دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی تغییرات الگوی پروتئوم برگ کلزا تلقیح شده با باکتری *Pseudomonas florescence* FY32 تحت تنش شوری

علی بنده‌حق[۱]، محمود تورچی[۲]، داود فرج‌زاده[۳]، ابراهیم دورانی علیایی[۴]، رضا شکری قره لو[۵] و آیسل ملک پور[۵]

۱- دانشیار، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، (نویسنده مسوول : bandehhagh@tabrizu.ac.ir)
۲ و ۴- استاد و دانشیار، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- دانشیار، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
۵- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۱۴

چکیده

باکتری‌های محرک رشد گیاهی با بکارگیری مکانیسم‌های مختلف باعث بهبود عملکرد در گیاهان تحت شرایط تنش می‌شوند. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر باکتری *Pseudomonas florescence* FY32 روی صفات رشدی و همچنین شناسایی پروتئین‌های دخیل در تعامل گیاه-باکتری تحت تنش شوری انجام شد. نتایج نشان داد که تحت شرایط تنش شوری (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک کلراید سدیم) گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده از صفات رشدی بهتری برخوردار باشند. مطالعه تغییرات الگوی پروتئومی برگ نشان داد که از ۱۷۰ لکه تکرار پذیر ۲۰ لکه پروتئینی دارای تغییرات بیان معنی‌دار هستند. پروتئین‌های تغییر بیان یافته در شش گروه عملکردی شامل متابولیسم انرژی (۲۵ درصد)، آنتی اکسیدان (۲۰ درصد)، تنظیم بیان ژن‌ها (۲۰ درصد)، فتوسنتز (۱۵ درصد)، اکسیداسیون و احیاء (۱۵ درصد) و پروتئین‌های غشایی (۱ درصد) طبقه‌بندی شدند. تمامی این پروتئین‌ها تحت شرایط تنش شوری هم در گیاهان تلقیح شده و هم در گیاهان تلقیح نشده تغییرات یکسانی داشتند به‌جز پروتئین‌های فتوسیستم CP47 II (لکه شماره ۱)، فتوسیستم CP43 II (لکه شماره ۲) و پروتئین کوئینون اکسیدرداکتاز (لکه شماره ٦) که در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده سطح بیان بیشتری داشتند. در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که تلقیح گیاهان با باکتری تحت شرایط تنش شوری موجب بهبود صفات رشدی و افزایش بیان برخی از پروتئین‌های القاء شده گردید.

واژه‌های کلیدی: *Pseudomonas florescence* FY32، تنش شوری ، کلزا، الگوی پروتئوم و تعامل گیاه-باکتری

مقدمه

دانه‌کلزا (*Brassica napus* L.) حاوی ۴۰ درصد روغن و ۱۷ الی ۲۶ درصد پروتئین است (۲۵) این ویژگی کلزا را برای استحصال روغن خوراکی جز مهم‌ترین گیاهان زارعی قرار می‌دهد. در بین دانه‌های روغنی، کلزا به‌لحاظ ارزش تغذیه‌ای و اقتصادی، درجایگاه سوم قرار دارد (۲۷). کلزا یک گیاه متحمل به شوری می‌باشد (۳) اما رشد، عملکرد و تولید روغن آن بصورت قابل توجهی تحت تنش شوری کاهش پیدا می‌کند (۲۷). شوری یکی از مهم‌ترین مشکلات کشاورزی می‌باشد که باعث شده است بسیاری از زمین‌ها غیرقابل کشت شوند یا عملکرد محصول پائینی داشته باشند. بررسی مکانیسم‌های مقاومت گیاهانی که نسبت به شوری مقاوم می‌باشند برای اهداف به‌نژادی می‌تواند مفید واقع گردد (۳, ۱۶). مطالعه باکتری‌های محرک رشد (PGPR)[۱] و تاثیر آنها روی رشد گیاهان نشان داده است که این باکتری‌ها با مکانیسم‌های مختلفی از جمله محلول‌سازی عناصر غذایی، تولید سیدروفور[۲]، تثبیت نیتروژن، تولید ACC[۳] دامیناز، تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و فیتوهورمون‌ها باعث تحریک رشد گیاهان می‌شوند. باکتری *Pseudomonas fluorescens* که جزء باکتری‌های محرک رشد است با تولید آنزیم ACC دامیناز باعث کاهش سطح اتیلن در گیاهان تحت شرایط تنش شده و در نتیجه موجب کاهش اثرات مضر آن روی گیاه و رشد بهتر گیاهان تحت شرایط تنش می‌شود (۹). اتیلن در تسریع پیری و ریزش اندام‌های گیاهان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارد (۳۶). از این رو تلقیح گیاهان با این باکتری‌ها می‌تواند یک راهکار مناسب در جهت بهبود رشد گیاهان و تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش‌ها باشد. در یک تحقیق بنایی و همکاران (۴) گزارش کردند که تلقیح ارقام حساس و مقاوم کلزا تحت تنش شوری باعث بهبود صفات وزن خشک و طول ریشه می‌شود. در ضمن تلقیح با باکتری موجب تغییر بیان معنی‌داری پروتئین‌های درگیر در متابولیسم اسیدهای آمینه و چرخه کربوکسیلیک اسید شد. نتایج یک بررسی نشان داد که گیاهان کلزای تلقیح شده با باکتری محرک رشد گیاهی *Pseudomonas florescence* FY32 تحت تنش‌های اسمزی و شوری از صفات رشدی بهتری نسبت گیاهان شاهد برخوردار بودند و سطح بیان لکه‌های پروتئین القاء شده در گیاهان تلقیح شده افزایش یافت. در ضمن پروتئین‌های دخیل در متابولیسم انرژی، فتوسنتز و پروتئین‌های غشایی بیشترین تغییرات بیان معنی‌دار را در گیاهان تلقیح شده با باکتری به‌خود اختصاص دادند (۵, ۱۸). تاثیر مثبت تلقیح گیاهان مختلف باغی و زراعی با سویه‌ها مختلف از باکتری‌های محرک رشد گیاهی گزارش شده است. در مجموع نتایج سایر تحقیقات نشان می‌دهند که تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش موجب بهبود صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان تلقیح شده می‌شود. همچنین تاثیر این باکتری‌ها در تغییر الگوی پروتئوم در اندام‌های مختلف مثل برگ و ریشه گزارش شده است (۱۵،۲۰،۳۰،۳۵). کلزا سازگاری بالایی با شرایط محیطی مختلف دارد اما این گیاه در مراحل اولیه رشد خود حساس به تنش به‌ویژه تنش شوری است. همچنین تنش شوری در گیاهان بالغ باعث کاهش قابل توجه مقدار روغن می‌شود. با توجه به مشکلات موجود در تولید و استفاده از

