"مجله علوم زراعی ایران"
جلد سیزدهم، شماره ٤ زمستان ١٣٩٠

اثر شوری بر تغییرات پروفایل پروتئینی در گیاهچه گندم نان (*Triticum aestivum* L.) رقم روشن
Effect of salinity on changes in protein profile in seedling of wheat (*Triticum aestivum* L.) *cv*. Roshan

محمود ملکی[1]، محمد رضا نقوی[2]، هوشنگ علیزاده[3]، کاظم پوستینی[4] و سیروس عبد میشانی[5]

چکیده

ملکی، م.، م. ر. نقوی، ه. علیزاده، ک. پوستینی و س. عبدمیشانی. ١٣٩٠. اثر شوری بر تغییرات پروفایل پروتئینی در گیاهچه گندم نان (*Triticum aestivum* L.) رقم روشن. **مجله علوم زراعی ایران. ١٣(٤): ٦٩٦-٦٨٤.**

به منظور ارزیابی اثر شوری بر پروفایل پروتئینی گیاهچه‌های گندم نان رقم روشن، آزمایش گلخانه‌ای در سال ١٣٨٨ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران به اجرا گذاشته شد. در این تحقیق گیاهچه‌های گندم رقم متحمل روشن، به مدت ١٧ روز تحت تاثیر شوری ٢٠٠ میلی مولار قرار داده شدند. به منظور مقایسه تغییرات پروفایل پروتئینی برگی در تیمار شوری و شاهد از روش پروتئومیکس استفاده گردید. پروتئین‌های برگ با استفاده از روش TCA-استون استخراج و با استفاده از الکتروفورز ژل دوبعدی در محدوده pH ٤-٧ جداسازی شدند. تعداد ٢٠٠ لکه پروتئینی به طور تکرار پذیر در ژل‌ها شناسایی و مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. تعداد ٢٣ لکه با استفاده از طیف سنج جرمی MALDI-TOF-TOF شناسایی شدند. از بین این لکه‌ها، ٤ لکه کاهش بیان و ١٩ لکه افزایش بیان داشتند. از جمله پروتئین‌هایی که بیان آنها افزایش یافت، گلوتامین سنتتاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، رابیسکو اکتیواز بوده و از جمله پروتئین‌هایی که بیان آنها کاهش یافت، فروکتوز بیس فسفات آلدولاز و oxygen-evolving enhancer protein 2 بودند. بسیاری از این پروتئین‌ها در تنظیم متابولیسم کربوهیدرات، نیتروژن و حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش اساسی دارند. این تحقیق تا حدودی توانست پروتئین‌های دخیل در تحمل گیاهچه‌های گندم رقم روشن به تنش شوری را شناسایی کند.

واژه‌های کلیدی: پروتئومیکس، تنش شوری و گندم نان.

Archive of SID

تاریخ دریافت: ١٣٨٩/٦/٢٤ تاریخ پذیرش: ١٣٩٠/٤/ ٨

١- عضو هیئت علمی مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان و عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده)
(پست الکترونیک:maleki@icst.ac.ir; maleki.li@gmail.com)
٢- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
٣- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
٤- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
٥- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

www.SID.ir

مقدمه

یکی از تنش‌های غیر زنده اصلی که گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهد، شوری است . شوری زیاد خاک تاثیر معکوسی روی رشد و نمو گیاه زراعی می‌گذارد و تخمین زده می‌شود، که این تنش می‌تواند تا حدود ۵۰ درصد عملکرد گیاهان زراعی را کاهش دهد (Kreps *et al.*, 2002).

پاسخ یک گیاه به تنش شوری در دو مرحله رخ می‌دهد: ۱) پاسخ سریع به افزایش فشار اسمزی خارجی ۲) پاسخ آهسته‌تر به علت سمیت یونی در گیاه (Munns and Tester, 2008). در مرحله اول غلظت بالای نمک، پتانسیل اسمزی محلول خاک را کاهش می‌دهد که این موضوع باعث بوجود آمدن تنش آبی در گیاهان می‌شود و در مرحلهٔ دوم غلظت بالای نمک باعث سمیت شدید یونی می‌شود. بر همکنش نمک‌ها با مواد غذایی معدنی نیز ممکن است منجر به عدم تعادل و در نتیجه کمبود برخی عناصر غذایی در گیاهان شود. در نتیجه اختلالاتی مثل بی‌نظمی‌های غشایی، بازدارندگی فتوسنتزی، تجمع متابولیت‌های سمی و گونه‌های اکسیژن فعال به‌وجود می‌آیند و سرعت جذب مواد غذایی کاهش می‌یابد که در نهایت باعث مرگ سلول و کل گیاه می‌شوند (Greenway and Munns,1980).

پاسخ گیاه به تنش شوری با استفاده از مطالعات پروتئومیکس قابل انجام است، زیرا پروتئوم در مقایسه با ژنوم تحت تأثیر عوامل محیطی تغییر می‌کند (Williams and Hochstarsser , 1997) و مشخص شده است که تنها به وسیلهٔ مطالعهٔ مستقیم پروتئوم، بررسی سازوکارهای مولکولی و سلولی امکان پذیر است، زیرا سطوح بیان پروتئین همواره با سطوح mRNA همبستگی ندارد (Gygi *et al.*, 1999).

در تحمل به شوری تغییرات ویژه‌ای در پروفایل پروتئین‌ها در بسیاری از گیاهان مشاهده شده است و در همین راستا چندین پروتئین که نقش برجسته‌ای در پاسخ به تنش شوری دارند، شناسایی شده‌اند (Wang *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2011). در گندم نان با اعمال تنش شوری و با استفاده از روش پروتئومیکس نشان داده شد که آنزیم گلوتاتیون اس- ترانسفراز، پروتئین فریتین و پروتئین ناقل H^+-ATPase افزایش بیان و پروتئین آزاد کنندهٔ اکسیژن در فتوسیستم II کاهش بیان داشتند (Gao *et al.*, 2011). آنزیم‌های فسفو پیروات هیدراتاز، تریوزفسفات ایزومراز و گلوکوز ۶ فسفات دهیدروژناز که در تنظیم متابولیسم کربوهیدرات دخالت دارند و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز و نیز آنزیم رابیسکو اکتیواز در گندم‌های دوروم تحت تنش شوری نیز افزایش یافتند (Caruso *et al.*, 2008). ارزیابی پروتئوم کل رقم شانرونگ ۳ در شرایط تنش شوری نیز نشان داد که زیرواحد ATPase E پروتونی واکوئلی، پروتئین مرتبط با ناقل ABC، زیرواحد ۷ تنظیم کنندهٔ پروتئاز 26S، پیش مادهٔ پراکسیداز، پراکسیداز ۹، آسکوربات پراکسیداز و پروتیین شوک حرارتی ۷۰ سیتوسولی افزایش بیان داشتند (Wang *et al.*, 2008). مانز و همکاران (Moons *et al.*, ; Moons *et al.* 1997 1995) برای مطالعهٔ نقش‌های اسید آبسیزیک و جاسمونات‌ها در تحمل به شوری برنج از الکتروفورز دو بعدی استفاده کردند. در طول مدت تنش شوری پروتئین‌های پاسخ دهنده به ABA از قبیل پروتئین‌های LEA

