

مقایسه الگوی بیان پلی پپتیدها در گیاهچه زیتون تحت شرایط تنش شوری

با گیاهچه شاهد در شرایط غیر تنش

نسرین معتمد^{1*}، فرانک هادی¹، فردوس رستگارجزی² و حسن ابراهیم زاده¹

¹ دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی

² پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و فناوری زیستی

تاریخ دریافت: 86/6/22 تاریخ پذیرش: 87/9/2

چکیده

در این پژوهش برای مطالعه پاسخ گیاهچه به شرایط تنش شوری، ابتدا رویانهای رقم زرد زیتون *Olea europaea c.v zard* بر روی محیط MS باغلظت 1/2 کشت و بعد از یک ماه نیمی از گیاهچه ها به محیط MS باغلظت 1/2-حاوی 170 میلی مولار NaCl انتقال و به مدت دو هفته در این محیط واکشت شدند. نیمی دیگر از گیاهچه ها در محیط MS باغلظت 1/2 فاقد NaCl واکشت شدند (شاهد). با توجه به وجود ترکیبات مزاحم برای سنجش و بررسی پروتئین در گیاه زیتون روشهای مختلفی برای استخراج پروتئین آزمایش شد. پس از استخراج پروتئین کل از گیاهچه تحت تنش شوری و گیاهچه شاهد (در شرایط غیرتنش) غلظت پروتئین با روش برادفورد و اسپکتروفتومتری سنجیده شد. مجموعه پلی پپتیدهای آنها بر روی ژل الکتروفورز دوبعدی، جداسازی و مقایسه گردیدند؛ آشکارترین تفاوتها شامل افزایش بیان سه لکه و کاهش بیان سه لکه پلی پپتیدی بود.

واژه‌های کلیدی: گیاهچه زیتون، تنش شوری، پروتئین

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: 61112472، پست الکترونیک: motamed@khayam.ut.ac.ir

مقدمه

پروتئینهای متعددی در گونه‌های گیاهی مختلف شناسایی شده که در اثر تنش شوری القا و به دو دسته متفاوت طبقه بندی شده‌اند:

1- پروتئینهای مخصوص تنش که فقط هنگام اعمال تنش شوری در گیاه تجمع می‌یابد.

2- پروتئینهای وابسته به تنش که علاوه بر تنش شوری، در پاسخ به گرما، سرما، خشکی، کمبود آب و فراوانی یا کمبود مواد غذایی در گیاه جمع می‌شوند (1).

بررسی پروتئوم یک روش دقیق در تعیین ویژگیهای عملکردی گیاه به حساب می‌آید. دسترسی به اطلاعات گسترده مربوط به توالیهای نوکلئوتیدی و امکان شناسایی سریع و دقیق پروتئینها بوسیله طیف سنجی جرمی باعث

گیاهان همواره در معرض تغییرات اجتناب ناپذیر محیطی قرار دارند آن دسته از عوامل که باعث ایجاد تنش اسمزی می‌شوند از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. یکی از این عوامل، شوری خاک می‌باشد (19). پاسخ به تنش در گیاهان با تشخیص تنش در سطح سلول، انتقال پیامها به درون سلول و سپس در داخل گیاه آغاز می‌شود که در نتیجه سیستم گسترده و پیچیده نقل و انتقال پیامها به راه می‌افتد. در نهایت اطلاعات دریافت شده منجر به تغییر الگوی بیان ژنها در سطح سلول می‌گردد که آن هم به نوبه خود پاسخهای فیزیولوژیک گیاه و تغییرات مربوط به رشد، نمو و باروری را در گیاه ایجاد می‌نماید (4). برای مطالعه تحمل گیاهان به تنشهای محیطی تغییرات القاء شده توسط این تنشها در سطح پروتئینها بررسی می‌گردد (10).

