیل شده از گایاکول در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در طول موج ۴۷۰ نانومتر،

شوری واقع شده است. براساس بررسی الگوی الکتروفورزی گیاه پسته، در پایه بادامی سفید، ۱۷ باند پروتئینی با وزنهای مولکولی تقریبی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در نمونه شاهد (بدون تنش) و ۱۵ باند پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۲، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در تیمار تنش متوسط (۶۰ میلی مولار کلریدسدیم) مشاهده شد و باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون مشخص گردید و باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون مشخص گردید و باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۸، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۲۴، ۲۵، ۲۹ و ۳۰ کیلودالتون نسبت به شاهد و تیمار تنش متوسط با شدت پایین‌تری مشاهده شدند در حالیکه باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۱۳ و ۳۶ کیلودالتون در تیمار تنش شدید حضور نداشتند (شکل ۱).

وقتی گیاهان در معرض تنش شوری و خشکی قرار می‌گیرند، در سطح سلولی و مولکولی به تنش پاسخ می‌دهند. الگوی تولید بسیاری از پروتئین‌ها در پاسخ به تنش، تغییر می‌نماید که از جمله این پروتئین‌ها، پروتئین‌های درگیر در مسیرهای پیام‌رسانی تنش، پروتئین‌های مخصوص مقابله با تنش اکسیداتیو و پروتئین‌هایی با اعمال غیر مستقیم با تنش می‌باشند (Hajheidari et al., 2005).

شوری واقع شده است. براساس بررسی الگوی الکتروفورزی گیاه پسته، در پایه بادامی سفید، ۱۷ باند پروتئینی با وزنهای مولکولی تقریبی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در نمونه شاهد (بدون تنش) و ۱۵ باند پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۲، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در تیمار تنش متوسط (۶۰ میلی مولار کلریدسدیم) مشاهده شد و باندهای پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۱۱، ۱۷ و ۲۹ کیلودالتون با شدت پایین‌تری نسبت به سایر باندها مشخص گردیدند و باندهای پروتئینی با وزنهای مولکولی تقریبی ۸ و ۲۳ کیلودالتون در تیمار تنش متوسط حضور نداشتند. در تیمار تنش شدید (۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم) روی دانهال‌های پسته بادامی سفید، باند پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷ کیلودالتون با شدت پایین‌تری نسبت به شاهد و تیمار تنش متوسط مشاهده شد و باند با وزن مولکولی تقریبی ۱۲ کیلودالتون در تیمار تنش شدید مشاهده شد که در تیمار متوسط و ضعیف حضور نداشت. باندهای ۸، ۱۹ و ۲۳ کیلودالتون در تیمار تنش شدید حضور نداشتند. در بررسی الگوی الکتروفورزی پسته بادامی زرد، ۱۶ باند پروتئینی با وزنهای مولکولی تقریبی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در نمونه شاهد (بدون تنش) و ۱۵ باند پروتئینی با وزن مولکولی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در تیمار تنش شدید (۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم) روی دانهال‌های پسته بادامی سفید، باند پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷ کیلودالتون با شدت پایین‌تری نسبت به شاهد و تیمار تنش متوسط مشاهده شد و باند با وزن مولکولی تقریبی ۱۲ کیلودالتون در تیمار تنش شدید مشاهده شد که در تیمار متوسط و ضعیف حضور نداشت. باندهای ۸، ۱۹ و ۲۳ کیلودالتون در تیمار تنش شدید حضور نداشتند. در بررسی الگوی الکتروفورزی پسته بادامی زرد، ۱۶ باند پروتئینی با وزنهای مولکولی تقریبی ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۴۵ کیلودالتون در تیمار تنش شدید (۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم) روی دانهال‌های پسته بادامی سفید، باند پروتئینی با وزن مولکولی تقریبی ۷ کیلودالتون با شدت پایین‌تری نسبت به شاهد و تیمار تنش متوسط مشاهده شد و باند با وزن مولکولی تقریبی ۱۲ کیلودالتون در تیمار تنش شدید مشاهده شد که در تیمار متوسط و ضعیف حضور نداشت. باندهای ۸، ۱۹ و ۲۳ کیلودالتون در تیمار تنش شدید حضور نداشتند.



شکل ۱- الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های برگ دانه‌های پسته در پایه‌های بادامی سفید و بادامی زرناد تحت تنش شوری. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم). پیکان‌های مشخص شده در شکل بیانگر باندهایی می‌باشد که در بین تیمارهای مختلف از نظر بیان پروتئین دارای اهمیت بیشتری می‌باشند.

**Figure 1-** Protein electrophoresis pattern of pistachio seedlings *Pistacia vera* Cv. Badami-Sefid and Badami-Zarand under different salinity stresses. Control (distilled water), moderate stress (60 mM NaCl) and severe stress (120 mM NaCl). Arrows show the most important protein expression bands differing among the treatments.

