دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی لکه‌های پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گندم دیپلوئید (*Triticum boeoticum*)

محمود ملکی[۱]، امین باقی‌زاده[۲]، علی ریاحی مدوار[۳] و احسان نصیری‌فر[۴]

۱- استادیار اصلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران، (نویسنده مسوول: Maleki.li@gmail.com)
۲- دانشیار اصلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
۳- دانشیار بیوشیمی، گروه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کوثر بجنورد، بجنورد، ایران
۴- فارغ التحصیل دکتری، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۰۲
صفحه: ۲۶ تا ۳۵

چکیده

تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیرزنده‌ای است که می‌تواند عملکرد گندم‌های زراعی را تحت تاثیر قرار دهد. بررسی مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری در گیاهان زراعی و نیز اجداد وحشی آنها حائز اهمیت است. هدف از این پروژه بررسی لکه‌های پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش شوری در جمعیت متحمل بود. در این پروژه پنج جمعیت گندم دیپلوئید *بوئتیکوم* (A1، A10، B3، B4 و C5) از مناطق مختلف در محیط گلخانه و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار کشت شدند. شوری در مرحله سه‌برگچه‌ای در دو سطح صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار اعمال گردید. سپس صفات ارتفاع قسمت هوایی و ریشه، وزن تر و خشک قسمت هوایی، میزان کلروفیل a، b، کل و نیز کاروتنوئیدها و مقدار پروتئین کل اندازه‌گیری شدند. پروتئین کل با استفاده از روش TCA/استون استخراج شد. پروتئین‌ها در بعد اول بر اساس نقطه ایزوالکتریک و با استفاده از نوارهای IPG با pH 4-7 و سپس در بعد دوم بر اساس وزن مولکولی و با استفاده از SDS-PAGE جداسازی گردیدند. نتایج تجزیه داده‌های فیزیولوژیک نشان داد که برای ۳ صفت وزن تر و خشک اندام هوایی و میزان پروتئین کل برهمکنش جمعیت در شوری معنی‌دار گردید که برای دو صفت وزن تر و پروتئین کل جمعیت B4 به‌ترتیب در شرایط نرمال و تنش شوری بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد. آنالیز ژل‌های حاصل از الکتروفورز دو بعدی باعث شناسایی ۲۰۵ لکه تکرارپذیر گردید. از این تعداد، ۷ لکه نسبت به شاهد افزایش بیان و ۷ لکه نسبت به شاهد کاهش بیان نشان دادند. پروتئین‌های شناسایی‌شده جزو پروتئین‌های دخیل در دیواره سلولی، فتوسنتز، متابولیسم انرژی، پروتئین‌های مرتبط با کروماتین، چپرون‌ها، پروتئولیتیک‌ها، پروتئین‌های دخیل در حذف گونه‌های فعال اکسیژن، دخیل در تعمیر پروتئین‌های آسیب‌دیده و دخیل در انتقال پیام هستند. از نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان در جهت بهبود اصلاح ارقام زراعی گندم بهره برد.

واژه‌های کلیدی: پروتئومیکس، تنش غیرزنده، گندم وحشی

مقدمه

تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش زیاد در عملکرد گیاهان زراعی می شود. برآورد شده است که در سراسر جهان حدود ۲۰ درصد از زمین‌های کشت شده است و تا ۵۰ درصد از کل زمین‌های آبی، به‌شدت تحت تأثیر اثرات شوری بالا قرار دارند. اکثر این زمین‌های آسیب‌دیده از نمک حاصل از انباشت نمک‌ها در طول دوره‌های طولانی در مناطق خشک و نیمه‌خشک بوجود آمده‌اند (۲۳). زمانی که گیاه تحت تنش شوری قرار می‌گیرد، در ابتدا به‌دلیل ایجاد تنش اسمزی رشد گیاه متوقف می‌شود و زمانی که در طی زمان یون‌های سدیم و کلر وارد سلول‌های گیاه شوند و در داخل سیتوپلاسم به غلظت سمی برسند با ایجاد اختلالات در فرآیندهای متابولیسمی و کاهش کارایی فتوسنتزی رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۵).

به‌طور کلی زمانی که گیاهان تحت تاثیر تنش شوری قرار می‌گیرند، سعی می‌کنند با تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی به تنش واکنش نشان دهند. این تغییرات مرتبط با تغییر در بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری هستند که پروتئین‌های ویژه‌ای را کد می‌کنند (۱۸). به‌عبارت‌دیگر تحمل به تنش شوری با تغییرات صورت‌گرفته در سطوح پروتئین‌های ویژه مرتبط است (۱۸). شناسایی دقیق و تجزیه و تحلیل تغییرات در سطح پروتئین، به‌نظر می‌رسد یک رویکرد منطقی برای درک مکانیزم مولکولی پاسخ به نمک است (۲۴). برای مثال، جیانگ و همکاران (۲۸) با بررسی پروتئوم ریشه گیاهچه دو رقم متحمل و حساس گندم نان تحت تنش شوری با تکنیک پروتئومیکس، گزارش کردند که پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری جزو پروتئین‌های مرتبط با یوبیکویتینه‌شدن، فاکتورهای رونویسی، پروتئین‌های مرتبط با پاتوژن، ناقلین غشایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت طبقه‌بندی کردند. الوی و همکاران (۲۹) با بررسی برگ‌های گیاهچه‌های گندم دیپلوئید *Triticum monococcum* و با شناسایی لکه‌های پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش شوری با استفاده از طیف‌سنج جرمی، پروتئین‌های شناسایی‌شده را جزو پروتئین‌های دفاعی در برابر تنش، پروتئین‌های دخیل در تاخوردگی پروتئین، فتوسنتز، متابولیسم کربوهیدرات، انتقال و تولید انرژی و متابولیسم پروتئین طبقه‌بندی کردند.

خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی اگرچه از نظر عملکرد اهمیتی ندارند اما به‌دلیل دارا بودن ژن‌های مفید، مورد توجه اصلاحگران زیادی قرار می‌گیرند. گندم زراعی (*Triticum aestivum*; (AABBDD)) به‌دلیل پلی‌پلوئیدی بودن دارای خویشاوندان وحشی متنوع‌تری است. گندم