(Late Embryogenesis Abundant (LEA) proteins) در ارقام مقاوم برنج در مقایسه با ارقام حساس در سطوح بالاتری وجود داشتند. همچنین مشخص شد، که ABA و جاسمونات‌ها بیان پروتئین‌های القا شونده توسط تنش شوری را بطور آنتاگونیستی تنظیم می‌کنند. بنابراین شش پروتئین القا شونده توسط شوری (پراکسیداز، SalT، پروتئین مرتبط با بیماری زایی-۱۰ (PR-10) PR-1 و دو پروتئین ناشناخته) بعد از تیمار با جاسمونات تجمع یافتند و دو پروتئین دیگر

Archive of SID

www.SID.ir

(گروه LEA3 و OSR40C1)بعد از تیمار ABA تجمع یافتند (Moons *et al.*, 1995 ; Moons *et al.* 1997).

با تجمع مقادیر زیادی از توالی‌های ژنومی در پایگاه‌های اطلاعاتی، محققین به این نتیجه رسیدند، که توالی‌های کامل ژنوم نمی‌تواند به تنهایی در تشریح کارکرد بیولوژیکی کارایی داشته باشد. در واقع پروتئومیکس می‌تواند مکمل ژنومیکس باشد، زیرا روی محصول ژن که عوامل فعال در سلول‌ها هستند، تمرکز می‌کند (Akhilesh and Matthias, 2000). هدف از این تحقیق شناسایی و بررسی تغییرات در پروفایل پروتئینی گیاهچه‌های گندم هگزاپلوئید رقم روشن در شرایط تنش شوری بوده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق گندم متحمل به شوری رقم روشن (Poustinia and Siosemardeh, 2004) به عنوان مادهٔ ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. بذرهای گندم در گلدان‌های ۲/۵ لیتری حاوی پرلیت و کوکوپیت (به نسبت ۳ به ۱) در سال ۱۳۸۸ در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران کشت شدند. بعد از مرحله دو برگی، گیاهان با استفاده از محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند و این کار تا زمان اعمال تنش شوری (مرحله ۴ برگی) ادامه یافت. برای اعمال تنش از سطوح صفر [به عنوان شاهد (محلول غذایی هوگلند بدون نمک)]، و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (با اضافه کردن مقادیر لازم کلرید سدیم به محلول غذایی برای رسیدن به سطوح شوری مورد نظر) استفاده گردید. تنش شوری به مدت ۱۷ روز اعمال و در پایان روز هفدهم نمونه گیری از برگ پنجم انجام گرفت. پس از نمونه برداری، نمونه ها در نیتروژن مایع منجمد و تا هنگام استخراج پروتئین در دمای ۸۰- درجهٔ سانتیگراد نگهداری شدند.

اندازه گیری محتوای سدیم و پتاسیم

مقداری از برگ‌های جدا شده پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد خشکانده شده و سپس توزین شدند. به منظور تعیین غلظت سدیم و پتاسیم، مقدار یک گرم از نمونه‌ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد سوزانده شده و خاکستر حاصله برای اندازه‌گیری محتوای سدیم و پتاسیم به روش فلیم فتومتری مورد استفاده قرار گرفت. محتوای سدیم و پتاسیم بر اساس منحنی استاندارد و بر حسب میلی‌گرم بر لیتر تعیین شد. میزان عناصر سدیم و پتاسیم هر نمونه با استفاده از رابطه زیر برحسب میلی گرم بر گرم مادهٔ خشک محاسبه گردید (Rahnama, 2009):

$$AE = \frac{C \times D \times V}{10^6 \times DM} \times 1000 \qquad (۱)$$

که در آن E: مقدار عنصر مورد نظر بر حسب میلی گرم بر گرم مادهٔ خشک ، C: غلظت عنصر بر حسب میلی گرم بر لیتر، D: درجهٔ رقت، V: حجم نهایی عصاره تهیه شده بر حسب میلی لیتر و DM: وزن خشک نمونه بر حسب گرم است.

اندازه‌گیری محتوای پروتئین

استخراج پروتئین از بافت برگی (برگ پنجم) بر اساس روش دامروال و همکاران (Damerval *et al.*, 1986) با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای اندازه‌گیری میزان غلظت پروتئین‌های نمونه در این آزمایش از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. در این آزمایش برای وارد کردن پروتئین‌ها به داخل ژل بعد اول، پروتئین‌ها در استوک بازجذب (Rehydration) حل شده و همزمان با عمل بازجذب وارد ژل شدند. عمل باز جذب در طول شب و به طور متوسط ۱۴ تا ۱۶ ساعت طول می‌کشید. در این تحقیق از دستگاه مولتی فور II (Amersham Pharmacia Biotech) برای بعد اول (IEF) استفاده شد. برای انجام بعد دوم از دستگاه ProteinII Xi Cell (Bio-Rad) استفاده شد. مراحل رنگ آمیزی طبق روش بِلوم و همکاران (Bloom *et al.*, 1987) انجام شد. پس از رنگ آمیزی،

Archive of SID

www.SID.ir

ژل‌ها با استفاده از دنسیتومتر Gs800 (Bio-Rad) اسکن و مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی کمّی و کیفی لکه‌ها از نرم افزار Melanie 7 استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا لکه‌ها شناسایی شدند و سپس لکه‌های متناظر در ژل‌های تیمارهای مختلف علامت زده شده و پس از استخراج مقدار کمّی درصد حجمی لکه ها مورد تجزیه آماری t-Student قرار گرفتند. لکه‌هایی که مقادیر کمّی بیان آنها در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار و به میزان بیش از ۱/۵ برابر افزایش یا کاهش بیان داشتند، به عنوان لکه‌های کاندید درنظر گرفته شدند.