بسیار مورد توجه واقع شده است. به هر حال، هنوز نقش اکثر پروتئین‌ها در این خصوص ناشناخته است. تعدادی از پروتئین‌هایی که در اثر تنش شوری القا می‌شوند، شناسایی شده‌اند که این امر بازتابی از پیچیدگی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان در برابر تنش شوری می‌باشد (Mahmoodzadeh, 2009). مثلاً در گیاه

پس گیاهان برای مقابله یا کاهش آثار تنش شوری ممکن است الگوی بیان ژن‌ها و یا میزان پروتئین‌های درون بافت‌هایشان را تغییر دهند (Ghaffari *et al.*, 2014). در چند سال گذشته، تغییرات پروتئین‌ها در اثر تنش شوری به منظور شناسایی و فهم اثرات تنش در سطح پروتئین‌ها در جهت ایجاد مقاومت نسبت به تنش شوری

۴۰ کیلودالتون در ارقام مورد بررسی می‌گردد (Sohrabi *et al.*, 2011)، که با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد. به نظر می‌رسد اثر تنش شوری در فرآیند رونویسی باعث از بین رفتن و یا کاهش برخی از باندهای پروتئینی می‌گردد (Chotechuen, 2001).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به خصوصیات مورفولوژیکی نشان داد که فقط اثر ساده پایه بر طول و قطر ساقه معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). بیشترین طول و قطر ساقه در پایه بادامی زرنده مشاهده گردید (شکل ۲). همچنین مشخص شد که اثر ساده پایه و تنش شوری و همچنین برهم کنش پایه و تنش شوری بر سطح برگ معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱).

با افزایش سطوح تنش شوری سطح برگ کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین سطح برگ به ترتیب در شاهد و تیمار تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) در پایه بادامی سفید مشاهده شد (شکل ۳). در پژوهشی Karimi *et al.* (2012) گزارش کردند که سطح برگ و پارامترهای رشدی تحت تنش شوری قرار گرفته و افزایش تنش شوری باعث کاهش سطح برگ و کاهش رشد رویشی در پسته گردید، که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

برنج مقایسه نقشه پروتئینی پروتئین‌های ریشه و برگ گیاهان تیمار شده با نمک NaCl در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد که تنش شوری تغییرات معنی‌داری را در الگوی پروتئین ایجاد می‌کند به‌طوری‌که تنش شوری موجب افزایش شدت باندهای پروتئینی ۹۰ کیلودالتون در ریشه و ۲۲ و ۳۱ کیلودالتون در برگ گردید (Kanlaya *et al.*, 2005). در تحقیق حاضر نیز تنش شوری موجب ایجاد تغییرات متفاوت و معنی‌داری در الگوی پروتئین‌های برگ پسته بادامی سفید و بادامی زرنده گردید، بیان پروتئین‌های ۷، ۳۰ و ۳۴ کیلودالتون در برگ بادامی زرنده تحت تأثیر تنش شوری قرار نگرفتند و با توجه به اینکه بیان سایر پروتئین‌ها کاهش یافته است، احتمالاً این پروتئین‌ها می‌توانند در سازگاری گیاه پسته نسبت به تنش شوری نقش ایفا کنند. تغییرات متفاوت بعضی از باندهای پروتئینی بین دو پایه بادامی زرنده و بادامی سفید نیز نشان‌دهنده این است که این تغییرات وابسته به ژنوتیپ گیاه می‌باشند. الگوی پروتئینی برگ پسته بادامی سفید، کاهش شدت باندهای ۹، ۱۸، ۲۶ و ۳۴ کیلودالتون را نشان می‌دهد. در پژوهشی، با بررسی الگوی پروتئینی در ارقام مختلف پسته تحت تنش شوری مشخص گردید که، تنش شوری باعث از بین رفتن باند ۲۵ کیلودالتون و کاهش باندهای ۲۴ و



باقرزاده و همکاران، ۱۳۹۵

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر پارامترهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی دانه‌های پسته پایه بادامی زرنند و بادامی سفید تحت تنش شوری

**Table 1- Analysis of variance of morphological and biochemical parameters of pistachio seedlings *Pistacia vera* cv. Badami-Zarand and Badami-Sefid under salinity stress**