کاتالاز، و پراکسید دسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در محافظت علیه ROS نقش دارند. و سرانجام پروتئینها درگیر در اعمال تنظیمی و انتقال علامت دهی مانند بسیاری از پروتئین کینازها و عوامل رونویسی نقش زیادی در هدایت پاسخهای تنشی دارند. در مهندسی ژنتیک از پروتئینهای تنشی با عملکرد مشخص مانند کولین اکسیداز، پیرولین 5- کربوکسیلات سنتتاز، مانیتول-1- فسفات دهیدروژناز، بتائین آلدهید دهیدروژناز، میو-اینوزیتول-0- متیل ترانسفراز، لوان سوکروز ترهالوز 6-فسفات سنتتاز، گلیسرول 3-فسفات الکل ترانسفراز یا سوپر اکسید دسموتاز و پروتئینهایی که نقش آنها نسبتاً ناشناخته است، مانند پروتئینهای LEA و HSP₁₀₀ یا اسموتین برای ایجاد مقاومت به تنش در گیاه استفاده می‌کنند. این مطلب نشان دهنده اهمیت شناسایی، جداسازی و تشخیص ویژگی پروتئینهای تنشی جهت تعیین عملکرد پروتئینهایی است که نقش بیوشیمیایی آنها مشخص نشده است (8).

مواد و روشها

روشهای کشت گیاهی: رقم زرد زیتون با نام علمی *Olea chrysothrypha* بومی ایران بوده است. بذره‌های مورد مطالعه این بررسی از منطقه گیلوان از توابع زنجان جمع آوری شد. پس از جدا کردن برون‌برهای گوشتی میوه‌ها، میان-برهای سخت و چوبی بذرها، به صورت مکانیکی شکسته شده و سپس در زیر هود دانه‌ها جهت استریل شدن به مدت یک دقیقه در اتانول 70 درصد و سپس 20 تا 30 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 20 درصد قرار داده شدند و به دنبال آن پنج بار ششو با آب مقطر سترون صورت گرفت. آنگاه دانه‌های سترون را در پتریهای دارای دو کاغذ صافی سترون قرار داده و به آنها حدود 5 میلی لیتر آب مقطر سترون شده اضافه شد، پتریها به مدت 48 تا 72 ساعت در دمای 4 درجه سانتی گراد در تاریکی نگهداری شدند؛ سپس رویانها توسط نوک اسکالپل اندوسپرم جدا شدند و بر روی محیط MS باغلظت 1/2 قرار داده شدند. نمونه‌ها

گردیده که عملکرد گیاهان مدل و غلات در سطوح مختلف با کمک پروتئومیکس بررسی شود. گرچه پروتئومیکس در زیست‌شناسی گیاهی کاربرد زیادی نداشته است ولی بعضی مقالات تا حدی توانایی آن را در علوم گیاهی نشان داده‌اند، به خصوص در گیاهانی که ژنوم آنها تعیین توالی شده است، مانند آرابیدوپسیس و برنج (9) و (14).

از جمله کاربردهای پروتئومیکس در گیاه بررسی اثر تنشهای مختلف زیستی و غیر زیستی بر روی مجموعه پروتئینهای گیاه است. در این قبیل مطالعات اثرات تنشی فلزات بر روی برنج و یا پاسخ کاج به تنشهای زیستی و غیر زیستی انجام گرفته است (5، 14 و 15).

به طور کلی می‌توان گفت، تغییر بیان پروتئینها یکی از پاسخهای متابولیکی گیاه به تنشهای محیطی است که از لحاظ کیفی و یا کمی با پروتئینهایی که در غیاب تنش بیان می‌شوند متفاوت هستند (13). آگاهی ما از پروتئینها و ژنهای تنشی بسیار ناقص می‌باشد. تنش شوری بر بیشتر از 100 رونوشت در سلول اثر می‌گذارد ولی فقط یک دسته از ژنهای مربوط به تنش شوری شناسایی گردیده است، به همین خاطر آزمایش و بررسی برای شناسایی پروتئینها و ژنهای تنشی جهت فهم فرایندهای مولکولی درگیر در پاسخ گیاه به تنشهای غیر زیستی مهم می‌باشد. لذا بکارگیری روشهای جدید مطالعه بیان ژن شامل تحقیقات ژنومیکس و پروتئومیکس ضروری به نظر می‌رسد پروتئینهای استرس آبی (water stress proteins) اعمال متابولیک خاص دارند برای مثال پروتئین های کانال آبی در حرکت آب از طریق غشاء نقش دارند، در حالیکه آنزیمهایی مانند پیرولین-5-کربوکسیلات سنتتاز و کولین سنتتاز برای تولید محافظین اسمزی نقش دارند. پروتئینهای LEA، اسموتین از ماکرومولکولها و غشا محافظت می‌کنند. چاپرون و پروتئازها در واژگشت و جابجایی پروتئین نقش دارند. آنزیمهای سم زدا مانند گلوکاتیون S - ترانسفراز،