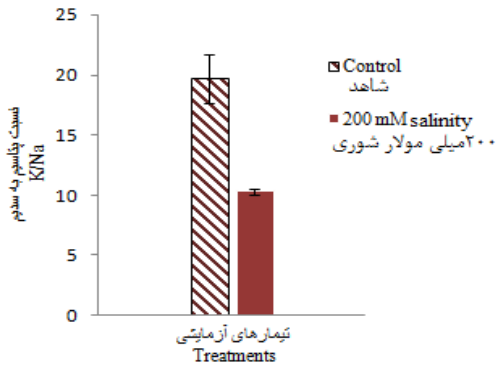
هضم پروتئین‌ها در ژل و آنالیز با طیف سنج جرمی

جهت آنالیز اولیه با نرم افزار ملانی (Melanie software)، ژل‌ها با نیترات نقره رنگ آمیزی شدند، پس از شناسایی لکه‌های پاسخ دهنده، ژل‌های مورد نظر دوباره ران شده و با کوماسی بلو رنگ آمیزی گردیدند. سپس به منظور شناسایی به‌وسیلهٔ طیف سنج جرمی، لکه‌ها از ژل‌های رنگ آمیزی شده با کوماسی بلو جدا شدند. لکه‌های پروتئینی جدا شده سه بار با آب خالص شستشو داده شده و سپس برای تجزیه توسط طیف سنج جرمی با استفاده از MALDI-TOF-TOF به دانشگاه یورک انگلستان فرستاده شدند. داده های حاصل از طیف سنج جرمی با استفاده از موتور جستجوگر MASCOT و بانک اطلاعاتی NCBInr مورد آنالیز قرار گرفتند. شناسایی پروتئین با استفاده از موتور جستجوگر MASCOT و با استفاده از شاخصی به نام MASCOT score صورت گرفت که این شاخص احتمال آماری شناسایی مثبت و درست پروتئین پیش‌بینی شده بوسیله MASCOT را نشان می‌دهد (Perkins *et al.*, 1999).

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که بین تیمار شوری و شاهد از نظر نسبت پتاسیم به سدیم در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت (شکل ۱). به منظور بررسی اثر تنش شوری بر روی الگوی پروتئوم برگی رقم متحمل روشن (گندم نان) پروتئین‌ها از برگ‌های پنجم گیاهچه‌های تنش دیده و شاهد استخراج شدند. پس از آنالیز ژل‌های رنگ آمیزی شده با نیترات نقره، تعداد ۲۰۰ لکه پروتئینی به طور تکرار پذیر در ژل‌ها شناسایی و مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

نتایج نشان داد که تعداد ۴۶ لکهٔ پروتئینی در مقایسهٔ تیمار شوری با شاهد حداقل تغییر ۱/۵ برابری

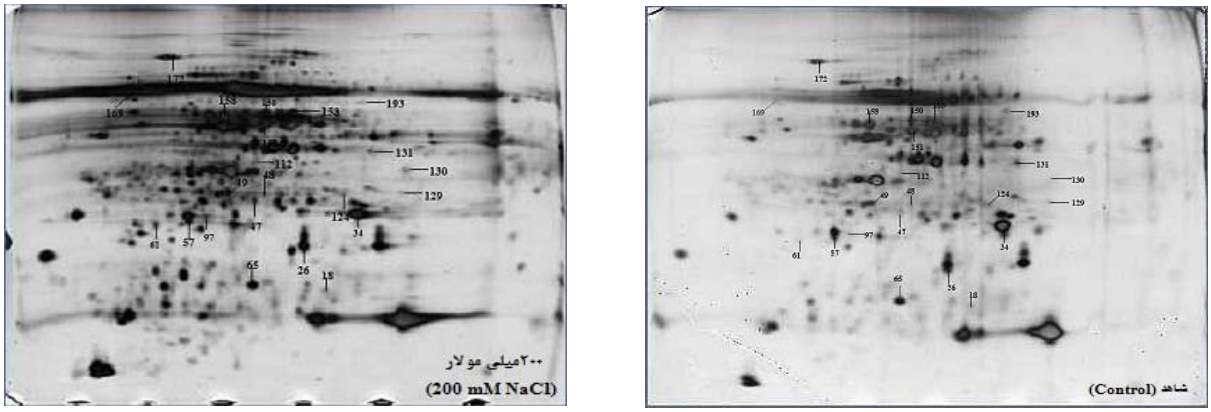


شکل ۱- مقادیر میانگین و انحراف معیار نسبت پتاسیم به سدیم در برگ گیاهچه‌های گندم در تیمارهای شاهد (صفر) و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم

Fig. 1. Values of means and standard error of K:Na ratio in leaf of wheat seedlings in control (zero) and 200 mM NaCl treatments

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- الکتروفورز دو بعدی پروتئین‌های گیاهچه‌های گندم شاهد (سمت راست) و تیمار شده با ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (سمت چپ)

Fig. 2. Two-dimensional gel electrophoresis of proteins extracted from control and NaCl treated wheat seedling

در بیان داشتند. از بین این تعداد تعداد ۲۳ لکه با استفاده از طیف سنج جرمی MALDI-TOF-TOF شناسایی شدند از بین این ۲۳ لکه، ۴ لکه کاهش بیان و ۱۹ لکه افزایش بیان داشتند. پروتئین‌های شناسایی شده در جدول-۱ آورده شده‌اند. در بین تمام پروتئین‌های شناسایی شده همبستگی خوبی بین مقادیر نقطه ایزوالکتریک (PI) و وزن مولکولی (MW) تئوریکی و آزمایشی دیده می‌شود. در این آزمایش، در یک ژل گاهی برخی پروتئین‌ها در بیش از یک لکه شناسائی شدند. برای مثال آنزیم رابیسکو زیرواحد کوچک (۲ لکه)، 2-cys peroxiredoxinBAS1 (۳ لکه)، Oxygen evolving enhancer protein 2 (۳ لکه) و ریبولوز ۱و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز اکتیواز (۳ لکه) از جمله پروتئین‌هایی بودند که در بیش از یک لکه شناسائی شدند (جدول ۱). پروتئین‌هایی که در بیش از یک لکه شناسایی شدند، قبلا نیز توسط سایر محققان گزارش شده اند (Wang *et al.*, 2008; Caruso *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2011) که علت آن را به تعدادی از ویژگی‌های مهم پروتئین‌ها از جمله وجود ایزوفرم‌های پروتئین، تغییرات پس از ترجمه‌ای، ترجمه از alternative spliced mRNA و تخریب پروتیین نسبت داده‌اند. تغییرات پس از ترجمه‌ای از قبیل گلیکوزیلاسیون و فسفوریلاسیون می‌توانند وزن مولکولی یا نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها را تغییر دهند (Caruso *et al.*, 2008). نقش برخی از پروتئین‌های شناسایی شده در تنش شوری و سایر تنش‌های محیطی به خوبی شناخته شده است. کلیه این پروتئین‌ها در تنظیم متابولیسم کربوهیدراتها، اسیدهای‌آمینه، نیتروژن و انرژی و مسیر حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن دخیل هستند که در زیر به آنها پرداخته می شود:

در این تحقیق بیان آنزیم فروکتوز۱ و۶ بیس فسفات آلدولاز کلروپلاستی (لکه ۱۱۲) کاهش یافت (جدول۱). در گیاهان عالی دو ایزوفرم از آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز وجود دارد: ایزوفرم سیتوسولی و ایزوفرم کلروپلاستی. ایزوفرم کلروپلاستی با تولید فروکتوز ۱و۶ بیس فسفات از D-گلیسر آلدهید ۳- فسفات و دی هیدروکسی استون فسفات در چرخه کالوین و تولید نشاسته دخیل است. با کاهش بیان این آنزیم، ممکن است منجر به کاهش فعالیت چرخه کالوین و تولید نشاسته شود. این کاهش نیز ممکن است منجر به تجمع ATP و NADPH در کلروپلاست و حفاظت گیاهان از تخریب اکسیداتیو نوری

www.SID.ir

جدول۱- پروتئین‌های پاسخ دهنده به شوری شناسایی شده بوسیله MALDI-TOF-TOF در گیاهچه‌های گندم

Table 1. Identified Salt Responsive Proteins using MALDI TOF-TOF in wheat seedlings

شماره No.	شماره لکه روی ژل Spot ID	شماره پروتئین در پایگاه‌های اطلاعاتی [a]gi|Number	هویت لکه Identity	تغیرات بیان [b]Expression change	درصد پوشش [c]Coverage %	نمره موتور جستجوگر مسکات [d]MS Score	نقطه ایزوالکتریک پروتئین پیش‌بینی شده/جرم مولکولی پروتئین پیش‌بینی شده [c]The pI/MW(kDa)	نقطه ایزوالکتریک پروتئین روی ژل / جرم مولکولی پروتئین روی ژل [f]Exp pI/MW(kDa)
1	36	gi|131394	پروتئین ۲ سرعت دهنده، آزاد سازی اکسیژن کلروپلاستی Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	- 0.42	48	368	8.84 ، 27.42	5.58 ، 26
2	34	gi|131394	پروتئین ۲ سرعت دهنده، آزاد سازی اکسیژن کلروپلاستی Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	- 0.50	67	552	8.84 ، 27.42	5.94, 25
3	193	gi|131394	پروتئین ۲ سرعت دهنده، آزاد سازی اکسیژن کلروپلاستی Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	- 0.42	33	196	8.84 ، 27.42	5.96, 52
4	47	gi|1174745	تریوز فسفات ایزومراز کلروپلاستی Triosephosphate isomerase, chloroplastic	+ 2.06	28	100	6، 31.95	5.23 ، 27
5	131	gi|49343245	مالات دهیدروژناز سیتوسولی cytosolic malate dehydrogenase [*Triticum aestivum*]	+ 1.53	41	115	5.7 ، 35.80	6.004 ، 37
6	130	gi|4038719	زیرواحد کوچک ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز/اکسیژناز ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit [*Triticum aestivum*]	+ 1.58	56	255	8.83، 18.80	6.19 ، 32
7	153	gi|167096	ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز اکتیواز، ایزوفرم ۱ ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activase isoform 1 [*Hordeum vulgare subsp. vulgare*]	+ 1.9	31	331	8.62 ، 47.34	5.53 ، 49
8	150	gi|167096	ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز اکتیواز، ایزوفرم ۱ ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activase isoform 1 [*Hordeum vulgare subsp. vulgare*]	+ 1.94	49	537	8.62 ، 47.34	5.32, 45
9	151	gi|115392208	ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز اکتیواز کلروپلاستی chloroplast ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activase [*Triticum aestivum*]	+ 1.93	39	361	6.52, 40.26	5.31, 49
10	158	gi|71362638	گلوتامین سنتاز پلاستیدی، ایزوفرم GS2b plastid glutamine synthetase isoform GS2b [*Triticum aestivum*]	+ 1.82	36	541	6 ، 46.95	4.98 ، 48
11	57	gi|2499477	۲-سیس پراکسی ردوکسین BAS1 کلروپلاستی 2-Cys peroxiredoxin BAS1, chloroplastic	+ 1.71	54	708	5.4 ، 23.39	4.65 ، 25
12	97	gi|2499477	۲-سیس پراکسی ردوکسین BAS1 کلروپلاستی 2-Cys peroxiredoxin BAS1, chloroplastic	+ 5.22	30	92	5.4 ، 23.39	4.81, 25
13	61	gi|2499477	۲-سیس پراکسی ردوکسین BAS1 کلروپلاستی 2-Cys peroxiredoxin BAS1, chloroplastic	+ 2.48	54	359	5.4 ، 23.39	4.42, 24
14	18	gi|132107	زیرواحد کوچک ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز کلون ۵۱۲ Ribulose bisphosphate carboxylase small chain clone 512	+ 1.75	36	60	5.8 ، 13.27	5.75 ، 16
15	172	gi|254211611	پروتین شوک حرارتی ۷۰ کیلو دالتونی 70 kDa heat shock protein [*Triticum aestivum*]	+ 1.61	35	578	4.9 ، 73.72	4.53 ، 60
16	112	gi|223018643	فروکتوز بیس فسفات آلدولاز کلروپلاستی chloroplast fructose-bisphosphate aldolase [*Triticum aestivum*]	0.48-	21	345	5.9 ،42.21	5.22 ، 34
17	129	gi|62176930	زیرواحد کوچک رابیسکو putative rubisco small subunit [*Triticum turgidum subsp. durum*]	+ 1.52	52	227	8.59 ، 19.32	6.17 ، 29
18	49	gi|15808779	آسکوربات پراکسیداز ascorbate peroxidase [*Hordeum vulgare*]	+ 1.58	44	385	5 ، 27.96	5.02 ، 29
19	169	gi|21684943	زیرواحد بزرگ ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز/اکسیژناز ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [*Distichia acicularis*]	+ 1.58	33	353	6.2 ، 48.65	4.34 ، 54
20	124	gi|47607439	پیش ماده ATP سینتاز میتوکندریایی mitochondrial ATP synthase precursor [*Triticum aestivum*]	+ 0.44	37	164	8.8 ، 27.09	5.85 ، 28
21	48	gi|255565291	ناقل abc abc transporter, putative [*Ricinus communis*]	+ 1.99	9	69	6.4 ،36.00	5.3 ، 28
22	26	gi|32400802	فسفوگلیسرات موتاز phosphoglycerate mutase [*Triticum aestivum*]	+ 1.73	66	454	5.3 ، 29.61	5.61 ، 21
23	65	gi|1572627	Cu/Zn سوپر اکسید دیسموتاز Cu/Zn superoxide dismutase [*Triticum aestivum*]	+ 1.73	43	437	5.3 ، 20.35	5.21 ،17