1-Plant growth promoting rhizobacteria 2- Siderophore 3-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]
[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

گیاهان تراریخت مقاوم به تنش، استفاده از پتانسیل میکروبی ریزوسفر می‌تواند یک راهکار مفید برای افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی باشد. بنابراین به‌منظور استفاده بهینه از میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی، شناسایی مکانیسم‌های مولکولی درگیر در تعامل گیاه–باکتری به‌ویژه تحت شرایط تنش می‌تواند بسیار کار آمد باشد. برای این‌منظور ابتدا بایستی ژن‌های درگیر در ایجاد یا افزایش مقاومت به تنش شوری در گیاهان تلقیح شده شناسایی شوند (۲۳). این مطالعه با هدف تعیین مکانیسم‌های مولکولی دخیل در تعامل گیاه–باکتری و بررسی تاثیر باکتری روی صفات رشدی با استفاده از الکترفورز دو بعدی از طریق شناسایی پروتئین‌های درگیر در تعامل گیاه–باکتری تحت تنش شوری در رقم حساس ساری‌گل انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و مشخصات سیستم کشت

این آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده با طرح پایه کاملا تصادفی با دو فاکتور در سه تکرار انجام شد (تنش شوری به‌عنوان فاکتور اول در سه سطح و باکتری به‌عنوان فاکتور دوم در دو سطح). رقم ساری‌گل به‌صورت تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری *P. Fluorescens* سویه FY32 (۱۴) در سه سطح تنش شوری شامل صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلراید سدیم بررسی شد. آزمایش در سیستم هیدروپونیک از نوع بستر جاری و کشت درون ماسه انجام شد. از محلول غذایی هوگلند تغییر یافته (۶) برای تغذیه گیاهان استفاده گردید. پی اچ محلول غذایی در محدوده ۶/۵$_{\pm}$۰/۵ تنظیم گردید.

ضد عفونی و کشت بذور

قبل از کشت بذور در ظروف مخصوص، ابتدا تمام وسایل مورد نیاز ضد عفونی و استریل شدند. برای ضد عفونی بذور از روش پنروز و گلیک (۲۶) استفاده شد، بدین ترتیب که ابتدا بذور با اتانول ۷۰ درصد، یک دقیقه، هیپوکلریت سدیم یک درصد، پنج دقیقه و سپس با آب مقطر استریل سه مرتبه شستشو داده شدند. بعد از این مرحله بذور با فاصله روی کاغذ صافی استریل قرار گرفتند.

آماده‌سازی و کشت باکتری

برای کشت باکتری یک کلنی منفرد از باکتری سودوموناس فلورسنس سویه FY32 در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت LB[1] مایع برای رشد باکتری به‌صورت شبانه کشت داده شد (۱۴). سپس ۱۰ میلی‌لیتر از کشت شبانه باکتری به یک ارلن دو لیتری حاوی یک لیتر محیط کشت تازه انتقال و در یک انکوباتور شیکردار با دمای۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۲۰۰ دور در دقیقه مجدداً به‌صورت شبانه، کشت گردید. برای قرائت OD باکتری رشد یافته از روش اسپکتروفتومتری و برای تعیین جمعیت باکتری از داده‌های جدول مک فارلند (۲۲) استفاده شد.

نشاکاری و تلقیح باکتری به سیستم کشت

یک هفته بعد از کشت بذور، گیاهچه‌ها آماده نشاء در سیستم هیدروپونیک شدند. پس از نشاکاری و استقرار گیاهان، تلقیح انجام شد. کشت باکتری در محیط کشت LB به‌طوری که جمعیت (10^{10} cfu ml^{-1}) ایجاد کند، صورت گرفت. مقادیر ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده از باکتری به ترتیب به مخازن ۱۰ و ۲۰ لیتری تزریق شد. یک هفته بعد از تلقیح باکتری به سیستم کشت هیدروپونیک، نمونه‌گیری‌هایی به‌صورت تصادفی از ریشه‌های گیاهان صورت گرفت و بعد از کشت قطعات ریشه ضد عفونی شده سطحی، تلقیح این باکتری در ریشه گیاهان نشاء شده تأیید شد.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی

اندازه‌گیری صفات رشدی شامل وزن تر بوته، وزن خشک بوته، ارتفاع بوته و طول ریشه بلافاصله بعد از برداشت گیاهان (در اواخر رشد رویشی و قبل از به‌گل رفتن بوته‌ها) انجام شد.