برای ساختن ژل بعد اول از مخلوط حاوی 4/2 درصد اکریل آمید، 0/22 درصد بیس آکریل آمید، 8/5 مولار اوره، 0/27 درصد دترجنت NP40، 5 درصد سوکروز و 6 درصد آمفولین با نسبت 2:1:2 از محدوده pH 4 تا 6 و SDS-PAGE 3/5 تا 10 و 6 تا 8 استفاده گردید. بعد دوم SDS-PAGE شامل ژل پلی آکریل آمید با غلظت 10 درصد بوده است.

رنگ آمیزی پروتئینها به روش رنگ آمیزی نترات نقره: در پایان الکتروفورز، ژلهای بعد دوم از صفحات شیشه‌ای جدا و بخش توده کننده (stacking) از ژل پایینی جدا گشته و با استفاده از نترات نقره رنگ آمیزی گردید (12).

تعیین وزن مولکولی لکه‌های پلی پپتیدی: به منظور تعیین وزن مولکولی لکه‌های پلی پپتیدی لازم است در هر بار الکتروفورز دو بعدی در یک چاهک درست در کنار ژل بعد اول، پروتئین استاندارد وزن مولکولی نیز بار گیری (Load) شود. با استفاده از این پروتئینهای استاندارد و نیز به کمک نرم افزار UVdoc وزن مولکولی لکه‌های مورد نظر تعیین شد.

تعیین نقطه ایزوالکتریک (PI) لکه‌های پلی پپتیدی: برای تعیین PI پلی پپتیدها، ژل حاصل از بعد اول به قطعات مساوی نیم سانتیمتری بریده و هر قطعه درون یک ویال 1/5 میلی لیتری قرار داده به آن مقداری آب تزریقی یا آب دو بار تقطیر افزوده شد. پس از گذشت یک ساعت که آمفولینها از ژل خارج شد PH هر قطعه اندازه گیری شده و PI لکه‌های پلی پپتیدی مورد نظر رسم منحنی استاندارد محاسبه گردید.

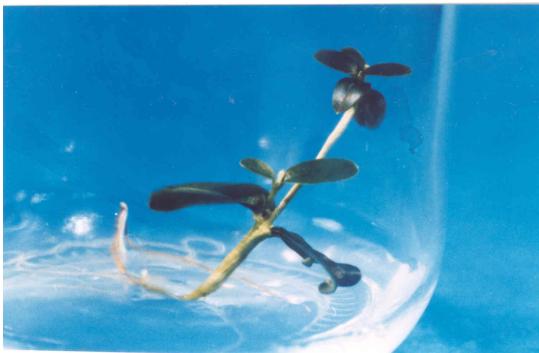
تعیین مشخصات هر لکه پلی پپتیدی: از هر یک از محیطهای کشت مربوط به نمونه‌های تحت تنش و کنترل، سه گیاهچه انتخاب و عصاره پروتئینی نمونه‌های تحت تنش و کنترل حداقل سه بار در یک آزمایش 2DE به طور همزمان و با شرایط یکسان مورد استفاده قرار گرفت. سپس برای تعیین وضعیت پلی پپتیدها در صفحه ژل، جفت ژل