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

دیپلوئید *Triticum boeoticum* دارای ژنومی بسیار مشابه با ژنوم AA گندم زراعی است که زیستگاه طبیعی آن در بخش‌های شمال و نیز شرق هلال حاصلخیز از جمله مناطق جنوب‌غرب، غرب و شمال‌غرب ایران قرار گرفته‌اند (۱۹). به‌دلیل تنوع ژنتیکی بالای گونه *T.boeoticum* در ایران (۱۸،۲۰) و مطالعات اندک صورت‌گرفته در مورد تحمل به تنش در این گونه، مطالعه تحمل به تنش شوری می‌تواند اطلاعات مفیدی را در مورد این گونه در اختیار محققین قرار دهد. به‌همین‌دلیل در این مطالعه لکه‌های پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش شوری در گندم دیپلوئید *T. boeoticum* مورد بررسی قرار می‌گیرند.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، تعداد پنج جمعیت گندم وحشی *Triticum boeoticum*، شامل A1 (لرستان–دورود)، A10 (لرستان–لرستان)، B3 (کرمانشاه–کامیاران)، B4 (کرمانشاه–پاوه) و C5 (کردستان–کردستان) به‌صورت کشت گلدانی ارزیابی شدند. این مطالعه به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی اجرا شد، فاکتورها شامل ژنوتیپ (پنج ژنوتیپ) و شوری (در دو سطح صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار) بودند. هفت عدد بذر در داخل گلدان پلاستیکی کشت شدند، دو هفته پس از رشد در آغاز مرحله سه‌برگی، با استفاده از کلرید سدیم خالص NaCl با غلظت ۱۵۰میلی‌مولار تنش اعمال شد. گیاهچه‌ها دو هفته بعد از اعمال تنش شوری برداشت و صفات طول اندام هوایی و ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، پروتئین کل و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید (از بافت برگی) اندازه‌گیری شدند.

طول اندام هوایی و ریشه، با استفاده از خط کش برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن تر اندام هوایی، با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. وزن خشک اندام هوایی نیز پس از خشک‌شدن نمونه‌ها در آون (دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت)، با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری و داده‌ها بر حسب گرم ثبت و بررسی شدند. برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی از روش آرنون (۴) استفاده شد. برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین کل، از روش برادفورد (۷) استفاده شد. برای این منظور محتوای پروتئین کل از طریق محصول رنگی واکنش پروتئین با محلول بیوره به‌دست آمد. میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و محتوای پروتئین کل به کمک منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان شد. برای آنالیز داده‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک از نرم‌افزارهای Excel و SAS استفاده شد. مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت و در مورد صفاتی که اثر متقابل آنها معنی‌دار گردید، عمل برش‌دهی نیز صورت گرفت. سپس متحمل‌ترین جمعیت برای انجام پروتئومیکس انتخاب شد.

استخراج پروتئین‌ها

استخراج پروتئین از بافت برگی بر اساس روش دامروال و همکاران (۹) با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای اندازه‌گیری میزان غلظت پروتئین‌های نمونه در این آزمایش از روش برادفورد استفاده شد (۷).

الکتروفورز

بعد اول

الکتروفورز دوبعدی براساس روش گورگ و همکاران (۱۱) انجام گرفت که در ذیل به‌طور خلاصه توضیح داده خواهد شد. ابتدا پروتئین‌ها در استوک بازجذب حل شدند. نوارهای IPG در دمای اتاق و به‌مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت در ۳۲۰ میکرولیتر از محلول بازجذب (0.002 %و.,2% CHAPS 8, MUrea, 0.018M DTT, 2% IPG Buffer, Bromophenol Blue,) که حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم پروتئین است بازجذب شدند. پس از تکمیل مرحله ریهایدریشن، الکتروفورز بعد اول با استفاده از دستگاه IPGphore III ساخت شرکت GE Healthcare انجام گرفت.

بعد دوم

برای انجام بعد دوم از دستگاه ProteinII Xi Cell ساخت شرکت بیورد[1] استفاده شد. در بعد دوم از ژل SDS-PAGE ۱۲/۵درصد استفاده گردید. پس از آماده شدن ژل بعد دوم، نوار ژل بعد اول به مدت ۱۵ دقیقه در محلول متعادل سازی (,2% ,Urea ,6M ,ph8.8- Tris 50mM Glycerol., 1%, 0.002%, Bromophenol Blue HCl, SDS., 30%, DTT.,) شناور گردید. سپس بعد از انجام بعد دوم، مراحل رنگ‌آمیزی طبق پروتکل بِلوم و همکاران (۶) انجام گرفت.

تصویربرداری و آنالیز ژل‌ها

پس از رنگ‌آمیزی، ژل‌ها با استفاده از دنسیتومتر[2] Gs 800 ساخت شرکت بیورد اسکن‌شده و در نهایت بوسیله نرم‌افزار PDQuest به فرمت تیف درآورده شدند. برای بررسی کمی و کیفی لکه‌ها در تیمارهای مختلف از نرم‌افزار (Switzerland Melanie 7 GeneBio Geneva) استفاده شد. بدین‌ترتیب که ابتدا لکه‌ها شناسایی شدند و سپس ژل‌های مختلف را با هم جفت نموده و مورد آنالیز آماری قرار داده شدند. بدین‌ترتیب که پس از شناسایی‌نمودن لکه‌ها بر روی ژل‌ها و سپس ویرایش دستی نقاط بوسیله نرم‌افزار لکه‌ها به‌طور اتوماتیک در ژل‌های مختلف با هم جفت شدند. پس از جفت‌نمودن لکه‌ها، به‌طور دستی لکه‌ها بررسی شدند تا از صحت عمل نرم‌افزار در جفت‌نمودن لکه‌ها اطمینان حاصل شود. لکه‌هایی که درصد حجمی آن‌ها بین دو تیمار اختلاف معنی‌دار داشتند به‌عنوان لکه‌های کاندیدا شناخته شدند (۱۸). در نهایت برای شناسایی لکه‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری از نرم‌افزار ExPASy-Tagident tool استفاده گردید (۳).

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر جمعیت در تمامی صفات به استثنای کاروتنوئید کل معنی‌دار گردید. همچنین اثر تنش شوری در تمامی صفات به استثنای کلروفیل آ معنی‌دار گردید. برهمکنش جمعیت در شوری نیز تنها برای صفات وزن تر و خشک قسمت هوایی و پروتئین کل معنی‌دار گردید (جدول ۱). برش‌دهی اثر متقابل برای سطوح مختلف جمعیت در هر سطح شوری برای سه صفت

1- BioRad

2- Densitometer GS 800

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

وزن تر و خشک قسمت هوایی و پروتئین کل نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین جمعیت‌ها در هر سطح شوری وجود دارد که بیانگر وجود تنوع از نظر هر سه صفت مورد مطالعه در داخل جمعیت‌های مورد استفاده در هر سطح شوری است (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های *تریتیکوم بوئتیکوم*

Table 1. Results of variance analysis for the studied traits in *Triticum boeoticum* populations