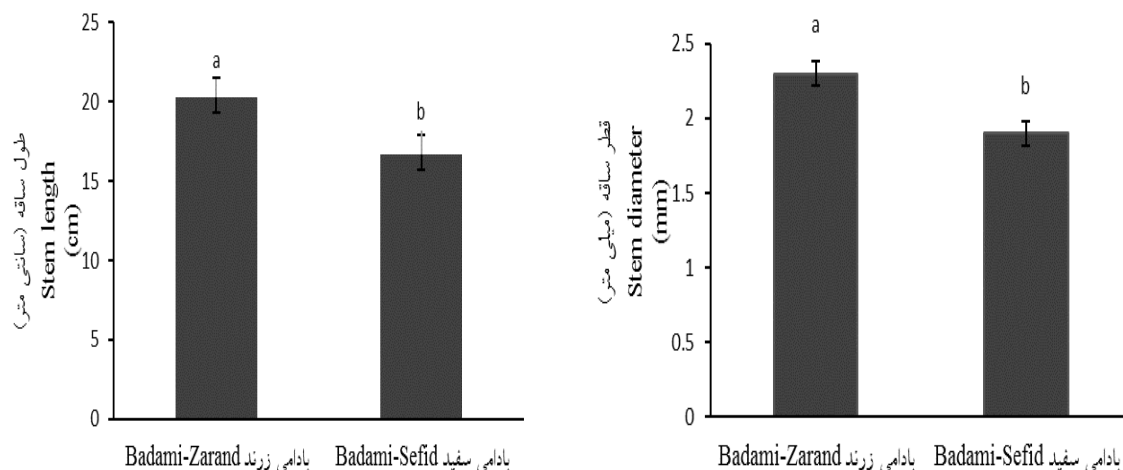
منبع تغییرات SOV	درجه آزادی df	Mean of square		میانگین مربعات		
		طول ساقه Stem length	قطر ساقه Stem diameter	سطح برگ Leaf area	کلروفیل کل Total chlorophyll	پرولین Proline
پایه	1	5.55*	0.72**	125.88**	399.5**	2907.2 <sup>ns</sup>
Rootstock (R)						
شوری	2	12.38 <sup>ns</sup>	0.65405 <sup>ns</sup>	67.10**	50.45 <sup>ns</sup>	2.9045**
Salinity(S)						
پایه × شوری	2	11.7 <sup>ns</sup>	0.07215 <sup>ns</sup>	13.28**	9.33 <sup>ns</sup>	84.788 <sup>ns</sup>
S × R						
خطا	10	5.82	0.0445	6.148	27.851	81.46
Error						
ضریب تغییرات	-	9.9	12	15	21	11
Coefficient of variation						

منبع تغییرات SOV	درجه آزادی df	Mean of square		میانگین مربعات	
		کاتالاز CAT	گاپاکول پراکسیداز GPX	سوپراکسید دیسمو تاز SOD	آسکوربات پراکسیداز APX
پایه	1	0.00048*	0.00043**	0.000118**	0.0426 <sup>ns</sup>
Rootstock (R)					
شوری	2	0.0042**	0.00665**	0.000935*	0.00018**
Salinity(S)					
پایه × شوری	2	0.00036**	0.00019**	0.00426**	0.000399 <sup>ns</sup>
S × R					
خطا	10	0.00099	0.0003379	0.000399	0.0083
Error					
ضریب تغییرات	-	15	5	9	8
Coefficient of variation					

<sup>ns</sup> غیر معنی‌دار، \*\* معنی‌دار در سطح ۱ درصد و \* معنی‌دار در سطح ۵ درصد

<sup>ns</sup> Not significant, \*\* Significant at 1% level and \* Significant at 5% level



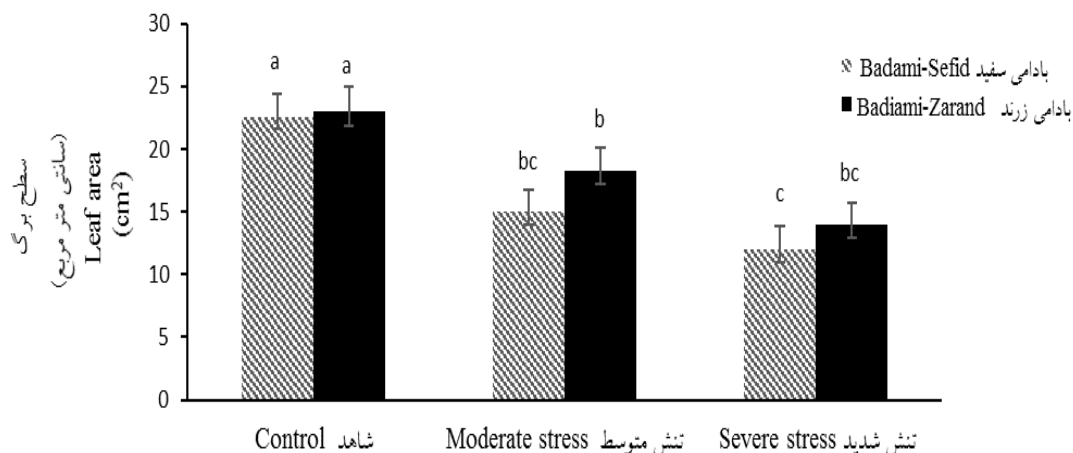
شکل ۲- اثر پایه بر اندازه طول و قطر ساقه. اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. در هر ستون میانگین-هایی با حروف متفاوت در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری دارند. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم).