Archive of SID

www.SID.ir

شوند (Michelis and Gepstein, 2000). کاروسو و همکاران (Caruso et al., 2008) نیز کاهش بیان این آنزیم را در گندم دوروم تحت تنش شوری مشاهده کردند. لکه‌های ۱۲۹، ۱۸ و ۱۳۰ مربوط به زیرواحد کوچک رابیسکو است. بیان این لکه‌ها تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم رقم روشن افزایش پیدا کرد (جدول ۱). رابیسکو، آنزیم کلیدی چرخه کلوین است و واکنش تبدیل دی-ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات و دی‌اکسید کربن به دو مولکول ۳-فسفو دی گلیسرات را کاتالیز می‌کند. تنش‌های محیطی می‌توانند موجب غیرفعال شدن قابل برگشت یا غیر قابل برگشت روبیسکو شوند. روبیسکو غیرفعال شده غیر قابل برگشت بوسیله نسخه‌های جدید سنتز شده جایگزین می‌شود. بنظر می‌رسد که بواسطه ناپایدار بودن زیر واحدهای روبیسکو بیان آنها در گیاه تحت تنش افزایش یافته است. لکه ۱۶۹ متعلق به زیرواحد بزرگ رابیسکو است. همانطور که در جدول یک نیز مشخص شده است، میزان بیان زیرواحد بزرگ رابیسکو در شرایط تنش شوری افزایش یافته است. در شرایط تنش شدید و بلند مدت شوری، فراوانی افزایش یافته زیرواحد بزرگ رابیسکو می‌تواند دال بر تخریب بیشتر پروتئین نیز باشد. مدارکی وجود دارد که نشان می‌دهد زیرواحدهای بزرگ رابیسکو می‌توانند توسط گونه‌های اکسیژنی فعال تشکیل شده در جایگاه اتصال یون فلزی شکسته شوند (Hajduch *et al.*, 2001). با توجه به وزن مولکولی تئوریکی زیرواحد بزرگ رابیسکو (۴۸/۶۵ کیلودالتون) و وزن مولکولی بدست آمده در آزمایش حاضر (۵۴ کیلودالتون)، مشخص است که رقم روشن توانسته است در طی ۱۷ روز تنش شوری، بیان زیرواحد بزرگ رابیسکو را بدون اینکه تخریب شود، افزایش دهد که این موضوع احتمالا باعث جبران زیرواحدهای غیر فعال شده در طی تنش خواهد شد.

لکه‌های ۳۴، ۳۶ و ۱۹۳ به Oxygen-evolving enhancer protein2 کلروپلاستی تعلق دارند. بیان این پروتئین تحت تنش شوری در گیاهچه های گندم کاهش یافت (جدول ۱). Oxygen evolving enhancer protein 2 یکی از سه پروتئینی است که در کمپلکس آزاد سازی اکسیژن در فتوسیستم II نقش ایفا می‌کند و باعث تجزیه آب و آزادسازی اکسیژن می‌شود (De Vitry *et al.*, 1989). کاهش بیان این پروتئین احتمالا به این علت است که سطح آزاد سازی اکسیژن کاهش پیدا می‌کند که این موضوع باعث می‌شود تا رادیکال‌های اکسیژن آزاد کمتری تولید شده و تخریب کمتری به فتوسیستم II وارد گردد. در گندم دوروم تحت تنش شوری (Caruso *et al.*, 2008) کاهش بیان این پروتئین گزارش شده است.

لکه ۴۷ به آنزیم تریوز فسفات ایزومراز کلروپلاستی تعلق دارد. بیان این آنزیم تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). تریوز فسفات ایزومراز واکنش تبدیل دوطرفهٔ دی‌هیدروکسی استون فسفات و دی گلیسرآلدهید تری‌فسفات را کاتالیز می‌کند. دو نوع ایزوفرم از این آنزیم وجود دارد: سیتوسولی و کلروپلاستی. ایزوفرم پلاستیدی در چرخه کالوین دخیل است (Gao *et al.*, 2011). به نظر می‌رسد که افزایش بیان آنزیم تریوز فسفات ایزومراز کلروپلاستی به علت نیاز به انرژی جهت سمیت زدایی و بازسازی آسیب‌های ناشی از تخریب اکسیداتیو است. گزارشات قبلی نیز افزایش بیان این آنزیم را در برگ گندم نان (Gao *et al.*, 2011, Wang *et al.*, 2008) و گندم دوروم (Caruso *et al.*, 2008) تحت تنش شوری نشان دادند.

لکه ۱۵۸ متعلق به آنزیم گلوتامین سنتاز پلاستیدی است. در گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری بیان این آنزیم افزایش یافت (جدول ۱). این آنزیم، تثبیت آمونیوم روی گروه δ-کربوکسیل گلوتامات را (که وابسته به آدنوزین تری فسفات است) کاتالیز می‌کند تا گلوتامین را بوجود آورد. در واقع این آنزیم گروه‌های نیتروژنی را برای بیوسنتز همه اجزای نیتروژنی در گیاه

Archive of SID

www.SID.ir

فراهم می‌کند (Ireland and Lea 1999). گلوتامین نیز اسیدآمینه اصلی دخیل در سنتز پرولین است. پرولین یک جزء مهم پاسخ به تنش شوری در گیاهان به شمار می‌رود و در داخل سلول گیاه می‌تواند به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی و عامل حفاظتی اسمزی از گیاه در برابر تنش شوری حمایت کند. در مطالعات قبلی، افزایش بیان این آنزیم در برگ گندم نان (Wang *et al.*, 2008) و گندم دوروم (Caruso *et al.*, 2008) و برنج (Yan *et al.*, 2006) نیز گزارش شده است.

