

## 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<sup>۱</sup>، محمد رضا نقوی<sup>۲</sup>، هوشنگ عزیزاده<sup>۳</sup>، کاظم پوستینی<sup>۴</sup> و سیروس عبد میثانی<sup>۵</sup>

### چکیده

ملکی، م.، م. ر. نقوی، ه. عزیزاده، ک. پوستینی و س. عبد میثانی. ۱۳۹۰. اثر شوری بر تغییرات پروفایل پروتئینی در گیاهچه گندم نان (*Triticum aestivum* L.) رقم روشن. مجله علوم زراعی ایران. ۱۳ (۴): ۶۹۶-۶۸۴.

به منظور ارزیابی اثر شوری بر پروفایل پروتئینی گیاهچه‌های گندم نان رقم روشن، آزمایش گلخانه‌ای در سال ۱۳۸۸ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران به اجرا گذاشته شد. در این تحقیق گیاهچه‌های گندم رقم متحمل روشن، به مدت ۱۷ روز تحت تاثیر شوری ۲۰۰ 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 ۴-۷ جداسازی شدند. تعداد ۲۰۰ لکه پروتئینی به طور تکرار پذیر در ژل‌ها شناسایی و مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. تعداد ۲۳ لکه با استفاده از طیف سنج جرمی MALDI-TOF-TOF شناسایی شدند. از بین این لکه‌ها، ۴ لکه کاهش بیان و ۱۹ لکه افزایش بیان داشتند. از جمله پروتئین‌هایی که بیان آنها افزایش یافت، گلوتامین سنتتاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، رایسکو 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.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۶/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۴/۸

۱- 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.li@gmail.com; maleki@icst.ac.ir)

۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۴- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۵- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

## 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 مرحله 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 تاثیر عوامل محیطی تغییر می‌کند (Williams and Hochstarsser, 1997) و مشخص شده است که تنها به وسیله مطالعه 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 گلوکاتایون اس-ترانسفراز، پروتئین فریتین و پروتئین ناقل  $H^+$ -ATPase افزایش بیان و پروتئین آزاد کننده اکسیژن در فتوسیستم II کاهش بیان داشتند (Gao et al., 2011). آنزیم‌های فسفو پیروات هیدراتاز، تریوز فسفات 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 رایسکو 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 زیر واحد ATPase E پروتئونی واکوئلی، پروتئین مرتبط با ناقل ABC، زیر واحد ۷ تنظیم کننده پروتئین 26S، پیش ماده پراکسیداز، پراکسیداز ۹، آسکوربات پراکسیداز و پروتئین شوک حرارتی ۷۰ سیتوسولی افزایش بیان داشتند (Wang et al., 2008).

مانز و همکاران (Moons et al., 1997; Moons et al., 1995) برای مطالعه نقش‌های اسید آبسزیک 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

(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 ماده ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. بذره‌های 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 برگگی، گیاهان با استفاده از محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند و این کار تا زمان اعمال تنش شوری (مرحله ۴ برگگی) 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، نمونه‌ها در نیتروژن مایع منجمد و تا هنگام استخراج پروتئین در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

### اندازه‌گیری 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 میلی گرم بر لیتر تعیین شد. میزان عناصر سدیم و پتاسیم هر نمونه با استفاده از رابطه زیر بر حسب میلی گرم بر گرم ماده خشک محاسبه گردید (Rahnama, 2009):

$$AE = \frac{C \times D \times V}{10^6 \times DM} \times 1000 \quad (1)$$

که در آن E: مقدار عنصر مورد نظر بر حسب میلی گرم بر گرم ماده خشک، C: غلظت عنصر بر حسب میلی گرم بر لیتر، D: درجه 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 برگگی (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 بازجذب 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 بلوم و همکاران (Bloom et al., 1987) انجام شد. پس از رنگ آمیزی،

حاصل از طیف سنج جرمی با استفاده از موتور جستجوگر MASCOT و بانک اطلاعاتی NCBIInr 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).

