

تجزیه پروتئوم بذر کلزا تحت تنش شوری

علی بنده‌حق*، شیدا علیپور قربانی، محمود تورچی و رضا شکری قره‌لو

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشگاه تبریز، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱

چکیده

کلزا به‌عنوان یکی از محصولات تولیدکننده دانه‌های روغنی از اهمیت ویژه‌ای برای تولید روغن خوراکی گیاهی برخوردار است ولی تحت تنش شوری به میزان قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر اثرات منفی تنش قرار می‌گیرد. به‌منظور مطالعه اثرات تنش شوری روی برخی صفات رشدی و تغییرات الگوی پروتئوم بذر تحت تنش شوری شدید، رقم حساس ساری گل در شرایط گلخانه‌ای کشت و تحت تنش شوری در سه سطح ۰، ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم قرار گرفت. کشت بذرها در سیستم هیدروپونیک از نوع بستر جاری انجام شد. برای مطالعه تغییرات الگوی پروتئوم بذرها، از تکنیک الکتروفورز ژل دوبعدی استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش سطح تنش وزن تر، وزن خشک بخش هوایی، ارتفاع بوته، عملکرد دانه و وزن صد دانه به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد و میزان پرولین در برگ نیز افزایش پیدا نمود. مقایسه الگوی پروتئوم بذرها نشان داد که تحت تنش شدید شوری (۳۵۰ میلی مولار) ۲۹ لکه پروتئینی دچار تغییرات بیان می‌شوند. شناسایی این لکه‌ها مشخص کرد که این پروتئین‌ها در شش گروه عملکردی شامل متابولیسم کربن، دفاع-سم‌زدایی، پروتئین ذخیره‌ای، فتوسنتز، متابولیسم نیترژن و سنتز-تجزیه درگیر هستند. بیشتر لکه‌های دارای تغییرات بیان مربوط به گروه متابولیسم کربن و دفاع-سم‌زدایی بودند. تنش شوری بطور معنی‌داری باعث کاهش خصوصیات رشدی ساری گل و تغییر الگوی پروتئومی و سطح بیان بذرها گردید. بیش از ۶۵ درصد لکه‌های پروتئینی در بذر ساری گل کاهش بیان معنی‌دار پیدا نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: بذر، تنش شوری، پروتئومیکس، ساری گل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۱۳۳۳۹۲۰۳۱، پست الکترونیکی: bandehhagh@yahoo.com

مقدمه

عوامل، مسیرهای بیولوژیکی، پروتئین‌های دخیل و آگاهی به عملکرد مولکولی آنها در سلول، لازم است که مطالعات مولکولی در دو جهت ژنومیک ساختاری و عملکردی در گیاه کلزا تحت شرایط مختلف تنش شوری انجام شود (۳۵). اطلاعات حاصل از مطالعات ژنومیکس ساختاری اگرچه برای شناسایی ژن راهکار مناسبی است ولی برای پیش‌بینی و تعیین ساختار و عمل پروتئین‌ها کافی نمی‌باشد، زیرا تغییرات پس از ترجمه لازمه فعال شدن بسیاری از پروتئین‌هاست (۲۱). بیشتر این تغییرات را نمی‌توان از روی توالی DNA و یا mRNA پیش‌بینی کرد. رهیافت پروتئومیک امکان مطالعه بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده

شوری از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد بسیاری از محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا به شمار می‌رود و اثرات زیانباری روی عملکرد گیاهان دارد. کره زمین یک سیاره شور است و اکثریت آب آن محتوی حدود ۳۰ گرم بر لیتر کلرید سدیم می‌باشد. این آب‌های شور زمین‌هایی که محصولات کشاورزی در آن کشت می‌شوند را تحت تأثیر قرار می‌دهند و خطری جدی برای توسعه کشت محصولات کشاورزی هستند (۳۱).

مکانیسم‌های مولکولی دخیل در مقاومت گیاهان به شوری بسیار پیچیده است و ژن‌های زیادی در آن دخیل می‌باشند. برای مطالعه مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری، شناسایی

پروتئین‌های درگیر در دفاع، سم زدایی و پروتئین‌های ذخیره ای بوده است.

برای آگاهی از مکانیسم‌های ملکولی واکنش به تنش شوری، شناسایی پروتئین‌های دخیل در فریندهای مولکولی یکی راهکارهای موجود و مؤثر است. در راستای این هدف، این مطالعه به منظور بررسی تأثیر تنش شوری روی خصوصیات مورفولوژیکی و شناسایی لکه‌های پروتئینی با تغییرات بیان معنی‌دار در بذرهاى کلزا اجرا گردید.

مواد و روشها

مواد گیاهی و مشخصات سیستم کشت: این آزمایش به منظور بررسی اثر تنش شوری روی صفات مورفولوژیک و الگوی بیان پروتئین‌های بذر رقم حساس کلزا (ساری گل) تحت سطوح ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. بذرهاى رقم حساس ساری گل بعد از استریل شدن با استفاده از هیپوکلرید سدیم در پلت های اتوکلاو شده برای جوانه زنی قرار گرفتند. سپس گیاهچه‌های حاصل در سیستم هیدروپونیک نشاکاری شدند. بعد از یک هفته تنش شوری در سه سطح صفر، ۱۷۵ و ۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها اعمال و تا زمان برداشت گیاهان ادامه یافت. سیستم هیدروپونیک از نوع بستر جاری و کشت درون ماسه بود. از محلول غذایی هوگلند تغییر یافته (۶) برای تغذیه گیاهان استفاده گردید. pH محلول غذایی در محدوده ۵٫۵±۰٫۶ تنظیم شد.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی: صفات رشدی شامل وزن تر و خشک بوته‌ها، ارتفاع بوته‌ها، عملکرد و وزن صد دانه و میزان پرولین آزاد گیاهان در زمانی که ۹۰ درصد نیام‌ها زرد شده بودند، اندازه‌گیری گردید. برای محاسبه عملکرد دانه تعداد خورجین و تعداد دانه در هر بوته شمارش شدند و بعد وزن صد دانه اندازه گیری شد. برای شمارش بذرها از دستگاه بذر شمار

به تنش شوری و شناسایی مسیرهای مولکولی یا انتقال پیام را فراهم می‌کند (۳۵). در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی در راستای مطالعه پروتئوم بافت‌های مختلف کلزا با هدف شناسایی پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش انجام شده است. بنده حق و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای که روی ارقام حساس و متحمل کلزا تحت تنش شوری انجام داده‌اند، گزارش کرده‌اند که پروتئین‌های درگیر در تنش اکسیداتیو، انتقال الکترون، ترجمه و فتوسنتز به طور معنی‌داری تغییر بیان پیدا می‌کنند.