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		طول قسمت هوایی	طول ریشه	وزن تر قسمت هوایی	وزن خشک قسمت هوایی	پروتئین کل (mg/gr)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
جمعیت	۴	۴۵/۱۲**	۴/۱۶**	۰/۰۲۳**	۰/۰۰۱۲**	۵۷۲۱۸/۴**	۱۳۷/۴**	۵/۲۷*	۲/۱۵۹**	۳۶۱/۹^{ns}
شوری	۱	۱۵۱/۳۳**	۱۵/۹۵**	۰/۲۱**	۰/۰۱۹**	۱۴۸۳۰/۷**	۱۷/۰۳^{ns}	۵۴/۴**	۱/۱۱۸**	۳۴۹۰/۷**
جمعیت × شوری	۴	۳/۳۹^{ns}	۰/۷۳^{ns}	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۴۳**	۴۸۳۱/۹**	۴/۹۷^{ns}	۰/۷۸^{ns}	۱۸/۹^{ns}	۴۴۲/۹^{ns}
خطا	۲۰	۳/۶۱	۱/۰۳	۰/۰۰۰۷۶	۰/۰۰۰۰۲۹	۲۲۷/۱	۶/۹۷	۱/۵۲	۷۹/۸	۲۶۰/۸
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۹	۶/۹۹	۴/۵۹	۵/۵۱	۸/۶۸	۱۲/۷۶	۱۸/۳۳	۸۱/۱۰	۲۲/۹۶
برش‌دهی اثر متقابل: سطوح فاکتور جمعیت در هر سطح شوری										
سطوح مختلف فاکتور شوری	درجه آزادی	-	-	وزن تر قسمت هوایی	وزن خشک قسمت هوایی	پروتئین کل (mg/gr)	-	-	-	-
شاهد (صفر میلی‌مولار)	۴	-	-	۰/۰۱۲۵**	۰/۰۰۴۶**	۱۶۵۴۱**	-	-	-	-
۱۵۰ میلی مولار	۴	-	-	۰/۰۲۲۳**	۰/۰۰۰۹۷**	۴۵۵۰۹**	-	-	-	-

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر جوامع نشان داد که در تمامی صفات به‌جز ارتفاع اندام هوایی، جمعیت B4 بیشترین مقدار را به‌خود اختصاص داده است (جدول ۲). در صفت ارتفاع اندام هوایی جمعیت A1 و پس از آن B4 بیشترین مقدار را به‌خود اختصاص داد. کمترین مقدار هم برای صفات طول قسمت هوایی، طول ریشه، کلروفیل آ و ب به‌ترتیب متعلق به B3، C5، B3 و A10 بود (جدول ۲). کاهش در محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری طولانی‌مدت برای گیاهان حساس به تنش شوری متعددی گزارش شده‌اند (۱). با این‌حال در این مطالعه برهمکنش جمعیت در شوری برای صفات کلروفیل آ، ب و کاروتنوئید کل معنی‌دار نگردید.

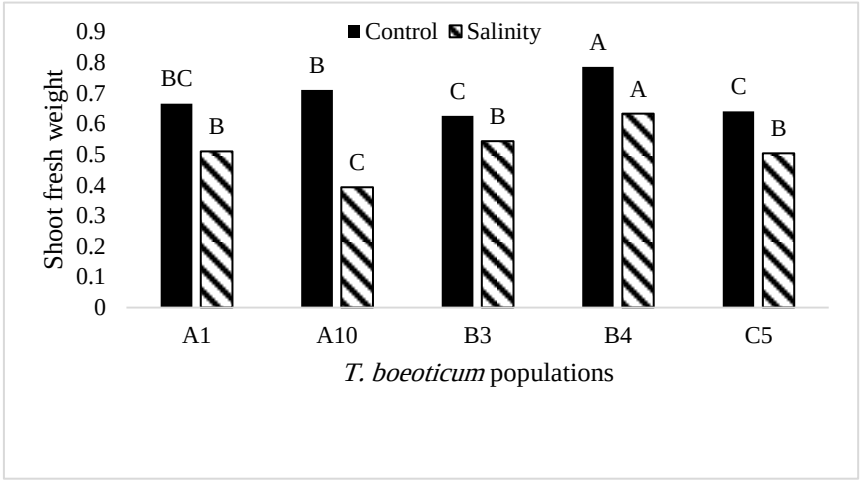
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر جوامع گندم برای صفات طول قسمت هوایی و ریشه، کلروفیل آ، ب و کل

Table 2. Mean comparison of population effects for shoot and root length, chlorophyll a, b and total chlorophyll

جمعیت‌های گندم *بوئتیکوم*	ارتفاع قسمت هوایی (cm)	ارتفاع ریشه (cm)	کلروفیل آ (mg/g FW)	کلروفیل ب (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)
A1	۴۳/۰۵^{a}	۱۵/۱۵^{ab}	۲۱/۴۹^{b}	۶/۴۹^{ab}	۲۷/۹۸^{bc}
B4	۳۹/۳۷^{b}	۱۵/۷^{a}	۲۴/۹۵^{a}	۷/۱۳^{a}	۳۲/۰۸^{a}
C5	۳۸/۱۵^{bc}	۱۳/۷^{c}	۲۳/۳۵^{ab}	۷/۹۸^{a}	۳۱/۳۴^{ab}
A10	۳۷/۲۷^{bc}	۱۳/۹^{bc}	۲۱/۰۵^{b}	۵/۴۲^{b}	۲۶/۴۸^{c}
B3	۳۵/۸۱^{c}	۱۴/۲^{bc}	۱۲/۵۹^{c}	۶/۵۹^{ab}	۱۹/۱۸^{d}

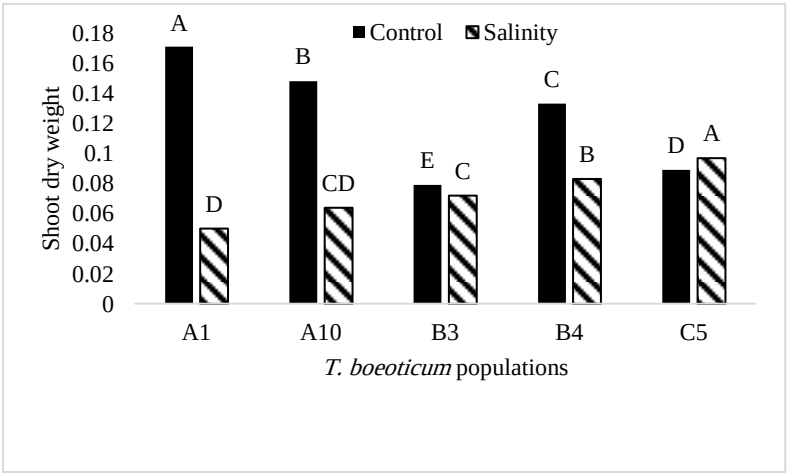
مقایسه میانگین سطوح مختلف جمعیت در سطح نرمال با روش برش‌دهی برای صفت وزن تر نشان داد که جمعیت B4 در شرایط نرمال بیشترین مقدار را به‌خود اختصاص داده است. از طرفی جمعیت B4 در شرایط شوری با اختصاص میانگین ۰/۶۳ گرم از نظر این صفت نسبت به سایر جمعیت‌ها در شرایط تنش شوری، بهتر عمل کرده است (شکل ۱). مقایسه میانگین سطوح مختلف جمعیت در هر سطح شوری با روش برش‌دهی برای صفت وزن خشک تا حدودی روند متفاوت‌تری را نشان داد. بهترین جمعیت از نظر این صفت، A1 در شرایط نرمال بود. پس از آن جمعیت‌های A10 و B4 قرار گرفتند. اما جمعیت‌های C5 و B4 در شرایط تنش شوری به‌ترتیب با اختصاص ۰/۰۹۷ و ۰/۰۸۳ گرم از نظر این صفت نسبت به سایر جمعیت‌ها تحت تنش شوری مقدار بالاتری را به‌خود اختصاص دادند (شکل ۲).