به دلیل حفظ هموستازی در شرایط تنش، گیاهان نیاز دارند تا سازوکارهای مقاومت از قبیل حذف رادیکال‌های اکسیژن فعال و سیستم دفاع سلولی را تقویت کنند. گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند اجزای سلولی را تخریب کنند و به عنوان مولکول‌های پیام دهنده عمل می‌کنند (Apel and Heribert, 2004). گیاهان می‌توانند سطح گونه‌های اکسیژن فعال را از طریق سازوکارهای پیچیدهٔ چندین آنزیم تنظیم کنند، که کارکرد این آنزیم‌ها در سمیت‌زدایی سلولی و دفاع سلولی است. در این آزمایش، فراوانی پروتئین‌های دخیل در این سازوکارها در شرایط تیمار شوری افزایش یافت. لکه ۴۹ متعلق به آنزیم آسکوربات پراکسیداز است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). این آنزیم یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اصلی در گیاهان است که می‌تواند با اکسید کردن آسکوربات، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را غیر سمی کند. بر طبق گزارشات قبلی بیان این آنزیم در گندم نان (Wang *et al.*, 2008) و گندم دوروم (Caruso *et al.*, 2008) تحت تنش شوری افزایش یافت. لکه ۶۵ متعلق به آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (Cu-Zn) است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). سوپر اکسید دیسموتاز نیز بخشی از یک سیستم آنزیمی سمیت زدایی برای از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال است (Asada, 1999). رادیکال O_2^- منبع اصلی آسیب اکسیداتیو در گیاهان است و واکنشی که توسط سوپر اکسید دیسموتاز کاتالیز می‌شود، O_2^- درون سلولی را در سطوح عادی حفظ می‌کند. محققان متعددی به دخالت این آنزیم در حفاظت از سلول در تنش‌های مختلف اشاره کرده‌اند (Askari *et al.*, 2006, Caruso *et al.*, 2008).

لکه‌های ۵۷، ۶۱، و ۹۷ متعلق به ۲- سیس پراکسی‌ردوکسین کلروپلاستی است که بیان این لکه‌ها تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). پروکسی‌ردوکسین‌ها به صورت چندین ایزوفرم وجود دارند و واکنش احیا دامنه وسیعی از پراکسیدهای مختلف شامل H_2O_2، آلکیل هیدروپراکسیدها و پراکسی نیتریت را کاتالیز می‌کند (Kobayashi *et al.*, 2004) و باعث سمیت زدایی از دامنه وسیعی از رادیکال‌های آزاد تولید شده در تنش شوری می‌شود. در چندین گزارش نیز به افزایش بیان این آنزیم تحت تنش شوری اشاره گردیده است (Ndimba *et al.*, 2005, Caruso *et al.*, 2008).

لکه ۲۶ متعلق به آنزیم فسفوگلیسرات موتاز است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). فسفوگلیسرات موتاز یک آنزیم گلیکولیزی است که باعث تبدیل گلیسرات ۳-فسفات و گلیسرات ۲-فسفات به یکدیگر می‌شود (Yan *et al.*, 2006). افزایش بیان این آنزیم ممکن است به تولید انرژی بیشتر مورد نیاز در فرآیندهای دفاعی متعدد کمک کند. افزایش بیان این آنزیم در گندم دوروم تحت تنش شوری (Caruso *et al.*, 2008) و در برنج تحت تنش سرما (Yan *et al.*, 2006) گزارش شده است.

لکه‌های ۱۵۰، ۱۵۱ و ۱۵۳ متعلق به آنزیم رابیسکو اکتیواز هستند که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافتند (جدول ۱). رابیسکو اکتیواز، متعلق به پروتئین‌های خانوادهٔ AAA+ است. این آنزیم احتمالا به عنوان چاپرون‌های مولکولی عمل می‌کند. نقش

Archive of SID

www.SID.ir

اصلی اکتیواز حفظ فعالیت کاتالیتیکی رابیسکو با حذف قندهای بازدارنده از جایگاه فعال رابیسکو کاربامات شده یا غیر کاربامات شده است (Portis, 2003). نتیجه بدست آمده در این تحقیق نیز موافق با نتایج پارکر و همکاران (Parker et al., 2006) بود که گزارش کردند، بیان بالای اکتیواز در پهنک برگ برنج ممکن است، جهت تحمل تنش شوری مورد نیاز باشد (به علت کاهش مستقیم در هدایت روزنه‌ای و سطوح پایین دی‌اکسید کربن). پایین بودن غلظت دی‌اکسید کربن در استروما باعث افزایش غیرفعال شدن رابیسکو از طریق اتصال قندهای بازدارنده می‌شود. افزایش فعالیت اکتیواز به طور مستقیم اجازه عمل کربوکسیلاسیون در سطوح پایین دی‌اکسید کربن را می‌دهد (Parker *et al.*, 2006).

لکه ۱۲۴ متعلق به آنزیم پیش ماده ATP سینتاز میتوکندریایی است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم رقم روشن کاهش یافت (جدول ۱). آنزیم ATP سینتاز یکی از آنزیم‌های مهم مورد نیاز برای تعیین و حفظ هموستازی یون در سلول‌های گیاهی است. کاهش بیان این آنزیم احتمالا مرتبط با کاهش میزان فتوسنتز تحت تنش شوری است، که با نتایج کاروسو و همکاران (Caruso et al., 2008) مطابقت دارد.

لکه ۴۸ متعلق به ABC ترانسپورتر است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافته است (جدول ۱). این پروتئین انتقال متابولیت‌های ثانویه از قبیل آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، پلی‌فنول‌ها و کوئینین‌ها که نقش‌های مهمی در دفاع و تحمل به تنش‌های غیر زنده در گیاهان ایفاء می‌کنند را تسهیل می‌کند (Wang *et al.*, 2008). افزایش بیان این ناقل در برگ گندم نان نیز گزارش شده است (Wang *et al.*, 2008). اسمارت و فلمینگ (Smart and Fleming, 1996) نیز القای ژن ABC ترانسپورتر بوسیله هورمون‌ها، نمک و سایر تنش‌های غیر زنده در گیاه آبزی *Spidodela polyrrizha* گزارش کرده‌اند و نقش احتمالی آن را در دفع متابولیت سلولی دانسته‌اند که در شرایط تنش شوری تجمع می‌یابند.