دانه کلزا دارای ۴۰ درصد روغن و ۱۷ تا ۲۶ درصد پروتئین می‌باشد که بخش اعظم پروتئین‌های آن را ناپین (Napin)، کروسیفرین (Cruciferin) و الئوسین (Oleosin) تشکیل می‌دهد. به همین دلیل دانه‌های کلزا برای استفاده در صنایع غذایی دارای پتانسیل خوبی است (۲۵). از این رو توسعه کشت کلزا برای تولید دانه‌های روغنی مرغوب برای مصارف خوراکی به دلیل صفات مطلوب آن مورد توجه قرار گرفته است. در ایران کشت کلزا عمدتاً به مناطق نیمه خشک اختصاص یافته است که عمدتاً دارای خاک‌های سدیمی و شور هستند. این موضوع پتانسیل تولید گیاه را با محدودیت رو به رو می‌کند (۱). پروتئوم بذر به طور مستقیم متأثر از تنش شوری نیست ولی بازتابی از پاسخ سایر اندام‌ها همانند برگ و ریشه در فرایند تنش و تحمل آن است که در نهایت بر ترکیب پروتئینی بذر اثر می‌گذارد. با وجود اینکه پروتئین‌های شناسایی شده از مطالعه پروتئوم بذرها، کاندیداهایی برای افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری نیستند اما منعکس کننده تأثیرات تنش شوری روی فرایندهای بیولوژیکی بذر هستند (۴۴). در گزارش عیوضلو و همکاران (۱۳۹۲) که در رابطه با تجزیه پروتئوم بذر کلزای رقم Hyola308 (مقاوم به شوری) تحت تنش شوری انجام شده است، ۲۸ لکه پروتئینی دارای تغییرات بیان ملاحظه شده است که در این بین سهم عمده پروتئین‌های شناسایی شده متعلق به گروه

براساس وزن مولکولی با استفاده از ژل پلی آریلامید واسرشته انجام شد و از مارکرهای پروتئینی برای تعیین وزن مولکولی لکه‌ها استفاده شد. ظاهرسازی لکه‌های پروتئینی با نیترات نقره بر اساس روش بلوم ۱۹۸۷ با اندکی تغییرات انجام شد. اسکن ژل‌ها با دنیسومتر (Bio-800) Rad, GS با وضوح بالا (6000 dpi) و شناسایی لکه‌های پروتئینی و کمی کردن آنها با استفاده از نرم‌افزار Melanie 4.0 انجام گردید. تجزیه داده‌های کمی (درصد حجمی لکه‌های پروتئینی) حاصل از نقاط تکرار پذیر با استفاده از آزمون t در نرم‌افزار MSTATC انجام شد. فاکتور القا بیش از ۲ و کمتر از ۰.۵ به ترتیب برای تعیین افزایش یا کاهش بیان لکه‌ها پروتئینی در نظر گرفته شد. برای بدست آوردن فاکتور القا لکه‌های پروتئینی، حجم هر لکه در ژل حاصل از گیاهان تحت تنش شوری، تقسیم بر حجم لکه مربوطه در ژل بدست آمده از گیاهان شاهد (بدون تنش شوری) شد. عدد حاصل برای تعیین معنی‌دار بودن و یا نبودن و نیز تعیین افزایش یا کاهش بیان یافتن هر لکه مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی، لکه‌های دارای تغییرات بیان مورد شناسایی قرار گرفتند. نرم افزار آنالیز Expasy-TagIdent (<http://web.expasy.org/tagident/>) برای جستجوی داده پایگاه‌های پروتئینی به کار برده شد. این نرم افزار با استفاده از وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک به صورت احتمالی پروتئین‌ها را شناسایی می‌کند.

نتایج

آنالیز داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های مورفولوژیکی نشان داد که اثر تنش شوری روی صفات مورد مطالعه به جز وزن خشک ریشه معنی‌دار است. عملکرد دانه و وزن صد دانه در سطح ۵ درصد و بقیه صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری کاهش در صفات بیشتر اتفاق می‌افتد. وزن خشک بخش هوایی در

Contador - Pfeuffer Germany استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت پرولین در نمونه‌های (تر) برگ از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. مقدار ۰/۱ گرم از نمونه تر برگ را با ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۳٪ در لوله آزمایش‌های مخصوص هر تیمار مخلوط کرده و درب لوله آزمایش‌ها را با فویل بسته و به مدت یک ساعت در تاریکی و در دمای محیط قرار دادند. سپس ۲ میلی لیتر از عصاره به دست آمده را همراه با ۴ میلی لیتر معرف نین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال در لوله آزمایش ریخته و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از خارج کردن از حمام و سرد شدن لوله‌ها، ۴ میلی لیتر تولوئن به آن اضافه کرده و ۲۰ ثانیه خوب تکان داده تا کاملاً مخلوط شود. در لوله آزمایش دو فاز تشکیل می‌شود، فاز آلی صورتی رنگ در بالا و فاز آبی بی‌رنگ و شفاف که در قسمت پایین قرار دارد. فاز آلی برای رنگ سنجی در دستگاه اسپکتروفتومتر و طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد از پرولین خالص با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میکرومولار استفاده و تمام مراحل کار روی آن انجام گردید. در پایان بر اساس منحنی استاندارد رسم شده مقدار پرولین محاسبه گردید.

الکتروفورز ژل دو بعدی: بذر گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش شدید شوری (۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) برای مطالعه تغییرات الگوی پروتئوم به فریزر ۸۰°C- منتقل شدند. از روش پیشنهادی فینی (۲۰۰۲) برای استخراج پروتئین‌ها استفاده شد. تعیین غلظت پروتئین‌های استخراج شده برای بار گذاری مقدار صحیحی از محلول پروتئینی در بعد اول به روش برادفورد (۱۹۷۶) انجام شد. الکتروفورز بعد اول با دستگاه (Bio Rad) Protein IEF focusing Cell اجرا گردید. در این بعد پروتئین‌ها بر اساس نقطه ایزوالکتریک در شیب pH ۳ تا ۱۰ تفکیک گردیدند. سپس بعد دوم برای جداسازی پروتئینی‌ها

مقایسه با شاهد در بین صفات مورد مطالعه بیشتر کاهش پیدا کرد. همچنین میانگین وزن صد دانه تحت تنش ۱۷۵ میلی مولار به طور معنی داری کاهش پیدا کرد.