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]



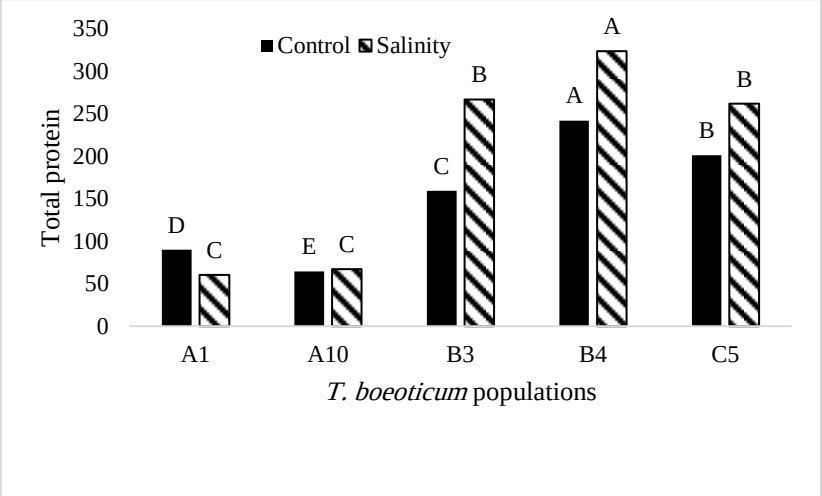
شکل ۱- مقایسه میانگین سطوح مختف جمعیت در هر سطح شوری برای صفت وزن تر اندام هوایی
Figure 1. Mean comparison of different levels of population at each levels of salinity for shoot fresh weight

مقایسه میانگین سطوح مختلف جمعیت در هر سطح شوری با روش برش‌دهی برای صفت پروتئین کل نیز نشان داد که جمعیت‌های B4 و A1 در شرایط تنش شوری به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را به‌خود اختصاص دادند (شکل ۳). این امر نشان می‌دهد جمعیت B4 با تغییر در بیان پروتئین‌ها به تنش شوری پاسخ می‌دهد تا بتواند این شرایط را تحمل کند. پروتئین‌های گیاهی متعددی تحت شرایط تنش شوری در گیاهان مختلف شناسایی شده‌اند که به‌صورت ۲ گروه کاملا مجزا طبقه‌بندی شده‌اند (۱۲). برخی پروتئین‌ها فقط تحت شرایط تنش شوری تجمع پیدا می‌کنند و برخی نیز به‌طور کلی به‌واسطه تنش‌ها که علاوه‌بر تنش شوری در شرایط تنش خشکی، گرما، سرما کمبود و یا میزان زیاد مواد غذایی تجمع پیدا می‌کنند و بعد از اتمام تنش این پروتئین‌ها به‌عنوان منبع نیتروژن برای گیاه دوباره مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵). از طرفی می‌توانند نقشی در تنظیم اسمزی پیدا کنند (۵). محتوای بالای پروتئین‌های محلول در ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس در گیاهان زراعی مشاهده شده است.



شکل ۲- مقایسه میانگین سطوح مختف جمعیت در هر سطح شوری برای صفت وزن خشک اندام هوایی
Figure 2. Mean Comparison of different levels of population at each levels of salinity for shoot dry weight

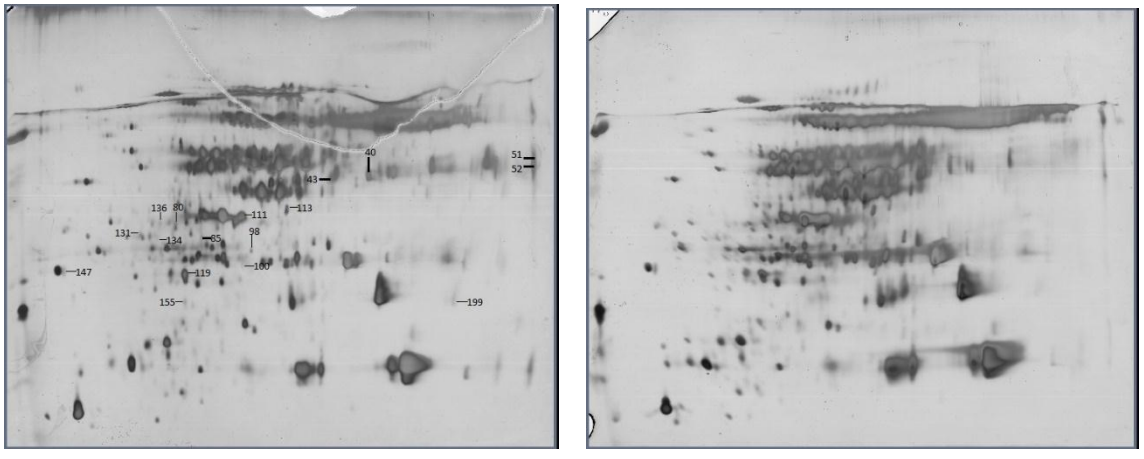
[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]



شکل ۳- مقایسه میانگین سطوح مختف جمعیت در هر سطح شوری برای صفت پروتئین کل
Figure 3. Mean Comparison of different levels of population at each levels of salinity for the total protein

نتایج حاصل از پروتئومیکس

با استفاده از نرم‌افزار حدود ۲۵۰ لکه پروتئینی قابل‌تشخیص بود که از بین آنها ۲۰۵ لکه به‌صورت تکرارپذیر در بین تکرارهای بیولوژیکی وجود داشتند که با استفاده از مقدار درصد حجمی هر لکه به‌عنوان یک مقدار نرمالیزه‌شده مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. از بین ۲۰۵ لکه تکرارپذیر ۱۴ لکه پاسخ‌دهنده به تنش شوری شناسایی شدند که از بین آنها ۷ لکه (۵۰ درصد) افزایش بیان و ۷ لکه کاهش بیان از خود نشان دادند (جدول ۳). در بین لکه‌هایی که در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد افزایش بیان نشان دادند، لکه شماره ۱ با نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی آزمایشی ۴/۹۲ و ۱۶ کیلو دالتون بیشترین افزایش بیان را از خود نشان داد (شکل ۵، جدول ۳). این لکه در شرایط تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولاری ۴/۵ برابر بیش از شرایط نرمال افزایش بیان داشت (شکل ۵). کمترین افزایش بیان نیز متعلق به لکه شماره ۷ با نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی آزمایش ۴/۸۴ و ۳۲ کیلو دالتون بود (شکل ۵، جدول ۳). این لکه در شرایط تنش شوری به‌میزان ۱/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش بیان داشت (شکل ۵).