در این مرحله در اتاق کشت با دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد و شرایط 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی قرار داده شد. بعد از گذشت 4 هفته نیمی از رویانهای جوانه زده به محیط MS با غلظت 1/2 حاوی 170 میلی مولار نمک انتقال و به مدت دو هفته در این محیط واکشت شده (5) و گیاهچه‌ها شمارش گردیدند. گیاهچه‌ها پس از قطع ریشه بلافاصله در ازت مایع قرار داده شدند و به منظور بررسیهای بعدی و انجام آزمون، در فریزر -70 درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

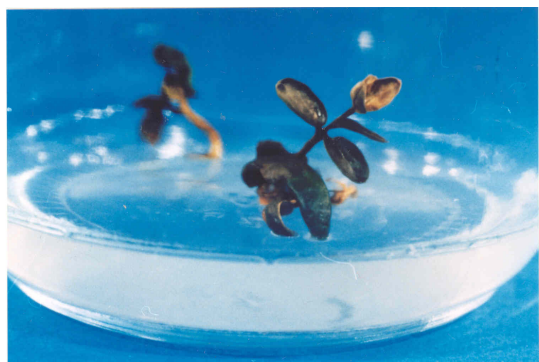
استخراج پروتئین: با توجه به ترکیبات مختلف گیاه زیتون مانند: رنگدانه‌ها، تاننها، فیتانها، ترکیبات فنلی و لیپیدی از روشهای مختلفی برای استخراج پروتئین استفاده گردید و با کمی تغییر بر روی روش استخراج پروتئین که توسط Tsugita و همکاران (1996) ارائه شد و در واقع روش تغییر یافته Damerval و همکاران (1986) بود، پروتئین کل از گیاهچه تحت تنش شوری و گیاهچه شاهد (در شرایط غیرتنش) استخراج شد. در این روش دفعات شستشو با تری کلرواستیک (TCA) 10 درصد در استون و استون (دو تا سه بار) تکرار شد (6 و 17).

سنجش پروتئین: برای تعیین غلظت پروتئین در عصاره استخراج شده از روش برادفورد (1979) استفاده و برای رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی (Bovine Serum Albumin) استفاده گردید و حجم مناسبی از عصاره حاوی 100 میکروگرم پروتئین از عصاره برای 2DE (Two Dimensional Electrophoresis) به کار رفت.

الکتروفورز دوبعدی: الکتروفورز دو بعدی بر مبنای روش O'Farrell (1975) انجام گردید. در بعد اول که جداسازی پروتئینها براساس نقطه ایزوالکتریک (PI) صورت می‌گیرد از ژلهای لوله‌ای به طول 15 سانتیمتر و قطر 1/5 میلی‌متر استفاده شد.



(1a)



(1b)

شکل 1: (a) وضعیت گیاهچه های زیتون در محیط کشت کنترل (MS) و (b) در محیط کشت حاوی 170 میلی مولار نمک

نتایج و بحث

در مطالعه پروتئینها از گیاهچه های حاصل از کشت رویانها که در محیط نمکی 170 میلی مولار محیط MS با غلظت 1/2 در طی مدت 14 روز واگشت شده بودند و گیاهچه های شاهد رشد یافته در محیط MS با غلظت 1/2 استفاده شد. گیاهچه ها در محیط شوری 170 میلی مولار نسبت به گیاهچه های رشد یافته در محیط بدون نمک از رشد کمتری برخوردار بوده و رو به زردی گراییده بودند. (شکل 1 a, 1 b) رشد نسبی گیاه تحت تیمار شوری در این غلظت در مقایسه با گیاهچه شاهد به میزان کمی کاهش داشت که از ذکر نتایج و منحنی آن در این مقاله خودداری شده است. پس از استخراج پروتئین کل گیاهچه و انجام 2DE، الگوی پروتئینی مربوط به دو گیاهچه شاهد و تحت تنش شوری مورد مقایسه قرار گرفت. آشکارترین تفاوتها عبارتست از افزایش بیان لکه های c، b₁ و b₂ و کاهش بیان

مربوط به نمونه های کنترل و تحت تنش مورد مقایسه قرار گرفت. موقعیت هر لکه نسبت به لکه های دیگر مشخص کننده جایگاه آن لکه در صفحه ژل دو بعدی آن است، و مقایسه موقعیت هر لکه در ژل مربوط به نمونه تنش دیده با همان لکه در ژل مربوط به نمونه کنترل، تغییرات آن را مشخص می کند. مقایسه کیفی و کمی بین دو ژل بر اساس روش ارائه شده و به صورت چشمی و هم با نرم افزار BioNumerics انجام گردید.