جدول ۱ تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری روی صفات رشدی رقم حساس ساری گل

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		وزن تر بوته	وزن خشک	وزن خشک بخش هوایی	ریشه	ارتفاع بوته	عملکرد	وزن صد دانه	پرولین
تنش	۲	۲۰۹۱/۵۵**	۴۱/۸۱۴**	۰/۲۲۶	۷۳۱/۲۰۷**	۷۸/۲۷۳*	۰/۰۱۴*	۱۲۱۲/۸۴۵**	
خطا	۴	۴۱/۲۸۰	۰/۷۱۰	۰/۱۰۶	۱۴/۳۵۵	۸/۹۸۱	۰/۰۰۱	۶۰/۸۲۱	
CV (%)		۱۵/۵۶	۱۱/۶۷	۳۹/۴۲	۳۴	۴۶/۷۵	۱۱/۱۵	۴۰/۹۱	

** و * به ترتیب معنی داری در سطح ۱ و ۵ درصد. CV نشانگر ضریب تغییرات.

برخی از این لکه‌ها افزایش و برخی کاهش بیان داشتند. لکه‌های پروتئینی ۲، ۵، ۶ و ۹ افزایش بیان، در حالیکه لکه‌های پروتئینی ۱۱، ۱۲، ۱۸، ۲۱، ۲۳، ۲۶، ۲۸ و ۲۹ کاهش بیان نشان دادند (شکل ۳ و جدول ۲).

پروتئین‌های درگیر در دفاع و سم‌زدایی: پروتئین‌های درگیر در دفاع و سم‌زدایی همانند پروتئین‌های دخیل در متابولیسم کربن برخی افزایش و برخی کاهش بیان پیدا کرده بودند. پروتئین‌های که کاهش بیان داشتند بیشتر از پروتئین‌های دارای افزایش بیان بودند. دو پروتئین ۷ و ۸ افزایش بیان داشتند، در حالیکه پروتئین‌های ۱۳، ۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۴ و ۲۵ کاهش بیان را نشان دادند (شکل ۲ و جدول ۲).

پروتئین‌های ذخیره‌ای: دو لکه پروتئینی مربوط به گروه پروتئین‌های ذخیره‌ای (لکه ۳ و ۴) تحت تنش شدید افزایش بیان نشان دادند (شکل ۲ و جدول ۲).

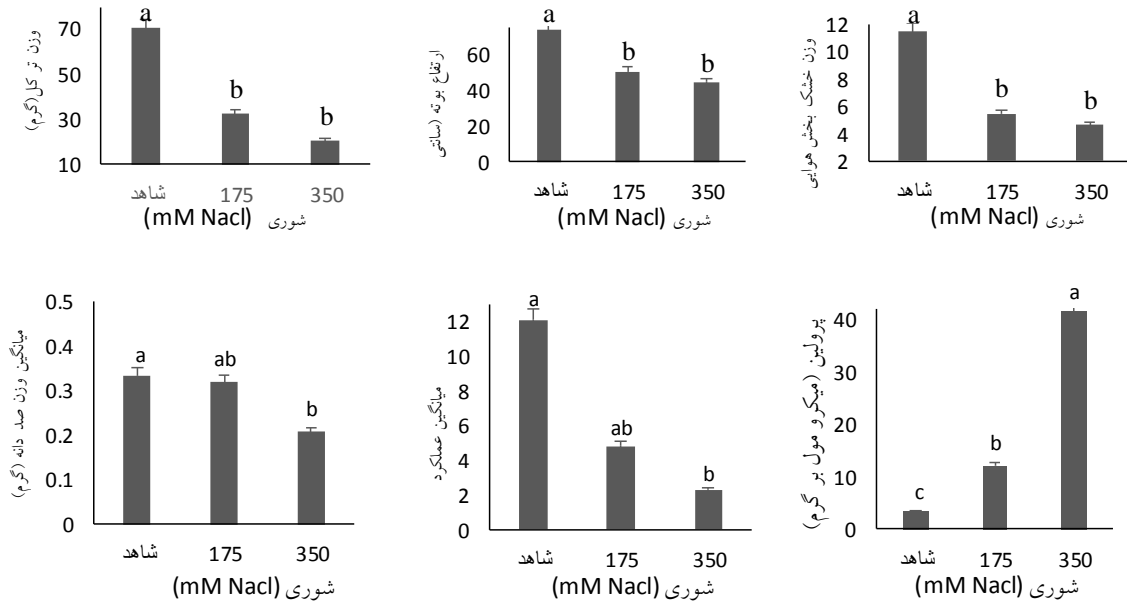
پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز: دو پروتئین درگیر در فتوسنتز (لکه ۱۰ و ۱۵) شامل لکه شماره ۱۰ و شماره ۱۵ به ترتیب افزایش و کاهش بیان داشتند (جدول ۲ و شکل ۳).

پروتئین‌های دخیل در متابولیسم نیتروژن: لکه پروتئینی شماره ۲۷ در این گروه قرار دارد و تحت تنش شوری کاهش بیان نشان داد (شکل ۲ و جدول ۲).

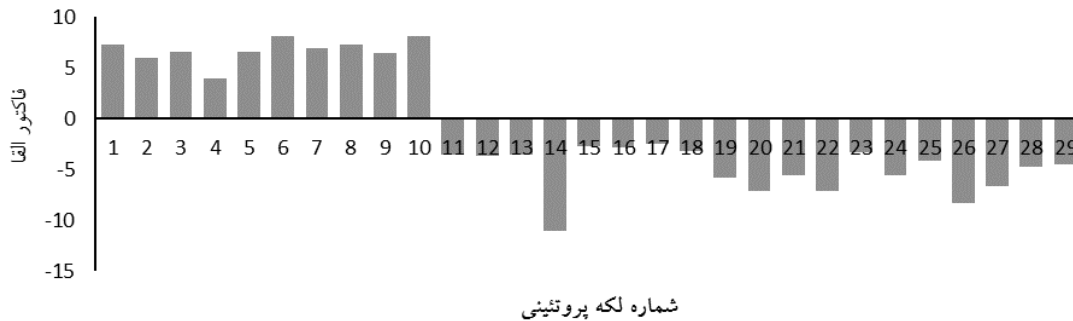
در بین صفات مورد مطالعه میانگین وزن صد دانه کمتر تحت تاثیر اثرات منفی تنش شوری قرار گرفت. میزان پرولین آزاد نیز با افزایش سطح تنش شوری کاهش معنی داری پیدا کرد (شکل ۱).

تجزیه پروتئوم بذر تحت تنش شدید شوری: برای بررسی تغییرات بیان لکه‌های پروتئینی از نرم افزار Melanie 4.0 استفاده شد و فاکتور القای بیش از ۲ برای تعیین افزایش بیان و کمتر از ۰.۵ برای مشخص کردن لکه‌های دارای کاهش بیان در نظر گرفته شد. از بین ۵۱۳ لکه پروتئینی شناسایی شده توسط نرم افزار، ۲۹ لکه پروتئینی دارای تغییرات بیان معنی دار تحت تنش شدید شوری بودند (شکل ۲). با استفاده از نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی لکه‌ها، شناسایی احتمالی لکه‌ها انجام گردید و طبقه بندی لکه‌ها در گروه‌های عملکردی بر اساس واکنشی که در آن شرکت می‌کنند انجام شد (۱۵). بر این اساس لکه‌ها در شش گروه عملکردی شامل متابولیسم کربن، دفاع-سم‌زدایی، پروتئین ذخیره‌ای، فتوسنتزی، متابولیسم نیتروژن و سه لکه به سنتز-تجزیه مربوط بود و یک لکه ناشناخته ماند (جدول ۲ و شکل ۳).