الکتروفورز ژل دو بعدی

برای مطالعه تغییرات الگوی پروتئوم، برگ گیاهان تلقیح شده/نشده با باکتری تحت تنش (۳۰۰ میلی‌مولار) و بدون تنش (شاهد) در اواخر دوره رشد رویشی و قبل از گلدهی استفاده شد. برای استخراج پروتئین از نمونه‌های گیاهی از روش TCA/ استون (۷) و روش بردفورد (۱۱) برای غلظت سنجی پروتئین‌های استخراج شده استفاده شد. تفکیک پروتئین‌ها در بعد اول در شیب پی اچ ۳ تا ۱۰ و تحت ولتاژهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ولت و در بعد دوم در ژل پلی آکریلامید ۳۰ درصد انجام شد. جهت مشاهده لکه‌های پروتئینی، ژل‌ها با روش کوماسی رنگ‌آمیزی شدند و اسکن ژل‌ها با استفاده از دستگاه Bio-Rad GS-800 انجام شد.

آنالیزهای آماری

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و برای مقایسه میانگین‌ها از t -test استفاده شد.

مطالعات بیوانفورماتیکی

برای مشخص کردن عملکرد پروتئین‌های با تغییرات سطح بیان معنی‌دار در گیاهان تحت تنش شوری و تلقیح شده با باکتری و همچنین تعیین ارتباط این پروتئین‌ها با فرآیندهای بیولوژیکی سلول[2] از نرم‌افزار Cytoscape-BiNGO استفاده گردید (۲۱). پروتئین‌های شناسایی شده ابتدا در پایگاه داده TARI[3] هم ردیف شدند. سپس از شماره‌های دسترسی حاصل از پایگاه داده TAIR برای مطالعه پروتئین‌های مورد نظر در نرم‌افزار استفاده شد.

تجزیه و تحلیل ژل‌ها و شناسایی پروتئین‌ها

از نرم‌افزار PD-Quest برای آنالیز لکه‌های پروتئینی استفاده شد. برای مشخص کردن لکه‌های پروتئینی با تغییرات بیان معنی‌دار (افزایش یا کاهش بیان) فاکتور القاء بین ۱/۵ و ۰/۵ در نظر گرفته شد. به‌این ترتیب که لکه‌های با شدت بیان بیشتر از ۱/۵ به‌عنوان لکه‌های افزایش بیان یافته و کمتر از ۰/۵ به‌عنوان لکه‌های کاهش بیان یافته در نظر گرفته شدند. شناسایی لکه‌های پروتئینی با تغییرات بیان معنی‌دار با استفاده از نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی لکه‌ها صورت گرفت. با وارد کردن این پارامترها در نرم‌افزار آنلاین TagIdent (http://web.expasy.org/tagident/) شناسایی احتمالی

1- Luria-Bertani medium 2- Biological processes 3-The Arabidopsis Information Resource

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

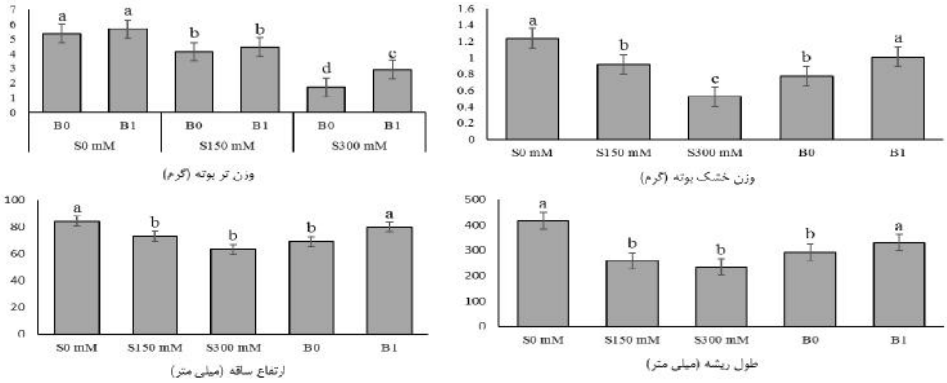
[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

لکه‌های پروتئینی از داده پایگاه UniProtKB/Swiss-Prot انجام شد.

نتایج و بحث

تاثیر شوری روی تغییرات صفات مورفولوژیکی در گیاهان تلقیح شده با باکتری

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از صفات مورفولوژیکی شامل وزن خشک بوته، ارتفاع بوته و طول ریشه نشان‌داد که اثرات اصلی شوری و باکتری روی صفات مورفولوژیکی ذکر شده معنی‌داری می‌باشند. ضمن اینکه اثر متقابل باکتری–شوری در مورد وزن تر بوته با سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش سطح شوری از ۱۵۰ میلی‌مولار به ۳۰۰ میلی‌مولار میانگین وزن خشک بوته‌ها با شدت بیشتری کاهش یافت و کمترین مقدار وزن خشک در بوته‌های که تحت تأثیر تنش شوری ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بودند بدست آمد. در حالی در مورد صفات طول ریشه و ارتفاع ساقه اختلاف معنی‌داری بین گیاهان تحت تنش شوری ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار وجود نداشت. گیاهان تلقیح شده با باکتری از وزن خشک بوته، ارتفاع ساقه و طول ریشه بیشتری نسبت گیاهان سایر گیاهان برخوردار بودند (شکل ۱). بین میانگین وزن تر گیاهان تلقیح شده و شاهد (بدون تلقیح) در سطوح شوری صفر (شاهد) و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ولی در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار گیاهان تلقیح شده نسبت گیاهان شاهد از وزن تر بیشتری برخوردار بودند. کمترین میزان وزن تر در گیاهان شاهد تحت تنش شود.



شکل۱– مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری در سطوح ۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلراید سدیم. ستون‌های دارای حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد نمی‌باشند. B0 و B1 به ترتیب عدم تلقیح و تلقیح با باکتری، S0، S150 و S300 به ترتیب سطح شوری صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم می‌باشند.