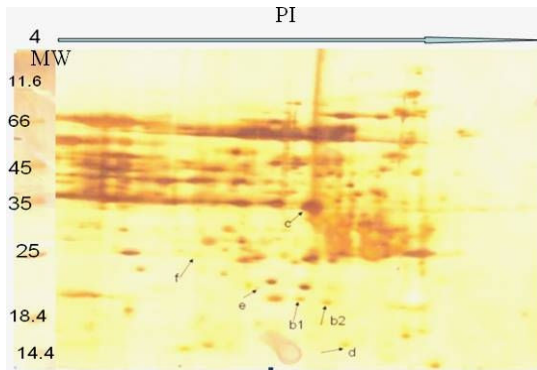
استخراج و سنجش پرولین: برای سنجش پرولین از روش Bates (1973) استفاده شد به این ترتیب که 30 میلی گرم پودر ماده گیاهی تر با 1/2 میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید 3 درصد ورتکس شد سپس به مدت 7 دقیقه در 12000 دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. به 1 میلی لیتر از محلول رویی 2 میلی لیتر محلول نین هیدرین (1 درصد در اسید استیک 60 درصد) افزوده بمدت یک ساعت در بن ماری 100 درجه سانتی گراد نگهداری و سپس در یخ قرار داده تا واکنش متوقف شود و پس از رسیدن به دمای اتاق 2 میلی لیتر تولوئن اضافه کرده ورتکس نموده و بعد محلول فوقانی جدا گردید. جذب این محلول اسپکتروفوتومتر shimatzu مدل UV160 در طول موج 518 خوانده شد. منحنی استاندارد با استفاده از پرولین استاندارد بین 0 تا 20 میکروگرم رسم و مقدار پرولین بصورت میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS13 و آزمون دانکن مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

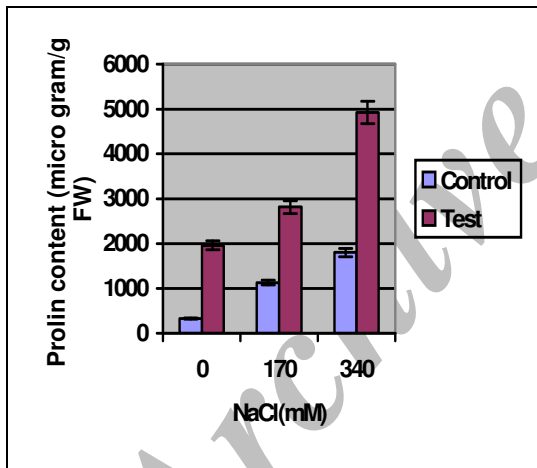
جدول 1: مقایسه تغییرات پروتئینی گیاهچه زیتون

لکه ها	وزن مولکولی	P _I	تغییرات بیان در طی تنش
c	33,9±0,5	5/4	افزایش
e	21±0,5	4/3	کاهش
f	24±0,5	4/1	کاهش
b ₁	19,8±0,5	5/2	افزایش
b ₂	19,36 ±0,5	5/8	افزایش
d	15±0,5	6	کاهش

این حال در بعضی گونه ها به طور همزمان میزان پرولین و پروتئین افزایش یافت و این تصور که افزایش پرولین در اثر شکستن مولکولهای پروتئینی و یا مصرف هزینه تولید طبیعی پروتئینهاست نقض گردید (16).