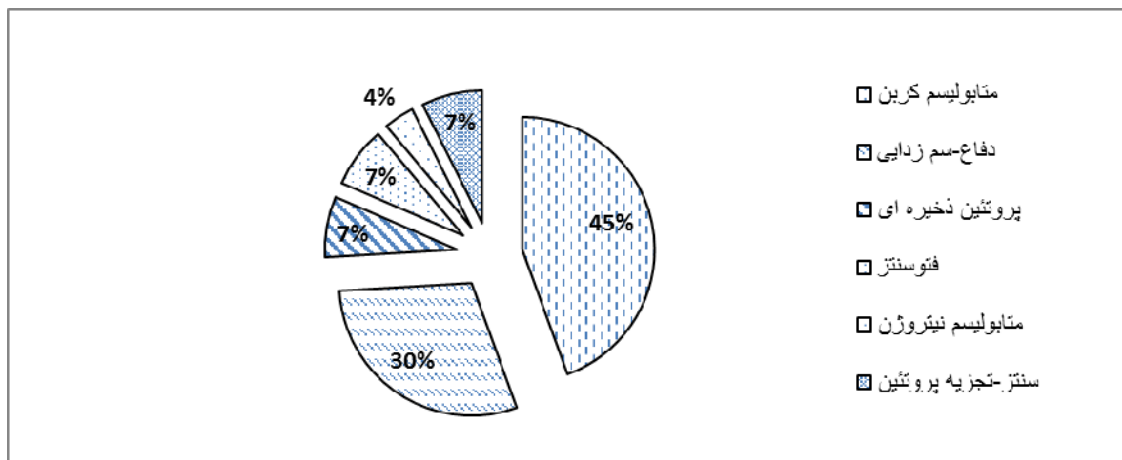
پروتئین‌های درگیر در متابولیسم کربن: بررسی نتایج حاصل نشان داد که بیشتر پروتئین‌های دارای تغییرات بیان در پروتئوم بذر کلزا در متابولیسم کربن دخیل هستند.



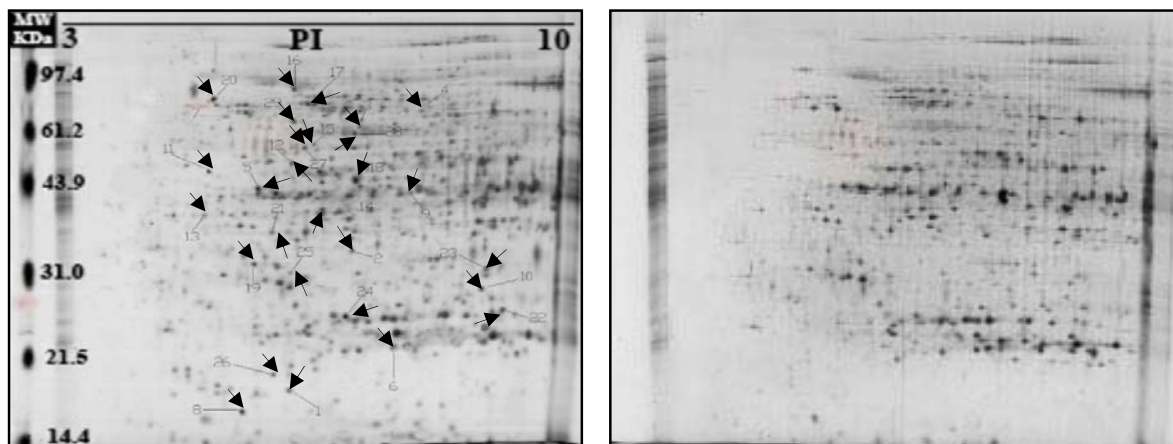
شکل ۱ - مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه. حروف مشابه عدم معنی داری و حروف غیر مشابه معنی داری را نشان می‌دهند



شکل ۲ - لکه‌های دارای تغییرات بیان معنی دار بر اساس فاکتور القاء، لکه‌های با فاکتور القا بیش از ۲ و کمتر از ۰.۵ به ترتیب به عنوان افزایش و کاهش بیان در نظر گرفته شدند.



شکل ۳ - گروه بندی پروتئین‌های با تغییرات بیان معنی دار تحت تنش شوری شدید (۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم)



شکل ۴- الگوی پروتئوم بذر گیاه شاهد (سمت راست) و تنش شوری با ۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم (سمت چپ). فلش‌ها لکه‌های دارای تغییرات بیان را روی ژل گیاه تحت تنش شوری نشان می‌دهند.

جدول ۲- مشخصات پروتئین‌های دارای تغییرات بیان در بذر تحت تنش شوری شدید

عملکرد	فاکتور القا	MW(kDa)/pI	MW(kDa)/pI مشاهده شده	شماره دسترسی در NCBI	پروتئین همولوگ	شماره لکه
سنتز / تجزیه	۷/۳۲	۱۸-۵/۵۲	۱۹/۵-۶/۱	۲۴۹۵۴۸۰۱	Type I small heat shock	۱
متابولیسم کربن	۵/۹۸	۳۶/۰-۶/۶۷	۳۴/۸-۶/۹۲	۱۲۰۶۸۰	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	۲
پروتئین ذخیره‌ای	۶/۵۴	۵۷/۱-۷/۳۶	۵۶/۹-۷/۲۱	۲۱۵۳۹۸۴۷۲	Globulin 3 B	۳
پروتئین ذخیره‌ای	۳/۹۸	۶۶/۷-۷/۷۸	۶۷/۱-۸/۱	۲۱۵۳۹۸۴۷۰	globulin 3	۴
متابولیسم کربن	۶/۵۴	۴۷/۸-۵/۹۶	۴۳/۳-۵/۶	۹۴۰۸۱۸۴	F_0F_1 ATPase alpha subunit	۵
متابولیسم کربن	۸/۱۰	۲۵/۴-۷/۸۳	۲۴/۲-۷/۵۱	۷۵۷۹۰۶۴	Cytosolic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	۶
دفاع / سم‌زدایی	۶/۸۷	۵۹/۷-۴/۹۸	۵۹/۱-۵/۲	۹۸۵۸۷۸۱	BAC19.13	۷
دفاع / سم‌زدایی	۷/۳۲	۱۸/۹-۵/۶۲	۱۷/۵-۵/۳	۱۲۳۹۵۷	Alpha-amylase/trypsin inhibitor CM_3	۸
متابولیسم کربن	۶/۴۹	۴۴/۷-۸/۱۵	۴۳/۱-۷/۹	۳۱۹۷۳۹۵۴۰	aestivum stearyl-ACP desaturase	۹
فتوسنتز	۸/۱۲	۲۷/۲-۹/۰۶	۲۸/۱-۸/۹۲	۲۵۷۰۴۹۹	23 kDa polypeptide of photosystem II	۱۰
متابولیسم کربن	۰/۲۸	۵۱/۸-۵/۲	۴۱/۳-۴/۹	۶۱۳۶۱۱۱	UDP- glucose pyrophosphorylase	۱۱
متابولیسم کربن	۰/۲۷	۵۲/۳-۵/۵۳	۴۹/۹-۶/۱	۳۴۰۲۸۷	small subunit ADP glucose pyrophosphorylase	۱۲
دفاع / سم‌زدایی	۰/۲۶	۴۳-۵/۶۲	۴۱/۳-۴/۹	۷۵۳۱۳۸۴۸	Serpin- Z_1 C	۱۳
دفاع / سم‌زدایی	۰/۰۹	۴۳/۳-۵/۴۴	۴۲/۹-۶/۵	۲۲۴۵۸۹۲۶۶	Serpin 1	۱۴
فتوسنتز	۰/۳۷	۵۳/۴-۶/۲۲	۵۵/۱-۶/۵	۱۴۰۱۷۵۸۰	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	۱۵
ناشناخته	۰/۳۵	۸۶/۱-۵/۸۱	۸۸/۱-۶/۲	۳۲۶۵۱۰۲۵۱	Predicted protein	۱۶