شکل ۴- ژل‌های دوبعدی رنگ‌آمیزی‌شده با نیترات نقره. ژل سمت چپ مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار و ژل سمت راست مربوط به تیمار شاهد
Figure 4. Two-dimensional gels stained with silver nitrate. The left gel is related to 150 mM treatment and the right gel is related to the control

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

در این مطالعه مشخص شد که از بین ۱۴ لکه پاسخ‌دهنده به تنش شوری ۷ لکه کاهش بیان از خود نشان دادند. از بین این لکه‌ها، لکه شماره ۱ با نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی ۵/۶۷ و ۲۵ کیلو دالتون بیشترین میزان کاهش بیان نسبت به شاهد را به‌خود اختصاص داد (شکل ۵، جدول ۳). این لکه همانطور که در قسمت مواد و روش‌ها ذکر شده است در این مطالعه از نوارهای IPG با pH ۴–۷ استفاده گردید. نتایج حاصل از الکتروفورز دو بعدی نشان داد که از بین ۲۰۵ لکه تکرار پذیر، تعداد ۷۹ لکه (۳۸/۵۳ درصد) در PI بین ۴ الی ۵، تعداد ۱۰۵ لکه (۵۱/۲۱ درصد) در PI بین ۵ الی ۶ و تعداد ۲۱ لکه (۱۰/۲۴ درصد) در PI بین ۶ الی ۷ مشاهده گردیدند. بیش از ۵۰ درصد لکه‌ها در PI ۵ الی ۶ مشاهده گردیدند. در مطالعه علوی و همکاران (۲)، که از نوارهای IPG با pH ۳–۱۰ استفاده کرده بودند، مشاهده شد که بیشترین تعداد به‌میزان ۵/۶۴ برابر شاهد کاهش بیان نشان داد (شکل ۵). لکه شماره ۷ نیز با نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی ۵/۱۸ و ۲۳ کیلو دالتون کمترین میزان بیان را به خود اختصاص داد (شکل ۵، جدول ۳). میزان کاهش بیان این لکه نسبت به شاهد ۱/۸۱ بود (شکل ۵).

لکه‌ها در PI بین ۴–۶ تمرکز پیدا کرده اند و تعداد بسیار کمی از لکه‌ها در PI بین ۳ الی ۴ و نیز ۷ الی ۱۰ مشاهده گردید. در این مطالعه هم که از نوارهای IPG با pH ۴–۷ استفاده گردید، بیش از ۸۹ درصد لکه ها در PI بین ۴ الی ۶ مشاهده گردید. به همین دلیل پیشنهاد می شود که در مطالعات بعدی از نوارهای IPG با pH بین ۴ الی ۶ استفاده گردد تا با افزایش بزرگنمایی و به تبع آن تفکیک پذیری لکه ها، نتایج بهتری حاصل گردد. در این مطالعه لکه های شناسایی شده در گروه های زیر قرار گرفتند:

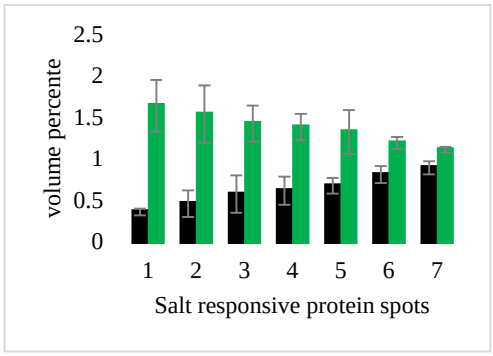
جدول ۳– مشخصات لکه‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری

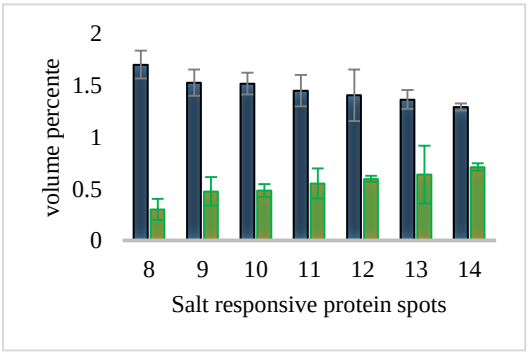
Table 3. Specifications of the responsive spots to the salt stress

ردیف	شماره لکه تطابق‌یافته	وضعیت بیان	نقطه ایزوالکتریک بدست‌آمده	وزن مولکولی بدست‌آمده	ردیف	شماره لکه تطابق‌یافته	وضعیت بیان	نقطه ایزوالکتریک بدست‌آمده	وزن مولکولی بدست‌آمده
۱	۱۵۵	+	۴/۹۲	۱۶	۸	۱۰۰	-	۵/۶۷	۲۵
۲	۵۱	+	۵/۲۹	۴۰	۹	۸۰	-	۵/۰۶	۲۹
۳	۵۲	+	۵/۵	۳۸	۱۰	۹۸	-	۵/۵۹	۲۶
۴	۱۹۴	+	۶/۴۶	۲۱	۱۱	۱۴۷	-	۴/۹۳	۲۳
۵	۱۳۴	+	۴/۷۷	۳۲	۱۲	۸۵	-	۵/۲۱	۲۵
۶	۱۳۶	+	۴/۳۱	۳۰	۱۳	۱۱۳	-	۵/۰۵	۲۴
۷	۱۳۱	+	۴/۸۴	۳۲	۱۴	۱۱۱	-	۵/۱۸	۲۳

پروتئین مرتبط با دیواره سلولی

لکه شماره یک به‌عنوان پروفیلین شناسایی شد که در این مطالعه در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد افزایش بیان نشان داد. پروفیلین یک پروتئینی است که به آکتین متصل می‌شود و بر ساختار سیتواسکلتون با پلیمریزاسیون یا دپلیمریزاسیون‌سازی فیبرهای اکتین تاثیر می‌گذارد و در پاسخ سلول‌های گیاهی به سیگنال‌های داخلی و خارجی دخیل است (۲۲). افزایش بیان پرولین در *Sueda idayptiaca* گزارش شده است (۲۲) و اعتقاد بر این است که رفتار سلول را نسبت به مقادیر قابل‌توجهی از نمک و نیز به حداقل‌رساندن سمیت آن در سلول‌های گیاهی تنظیم می‌کند.