**Figure 2-** Effect of rootstock on length and diameter of stem. Values are mean  $\pm$  SE. Different letters within a column indicate significant differences by Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ . Control (distilled water), moderate salinity stress (60 mM NaCl) and severe salinity stress (120 mM NaCl).

(Ferreira-Silva *et al.*, 2008)، بنابراین به نظر می‌رسد پایه بادامی زرنده نسبت به پایه بادامی سفید مقاومت بیشتری نسبت به تنش شوری داشته باشد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فقط اثر ساده پایه بر میزان کلروفیل کل معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به پایه بادامی زرنده می‌باشد (شکل ۴). مشخص شده است که تنش شوری باعث از بین رفتن رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش مقدار کلروفیل برگ می‌گردد (Anjum *et al.*, 2011).

کاهش سطح برگ بعد از افزایش تنش شوری به دلیل اثر اسمزی نمک در اطراف ریشه می‌باشد. در واقع با افزایش تنش شوری سلول‌های برگ به‌طور موقت آب خود را از دست داده و با گذشت زمان تقسیم سلولی و طولی شدن سلول‌ها کاهش یافته که در نهایت سبب کاهش سطح برگ و طول گیاه می‌گردد (Munns, 2002). با توجه به این‌که محققان بیان کردند که گیاهان متحمل به شوری قابلیت بیشتری برای زنده ماندن و حفظ سرعت رشد در شرایط تنش شوری داشته و اختلاف رشد می‌تواند به عنوان یک شاخص تحمل به شوری در نظر گرفته شود

## باقرزاده و همکاران، ۱۳۹۵

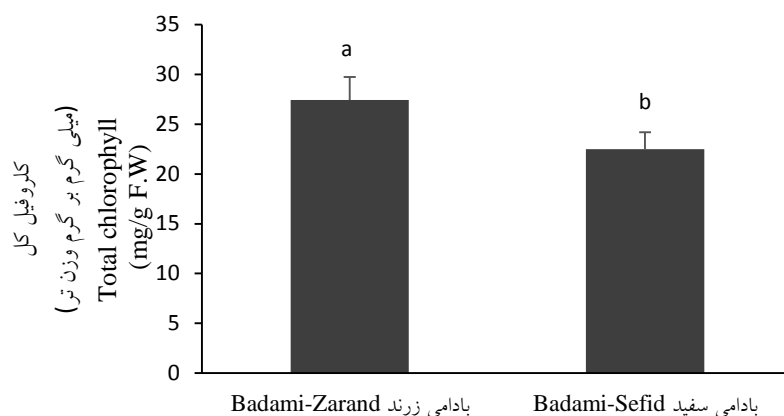


شکل ۳- تأثیر پایه و تنش شوری بر میزان سطح برگ دانه‌های پسته بادامی سفید و بادامی زرد. اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. در هر ستون میانگین‌هایی با حروف متفاوت در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری دارند. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم).

**Figure 3- Effect of rootstock and salinity stress on leaf area of Badami-Sefid and Badami-Zarand pistachio seedlings under salinity stress. Values are mean  $\pm$  SE. Different letters within a column indicate significant differences by Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ . Control (distilled water), moderate salinity stress (60 mM NaCl) and severe salinity stress (120 mM NaCl).**

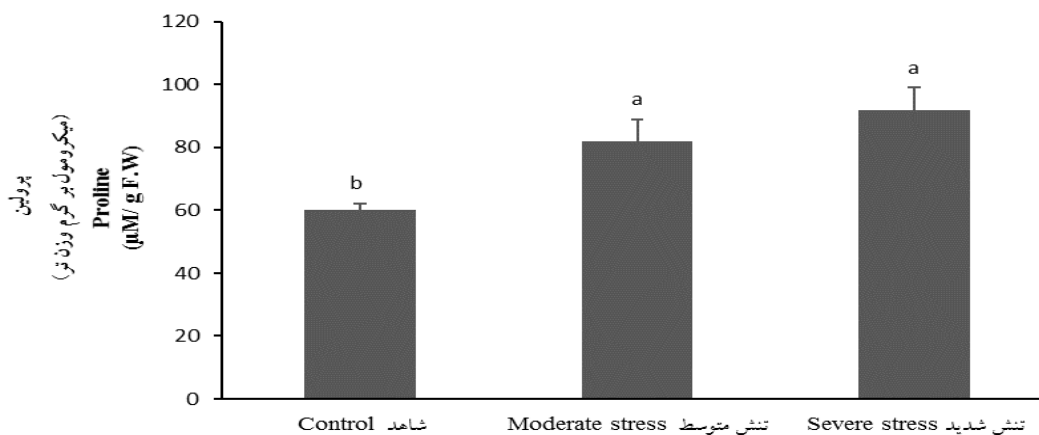
پرولین است. در حقیقت مشخص شده است که پرولین، به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی و یک محلول سازگار، سبب تنظیم فشار اسمزی، کاهش هدر رفت آب از سلول و حفظ آماس سلولی می‌گردد (Ashraf & Harris, 2004; Pérez- et al., 2009). در پژوهشی که بر روی دانه‌های پسته انجام شده بود، مشخص گردید که افزایش سطوح تنش شوری در پسته باعث افزایش میزان پرولین می‌گردد (Kamiab et al., 2013)، که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان داد که برهمکنش پایه و تیمار تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پرولین نشان داد که اثر ساده پایه و همچنین برهم کنش پایه و تنش شوری بر صفت پرولین برگ معنی‌دار نبوده و فقط اثر تنش شوری معنی‌دار است (جدول ۱). بر اساس نتایج حاضر، صفت پرولین برگ تحت تأثیر تیمار تنش شوری واقع شده است. تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار این صفت در برگ تیمارهای مختلف گردید و بین غلظت‌های مختلف کلرید سدیم از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت و کمترین میزان پرولین مربوط به شاهد و بیشترین مقدار مربوط به تنش شدید بوده است (شکل ۵). زمانی که گیاه در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد، تجزیه پروتئین‌ها صورت گرفته و مقدار اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد که مهم‌ترین آن‌ها