شماره لکه	پروتئین همولوگ	شماره دسترسی در NCBI	MW(kDa) / pI مشاهده شده	MW(kDa) / pI تنوری	فاکتور القا	عملکرد
۱۷	late embryogenesis abundant protein	۴۸۰۹۳۹۵۱	۷۵/۶-۶/۳	۷۷-۶/۱۷	۰/۴۱	دفاع / سم‌زدایی
۱۸	isocitrate dehydrogenase	۹۲۸۷۵۱۳۵	۴۷/۳-۶/۶	۴۸-۶/۰۲	۰/۳۱	متابولیسم کربن
۱۹	Group 3 late embryogenesis abundant protein	۱۷۰۶۹۲	۳۳/۶-۵/۶	۳۳-۵/۰۱	۰/۱۷	دفاع / سم‌زدایی
۲۰	Cytosolic heat shock protein 90	۳۲۷۶۵۵۲۹	۷۸/۶-۴/۹	۸۰/۵-۱۰	۰/۱۴	سنتز / تجزیه
۲۱	cytoplasmic aldolase	۲۱۸۱۵۷	۳۷/۶-۵/۹	۳۹/۲-۶/۵۶	۰/۱۸	متابولیسم کربن
۲۲	Cyclophilin-like protein	۳۷۷۸۸۳۰۸	۲۷/۲-۹/۱	۲۶/۱-۹/۴	۰/۱۴	سنتز / تجزیه
۲۳	beta amylase	۳۲۴۰۰۷۶۴	۳۲/۳-۸/۹	۳۱/۱-۸/۶	۰/۳۰	متابولیسم کربن
۲۴	Ascorbate peroxidase	۱۵۸۰۸۷۷۹	۲۶/۵-۶/۸	۲۸-۵/۱	۰/۱۸	دفاع / سم‌زدایی
۲۵	Ascorbate peroxidase	۳۶۸۸۳۹۸	۳۱/۱-۶/۲	۳۰-۵/۸۴	۰/۲۴	دفاع / سم‌زدایی
۲۶	alpha-galactosidase	۲۲۰۴۲۲۶	۲۰/۳-۵/۹	۲۲/۲-۶/۴	۰/۱۲	متابولیسم کربن
۲۷	Alanine aminotransferase 2	۱۷۰۳۲۲۷	۵۴/۶-۶/۳	۵۳/۴-۵/۹۳	۰/۱۵	متابولیسم نیتروژن
۲۸	ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit	۹۹۵۷۴۶	۵۶/۱-۷/۱	۵۷-۶/۱۹	۰/۲۱	متابولیسم کربن
۲۹	ADP-glucose pyrophosphorylase large subunit	۳۲۸۱۲۸۳۶	۵۷/۱-۶/۲	۵۸/۴-۵/۸۹	۰/۲۲	متابولیسم کربن

پروتئین‌های درگیر در سنتز و تجزیه: لکه‌های شماره ۱، ۲۰ و ۲۲ جزء پروتئین‌های درگیر در سنتز و تجزیه قرار گرفتند. از بین آنها پروتئین شماره ۱ افزایش بیان و پروتئین‌های شماره ۲۰ و ۲۲ کاهش بیان نشان دادند (شکل ۲).

بحث

تنش شوری به طور قابل ملاحظه‌ای وزن تر و خشک برگ، وزن هزار دانه و عملکرد دانه را کاهش می‌دهد (۳۲). شوری تأثیرات منفی روی صفات مورفولوژیکی گیاهان دارد و موجب کاهش معنی‌دار در صفات رشدی مانند سطح برگ، وزن تر و خشک ساقه و کاهش ارتفاع بوته می‌شود. تجمع یون‌های سمی و عدم توانایی گیاه در جذب

کافی آب تحت تنش شوری می‌تواند از دلایل مهم کاهش صفات رشدی گیاهان زراعی تحت تنش شوری باشد (۳۰). پرولین یکی از وسیع‌ترین و گسترده‌ترین اسمولیت‌ها است که تجمع آن در شرایط تنش با عمل تنظیم اسمزی همبستگی زیادی دارد. در گیاهان پرولین از مسیر اسید گلوتامیک یا اورنتین ساخته می‌شود (۴۵). افزایش تجمع پرولین در گیاه می‌تواند به تعدیل پتانسیل اسمزی سلول و جذب آب راحت تر از سلول‌های مجاور کمک کند. ارقام مقاوم به تنش اسمزی نسبت به ارقام حساس پرولین بیشتری را در برگ‌ها تولید می‌کنند (۳۶).

لکه شماره ۲ یکی از آنزیم‌های مهم در چرخه کالوین و فتوسنتز گیاه می‌باشد. توانایی تولید بیشتر این آنزیم توسط گیاه می‌تواند در حفظ و پایداری چرخه کالوین مؤثر واقع

bisphosphoglycerate تحت تنش خشکی کاهش بیان داشتند (۵). پروتئین Beta amylase (لکه شماره ۲۳) قبل از جوانه زنی بذر بصورت غیر فعال قرار دارد. بعد از شروع مرحله جوانه زنی این آنزیم فعال شده و باعث هیدرولیز پیوند (1->4)-alpha-D-glucoSIDic موجود در نشاسته شده و تولید بتا-مالتوز می‌کند (۲۲).