شکل ۵– لکه‌های پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش شوری افزایش بیان‌یافته (سمت چپ) و کاهش بیان‌یافته (سمت راست)

Figure 5. Upregulated (left) and downregulated (right) responsive protein spots to the salt stress

پروتئین‌های دخیل در فرآیند فتوسنتز

در این مطالعه لکه‌های شماره ۲ و ۳ که به‌ترتیب به‌عنوان پروتئین D2 و D1 فتوسیستم II شناسایی شدند در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد افزایش بیان نشان دادند. ثابت شده است که پروتئین D1 متصل به مرکز واکنش، به تنش محیطی خیلی حساس است و در بین زیرواحدهای پروتئینی کمپلکس فتوسیستم II این پروتئین هدف اصلی تنش است (۲۱). به‌نظر می‌رسد گیاه مورد مطالعه با افزایش بیان این دو

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

پروتئین سعی در حفظ کارکرد فتوسیستم‌های I و II دارد. لکه‌های شماره ۱۲ و ۱۴ نیز در این مطالعه در شرایط تنش نسبت به شاهد کاهش بیان از خود نشان دادند. این لکه‌ها هر دو متعلق به Chlorophyll a-b binding protein کلروپلاستی بودند. در واکنش‌های نوری فتوسنتز، نور توسط مجموعه‌ای از کمپلکس‌های برداشت نور (LHCs) که انرژی نور را به مراکز واکنش‌های فتوشیمیایی (فتوسیستم I و II) هدایت می‌کنند برداشت می‌شود. زیر مجموعه‌های ویژه‌ای از مولکول‌های کلروفیل در این فتوسیستم‌ها با جذب انرژی نور برانگیخته می‌شوند و سپس الکترون‌ها از طریق زنجیره انتقال الکترون (ETC) منتقل می‌شوند (۸). اکثر کلروفیل‌ها توسط پروتئین‌های کدشده پلاستیدی قرار گرفته در مراکز فتوسیستم I (PsaA/B) و فتوسیستم II (PsbA/B/C/D) که به پروتئین‌های D1، CP47، CP43 و D2 معروفند و نیز بوسیله پروتئین‌های هسته‌ای، متصل می‌شوند و کمپلکس‌های برداشت نور را تشکیل می‌دهند (۸).

پروتئین کروماتینی

در این مطالعه بیان لکه پروتئینی شماره ۴ افزایش پیدا کرد. این لکه به‌عنوان HMG1/2-like protein شناسایی گردید. HMG پروتئین‌های غیرهیستون کروموزومی متصل‌شونده به DNA است که برای سازمان‌دهی کروماتین ضروری نیست اما با عوامل رونویسی در کنترل رونویسی نقش ایفا می‌کنند (۱۴). آنها احتمالا از عوامل موثر در سرهم‌کردن برخی از کمپلکس‌های nucleoprotein خاص هستند (۱۴). احتمالا افزایش بیان این پروتئین باعث سازماندهی بهتر کروماتین در شرایط تنش شوری کمک خواهد کرد.

متابولیسم انرژی

در این مطالعه بیان سیتوکروم c اکسیداز (لکه شماره ۵) توسط تنش شوری القا شده است، که این امر نشان‌دهنده دخالت آن در تحمل به تنش شوری است. احتمالا این آنزیم تولید انرژی را از طریق زنجیره تنفسی تحت شرایط تنش را تسهیل کند. در ریشه‌های گیاه برنج که به‌مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفته بود، بر اساس آنالیز پروتئوم سیتوکروم c اکسیداز به‌شدت توسط تنش شوری بیان شده است (۲۵). سیتوکروم c اکسیداز آنزیم نهایی زنجیره تنفسی میتوکندری است. سیتوکروم c اکسیداز (COX)، (آنزیم نهایی زنجیره تنفسی)، باعث اکسیدشدن سیتوکروم c و انتقال الکترون به اکسیژن مولکولی می‌شود تا آب مولکولی تشکیل شود (۲۵).

چیرون

در این مطالعه لکه شماره ۶ به‌عنوان NAP1-related protein 1 شناسایی شد. بیان این پروتئین به‌میزان زیادی تحت تنش شوری افزایش پیدا کرد. نوترکیبی هومولوگ (HR) برای حفظ یکپارچگی و تغییرپذیری ژنوم ضروری است. تخریب ژن NRP موجب کاهش HR در گیاهان تحت شرایط رشد طبیعی و همچنین، در طیف گسترده‌ای از تنش‌های غیرزنده می‌شود (۱۰). ژو و همکاران (۲۷)، نشان دادند که خاموش‌کردن ژن‌های NAP1- related proteins (NRP) باعث نقص در فرآیند ریشه‌زایی پس از جوانه‌زنی در گیاه آرابیدوپسیس می‌شود. در واقع خاموش‌کردن همزمان ژن‌های NRP1 و NRP2 باعث توقف پیشرفت چرخه سلولی در مرحله G2 و میتوز می‌شود. بنابراین افزایش بیان این پروتئین به احتمال زیاد هم به حفظ یکپارچگی ژنوم کمک می‌کند و هم باعث عدم‌توقف رشد ریشه در شرایط تنش شوری می‌شود، تا این شرایط تنش را بهتر بتواند تحمل کند.

پروتئین‌های پروتئولیتیک

۱) لکه شماره ۸ به‌عنوان Ubiquitin-conjugating enzyme E2 شناسایی گردید که تحت تاثیر تنش شوری کاهش بیان از خود نشان داد. Ubiquitin-conjugating enzyme E2 در مسیر مولکولی ubiquitin-proteasome system دخیل هستند که مسوول حذف پپتیدهای غیرطبیعی هستند. نشان داده شده است که سیستم ubiquitin-proteasome بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی مهم را تنظیم می‌کند (۱۳). جانگن هوگ و همکاران (۱۳) در سلول‌های انسانی نشان دادند که در سلول‌های تحت تنش اکسیداتیو نسبت گلوتاتیون اکسیدشده (GSSG) به گلوتاتیون (GSH) احیاشده افزایش پیدا می‌کند که با کاهش هماهنگ فعالیت مسیر ubiquitinylation همراه است. به‌دلیل اینکه تنش اکسیداتیو تحت تاثیر تنش شوری نیز به‌وجود می آید به احتمال زیاد کاهش بیان این پروتئین تحت تاثیر تنش شوری مرتبط است با ایجاد تنش اکسیداتیو.

۲) در این مطالعه پروتئین Serine carboxypeptidase (لکه شماره ۹) کاهش بیان از خود نشان داد.

پروتئین‌های Serine carboxypeptidase نقش‌های مختلفی در گیاه ایفا می‌کنند. از جمله انتقال پیام BRI1 در آرابیدوپسیس را کنترل می‌کند (۱۶). در برخی مطالعات نقش این آنزیم در برخی تنش‌ها نشان داده شده است. بررسی تاثیر تنش گرما بر روی پروتئوم دانه گندم نشان داد که میزان بیان Serine carboxypeptidase III precursor تحت تاثیر این تنش کاهش یافته است (۱۷).