شکل ۴- اثر پایه بر میزان کلروفیل کل. اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. در هر ستون میانگین‌هایی با حروف متفاوت در سطح ۰.۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری دارند. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم).

Figure 4- Effect of rootstock on total chlorophyll content. Values are mean  $\pm$  SE. Different letters within a column indicate significant differences by Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ . Control (distilled water), moderate salinity stress (60 mM NaCl) and severe salinity stress (120 mM NaCl).



شکل ۵- تأثیر تنش شوری بر میزان پرولین برگ دانه‌ال پسته. اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. در هر ستون میانگین‌هایی با حروف متفاوت در سطح ۰.۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری دارند. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم).

Figure 5- Effect of salinity stress on proline content of pistachio seedling. Values are mean  $\pm$  SE. Different letters within a column indicate significant differences by Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ . Control (distilled water), moderate salinity stress (60 mM NaCl) and severe salinity stress (120 mM NaCl).

(2013) که بیان کردند فعالیت سیستم آنتی-اکسیدانی در پایه پسته بادامی زرنده تحت تنش شوری افزایش یافته است، همخوانی دارد. اما با توجه به اینکه در این پژوهش دو نوع پایه پسته مورد بررسی قرار گرفته است، به نظر می‌رسد که در شرایط تنش شوری، پایه بادامی زرنده در مقایسه با پایه بادامی سفید می‌تواند تا حدی نسبت به تنش شوری مقاومت بیشتری نشان دهد.