Figure1. Morphological traits in inoculated without (B0) or with (B1) bacteria, under 0 (S0), 150 (S150) and 300 mM NaCl (S300). The same letters indicate non-significant changes between different treatments ($p < 0.05$).

جدول ۱– تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی در رقم ساری گل تلقیح شده با باکتری *P.fluorescens FY32* تحت شرایط تنش شوری

Table1. ANOVA analysis of some morphological traits in Sarigol inoculated with *P. fluorescens* FY32 under salt stress

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر بوته	وزن خشک بوته	ارتفاع بوته	طول ریشه
شوری	۲	۱۵/۶۱۸**	۰/۷۶۶**	۵۱۸۰۱/۳۸۹**	۵۳۳/۳۸۹**
خطای اصلی	۶	۰/۱۸۹	۰/۰۱۰	۸۰۸/۵	۵۳/۸۳۳
باکتری	۱	۱/۶۳۵**	۰/۲۵*	۲۵۴۴/۲۲۲*	۲۲۰/۵**
شوری × باکتری	۲	۰/۳۹۷*	۰/۰۱۳	۷۴/۰۵۶	۳/۵
خطای فرعی	۶	۰/۱۰۶	۰/۰۲۵	۱۸۱/۹۴۴	۱/۱۶۷
ضریب تغییرات (درصد)		۸/۰۹	۱۴/۷۴	۴/۳۶	۱/۴۹

* و **: به ترتیب سطح معنی‌داری در ۵ و ۱ درصد

تغییرات پروفایل پروتئینی در گیاهان تلقیح شده/ نشده با باکتری تحت تنش شوری

آنالیز مقایسه‌ای پروفایل پروتئینی برگ گیاهان تلقیح شده با باکتری تحت تنش شوری با گیاهان شاهد نشان داد که از ۱۷۰ لکه پروتئینی با تکرار پذیری بالا، ۲۰ لکه پروتئنی دارای تغییرات بیان معنی‌دار هستند (شکل ۲). گروه‌بندی پروتئین‌های با تغییرات بیان معنی‌دار بر اساس عملکرد آنها نشان داد که این پروتئین‌ها در شش گروه عملکردی شامل: متابولیسم انرژی (۲۵ درصد)، آنتی اکسیدان (۲۰ درصد)، تنظیم بیان ژن‌ها (۲۰ درصد)، فتوسنتز (۱۵ درصد)،