پروتئین دخیل در فرآیند حذف گونه‌های فعال اکسیژن

در این مطالعه لکه شماره ۱۰ به‌عنوان Phosphomannomutase شناسایی گردید. بیان این پروتئین تحت شرایط تنش شوری نسبت به شاهد کاهش بیان نشان داد. این امر نشان می‌دهد به احتمال زیاد این گیاه برای مقابله با رادیکال‌های آزاد از مکانیسم‌های دیگری استفاده می‌کند. فسفامانوموتاز (PMM) تبدیل مانوز -۶-فسفات به مانوز-۱-فسفات را کاتالیز می کند. زو و همکاران (۲۵) زمانی که *Pyropia haitanensis* را تحت تاثیر دمای بالا قرار دادند با افزایش بیان این پروتئین (که جزو آنتی‌اکسیدانت‌ها طبقه‌بندی شده بود)، مواجه شدند.

پروتئین دخیل در تعمیر پروتئین‌های آسیب‌دیده

پروتئین ایزوآسپارتیل‌متیل‌ترانسفراز پیشنهاد شده است که در انجام تعمیرات پروتئین‌های آسیب‌دیده خودبه‌خودی با تسهیل در فرآیند تبدیل باقیمانده‌های غیرطبیعی ایزواسپارتیل به باقیمانده‌های طبیعی آسپارتیل نقش ایفا می‌کند. براساس فراوانی این آنزیم در بذرهای مختلف گیاهان و

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

اختصاصی‌بودن سوبسترای آن، فرض شده است که برای جلوگیری از انباشت باقیمانده‌های Aspartyl غیرطبیعی در پروتئین‌های دانه‌های سالم که می‌تواند زنده‌مانی جنین و شانس جوانه‌زنی بذر را محدود کند، نقش ایفا می‌کند (۲۰). فعالیت متیل‌ترانسفراز در گیاهچه گندم، از جمله برگ و بافت ریشه، بسیار پایین یا غیرقابل کشف است. با این‌حال نشان داده شده است که L-isoaspartyl methyltransferase می‌تواند در بافت‌های رویشی در پاسخ به تیمار هورمون و تنش محیطی القا شود. از دست‌دادن آب بدن و تنش شور نیز موجب رونویسی و فعالیت آنزیمی در گیاهچه می‌شود. توانایی یک گیاه برای تنظیم فعالیت متیل‌ترانسفراز در بذر و بافت‌های رویشی در پاسخ به تنش خشکی، پیری و استرس زیست‌محیطی به گیاه اجازه می‌دهد تا به‌طور موثر آسیب‌های پروتئینی مرتبط با این تغییرات فیزیولوژیکی را تعمیر کند. با این‌حال بیان این پروتئین (لکه شماره ۱۱) در این مطالعه کاهش پیدا کرده است.

پروتئین دخیل در انتقال پیام

(APT1) Adenine phosphoribosyltransferase1 نقش کلیدی در تبدیل سیتوکینین‌ها از با های آزاد (فرم فعال) به نوکلئوتیدها (شکل غیرفعال) در گیاهان دارد. از دست‌دادن فعالیت APT1 در گیاهان منجر به انباشت بیش‌ازحد بازهای سیتوکینین می‌شود، بنابراین منجر به پاسخ‌گیری چندگانه سیتوکنین می‌شود. درنتیجه موجب بی‌نظمی در پاسخگویی القایی توسط سیتوکینین می‌شود (۲۶). در این مطاله بیان این پروتئین (لکه شماره ۱۳) کاهش یافته است.

مطالعه پروتئوم‌های پاسخ‌دهنده به تنش شوری به‌ویژه در گیاهان وحشی اجداد گندم‌های زراعی می‌تواند مکانیزم تحمل به تنش را برای محققین آشکار سازد. گندم دیپلوئید بوئتیکوم هم که در مناطق غرب و شمال غرب ایران به‌صورت خودرو رشد می‌کنند به‌دلیل اینکه در معرض انواع تنش‌های محیطی قرار گرفته‌اند به احتمال زیاد حاوی ژن‌های اعطاکننده تحمل به تنش‌ها هستند. لذا مطالعه آنها حاوی اطلاعات مفیدی خواهد بود. به‌همین دلیل پروتئوم‌های شناخته‌شده در این تحقیق می‌تواند مورد توجه اصلاحگران گیاهان زراعی قرار گیرد. از طرفی در این مطالعه از بین ۱۴ لکه پاسخ‌دهنده به تنش شوری ۵۰ درصد افزایش بیان نشان دادند. از طرفی مطالعات قبلی نشان دادند که هر چه لکه‌های پاسخ‌دهنده بیشتری افزایش بیان نشان دهند آن گیاه متحمل‌تر خواهد بود (۱۸). این امر نشان می‌دهد که گیاه انتخابی از تحمل نسبی برخوردار است و با غربال گسترده‌تر گندم‌های دیپلوئید می‌توان به جمعیت‌های متحمل‌تری دست پیدا کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از تامین هزینه مالی این تحقیق از محل طرح پژوهشی (با شماره ۱/۱۵۱۶) توسط پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان اعلام می‌دارند.

منابع

1. Abedini, M. 2016. Physiological responses of wheat plant to salinity under different concentrations of Zn. Acta Biologica Szegediensis, 60(1): 9-16.
2. Alavi, N.S., M. Maleki, S. Pourseiedi, M. Rahimi, A. Baghizadeh, A. Riahi Medvar and A.R. Rasoulnia. 2016. Investigation of Salinity effect on leaf proteome pattern of Triticum boeoticum. Agricultural biotechnology, 7(1): 61-69.
3. Alipoor Ghorbani, S., A. Bandehhagh, M. Toorchi and R. Shokri Gharelo. 2018. Proteomic profiling analysis of rapeseed under salinity stress. Journal of plant research, 31(2): 422-433.
4. Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112- 121.
5. Ashraf, M.P.J.C. and P.J.C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant science, 166(1): 3-16.
6. Bloom, H., H. Beier, H.S. Gross. 1987. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis, 8: 93-99.
7. 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 biochemistry, 72(1-2): 248-254.
8. Cruz, J.A., T.J. Avenson, A. Kanazawa, K. Takizawa, G.E. Edwards and D.M. Kramer. 2004. Plasticity in light reactions of photosynthesis for energy production and photoprotection. Journal of Experimental Botany, 56(411): 395-406.
9. 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(1): 52-54.
10. Gao, J., Y. Zhu, W. Zhou, J. Molinier, A. Dong and W.H. Shen. 2012. NAP1 family histone chaperones are required for somatic homologous recombination in Arabidopsis. The Plant Cell, 24(4): 1437-1447.
11. Görg, A., W. Postel, A. Domscheit and S. Günther. 1988. Two- dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients of leaf proteins from barley (*Hordeum vulgare*): Method, reproducibility and genetic aspects. Electrophoresis, 9(11): 681-692.
12. Hurkman, W.J., C.S. Fornari and C.K. Tanaka. 1989. A comparison of the effect of salt on polypeptide and translatable mRNA in roots of a salt tolerant and salt sensitive cultivar of barley. Plant Physiology, 90: 1444-1456.