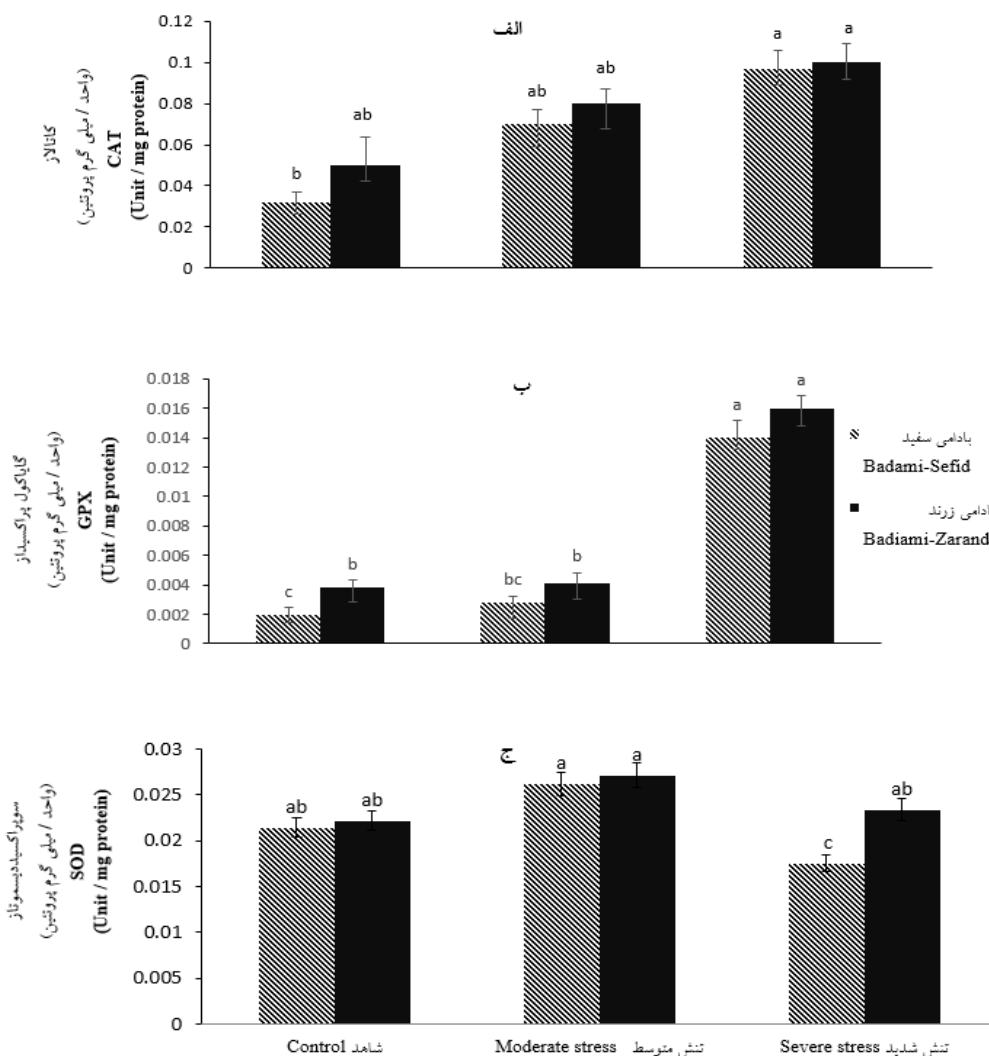
### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که پایه‌های پسته نسبت به تنش شوری عکس‌العمل‌های متفاوتی را دارا می‌باشند، به‌طوری‌که پایه بادامی زرنده قادر است سطوح تنش شوری متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) و شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) را با خسارت کمتری تحمل کند، که این بیانگر مقاومت بیش‌تر آن به تنش شوری نسبت به پایه بادامی سفید می‌باشد. بررسی الگوی پروتئینی برگ پسته نشان داد که تنش شوری سبب تفاوت‌های قابل مشاهده‌ای در گیاهان تحت تنش نسبت به گیاهان شاهد می‌گردد. بر اساس نتایج این پژوهش مشخص گردید که در پاسخ به تیمارهای تنش شوری، کاهش شدت بیان و یا حذف باندهای پروتئینی در عصاره‌های پروتئینی برگ گیاه پسته بادامی سفید مشخص‌تر از پایه بادامی زرنده بوده است. همچنین مشخص گردید که بیشترین میزان رشد و کلروفیل کل مربوط به پایه بادامی زرنده می‌باشد. همچنین مشخص شد که میزان پرولین و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی-

با افزایش غلظت کلریدسدیم میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول‌پراکسیداز و سوپراکسیددسموتاز افزایش یافت، به‌طوری‌که کمترین مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول‌پراکسیداز مربوط به پایه بادامی سفید در تیمار شاهد و بیشترین مقدار آن‌ها مربوط به پایه بادامی زرنده با غلظت کلریدسدیم ۱۲۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۶. الف و ب). همچنین نتایج نشان داد که کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز مربوط به پایه بادامی زرنده در تیمار تنش شدید و بیشترین میزان آن مربوط به پایه بادامی سفید در تیمار تنش متوسط می‌باشد (شکل ۶. ج). همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نشان داد که فعالیت این آنزیم فقط تحت تأثیر اثر ساده تنش شوری واقع شده است (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز می‌گردد، به‌طوری‌که کمترین میزان آن مربوط به شاهد و بیشترین مقدار آن مربوط به تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) می‌باشد (شکل ۷). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در تجزیه پراکسید هیدروژن دارند. در واقع پراکسید هیدروژن می‌تواند به مولکول‌های زیستی مهم مثل لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل‌ها آسیب جدی وارد کرده و منجر به مرگ سلولی شود (Gholamia et al., 2012). نتایج پژوهش حاضر با نتایج Kamiab et al

تنش شوری دارد و در غلظت ۱۲۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم، تنش شوری را بهتر از پایه بادامی سفید تحمل می نماید.

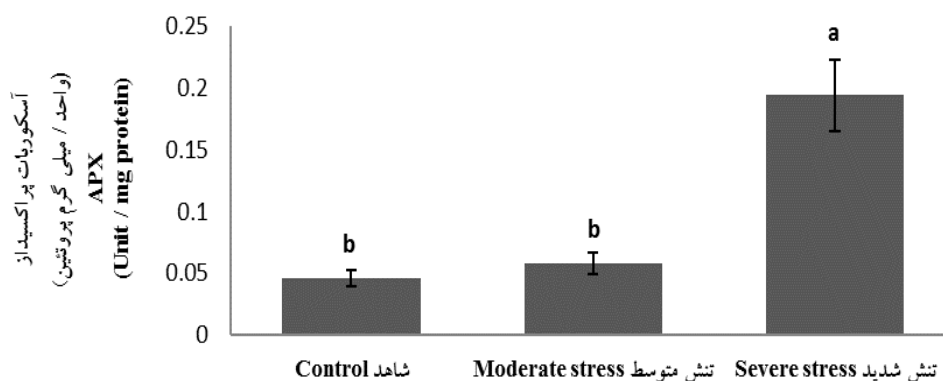
اکسیدان در پایه پسته بادامی زرنده نسبت به بادامی سفید در شرایط تنش شوری بیشتر می باشد. بنابراین به نظر می رسد پایه بادامی زرنده توانایی بیشتری در حفظ پروتئین های برگ در پاسخ به



شکل ۶- تأثیر پایه و تنش شوری بر فعالیت آنزیم های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دسموتازز دانه های پسته بادامی سفید و بادامی زرنده. اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. در هر ستون میانگین هایی با حروف متفاوت در سطح ۰.۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی داری دارند. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی مولار کلرید سدیم).