شکل 3: الگوی بیان پروتئینی زیتون گیاهچه تحت تنش بر روی ژل 2DE پروتئینها در جهت عمودی از بالا تا پایین بر اساس وزن مولکولی و در جهت افقی براساس PI جدا شده اند. لکه‌های c, b₁ و b₂ افزایش ولکه‌های e, f, و d کاهش بیان داشتند.

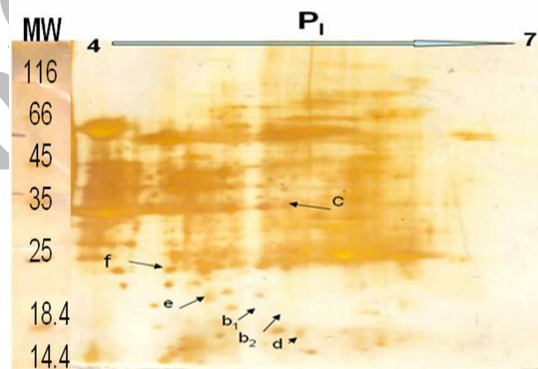


شکل 4: محتوای پرولین گیاه شاهد و تیمار شده با شوری در غلظت 170 و 340 میلی مولار نمک

می توان گفت تولید پرولین بیشتر منجر به تنظیم فشار اسمزی می شود. هم چنین ارتباط افزایش تولید پرولین با افزایش فعالیت روبشگری رادیکالهای آزاد می باشد بنابراین تنش اسمزی با کاهش فتوسنتز از طریق اختلال در ظرفیت انتقال الکترون منجر به افزایش تولید رادیکالهای آزاد (ROS) می شود که به دنبالشان پراکسیداسیون لیپیدهای غشای یاخته ای را در پیش دارد.

لکه‌های e, f, و d (جدول 1). به دلیل اینکه برگ زیتون حاوی مقدار زیادی از ترکیبات مزاحم (مولکولهای یونیزه کوچک، اسیدهای نوکلئیک، پلی ساکاریدها، لیپیدها و اجزاء فنلی) است که بر حرکت پروتئینها در میدان الکتریکی اثر می گذارند، بنابراین قبل از استخراج پروتئینها، ترکیبات اضافی حذف می شوند، برای حذف این ترکیبات از حلالهای آلی مانند استون و تری استیک اسید TCA ده درصد در استون استفاده گردید (7, 18).

استون ترکیبات لیپیدی و فنلی که در گیاه زیتون فراوان می باشد را حل کرده و از رسوب پروتئین جدا می کند. TCA با قسمتهای باردار پروتئین برهمکنش داده و آن را رسوب می دهد (17).



شکل 2: الگوی بیان پروتئینی گیاهچه زیتون کنترل بر روی ژل 2DE

مقایسه پروتئینهای گیاهچه های کنترل تحت تنش و غیر تنش نشان داد که تنش شوری در زیتون باعث کاهش بیان تعداد کمی از پروتئینها و افزایش بیان تعداد دیگری از آنها گردیده است. سنجش پرولین نشان داده که پرولین طی تنش افزایش یافته است (جدول 2 و شکل 4). مطالعات کمی برای درک ارتباط بین تجمع پرولین و مقدار پروتئین صورت گرفته است. تصور می شود که تجمع پرولین در اثر شکسته شدن مولکولهای پروتئینی باشد به عبارت دیگر پروتئینها به عنوان پیش سازی برای تولید پرولین به کار می روند. در بعضی از سویه های گوجه فرنگی نیز مشاهده شده که مقدار پرولین افزایش و پروتئین کم شده است. با

جدول 2: میزان پرولین در گیاه شاهد و گیاه تیمار شده در شوری با غلظتهای 170 و 340 میلی مول NaCl

NaCl (mM)	0	170	340
کنترل	d 330/281	cd1127/74 ± 104	1801/06±1/2 bc
تست	bc1960/121	b2814/90 ± 1/3	4926/49±2/5a

حروف a, b, c و d معنی دار بودن در سطح $P < 0.05$ را نشان می دهد.