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

13. Jahngen-Hodge, J., M.S. Obin, X. Gong, F. Shang, T.R. Nowell, J. Gong, H. Abasi, J. Blumberg and A. Taylor. 1997. Regulation of ubiquitin-conjugating enzymes by glutathione following oxidative stress. Journal of Biological Chemistry, 272(45): 28218-28226.
14. Jerzmanowski, A., M. Przewłoka and K.D. Grasser. 2000. Linker Histones and HMG1 proteins of higher plants. Plant Biology, 2: 586-597.
15. Kamali, N., S. Navabpour, H. Soltanloo and M. Kalate. 2015. Changes in Metallothionein Gene Expression, Chlorophyll Content and Some Agronomic Traits in Response to Salt Stress inWheat. Journal of Crop Breeding, 7(15): 57-67 (In Persian).
16. Li, J., K.A. Lease, F.E. Tax and J.C. Walker. 2001. BRS1, a serine carboxypeptidase, regulates BRI1 signaling in *Arabidopsis thaliana*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(10): 5916-5921.
17. Majoul, T., E. Bancel, E. Triboï, J. Ben Hamida and G. Branlard. 2004. Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: characterization of heat-responsive proteins from non-prolamins fraction. Proteomics, 4(2): 505-513.
18. Maleki, M., M.R. Naghavi, H. Alizadeh, K. Poostini and C.A. Mishani. 2014. Comparison of protein changes in the leaves of two bread wheat cultivars with different sensitivity under salt stress. Annual Research and Review in Biology, 4(11): 1784.
19. Malaki, M., M.R. Naghavi, H. Alizadeh, P. Potki, M. Kazemi, S.M. Pirseyedi, M. Mardi and S.M. Fakhre-Tabatabaei. 2006. Study of genetic variation in wild diploid wheat (*Triticum boeoticum*) from Iran using AFLP markers. Iranian Journal of Biotechnology, 4(4): 269-274.
20. Mudgett, M.B. and S. Clarke. 1994. Hormonal and environmental responsiveness of a developmentally regulated protein repair L-isoaspartyl methyltransferase in wheat. Journal of Biological Chemistry, 269(41): 25605-25612.
21. Ohad, I., D.J. Kyle and C.J. Arntzen. 1984. Membrane protein damage and repair: removal and replacement of inactivated 32-kilodalton polypeptides in chloroplast membranes. The Journal of cell biology, 99(2): 481.
22. Shavrukov, Y., N. Gupta, J. Miyazaki, M. Baho, K. Chalmers, M. Tester, P. Langridge and N. Collins. 2010. HvNax3-a locus controlling shoot sodium exclusion derived from wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. spontaneum). Functional and Integrative Genomics, 10: 277-291.
23. Shokrpour, M. and E. Esfandiari. 2014. Grouping Different Wheat Varieties for Salt Tolerance using Some Biochemical and Physiological Indices. Journal of Crop Breeding, 6(14): 54-66 (In Persian).
24. Singh, R.P., A. Runthala, S. Khan and P.N. Jha. 2017. Quantitative proteomics analysis reveals the tolerance of wheat to salt stress in response to Enterobacter cloacae SBP-8. PloS one, 12(9).
25. Xu, Y., C. Chen, D. Ji, N. Hang and C. Xie. 2014. Proteomic profile analysis of *Pyropia haitanensis* in response to high-temperature stress. Journal of applied phycology, 26(1): 607-618.
26. Zhang, X., Y. Chen, X. Lin, X. Hong, Y. Zhu, W. Li, W. He, F. An and H. Guo. 2013. Adenine phosphoribosyl transferase 1 is a key enzyme catalyzing cytokinin conversion from nucleobases to nucleotides in Arabidopsis. Molecular plant, 6(5): 1661-1672.
27. Zhu, Y., A. Dong, D. Meyer, O. Pichon, J.P. Renou, K. Cao and W.H. Shen. 2006. Arabidopsis NRP1 and NRP2 encode histone chaperones and are required for maintaining postembryonic root growth. The Plant Cell, 18(11): 2879-2892.
28. Jiang, Q., X. Li, F. Niu, X. Sun, Z. Hu and H. Zhang. 2017. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of wheat roots in response to salt stress. Proteomics, 17(8): 1600265.
29. Lv, D.W., G.R. Zhu, D. Zhu, Y.W. Bian, X.N. Liang, Z.W. Cheng, X. Deng and Y.M. Yan. 2016. Proteomic and phosphoproteomic analysis reveals the response and defense mechanism in leaves of diploid wheat T. monococcum under salt stress and recovery. Journal of proteomics, 143: 93-105.

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]

Study of Protein Spots Responsive to Salinity Stress in Diploid Wheat (*Triticum boeoticum*)

Mahmood Maleki[1], Amin Baghizadeh[2], Ali Riahi Madvar[3] and Ehsan Nasirifar[4]

1- Assistant Professor of Plant Breeding, Department of Biotechnology, Institute Science and High Technology and Environmental Science, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran, Maleki.li@gmail.com
2- Associate Professor of Plant Breeding, Department of Biotechnology, Institute Science and High Technology and Environmental Science, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran
3- Associate Professor of Biochemistry, Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Kosar University of Bojnord, Bojnord, Iran
4- Graduated Ph.D., Department of Animal Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Received: February 26, 2019 Accepted: August 24, 2019

Abstract

Salinity is one of the most important abiotic stresses that can affect the yield of wheat. It is important to study the mechanisms of tolerance to salinity in crops and their ancestors. The purpose of this project was to investigate the responsive protein spots to salt stress in tolerant population. In this research, five diploid wheat population of *T. boeoticum* (A1, A10, B3, B4, C5) were grown in greenhouse as factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Salinity was applied at two levels of zero and 150 mM. Then, the traits of shoot and root height, fresh and dry shoot weights, chlorophyll a, b, total carotenoids and total protein content were measured. Total protein was extracted using TCA / acetone method. The proteins were separated in the first dimension by isoelectric point using IPGs pH 4-7 followed by SDS-PAGE as the second dimension using molecular weight. The results of physiological data analysis showed that for fresh and dry shoot weights and total protein content, the interaction effect of the population*salinity was significant. For the two traits of fresh weight and total protein, the population of B4 had the highest average. Two-dimensional electrophoresis gel analysis revealed 205 repetitive spots. Out of these, 7 spots showed upregulation and 7 spots downregulation. Identified proteins include proteins involved in the cell wall, photosynthesis, energy metabolism, chromatin-related proteins, chaperones, proteolytic, in the removal of reactive oxygen species, in repairing damaged proteins and in the transmission of the message. These results can be used to improve wheat cultivars.

Keywords: Abiotic Stress, Proteomics, Wild Wheat

[DOI: 10.29252/jcb.12.34.26]