Figure 6- Effect of rootstock and salinity stress on enzyme activities catalase (CAT), gayacol peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD) of Badami-Sefid and Badami-Zarand pistachio seedlings under salinity stress. Values are mean  $\pm$  SE. Different letters within a column indicate significant differences by Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ . Control (distilled water), moderate salinity stress (60 mM NaCl) and severe salinity stress (120 mM NaCl).

## باقرزاده و همکاران، ۱۳۹۵



شکل ۷- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دانه‌های پسته. اعداد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد است. در هر ستون میانگین‌هایی با حروف متفاوت در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری دارند. شاهد (آب مقطر)، تنش متوسط (۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و تنش شدید (۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم).

**Figure 7- Effect of salinity stress on ascorbate peroxidase (APX) enzyme activity of pistachio seedling. Values are mean  $\pm$  SE. Different letters within a column indicate significant differences by Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ . Control (distilled water), moderate salinity stress (60 mM NaCl) and severe salinity stress (120 mM NaCl).**

## منابع

- Anjum S, Xie X, Wan LG, Saleem M, Man C, Li W (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African and Journal of Agriculture Research* 6: 2026-2032.
- Anonymous (2015). *Statistics of Horticultural Crops (Year 2014)*. Statistic and Technology Office of Ministry of Agriculture-Jahad, pp. 114 (In Persian).
- Ashraf M, Harris PJC (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 166: 3-16.
- Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Blum H, Beier H, Gross HJ (1987). Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis* 8: 93-99.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochem* 72: 248-254.
- Chotechuen S (2001). Responses of rice (*Oryza sativa* L.) to salt stress. *Proceeding of the Rice Research Seminar*. March. 5-6, 2001. Sra Kaew, Thailand. pp. 34-76.
- Dhindsa RS, Dhindsa P, Thorpe AT (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal Experimental Botany* 32: 93-101.
- Ferreira-Silva SL, Silveira J, Voigt E, Soares L, Viegas R (2008). Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20: 51-59.
- Garaghanipur N, Shiran B, Khodambashie M, Molaie AR (2014). Study of Proline accumulation and gene expression of P5CS in leaves and flower buds of common bean cultivars under drought stress. *Journal of Agricultural Biotechnology* 6: 129-141 (In Persian).
- Ghaffaria A, Gharechahib J, Nakhodaa B, Hosseini Salekdeh G (2014). Physiology and proteome responses of two contrasting rice mutants and their wild type parent under salt stress conditions at the vegetative stage. *Journal of Plant Physiology* 171: 31-44.

- Gholamia M, Rahemi M, Kholdebarinc B, Rastegar S (2012). Biochemical responses in leaves of four fig cultivars subjected to water stress and recovery. *Scientia Horticulturae*. 148: 109–117.
- Gianopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutase: purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. *Plant Physiology* 59: 315–318.
- Gomathi R, Vasantha S, Shiyamala S, Rakkiyappan P (2013). Differential accumulation of salt induced proteins in contrasting sugarcane genotypes. *EJBS* 6: 7-11.
- Hajheidari M, Abdollahian N, Heidari M, Sadeghian SY, Ober ES, Hosseini Salekdeh Gh (2005). Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics* 5: 950-960.
- Kamiab F, Talaie A, Javanshah A, Khezri M, Khalighi A (2012). Effect of long-term salinity on growth, chemical composition and mineral elements of pistachio (*Pistacia vera* cv. Badami-Zarand) rootstock seedlings. *Annals of Biological Research* 3: 5545-5551.
- Kamiab F, Talaie A, Khezri M, Javanshah A (2013). Exogenous application of free polyamines enhances salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Plant Growth Regul* 72: 257-268.
- Kanlaya KN, Sakda D, Chaisiri W, Sumontip B, Manit K, Piyada T (2005). Protein profiles in response to salt stress in leaf sheaths of rice seedlings. *Science Asia* 31: 403-408.
- Karimi HR, Zamani Z, Ebadi A, Fatahi R (2012). Effects of water salinity on growth indices and physiological parameters in some wild pistachio. *International Journal of Nuts and Related Sciences* 3: 41-48.
- Laemmli UK (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Lichtenthaler HK (1987). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Mahmoodzadeh H (2009). Protein profiles in response to salt stress in seeds of *Brassica napus*. *Research Journal of Environmental Science* 3: 225-231.
- Maleki Kuhbanani A, Karimi HR (2013). An Evaluation of the Resistance of Pistachio Rootstocks and One Inter-specific Hybrid, *P. atlantica* × *P. vera* cv. 'Badami-Riz-Zarand' against Drought Stress. *Iranian, Journal of Horticultural Science* 44: 81-93 (In Persian).
- Mohammadkhani N (2014). Expression of related proteins and aquaporin genes in grape (*Vitis vinifera* L.) under salinity stress. *Iranian, Journal of Genetics and Plant Breeding* 3: 8-18 (In Persian).
- Munns R (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Niazi A, Ramezan A, Dinari A (2014). *GSTF1* Gene Expression Analysis in Cultivated Wheat Plants under Salinity and ABA Treatments. *Iranian, Molecular Biology Research Communications* 3: 9-19.
- Panahi B, Esmailpoor A, Farbod F, Moazenpoor Kermani M, Farivar mihan H (2001). Pistachio handbook: planting, maintaining and harvesting, pp. 54 (In Persian).
- Pe´rez-Pe´rez JG, Robles JM, Tovar JC, Botia P (2009). Response to drought and salt stress of lemon 'Fino 49' under field conditions: Water relations, osmotic adjustment and gas exchange. *Scientia Horticulturae* 122: 83–90.
- Plewa MJ, Smith SR, Wagner ED (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research* 247: 57-64.