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

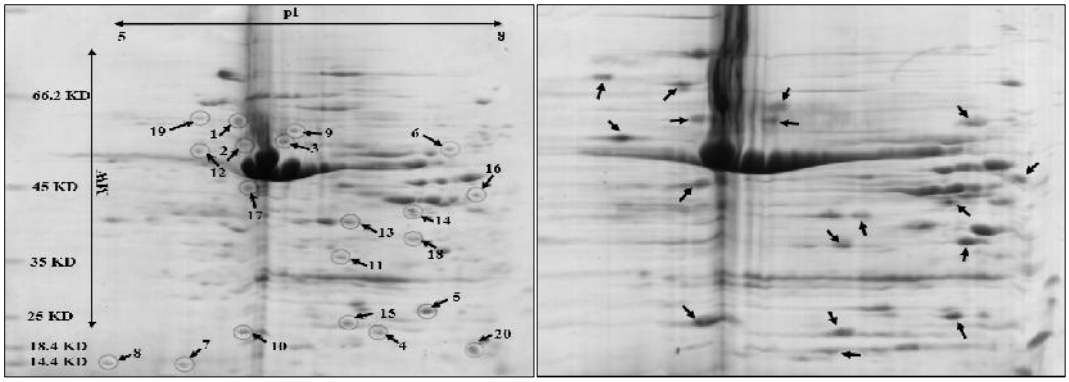
اکسیداسیون و احیاء (۱۵ درصد) و پروتئین‌های غشایی (۱ درصد) قرار می‌گیرند (جدول ۲). بررسی‌های بیوانفورماتیکی لکه‌های پروتئینی شناسایی شده نشان داد که این پروتئین‌ها با فرآیندهای بیولوژیکی مختلفی در سلول در ارتباط هستند. بعد از پیش بینی شبکه مسیرهای بیولوژیکی مشخص شد که مسیرهای بیولوژیکی سلولی که در ارتباط با واکنش سلول به محرک‌های خارج سلولی، تنش و محرک‌های غیر زیستی هستند، بیشترین فراوانی را دارا هستند (شکل ۳). به این معنی که در برگ ساری گل اکثر لکه‌های پروتئینی با تغییرات بیان معنی‌دار در مسیرهای بیولوژیکی سلول در واکنش به محرک‌های خارجی شرکت می‌کنند. در مطالعه حاضر این محرک‌ها در واقع تنش شوری (۳۰۰ میلی‌مولار نمک کلراید سدیم) و تلقیح باکتریایی هستند. کاهش بیان معنی‌دار اکثر لکه‌های پروتئینی (شکل ۳) می‌تواند حاکی از آن باشد که رقم حساس ساری‌گل در سطح سلولی نمی‌تواند واکنش مناسبی در برابر تنش شوری از خود نشان دهد که در نهایت منجر به کاهش شدید خصوصیات رشدی (شکل ۱) این گیاه می‌گردد. کاهش بیان این گروه از پروتئین‌ها هم در گیاهان تلقیح شده و هم در گیاهان تلقیح نشده با باکتری مشاهده شد. اکثر پروتئین‌های کاهش بیان یافته در گروه‌های عملکردی متابولیسم انرژی، آنتی اکسیدان‌ها و فتوسنتزی (۷۰ درصد) قرار گرفتند. نتایج برخی از تحقیقات نشان داد که در ارقام مقاوم و حساس به تنش شوری در کلزا سطح بیان پروتئین‌های دخیل در متابولیسم انرژی و فتوسنتزی به‌ترتیب افزایش و کاهش می‌یابند. در حالی که برای آنتی اکسیدان‌ها نتایج متناقض است و در ارقام حساس و مقاوم افزایش و یا کاهش بیان آنها گزارش شده است (۱۴، ۱۸،۲۴). در این تحقیق پروتئین‌های آنتی اکسیدان در رقم کلزای ساری گل تحت تنش شوری هم در گیاهان تلقیح شده و هم در گیاهان تلقیح نشده بصورت معنی‌داری افزایش، در حالی که در گیاهان تلقیح شده بدون تیمار شوری بیان این پروتئین‌ها کاهش یافت (جدول ۲). افزایش بیان پروتئین‌های آنتی اکسیدانتی احتمالا می‌تواند بدلیل تولید بالای گونه‌های فعال اکسیژن[1] در این گیاه تحت شرایط تنش شوری باشد. این نتایج نقش و اهمیت این پروتئین‌ها در شرایط تنش‌های غیر زیستی را نشان می‌دهند. طبق نتایج مطالعه حاضر، یکی از دلایل مهم حساسیت رقم ساری گل به تنش شوری می‌تواند در ارتباط با کاهش بیان پروتئین‌ها به‌ویژه پروتئین‌های فتوسنتزی و پروتئین‌های دخیل در متابولیسم انرژی و نیز تولید گونه‌های فعال اکسیژن باشد (جدول ۲). نتایج حاصل از مطالعه صفات موفولوژیکی و کاهش شدید صفات مورفولوژیکی به ویژه وزن خشک بوته می‌تواند مؤید این مطلب باشند (شکل ۱). همچنین بررسی این پروتئین‌ها در گیاهان تلقیح شده با باکتری و بدون تیمار شوری نشان داد که بیان پروتئین‌های فتوسنتزی و همچنین پروتئین‌های دخیل در اکسیداسیون و احیاء که در ارتباط با واکنش‌های فتوسسنتزی برای تولید ATP هستند، افزایش یافت. این نتایج نیز مکمل نتایج مربوط به بیشتر بودن صفات مورفولوژیکی مطالعه شده شامل وزن خشک بوته، ارتفاع ساقه و طول ریشه در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده است (شکل ۱ و جدول ۲). فتوسنتز فرآیندی کلیدی در سلول‌های گیاهی است و هر گونه اختلالی در آن می‌تواند صدمات جدی را به سلول و نهایتا گیاه وارد نماید. کاهش در عملکرد گیاهان به خاطر کاهش در میزان فتوسنتز تحت شرایط تنش شوری و خشکی گزارش شده است (۳۷،۱۳،۲،۱). این تنش‌ها با سازوکارهای مختلفی همانند کاهش سطح برگ گیاهان در سطح مورفولوژیکی (۳۷)، تغییر در رنگیزه‌های فتوسنتزی و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی در سطح فیزیولوژیکی (۲) و کاهش بیان پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز در سطح مولکولی (۲۴) فرآیند فتوسنتز را مختل می‌کنند. یکی از اثرات تنش شوری در گیاهان اعمال تنش اسمزی به گیاه است که طی آن گیاهان قادر نیستند مقادیر کافی از آب را جذب کنند (۱۳). شکسته شدن مولکول آب در زنجیره انتقال الکترون باعث فراهم شدن الکترون در ابتدای مرحله شروع فرآیند انتقال الکترون و نیز تولید هیدروژن برای ترکیب شدن با مولکول اکسیژن به‌عنوان پذیرنده نهایی الکترون در انتهایی این فرآیند می‌شود (۱۰). کمبود مولکول آب در این سطح، موجب می‌شود که مولکول‌های اکسیژن دریافت کننده الکترون در انتهایی زنجیره تبدیل به گونه‌های فعال اکسیژن شوند (۳۲). تولید زیاد گونه‌های فعال اکسیژن در سلول در غایب مقادیر کافی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی، می‌تواند صدمات زیادی را به سلول وارد کند (۳۲). گونه‌های فعال اکسیژن موجب صدمه به ترکیبات مهم سلول مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و غشای سلول می‌شوند (۲۹). علاوه بر پروتئین‌های آنتی اکسیدان، بیان پروتیئن Phospholipase A1-II 3 (لکه شماره ۱۶) تحت تنش شوری هم در گیاهان تلقیح شده و هم در گیاهان تلقیح نشده با باکتری افزایش یافت. این در حالی است که بیان این پروتئین در گیاهان تلقیح شده با باکتری بدون تیمار شوری در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح باکتریایی و بدون تیمار شوری تغییر نکرد (جدول ۲). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزایش بیان این پروتئین به علت تنش شوری بوده است. این پروتئین یک آنزیم هیدرولاز کننده فسفولیپیدها می‌باشد که منجر به تولید اسیدهای چرب و ۲-آسیل-لیزوفسفولیپیدها[2] می‌شود (۲۸). تحت شرایط تنش اسمزی که جذب آب و مواد غذایی برای گیاه مشکل می‌شود (۲)، احتمالا تجزیه فسفولیپیدها برای تولید اسیدهای چرب به‌منظور شکستن این مولکول‌های پر انرژی برای تولید ATP در سلول می‌باشد. همچنین پروتئین Phospholipase A1-II 3 در حفظ تمامیت غشاء و تغییر ترکیبات اسیدهای چرب غشای سلول نیز نقش دارد (۲۸). تغییر در سیالیت و محتویات اسید چربی غشاء یک مکانیسم جهت سازگاری با تنش‌های محیطی است. تحت تنش شوری و خشکی توقف سنتز لیپیدها و همچنین هیدرولیز آنها باعث کاهش محتویات لیپید در غشاء سلول می‌شود و نفوذ پذیری آن را برای آب و یون‌ها افزایش می‌دهد (۲۸). بنایی و همکاران (۵) گزارش کردند که تحت تنش شوری میزان سدیم و کلرید برگ در رقم کلزای حساس ساری گل در مقایسه با رقم مقاوم هیولا[3] بیشتر است.