بازدارنده‌های پروتئازی (Protease inhibitors) (لکه شماره ۷ و ۸) گروهی از پروتئین‌ها هستند که نه تنها در بیشتر فعالیت‌های بیوشیمیایی سلول شرکت می‌کنند بلکه در فرایندهای دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی، به‌ویژه پاتوژن‌ها نیز نقش مهمی دارند. از جمله مهمترین این بازدارنده‌ها می‌توان به بازدارنده‌های Serine protease inhibitor (Alpha amylase trypsin inhibitor اشاره کرد (۱۲). افزایش بیان بازدارنده تریپسین (Tripsin inhibitor) در برنج تحت تنش شوری (۲۳) و در جو تحت تنش خشکی (۴۱) گزارش شده است. پروتئین‌های LEA که در این آزمایش (لکه شماره ۱۷ و ۱۹) کاهش بیان داشتند، در دانه‌های در حال بلوغ، سنتز و ذخیره می‌شوند. پروتئین‌های LEA تحت شرایط تنش در حفاظت از ساختار سلولی، محافظت از غشاها و پروتئین‌ها و بازگرداندن پروتئین‌های دناتوره شده به فرم طبیعی نقش دارند (۱۱). آسکوربات پراکسیدازها (APX) جزء مهمترین و مؤثرترین آنزیم‌های درگیر در فرایند حذف پراکسید هیدروژن در کلروپلاست و سیتوسول سلول‌های گیاهی می‌باشد و به صورت ایزوآنزیم‌های مختلف یافت می‌شود. این ایزوآنزیم‌ها باعث می‌شوند آسکوربات به عنوان دهنده الکترون عمل کرده و با احیای H_2O_2 ، دو مولکول آب به همراه مونو دهیدروآسکوربات (Monodehydroascorbate) تولید شود و بدین ترتیب H_2O_2 از محیط حذف و اثر سمی آن خنثی شود (۳۸). در این تحقیق هر دو ایزوفرم APX (لکه شماره ۲۴ و ۲۵) کاهش بیان نشان دادند.

شود. گزارش‌های مختلفی در رابطه با نقش بازدارندگی H_2O_2 و برخی از اکسیدان‌های دیگر روی فعالیت کاتالازی این آنزیم وجود دارد (۴۶). پروتئین Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) یا لکه شماره ۲ نقش مهمی تحت تنش اکسیداتیو ایفا می‌کند. تحت تنش اکسیداتیو، سلول به مقدار زیادی کوفاکتور NADPH نیاز پیدا می‌کند. در این زمان پروتئین GAPDH با غیر فعال شدن باعث فعال شدن مسیر پنتوز فسفات می‌گردد. مسیر پنتوز فسفات با تولید NADPH کوفاکتور لازم را برای سیستم‌های آنتی اکسیدانی از جمله چرخه گلوکوتایون فراهم می‌کند که نقش مهمی در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کند (۴ و ۳۴). لکه شماره ۵ یکی از زیر واحدهای پایه در کمپلکس F_0-F_1 میتوکندریایی می‌باشد. این کمپلکس سنتز/هیدرولیز ATP را انجام می‌دهد (۱۷ و ۳۳). افزایش بیان این آنزیم را در وارته‌های گندم نان آلوده به آلومینیوم گزارش دادند. لکه شماره ۶ در گیاهان عالی به صورت سه ایزوفرم مجزا دیده می‌شود. بررسی این آنزیم بیشتر در اندام‌های فتوسنتز کننده و کمتر در بافت‌های هتروتروفیک گیاهان انجام شده است (۱۳). آنزیم GAPDH سیتوزولی (لکه شماره ۶) به خوبی می‌تواند یک تنظیم کننده کلیدی در گلیکولیز باشد (۹ و ۲۶). لکه شماره ۱۱ یک پروتئین هترامر (Heterotetrameric) متشکل از دو زیر واحد بزرگ و دو زیر واحد کوچک در گیاهان عالی است و نقش مهمی در تنظیم سنتز نشاسته دارد (۱۹).

در گیاه گوجه فرنگی پروتئین UDP- glucose pyrophosphorylase دخیل در متابولیسم ساکارز و پلی ساکاریدها است که در شرایط تنش شوری در رقم مقاوم بیان کمتری داشته است اما در رقم حساس تحت تنش کلرید سدیم در ریشه افزایش بیان نشان داده است (۲۸). تجزیه و تحلیل پروتئوم ریشه سویا تحت تنش خشکی نشان داده است که دو آنزیم کلیدی دخیل در متابولیسم کربوهیدرات، UDP- glucose pyrophosphorylase و 2,3-

می‌سازد (۲۹). آمینوترانسفرازها نقش‌های مهم و متفاوتی در گیاهان دارند، از جمله در سنتز و کاتابولیسم اسیدهای آمینه، بیوسنتز ویتامین‌ها، مسیرهای کربن و نیتروژن و پاسخ به تنش‌های گیاهی دخالت دارند (۲۷).

تنش شوری به طور غیرمستقیم باعث القاء تنش گرمایی می‌شود. به طوری که H_2O_2 درون سلول، به عنوان مولکول پیام رسان برای بسته شدن روزنه‌ها عمل می‌کند و منجر به کاهش تبخیر و تعرق گیاه می‌شود. این امر موجب افزایش دمای گیاه شده و گیاه را با تنش گرمایی مواجه می‌کند. به دنبال تنش گرمایی اعمال شده به گیاه، پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) در گیاه تجمع بیشتری پیدا می‌کنند. این پروتئین‌ها در سازگاری گیاهان به تنش گرمایی و تحمل آن نقش مهمی دارند و در تمامی اندام‌های گیاهان و جانوران، تحت شرایط گرما، سرما و خشکی تولید می‌شوند. پروتئین‌های شوک حرارتی (لکه شماره ۱)، علاوه بر اینکه در زمان مواجهه گیاه با تنش دمایی بالا بیان می‌شوند، همچنین در پاسخ به دامنه وسیعی از تنش‌ها مانند تنش‌های آبی، شوری، اسمزی، سرما و اکسیداتیو نیز بیان می‌شوند. در هویج، تحت تنش سرما افزایش بیان HSPهای کوچک به افزایش تحمل گیاه ربط داده شده است (۳۹). پروتئین Cyclophilin-like protein زیر مجموعه‌ای از پروتئین Hsp 90 می‌باشد. سوبسترای شناخته شده Hsp 90، شامل پروتئین‌های مسیر پیام‌رسانی مانند کینازها می‌باشد که نشان‌دهنده نقش این مولکول در پیام‌رسانی است. بیان Hsp 90 در آرابیدوپسیس در پاسخ به گرما، سرما، تنش شوری، فلزات سنگین و فیتوهورمون‌ها مشاهده شده است (۴۲). لکه‌های شماره ۲۰ و ۲۲ از این دسته بودند.