لکه ۱۷۲ متعلق به پروتئین شوک حرارتی ۷۰ (hsp70) است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). تصور می‌شود که خانواده پروتئینی hsp70 به علت اتصال به زنجیره‌های پلی پپتیدی سایر پروتئین‌ها، در تاخوردگی صحیح پروتئین‌ها و همچنین حفاظت از آنها در برابر تخریب شدن و یا انباشته شدن آنها دخیل هستند. همچنین گزارش شده است که hsp70 در انتقال پروتئین‌ها از عرض غشاهای اندامک‌های سلولی دخیل هستند (Ndimba *et al.*, 2005). پیشنهاد شده است که hsp70 می‌تواند نقشی در تحمل به تنش شوری با حفاظت از پروتئین‌ها و تسهیل در انتقال بین سلولی آنزیم‌های سلولی ضروری ایفا کنند. افزایش بیان این پروتئین‌ها در آزمایش‌های متعددی نشان داده شده است (Ndimba *et al.*, 2005, Wang *et al.*, 2008).

لکه ۱۳۱ متعلق به پروتئین مالات دهیدروژناز سیتوسولی است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). آنزیم مالات دهیدروژناز واکنش تبدیل دوطرفه مالات به اگزالواستات و برعکس را کاتالیز می‌کند. این آنزیم در سیتوسول، میتوکندری و پراکسیزوم، وابسته به NAD^+ و در کلروپلاست وابسته به $NADP^+$ است. در سیتوسول آنزیم مالات دهیدروژناز وابسته به NAD^+ واکنش تبدیل اگزالواستات به مالات را کاتالیز می‌کند. سپس مالات از طریق ناقل دکربوکسیلات وارد میتوکندری می‌شود و در آنجا وارد چرخه تری کربوکسیلیک اسید می‌شود. این موضوع باعث عملکرد بهتر این چرخه می‌شود. همچنین اگزالواستات به عنوان پیش ماده اسیدآمینه در گیاهان عمل می‌کند (Kumar *et al.*, 2000)، بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت مالات دهیدروژناز در حفظ فعالیت

www.SID.ir

بالاتر چرخه تری کربوکسیلیک اسید و نیز سنتز بیشتر اسیدآمینه‌ها کمک می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم در برگ گندم نان (Wang *et al.*, 2008) و آرابیدوپسیس (Ndimba *et al.*, 2005) مشاهده گردید.

با توجه به اینکه تنش شوری یکی از تنش‌های مهمی است، که عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می‌دهد، درک سازوکارهایی که گیاهان به هنگام مواجهه با تنش به کار می‌برند، کمک شایان توجهی به محققان به نژادی گیاهی خواهد کرد. به نظر می‌رسد که در گیاهچه‌های گندم برای دفاع از سلول در برابر رادیکال‌های آزاد از آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و پروکسی ردوکسین استفاده شده و با تغییر بیان آنزیم‌های تریوزفسفات ایزومراز، فسفوگلیسرات موتاز و مالات دهیدروژناز احتمالا بخشی از انرژی مورد نیاز برای واکنش‌های سمیت زدایی از سلول فراهم می‌شود. همچنین در این رقم با افزایش سنتز رابیسکو، احتمالا رابیسکوی غیرفعال شده طی تنش شوری جبران شده و با افزایش فعالیت اکتیواز کارایی آنزیم رابیسکو نیز افزایش یافته است. بیان بالای پروتئین شوک حرارتی ۷۰ هم احتمالا با حفاظت از پروتئین‌ها و تسهیل در انتقال بین سلولی آنزیم‌های سلولی ضروری در تحمل به تنش شوری نقش ایفا می‌کند. در گیاهچه‌های گندم احتمالا با افزایش بیان آنزیم گلوتامین سنتاز، گروه‌های نیتروژنی مورد نیاز برای بیوسنتز همه اجزای نیتروژنی در گیاه فراهم شده است. در این آزمایش افزایش بیان ABC ترانسپورتر نیز مشاهده گردید و طبق گزارش قبلی این نوع از ناقلین در دفع متابولیت سیتوسولی که در طی تنش شوری تولید می‌شوند، نقش دارند. با این حال نقش دقیق این نوع ترانسپورترها در تحمل به تنش شوری مشخص نشده است. این نوع ناقل می‌تواند به عنوان یک پروتئین کاندیدا در تحمل به تنش شوری مورد توجه قرار گیرد و با استفاده از روش‌های دیگر از جمله ترانسکریپتومیکس مورد بررسی بیشتری قرار گیرد. نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌تواند مورد توجه به‌نژادگران گیاهی از نظر تحمل به تنش شوری در گندم قرار گیرد.

سپاسگزاری

هزینه این طرح از محل صندوق حمایت از پژوهشگران تامین گردیده است. بدینوسیله از حمایت‌های صندوق مذکور سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

References

Abbasi, F. M. and S. Komatsu. 2004. A proteomic approach to analyze salt-responsive proteins in rice leaf sheath. Proteomics. 4(7): 2072-2081.

Akhilesh, P. and M. Matthias. 2000. Proteomics to study genes and genomes. Nature, 405: 837-846.

Apel, K. and H. Heribert. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373–399.

Asada, K. 1999. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 601–639.

Ashraf, M. and P. J. C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Sci. 166. 3–16.

Askari, H., J. Edqvist, M. Hajheidari, M. Kafi and G. Hosseini Salekdeh. 2006. Effect of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptica* leaves. Proteomics, 6: 2546–2554.

Archive of SID
www.SID.ir

Bloom, H., H. Beier and H. S. Gross. 1987. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis, 8: 93-99.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochem. 72: 248-254

Caruso G., C. Cavaliere, C. Guarino, R. Gubbiotti, P. Foglia and A. Laganà. 2008. Identification of changes in *Triticum durum L.* leaf proteome in response to salt stress by two-dimensional electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. 391: 381–390.

Damerval, C., D. de Vienne, M. Zivy and H, Thiellement. 1986. Technical improvments in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. Electrophoresis. 7: 52–54.

De Vitry, C. O., J. Drapier, D. Recouvreur and M. Wollman. 1989. Post-translational events leading to the assembly of photosystem II protein complex: A study using photosynthesis mutants from *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Cell Biol. 109(3): p. 991.

Gao L., X. Yan, X. Li, G. Guo, Y. Hua, W. Ma and Y. Yan. 2011. Proteome analysis of wheat leaf under salt stress by two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). Phytochemistry. 72(10): 1180-91.

Greenway, H. and R. Munns.1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annu. Rev. Plant Physiol. 31: 149–190.