1-Reactive Oxygen Species (ROS) 2- 2-acyl-lysophospholipids 3- Hyola308

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

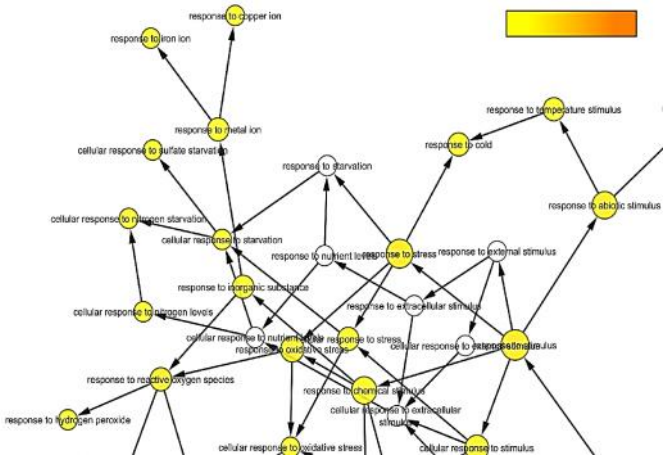
[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

به‌طورکلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در برگ رقم ساری گل تحت تنش شوری افزایش بیان آنزیم فسفولیپاز از یک سو می‌تواند به‌منظور تولید انرژی باشد که در واقع از وزن خشک سلول کم خواهد کرد و از طرفی دیگر تجزیه لیپیدهای غشایی می‌تواند موجب ورود و تجمع یون‌های سمی در داخل سلول و حتی خروج آب از سلول بخاطر بالا بودن فشار اسمزی گردد.



شکل ۲- لکه‌های دارای تغییرات بیان معنی‌دار روی ژل مربوط به گیاهان شاهد (سمت چپ) و گیاهان تحت تنش شوری بدون تلقیح باکتریایی شماره لکه‌های پروتئینی مطابق با شماره پروتئین‌های جدول ۲ می‌باشد

Figure 2. Some of salinity-responsive and inoculation- responsive proteins in gels from 2D-PAGE experiment, Control (left) and without bacteria under salinity stress (right). The spot numbers are same as table 2



شکل ۳- تصویر شماتیکی بخشی از نتایج حاصل از نرم‌افزار Cytoscape-BinGO که نشان‌دهنده مسیرهای بیولوژیکی است که در آنها لکه‌های پروتئینی شناسایی شده شرکت می‌کنند. اندازه دایره‌ها نشان‌دهنده تعداد پروتئین‌های درگیر و رنگ دایره‌ها نشان‌دهنده p-value می‌باشند. دایره‌های رنگی دارای p-value بین 5.00E-2 و 5.00E-7 می‌باشند که نشان‌دهنده‌ای معنی‌داری آنها در سطح ۵ درصد می‌باشد. معنی‌داری و یا عدم معنی‌دار بودن بر اساس Hypergeometric test محاسبه شده‌اند

Figure 3. The part of schematic representation of Cytoscape-BinGO results that indicate biological pathways in which identified proteins are involved. Circle size indicates number of involved proteins and circle color indicates p-value. Colorful circles are between p-value of 5.00E-2 to 5.00E-7 that represents their significance at 5%. Statistical significant and non-significant threshold calculated based on Hypergeometric test.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

جدول ۲- پروتئین‌های شناسایی شده با تغییرات بیان معنی‌دار تحت تنش شرایط شوری و در گیاهان تلقیح شده با باکتری *P.*fluorescens FY32 در مقایسه با گیاهان شاهد

Table 5. Identified proteins with significant expression changes under salt stress conditions and in plants inoculated with *P. fluorescens* compared to control plant