نتیجه‌گیری

تنش شوری در هر دو سطح اثر معنی‌داری روی صفات مورد مطالعه به جز وزن خشک ریشه گذاشت. در بین صفات مورد مطالعه وزن خشک بخش هوایی بیشتر از سایر صفات کاهش پیدا کرد. همچنین میزان تجمع پروتئین

آلبومین‌ها و گلوبولین‌ها مهمترین پروتئین‌های ذخیره‌ای در بذر هستند و نقش عملکردی نیز در دانه دارند (۳۷). بررسی‌های انجام شده در مورد گلوبولین‌های رویان نشان داده است که Triticin و پروتئین‌های شبیه به Avenin در زمان نمو دانه در آندوسپرم گندم تحت تنش شوری و خشکی به عنوان پروتئین‌های ذخیره‌ای عمل می‌کنند که می‌توانند در افزایش کیفیت بذر مهم باشند (۱۰). افزایش بیان پروتئین‌های ذخیره‌ای تحت تنش شوری می‌تواند باعث افزایش ارزش غذایی دانه شود.

لکه شماره ۱۰ جزئی از کمپلکس فتوسیستم II است و برای فعالیت کامل فتوسیستم II ضروری بوده و آن را تنظیم می‌کند (۱۸). رویسکو آنزیم کلیدی واکنش‌های تثبیت کربن در استرومای کلروپلاست است. آنزیم رویسکو دارای دو عملکرد است و در دو مسیر متابولیکی متضاد یعنی تثبیت کربن (در چرخه کالوین) و در فرایند تنفس نوری شرکت می‌کند (۴۳). رویسکو به عنوان فراوان‌ترین پروتئین بر روی زمین شناخته شده است. این آنزیم که در کلروپلاست قرار دارد حداقل ۱۵ درصد تا ۵۰ درصد پروتئین کلروپلاست را تشکیل می‌دهد. رویسکو نقش مهمی را در سوخت و ساز گیاهان بر عهده دارد (۲). حاج حیدری و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه پروتئوم برگ‌های چغندر در شرایط تنش خشکی به افزایش بیان این آنزیم و همبستگی آن با مکانیسمی که قدرت فتوسنتزی گیاه را افزایش می‌دهد، اشاره کرده‌اند.

آلانین آمینوترانسفراز یک آنزیم وابسته به Pyridoxal phosphate است و در تمام قسمت‌های گیاه یافت می‌شود. این آنزیم نه تنها در برگ و ریشه بلکه در بافت‌های دیگری مانند آندوسپرم (۲۴) و گل (۲۰) یافت می‌شود. افزایش بیان این آنزیم در برخی از گونه‌های گیاهی در شرایط تنش شوری و فلزات سنگین مشاهده شده است (۴۰). سطوح بالای فعالیت این آنزیم تبدیل سریع آلانین انباشته شده به پیروات را در طول بازیابی رشد گیاه قادر

و دفاع-سم زدایی بیشترین سهم را در بین لکه‌های تغییر بیان یافته داشتند. همچنین ملاحظه شد که پروتئین‌های ذخیره ای تحت تنش افزایش بیان پیدا می‌کنند. این اثر تنش شوری می‌تواند در افزایش کیفیت بذر تأثیر داشته باشد.

برگ تحت هر دو سطح تنش شوری افزایش معنی داری داشت. مطالعه تغییرات الگوی پروتئوم بذر مشخص کرد که از بین ۵۳۲ لکه تکرارپذیر، ۲۹ لکه دارای تغییر بیان معنی دار بودند. از این تعداد ۱۹ لکه کاهش بیان و بقیه افزایش بیان پیدا کردند. لکه‌های دخیل در متابولیسم کربن

منابع

۱. آلیاری، ه.، شکاری، ف. و شکاری، ف. ۱۳۷۹. دانه‌های روغنی، زراعت و فیزیولوژی. انتشارات عمیدی. ۱۸۲ صفحه
۲. دادرس، ن.، بشارتی، ح. و کتابچی، س. ۱۳۹۱. اثرات تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر رشد و تثبیت بیولوژیک نیتروژن در سه
- رقم سویا. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب)، جلد ۲۶، شماره ۲، صفحه ۱۷۴-۱۶۵.
۳. عبوضلو، سمانه. ۱۳۹۲. تجزیه پروتئوم بذر کلزای رقم Hyola 308 تحت تنش شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
- 4- Agarwal AR., Zhao L., Sancheti H, et al. 2012. Short-term cigarette smoke exposure induces reversible changes in energy metabolism and cellular redox status independent of inflammatory responses in mouse lungs. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 303 (10):L889-L898.
- 5- Alam I., Sharmin SA., Kim K-H, et al. 2010. Proteome analysis of soybean roots subjected to short-term drought stress. *Plant and soil*. 333 (1-2):491-505.
- 6- Bandehagh A., Salekdeh GH., Toorchi M, et al. 2011. Comparative proteomic analysis of canola leaves under salinity stress. *Proteomics*. 11 (10):1965-1975.
- 7- Blum H., Beier H, Gross HJ. 1987. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *electrophoresis*. 8 (2):93-99.
- 8- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 72 (1):248-254.
- 9- Chang WW., Huang L., Shen M, et al. 2000. Patterns of protein synthesis and tolerance of anoxia in root tips of maize seedlings acclimated to a low-oxygen environment, and identification of proteins by mass spectrometry. *Plant Physiology*. 122 (2):295-318.
- 10- Chen P., Wang C., Li K, et al. 2008. Cloning, expression and characterization of novel avenin-like genes in wheat and related species. *Journal of cereal science*. 48 (3):734-740.
- 11- Chinnusamy V., Zhu J, Zhu J-K, 2006. Salt stress signaling and mechanisms of plant salt tolerance, In: *Genetic engineering*. Springer, pp. 141-177.
- 12- Christeller JT. 2005. Evolutionary mechanisms acting on proteinase inhibitor variability. *FEBS Journal*. 272 (22):5710-5722.
- 13- Fernie AR., Carrari F, Sweetlove LJ. 2004. Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport. *Current opinion in plant biology*. 7 (3):254-261.
- 14- Finnie C., Melchior S., Roepstorff P, Svensson B. 2002. Proteome analysis of grain filling and seed maturation in barley. *Plant Physiology*. 129 (3):1308-1319.
- 15- Gharelo Shokri R., Farajzadeh D., Bandehagh A, Tourchi M. 2016. Canola 2-dimensional proteom profile under osmotic stress and inoculation with *Pseudomonas fluorescens* FY32. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 17 (5&6):257-266.
- 16- Hajheidari M., Abdollahian-Noghabi M., Askari H, et al. 2005. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics*. 5 (4):950-960.
- 17- Hamilton CA., Good AG, Taylor GJ. 2001. Induction of vacuolar ATPase and mitochondrial ATP synthase by aluminum in an aluminum-resistant cultivar of wheat. *Plant Physiology*. 125 (4):2068-2077.
- 18- Heckathorn SA., Downs CA., Sharkey TD, Coleman JS. 1998. The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress. *Plant Physiology*. 116 (1):439-444.
- 19- Hwang S-K., Salamone PR, Okita TW. 2005. Allosteric regulation of the higher plant ADP-glucose pyrophosphorylase is a product of synergy between the two subunits. *FEBS letters*. 579 (5):983-990.
- 20- Igarashi D., Miwa T., Seki M, et al. 2003. Identification of photorespiratory glutamate:

- glyoxylate aminotransferase (GGAT) gene in Arabidopsis. *The Plant Journal*. 33 (6):975-987.
- 21- Jensen ON. 2004. Modification-specific proteomics: characterization of post-translational modifications by mass spectrometry. *Current opinion in chemical biology*. 8 (1):33-41.
 - 22- Jiang S-S., Liang X-N., Li X, et al. 2012. Wheat drought-responsive grain proteome analysis by linear and nonlinear 2-DE and MALDI-TOF mass spectrometry. *International journal of molecular sciences*. 13 (12):16065-16083.
 - 23- Kawasaki S., Borchert C., Deyholos M, et al. 2001. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *The Plant Cell*. 13 (4):889-905.
 - 24- Kikuchi H., Hirose S., Toki S, et al. 1999. Molecular characterization of a gene for alanine aminotransferase from rice (*Oryza sativa*). *Plant molecular biology*. 39 (1):149-159.
 - 25- Kimber DS, McGregor D, 1995. Brassica oilseeds: production and utilization. CAB INTERNATIONAL.
 - 26- Laukens K., Roef L., Witters E, et al. 2001. Cyclic AMP affinity purification and ESI-QTOF MS-MS identification of cytosolic glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase and two nucleoside diphosphate kinase isoforms from tobacco BY-2 cells. *FEBS letters*. 508 (1):75-79.
 - 27- Liepman AH, Olsen LJ. 2004. Genomic analysis of aminotransferases in Arabidopsis thaliana. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 23 (1):73-89.
 - 28- Manaa A., Ahmed HB., Valot B, et al. 2011. Salt and genotype impact on plant physiology and root proteome variations in tomato. *Journal of experimental botany*. erq460.
 - 29- Miyashita Y., Dolferus R., Ismond KP, Good AG. 2007. Alanine aminotransferase catalyses the breakdown of alanine after hypoxia in Arabidopsis thaliana. *The Plant Journal*. 49 (6):1108-1121.
 - 30- Moussa H, Khodary S. 2003. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *Isotope Radiat. Res*. 35 179-187.
 - 31- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*. 25 (2):239-250.
 - 32- Parida AK, Das AB. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*. 60 (3):324-349.
 - 33- Pedersen PL., Ko YH, Hong S. 2000. ATP synthases in the year 2000: evolving views about the structures of these remarkable enzyme complexes. *Journal of bioenergetics and biomembranes*. 32 (4):325-332.
 - 34- Ralser M., Wamelink MM., Kowald A, et al. 2007. Dynamic rerouting of the carbohydrate flux is key to counteracting oxidative stress. *Journal of biology*. 6 (4):1.
 - 35- Salekdeh GH, Komatsu S. 2007. Crop proteomics: aim at sustainable agriculture of tomorrow. *Proteomics*. 7 (16):2976-2996.
 - 36- Saradhi PP. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology*. 138 (5):554-558.
 - 37- Shewry PR, Halford NG. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of experimental botany*. 53 (370):947-958.
 - 38- Shigeoka S., Ishikawa T., Tamoi M, et al. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*. 53 (372):1305-1319.
 - 39- Song N-H, Ahn Y-J. 2011. DcHsp17. 7, a small heat shock protein in carrot, is tissue-specifically expressed under salt stress and confers tolerance to salinity. *New biotechnology*. 28 (6):698-704.
 - 40- Surabhi G-K., Reddy AM., Kumari GJ, Sudhakar C. 2008. Modulations in key enzymes of nitrogen metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba L.*) with differential sensitivity to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*. 64 (2):171-179.
 - 41- Talamè V., Ozturk NZ., Bohnert HJ, Tuberosa R. 2007. Barley transcript profiles under dehydration shock and drought stress treatments: a comparative analysis. *Journal of Experimental Botany*. 58 (2):229-240.
 - 42- Tang W., Kim T-W., Oses-Prieto JA, et al. 2008. BSKs mediate signal transduction from the receptor kinase BRI1 in Arabidopsis. *Science*. 321 (5888):557-560.
 - 43- Vaidyanathan H., Sivakumar P., Chakrabarty R, Thomas G. 2003. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa L.*)—differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science*. 165 (6):1411-1418.
 - 44- Wang L., Ma H., Song L, et al. 2012. Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stress. *Journal of proteomics*. 75 (7):2109-2127.
 - 45- Yoshiba Y., Kiyosue T., Nakashima K, et al. 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant and Cell Physiology*. 38 (10):1095-1102.
 - 46- Zaffagnini M., Michelet L., Marchand C, et al. 2007. The thioredoxin-independent isoform of chloroplastic glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is selectively regulated by glutathionylation. *Febs Journal*. 274 (1):212-226.

Proteomic profiling analysis of canola seed under salinity stress

Bandehagh A., Alipour Ghorbani Sh., Toorchi M. and Shokri Gharelo R.

Plant Breeding and Biotechnology Dept., Pardis University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran

Abstract

Canola as one of the crops which is being cultivated in order to produce edible oil, have essential importance, however, it is severely influenced by salt stress. In the aim of studying effects of salinity on the growth characteristics and proteome profiling changes, Sarigol (salt-sensitive) was cultured under greenhouse conditions and salinity stress exerted at three levels, including 0, 175 and 350 mM NaCl. Seeds were sown in the current hydroponic system. To study the changes of proteome profile, 2-dimensional gel electrophoresis technique was used. The results indicated that fresh weight, shoot dry weight, shoot height, grain yield, and 100-grain weight significantly decreased with increasing intensity of salinity stress and proline concentration increased in leaves as well. Comparing the proteome profile of seed demonstrated that 29 spots with differentially expression changes occurred under 350 mM NaCl. Differentially expression spots were identified and grouped in six functional categorize, including carbon metabolism, defense/detoxification, storage proteins, photosynthetic, nitrogen metabolism, and synthesis/degradation. The majority of identified proteins involved in carbon metabolism and defense/detoxification. Salt stress decreased significantly the growth characters of Sarigol and altered proteome profile and protein expression of seeds. More than 60% of spots indicated significant down-regulation.

Key words: Salinity stress, Proteomic, Sarigol, Seed