منابع

- Ashraf M., Harris P.J.C.2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant science*.160:3-16
- Bates.l, 1973 Rapid determination of free praline for water stress studies. *Plant soil*. vol. 39:205-207
- Bradford M. M.1976. A rapid and sensitive for the quantitition of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal. Biochem*. 72:248-288.
- Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R..L. 2000. *Biochemistry and biology of plants*. Courier companies Inc.USA.
- Cavazos F.M., Recorbert G., Jorriin J., Mock M.P., Rosignol M.2004. Plant proteome analysis.4:285-298.
- Damerval C., deVienne D., Zivy M., Thiellement H.1986. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*. 7:52-54.
- Granier F.1988. Extraction of plant proteins for two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis*. 9:712-718
- Grover A., Agarwal S. K., Agarwal S. K., Agarwal M., Dubey H.2001. Understanding molecular alphabets of the plant a biotic stress responses. *Current science*. 80(2): 206-216.
- Komatsu S., Konishi H., Yang G.2003. Rice proteomics. *Molecular & cellular proteomics*.2:2-10
- Maslenkova L.T., Miteva T.S., Popoval P.1999. Changes in the polypeptide patterns of barley seedling exposed to jasmonic acid and salinity. *Plant physiology*. 98:700-707
- O'Farrell P.H.1975. High-resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol Chem*; 250:4007- 4021
- Rabilloud T, Vuillard L, Gilly C, Lawrence J.1994. Silver staining of proteins in polyacrylamid. A general overview. 40(1) 57-75.
- Rains D.W.1989. Plant tissue and protoplast culture: application to stress physiology and biochemistry, Jones H.G, Flowers T.J., Jones M.B (Eds). *Plants under stress. Biochemistry, physiology and ecology and their application to plant improvement*, Cambridge university press, Cambridge, pp.181-195.
- Rosignol M.2001. Analysis of the plant proteome. *Current opinion in biotechnology*.12:131-134.
- Salekdeh Gh.H., Siopongco j., Wad L.J., Ghareyazie B., Bennett j.2002. A proteomic approach to analyzing drought and salt-responsivness in rice. *Field crops research*. 76:199-219
- Sasikala D.P.P., Prasad P.V.D.1994. Salinity effects on invitro performance of some cultivars of potato.R.Brass.*Fisiol.Veg.*, 6(1):1-6.
- Tsugita T.,Kamatsu S.,Kajiwara H.,1996 .Two-Dimensional Electrophoresis of plant proteins and standardization of gel patterns. *Electrophoresis*, 17: 855-866.
- Wang W., Scali M., Vignani R., Spadafora A., Sensi E., Mazzuca S., Crestim.2003. Protein extraction for two dimensional electrophoresis from olive leaf, a plant tissue containing high levels of interfering compounds. *Electrophoresis*. 24: 2369-2376.
- Yoshiba Y., Klyosue T., Katagiri T.1995. Correlation between the induction of gene for Δ -1-pyrrolin-5- carboxilate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *Plant journal*. 7(5):751-760.

Differential polypeptide expression olive plantlet under osmotic stress

Motamed N¹., Hadi F¹., Rastgar Jazii F²., And Ebrahim zadeh H¹.,

¹ Biology College, University of Tehran, Tehran, I.R. of IRAN

² National Institute of genetic Engineering & Biotechnology, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

For study of olive plantlet response under osmotic stress condition, in the first step embryos of the olive cv. Zard were cultured on solid 1/2MS media, after one month, half of the green plantlets were transferred to the solid 1/2MS containing 170 mM NaCl, the plantlets were sub-cultured, after two week, according to different components of olive plantlets, several methods used to extract total proteins from both plantlets under stress condition and non stress condition. Equal quantity of total protein from both two samples was subjected to 2DE and protein profile of stressed plantlets was compared to non-stressed plantlets. Up and down regulated of polypeptides were interpreted as response of plantlet to the induced stress and the difference in polypeptides profile of plantlet under stress versus control plantlet was also considered. Significant difference were up regulation of three polypeptides and down regulation of three polypeptides.

Keywords: olive plantlet, salinity stress, protein, 2DE