شماره لکه‌ها	نام پروتئین	شماره دسترسی[5]	T.M.W[4]	T.P.I[3]	O.M.W[2]	O.P.I[1]	گروه عملکردی	باکتری	شوری	شوری ×باکتری
۱	Photosystem II CP47 chlorophyll…	P56777	۵۶۰۳۹	۶/۲۵	۶۱۸۹۰	۶/۱۲	فتوسنتز	۰	–	–
۲	Photosystem II CP43 chlorophyll…	P56778	۵۰۱۳۱	۶/۳۵	۴۸۰۰۰	۶/۳	فتوسنتز	+	–	–
۳	Ribulose bisphosphate carboxylase…	P10795	۵۲۶۰۱	۳/۳۵	۴۹۰۰۰	۶/۴	فتوسنتز	+	–	–
۴	NAD(P)H-quinone oxidoreductase…	Q9T0A4	۲۰۵۲۸	۷/۵	۲۱۰۰۰	۷/۳۵	اکسیداسیون احیا	+	–	–
۵	NAD(P)H-quinone oxidoreductase …	Q9T0A4	۲۵۳۳۲	۷/۶۱	۲۷۰۰۰	۷/۴	اکسیداسیون احیا	+	+	+
۶	NAD(P)H-quinone oxidoreductase…	Q9T0A4	۵۵۵۹۴	۴/۶۶	۵۷۰۰۰	۷/۶۵	اکسیداسیون احیا	+	–	–
۷	Glutathione peroxidase	O04922	۱۳۰۴۹	۵/۵۷	۱۴۰۰۰	۵/۷	آنتی‌اکسیدان	–	+	+
۸	copper zinc superoxide dismutase	O78310	۱۴۹۶۶	۵/۲۴	۱۵۱۰۰	۵/۱۲	آنتی‌اکسیدان	–	+	+
۹	Catalase 1	Q96528	۵۶۸۰۷	۶/۵۲	۵۴۰۰۰	۶/۶۳	آنتی‌اکسیدان	–	+	+
۱۰	Peroxiredoxin antioxidant	Q9C5R8	۲۴۰۸۱	۶/۱۳	۲۳۰۰۰	۶/۱	آنتی‌اکسیدان	–	+	+
۱۱	Probable RuBisCO transcriptional…	A0T0V5	۳۵۰۷۲	۶/۵۱	۳۶۰۰۰	۶/۸	تنظیم‌بیان‌ژن	–	+	+
۱۲	Polyphenol oxidase	1172584	۵۵۳۰۰	۵/۸	۵۴۱۳۰	۵/۹۷	تنظیم‌بیان‌ژن	۰	+	+
۱۳	DNA-directed RNA polymerase …	Q9LK40	۳۸۷۳۹	۷/۱۷	۴۱۰۰۰	۶/۹	تنظیم‌بیان‌ژن	+	+	+
۱۴	NAC transcription factor NAM-B2	A0SPJ6	۴۲۶۵۱	۷/۲۴	۴۲۰۰۰	۷/۳	تنظیم‌بیان‌ژن	–	–	–
۱۵	Chloroplast envelope membrane…	Q08303	۲۷۲۰۳	۷/۰۴	۲۵۰۰۰	۶/۹۵	غشایی	+	–	–
۱۶	Phospholipase A1-II 3	A2WT95	۴۵۳۲۸	۷/۹۱	۴۵۰۰۰	۷/۸	متابولیسم	۰	+	+
۱۷	Malate dehydrogenase cytosolic	Q9FSF0	۵۱۵۸۰	۶/۵۸	۴۷۰۰۰	۶/۲	متابولیسم	–	–	–
۱۸	Growth-regulating factor 1	O81001	۴۳۴۴۹	۷/۱۳	۳۹۰۰۰	۷/۲	متابولیسم	–	–	–
۱۹	Pyruvate dehydrogenase	Q9P0J1	۶۸۰۰۰	۵/۰۶	۶۳۰۰۰	۵/۸	متابولیسم	–	–	–
۲۰	ATP synthase subunit b, chloroplastic	P19366	۲۰۷۸۰	۷/۹۷	۱۸۴۰۰	۷/۸	متابولیسم	–	–	–

۰، +و – به ترتیب بدون تغییر، افزایش بیان و کاهش بیان نسبت به شاهد.

1- O.P.I: Observed Isoelectric Point, 2- O.M.W: Observed Molecular Weight, 3- T.P.I: Theoretical Isoelectric Point, 4- T.M.W: Theoretical Molecular Weight 5-Accession number in UniProtKB

تغییرات سطح بیان لکه‌های پروتئینی در گیاهان تلقیح شده با باکتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده تحت تنش شوری

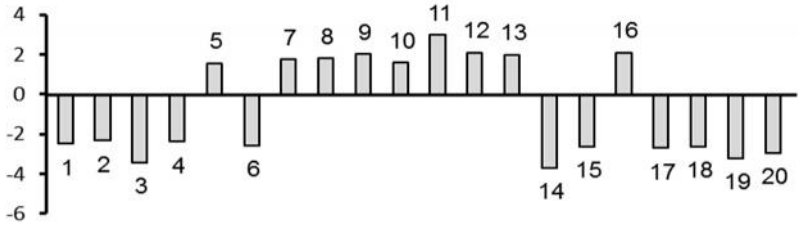
از میان ۲۰ لکه پروتئینی با تغییرات بیان معنی‌دار تعداد ۸ لکه پروتئینی تحت تنش شوری در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده افزایش بیان نشان دادند. این لکه‌ها شامل لکه‌های شماره ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۶ بودند. بقیه لکه‌ها در گیاهان (تلقیح شده/نشده و تیمار شوری) کاهش بیان نشان دادند (جدول ۲ و شکل ۳). آنالیز مقایسه‌ای شدت بیان لکه‌های پروتئینی بین گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری تحت تنش شوری به‌منظور شناسایی لکه‌هایی که تغییرات بیانشان در ارتباط با تلقیح با باکتری است، نشان داد که در بین لکه‌های پروتئینی با افزایش بیان، حضور باکتری تاثیری در افزایش شدت بیان لکه‌ها نداشته است. گیاهان تلقیح شده و همچنین گیاهان تلقیح نشده تقریبا بطور یکسانی تحت تنش شوری بیان این لکه‌ها را افزایش داده بودند. در مقابل، در بین لکه‌های پروتئینی با کاهش بیان معنی‌دار ملاحظه گردید که لکه‌های شماره ۱، ۲ و ۶ در گیاهان تلقیح شده با باکتری تحت تنش شوری در مقایسه با گیاهان تحت تیمار شوری بدون تلقیح با باکتری میزان بیان بهتری را داشتند و میزان کاهش بیان آنها در گیاهان تلقیح شده کمتر اتفاق افتاده است (شکل‌های ۴ و ۵). این پروتئین‌ها شامل فتوسیستم CP47 II (لکه شماره ۱)، فتوسیستم CP43 II و پروتئین کوئینون اکسیدرداکتاز (لکه شماره ۶) بودند (جدول ۲). فتوسیستم CP47 II (لکه شماره ۱) و فتوسیستم CP43 II (لکه شماره ۲) در فتوسنتز و پروتئین کوئینون اکسیدرداکتاز (لکه شماره ۶) نیز در انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترونی در فتوسنتز و زنجیره تنفسی نقش دارند. فتوسیستم CP47 II (لکه شماره ۱) و فتوسیستم CP43 II (لکه شماره ۲) دو پروتئین اصلی متصل شونده به کلروفیل II هستند و به‌عنوان آنتن و گیرنده نور عمل می‌کنند و با ایجاد کانالی امکان انتقال انرژی برانگیخته شده را فراهم می‌کنند (۱۲). پروتئین کوئینون اکسیدرداکتاز علاوه بر اینکه در زنجیره انتقال الکترون برای تولید ATP نقش دارد، در سایر فعالیت‌های حیاتی سلول در شرایط تنش از جمله در از بین بردن سوپراکسیدها نیز نقش مهمی دارد (۳۴). تولید گونه‌های فعال اکسیژن و سوپراکسیدها در گیاهان تحت تنش‌های محیطی به وفور مشاهده شده است که در نهایت باعث صدمه به ماکرومولکول‌های حیاتی گیاه مثل پروتئین‌ها و لیپیدها می‌گردند (۱۷،۸). بدیهی است که گیاهانی که قادر هستند مقدار کافی از آنزیم‌هایی که در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارند را تولید کنند، می‌توانند از صدمات بیشتر جلوگیری کرده و از مقاومت و تحمل بهتری برخوردار باشند. کاهش بیان این پروتئین‌ها هم در گیاهان تلقیح شده و هم در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