Gygi, S., Y. Rochon, B. Fransz and R. Aebersold. 1999. Correlation between protein and mRNA abundance in yeast. Mol. Cell Biol. 19: 1720–1730.

Hajduch, M., R. Rakwal, G. K. Agrawal, M. Yonekura and A. Pretova. 2001. High-resolution two-dimensional electrophoresis separation of proteins from metal-stressed rice (*Oryza sativa* L.) leaves: Drastic reductions/ fragmentation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and induction of stress-related proteins. Electrophoresis. 22: 2824–2831.

Ireland, R. J. and P. J. Lea. 1999. The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine, and aspartate metabolism. in Plant Amino Acids, Biochemistry and Biotechnology. ed Singh B. K. (Marcel Dekker, New York), pp 49–109.

Kobayashi, M., T. Ishizuka, M. Katayama, M. Kanehisa, M. Bhattacharyya- Pakrasi, H. B. Pakrasi and M. Ikeuchi. 2004. Response to oxidative stress involves a novel peroxiredoxin gene in the unicellular *cyanobacterium* Synechocystis *sp*. Plant Cell Physiol. 45: 290–299.

Kreps, J. A, Y. Wu, H. S. Chang, T. Zhu, X. Wang and J. F. Harper. 2002. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. Plant Physiol. 130: 2129–2141.

Kumar, R. G., K. Shah and R. S. Dubey. 2000. Salinity induced behavioural changes in malate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase activities in rice seedlings of differing salt tolerance. Plant Sci. 156: 23–34.

Michelis, R. and S. Gepstein. 2000. Identification and characterization of a heat-induced isoform of aldolase in

Archive of SID

www.SID.ir

oat chloroplast. Plant Mol. Biol. 44: 487–498.

Moons, A., G. Bauw, E. Prinsen, M. Van Montagu and D. Straeten.1995. Molecular and physiological responses to abscisic acid and salts in roots of salt sensitive and salt tolerant indica rice varieties. Plant Physiol. 107: 177–186.

Moons, A., E. Prinsen, G. Bauw and M. Van Montagu. 1997. Antagonistic effects of abscisic acid and jasmonates on salt inducible transcripts in rice roots. Plant Cell. 9: 2243–2259.

Munns, R. M. and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 59: 651–81.

Ndimba, B. K., S. Chivasa, W. J. Simon and A. R. Slabas. 2005. Identification of *Arabidopsis* salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. Proteomics. 5: 4185–4196.

Parker, R. T. J. Flowers, A. L. Moore and N. V. Harpham. 2006. An accurate and reproducible method for proteome profiling of the effects of salt stress in the rice leaf lamina. J. Exp. Bot. 57(5): 1109-1118.

Perkins, D. N., D. J. C. Pappin, D. M. Creasy and J. S. Cottrel. 1999. Probability based protein identification by searching sequences databases using mass spectrometry data. Electrophoresis. 20: 3551-3567.

Portis Jr, A. R. 2003. Rubisco activase: Rubisco's catalytic chaperone. Photosynthesis Res. 751: 11–27.

Poustinia K. and A. Siosemardeh. 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. Field Crops Res. 85: 125–133.

Rahnama, A. F. 2009. Evaluation of some physiological mechanisms of salt tolerance in seven wheat cultivars (*Triticum aestivum L.*). Ph.D. Thesis. University of Tehran. Iran. (In Persian).

Riccardi F, P. Gazeau, D. de Vienne and M. Zivy. 1998. Protein changes in response to progressive water deficit in maize. Quantitative variation and polypeptide identification. Plant Physiol. 117:1253–1263.

Smart, C. C. and A. J. Fleming. 1996. Hormonal and environmental regulation of a plant PDR5-like ABC transporter. J. Biol. Chem. 271: 19351–19357.

Wang, M. C., Z. Y. Peng, C. L. Li, F. Li, C. Liu and G. M. Xia. 2008. Proteomics analysis on a high salt tolerance introgression strain of *Triticum aestivum*/*Thinopyrum ponticum*. Proteomics. 8: 1470–1489.

Williams, K. and D. Hochstarsser. 1997. In: Wilkins M., K. Williams R. Appel D. Hochstrasser (Eds.) Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics. Springer. Berlin.

Yan, S. P., Q. Y. Zhang, Z. C. Tang, W. A. Su and W. N. Sun. 2006. Comparative proteomic analysis provides new insights into chilling stress responses in rice. Mol. Cell. Proteomics 5, 484–496.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of salinity on changes in protein profile in seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.) *cv*. Roshan

Maleki, M.[1], M. R. Naghavi[2], H. Alizadeh[3], K. Poustini[4] and C. Abd Mishani[5]

ABSTRACT

Maleki, M., M. R. Naghavi, H. Alizadeh, K. Poustini and C. Abd Mishani. 2012. Effect of salinity on changes of protein profile in seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.) *cv.* Roshan**. Iranian Journal of Crop Sciences. 13(4): 684-696. (In Persian).**

The effect of salinity on changes of protein profile in seedlings of wheat *cv*. Roshan was evaluated in a pot experiment in faculty of Agriculture, University of Tehran, in 2009. Seedlings of wheat *cv.* Roshan were exposed to 200 mM salinity for seventeen days. A proteomics technique was used to study proteins of leaf. Proteins of the leaves were extracted by TCA–acetone, and separated by two-dimensional gel electrophoresis at pH 4–7. Two hundred repeatable spots were identified and statistically analyzed. Twenty three spots were identified using MALDI TOF-TOF mass spectrometry. Expressions of nineteen spots increased and expressions of four spots decreased. Some identified proteins such as glutamine synthetase, ascorbate peroxidase, Cu/Zn superoxide dismutase and rubisco activase were up-regulated and other proteins like Oxygen-evolving enhancer protein and fructose-bisphosphate aldolase were down-regulated. Identified proteins are involved in regulation of carbohydrate, nitrogen and energy metabolism and eliminating of ROS. In this study, we recognized some proteins involved in salt tolerance at seedling stage in the cv. Roshan.

Key words: Bread wheat, Proteomics and Salt stress.

Archive of SID

Received: September, 2010 Accepted: June, 2011

1- Faculty member, International Center for Sciences and Advance Technologies and Environmental Sciences of Kerman, Kerman, Iran (Corresponding author) (Email: maleki@ut.ac.ir)

2- Professor, University of Tehran, Karaj, Iran
3- Professor, University of Tehran, Karaj, Iran
4- Professor, University of Tehran, Karaj, Iran
5- Professor, University of Tehran, Karaj, Iran

www.SID.ir