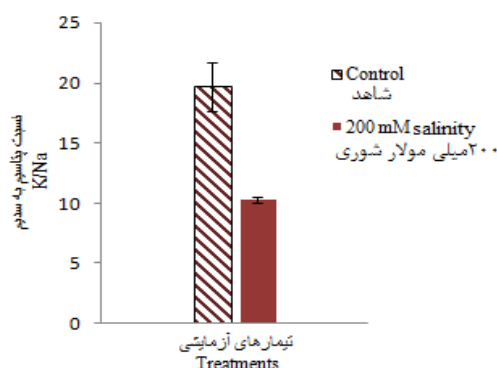
### نتایج و بحث

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 برگ‌گی 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 لکه پروتئینی در مقایسه تیمار شوری با شاهد حداقل تغییر ۱/۵ برابری

ژل‌ها با استفاده از دנסیتومتر Gs800 (Bio-Rad) اسکن و مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی کمی و کیفی لکه‌ها از نرم افزار 7 Melanie 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 کمی درصد حجمی لکه‌ها مورد تجزیه آماری t-Student قرار گرفتند. لکه‌هایی که مقادیر کمی 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 در نظر گرفته شدند.

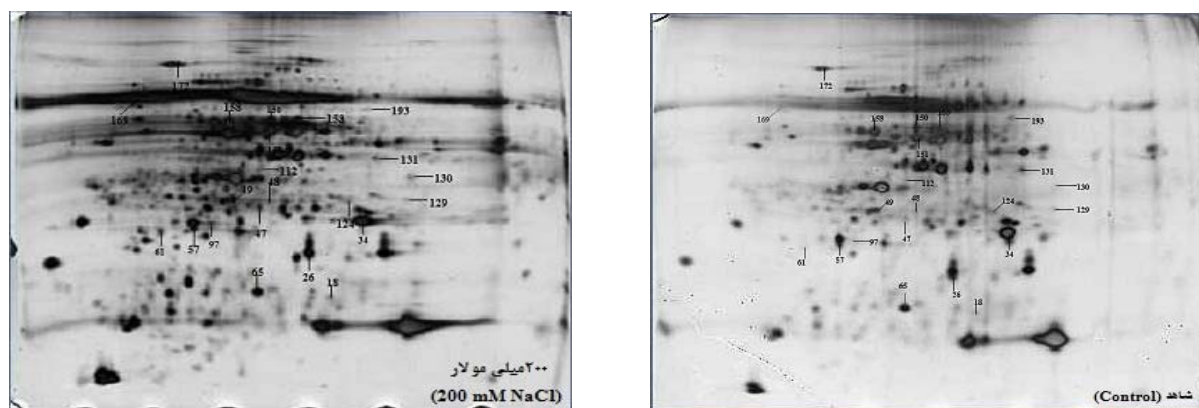
### هضم پروتئین‌ها در ژل و آنالیز با طیف سنج جرمی

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 به وسیله 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. داده‌های



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



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

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، اسیدهای آمینه، نیتروژن و انرژی و مسیر حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن دخیل هستند که در زیر به آنها پرداخته می‌شود:

در این تحقیق بیان آنزیم فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز کلروپلاستی (لکه ۱۱۲) کاهش یافت (جدول ۱). 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 ۱ و ۶ 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

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) تنوریکی و آزمایشی دیده می‌شود. در این آزمایش، در یک ژل گاهی برخی پروتئین‌ها در بیش از یک لکه شناسایی شدند. برای مثال آنزیم رایسکو زیرواحد کوچک (۲ لکه)، 2-cys peroxiredoxinBAS1 (۳ لکه)، Oxygen evolving enhancer protein 2 (۳ لکه) و ریبولوز او ۵ بیس فسفات کربوکسیلاز اکتیواز (۳ لکه) از جمله پروتئین‌هایی بودند که در بیش از یک لکه شناسایی شدند (جدول ۱). پروتئین‌هایی که در بیش از یک لکه شناسایی شدند، قبلاً نیز توسط سایر محققان گزارش شده‌اند (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 پروتئین نسبت

# جدول ۱- 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

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

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 رابیسکو شوند. رابیسکو غیرفعال شده غیر قابل برگشت بوسیله نسخه‌های جدید سنتر شده جایگزین می‌شود. بنظر می‌رسد که بواسطه ناپایدار بودن زیر واحدهای رابیسکو 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 شدید و بلند مدت شوری، فراوانی افزایش یافته زیرواحد بزرگ رابیسکو می‌تواند دال بر تخریب بیشتر پروتئین نیز باشد. مدار کی 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 تئوریک 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 گیاهچه‌های 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 دوطرفه دی‌هیدروکسی استون فسفات و دی گلیسرآلدئید تری فسفات را کاتالیز می‌کند. دو نوع ایزوform از این آنزیم وجود دارد: سیتوسولی و کلروپلاستی. ایزوform پلاستی 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 پلاستی 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

فراهم می‌کند (Ireland and Lea 1999). گلوتامین نیز اسید آمینه 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 پیچیده 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 سمیت‌زدایی 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 نیتريت را کاتالیز می‌کند (Kobayashi et al., 2004) و باعث سمیت‌زدایی 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 رایبیسکو اکتیواز هستند که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافتند (جدول ۱). رایبیسکو اکتیواز، متعلق به پروتئین‌های خانواده AAA+ است. این آنزیم احتمالاً به عنوان چاپرون‌های مولکولی عمل می‌کند. نقش

غیر زنده در گیاه آبرزی *Spidodela polyrrizha* گزارش کرده‌اند و نقش احتمالی آن را در دفع متابولیت سلولی دانسته‌اند که در شرایط تنش شوری تجمع می‌یابد.