- Sohrabi N, Tajabadipour A, Motamed N, Seyedi M (2011). A change in leaves protein pattern of some pistachio cultivars under salinity condition. *International Journal of Nuts and Related Sciences* 2: 67-74.
- Vatankhah E, Motamed N, Ebrahimzadeh H (2007). Comparative analysis of proteins in leave and bud of olive (*Olea europaea* L. cv. Zard) during fruit ripening in On year. *Pajouhesh and Sazandegi* 74: 161-164 (In Persian).
- Verslues PE, Agarwal M, Katiyar-Agarwal S, Zhu JH, Zhu JK (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal* 45: 523–539.
- Witzel K, Weidner A, Surabhi GK, Börner A, Mock HP (2009). Salt stress-induced alterations in the root proteome of barley genotypes with contrasting response towards salinity. *Journal of Experimental Botany* 60: 3545–3557.
- Xu X, Peng G, Wu C, Korpelainen H, Li C (2008). Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. *Tree Physiology* 28: 1751–1759.
- Zinati Z, Alemzadeh A, Ebrahimie E, Niazi A (2015). Assessment of the expression pattern of a gene encoding plasma membrane pump under salt stress in the shoots of resistant and sensitive wheat cultivars and its wild relative, *Aegilops crassa*. *Journal of Agricultural Biotechnology* 7: 134-148 (In Persian).

## Study of protein expression pattern and some morphological and biochemical characteristics of Badami-Sefid and Badami-Zarand pistachio rootstocks under salt stress

Bagherzadeh E.<sup>1</sup>, Kavosi H.R.<sup>1</sup>, Khezri M.<sup>\*2</sup>, Mirzaei S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

<sup>2</sup>Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

<sup>3</sup>Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

<sup>4</sup>Department of Biotechnology, Research Institute for Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

### Abstract

Salinity stress is one of the most important environmental stresses affecting pistachio trees and causes decrease its production. In this experiment the effect of salinity stress on protein expression pattern, the content of proline and antioxidant enzymes (catalase, glycylglycyl peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase) were carried out on two pistachio rootstocks including of Badami-Sefid and Badami-Zarand. The experiment was performed as factorial based on Completely Randomized Design in a controlled greenhouse condition with three treatments and 20 replications. In this research, three salinity treatments were used include control (distilled water), moderate stress (60 mM NaCl) and severe stress (120 mM NaCl). After appearing the salt stress symptoms (decrease of vegetative growth and leaf area), protein pattern and some morphological and biochemical characteristics were determined. Results showed that protein expression pattern, vegetative growth and biochemical characteristics were affected by salinity treatments and responses of the two rootstocks were completely different. Under salinity stress, Badami-Sefid rootstock exhibited more protein bands reduction and elimination compared to Badami-Zarand. Results also showed that vegetative growth and total chlorophyll content in Badami-Sefid rootstock were decreased more than Badami-Zarand under salinity stress. Also, it has been found that by increasing salinity levels, proline content and antioxidant enzyme activities were higher in Badami-Zarand compared to Badami-Sefid. It seems that Badami-Zarand rootstock has more ability to keep leaf proteins and therefore, higher resistance to salinity stress.

**Keywords:** *Pistachio, Salinity stress, Protein band patterns, Antioxidant enzymes.*

\* Corresponding Author: Khezri M.

Tel: 09132983672

Email: masoodkhezri@gmail .com