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 کند. افزایش بیان این پروتئین‌ها در آزمایش‌های متعددی نشان داده شده است (Ndimba et al., 2005, Wang et al., 2008).

لکه ۱۳۱ متعلق به پروتئین ملات دهیدروژناز سیتوسولی است که تحت تنش شوری در گیاهچه‌های گندم افزایش یافت (جدول ۱). آنزیم ملات دهیدروژناز واکنش تبدیل دوطرفه ملات 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 ملات دهیدروژناز وابسته به  $NAD^+$  واکنش تبدیل اگزالواستات به ملات را کاتالیز می‌کند. سپس ملات 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 اسید آمینه در گیاهان عمل می‌کند (Kumar et al., 2000)، بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت ملات دهیدروژناز در حفظ فعالیت

اصلی اکتیواز حفظ فعالیت کاتالیتیکی رایسکو با حذف قندهای بازدارنده از جایگاه فعال رایسکو 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 رایسکو 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 احتمالاً 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، پلی فنول‌ها و کوئینین‌ها که نقش‌های مهمی در دفاع و تحمل به تنش‌های غیر زننده 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

بالا تر چرخه تری کربوکسیلیک اسید و نیز ستر بیشتر اسید آمینه ها کمک می کند. افزایش فعالیت این آنزیم در برگ گندم نان (Wang *et al.*, 2008) و آراییدوپسیس (Ndimba *et al.*, 2005) مشاهده گردید. با توجه به اینکه تنش شوری یکی از تنش های مهمی است، که عملکرد گیاهان زراعی را تحت تاثیر قرار می دهد، درک سازوکارهایی که گیاهان به هنگام مواجهه با تنش به کار می برند، کمک شایان توجهی به محققان به نژادی گیاهی خواهد کرد. به نظر می رسد که در گیاهچه های گندم برای دفاع از سلول در برابر رادیکال های آزاد از آنزیم های آنتی اکسیدانتی آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و پروکسی ردوکسین استفاده شده و با تغییر بیان آنزیم های تریوز فسفات ایزومراز، فسفو گلیسرات موتاز و ملات دهیدروژناز احتمالاً بخشی از انرژی مورد نیاز برای واکنش های سمیت زدایی از سلول فراهم می شود. همچنین در این رقم با افزایش سنتز رایسکو، احتمالاً رایسکوی غیرفعال شده طی تنش شوری جبران شده و با افزایش فعالیت اکتیواز کارایی آنزیم رایسکو نیز افزایش یافته است. بیان بالای پروتئین شوک حرارتی ۷۰ هم احتمالاً با حفاظت از پروتئین ها و تسهیل در

انتقال بین سلولی آنزیم های سلولی ضروری در تحمل به تنش شوری نقش ایفا می کند. در گیاهچه های گندم احتمالاً با افزایش بیان آنزیم گلوتامین سنتاز، گروه های نیتروژنی مورد نیاز برای بیوستز 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 می شوند، نقش دارند. با این حال نقش دقیق این نوع ترانسپورترها در تحمل به تنش شوری مشخص نشده است. این نوع ناقل می تواند به عنوان یک پروتئین کاندیدا در تحمل به تنش شوری مورد توجه قرار گیرد و با استفاده از روش های دیگر از جمله ترانسکریپتومیکس مورد بررسی بیشتری قرار گیرد. نتایج بدست آمده از این تحقیق می تواند مورد توجه به نژادگران 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 حمایت های صندوق مذکور سپاسگزاری می شود.

### 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.

### منابع مورد استفاده

- 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 improvements 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.
- Hajdudch, 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

- 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.

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

Maleki, M.<sup>1</sup>, M. R. Naghavi<sup>2</sup>, H. Alizadeh<sup>3</sup>, K. Poustini<sup>4</sup> and C. Abd Mishani<sup>5</sup>

### 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.

**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