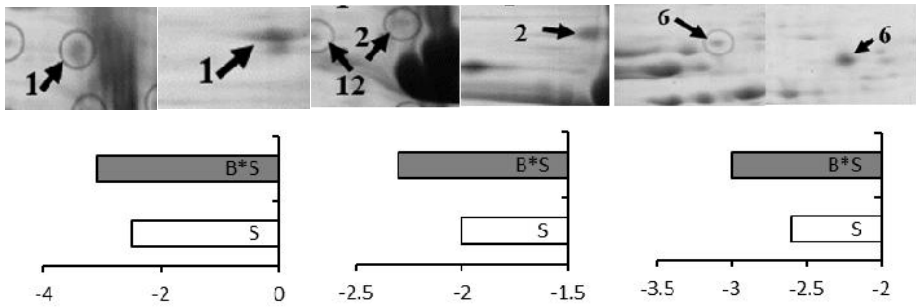
گیاهان تلقیح نشده اتفاق افتاده است ولی میزان کاهش بیان این دو پروتئین در گیاهان تلقیح نشده کمتر اتفاق افتاده است (شکل ۵). در مورد گیاهان تلقیح شده با باکتری بدون تیمار شوری در مقایسه با گیاهان شاهد، بیان لکه‌های شماره ۱، بدون تغییر و بیان لکه‌های شماره ۲ و ۶ افزایش یافت (جدول ۲). در مورد تغییرات بیان این لکه‌ها در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاهی تا به امروز گزارشی وجود ندارد. هر چند کاهش بیان این لکه‌ها در گیاهان تحت شرایط تنش گزارش شده است که با نتایج حاصل از این تحقیق (گیاهان تلقیح نشده با باکتری تحت تنش شوری) مطابقت داشت (۳۳،۳۱،۱۹). این نتایج می‌تواند نمایانگر اثر مثبت باکتری روی رقم ساری گل باشد و توانای این باکتری را در تعدیل اثرات تنش شوری روی گیاه نشان دهد. باکتری‌های محرک رشد گیاهی *Pseudomonas* غیرپاتولوژیک، ساپروفیت[1] و خاکزی هستند و قدرت استقرار و رشد روی ریشه گیاهان را دارند (۳۸). همانطوریکه قبلا بحث شد، در مورد صفات مورفولوژیکی نیز هم تحت تنش شوری و هم در شرایط بدون تنش شوری، اثر مثبت این باکتری مشاهده شد (شکل ۱).

تنش شوری موجب کاهش معنی‌داری صفات رشدی در ساری گل (رقم حساس کلزا) هم در گیاهان تلقیح شده و هم در گیاهان تلقیح نشده شد. میزان کاهش در وزن خشک بوته‌ها نسبت به سایر صفات بیشتر بود. به غیر از صفت وزن تر بوته‌ها در مورد بقیه صفات، گیاهان تلقیح شده با باکتری در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده خصوصیات رشدی بهتری داشتند. بررسی تغییرات پروفایل پروتئینی در گیاهان تلقیح شده و نشده با باکتری تحت تنش شوری (۳۰۰ میلی مولار کلراید سدیم) نشان داد که تیمار شوری موجب کاهش بیان پروتئین‌های دخیل در متابولیسم انرژی و فتوسنتزی می‌شود. در حالی بیان پروتئین‌های آنتی اکسیدان و فسفولیپاز افزایش یافت. مقایسه سطح بیان پروتئین‌ها در گیاهان تلقیح شده و تلقیح نشده با باکتری نشان داد که در هر دو سطح بیان پروتئین‌ها بطور یکسانی تغییر می‌کند، به‌غیر از پروتئین‌های فتوسیستم CP47 II (لکه شماره ۱)، پروتئین فتوسیستم II CP43 (لکه شماره ۲) و پروتئین کوئینون اکسیدرداکتاز (لکه شماره ۶) که در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده از سطح بیان بیشتری تحت تنش شوری برخوردار بودند. این پروتئین‌ها در گیاهان تلقیح شده با باکتری و بدون تیمار شوری در مقایسه با گیاهان شاهد نیز بیشتر بیان شدند.



شکل ۴– میزان تغییرات بیان لکه‌ها شناسایی شده در گیاهان تلقیح شده با باکتری تحت تنش شوری در مقایسه با گیاهان شاهد (بدون تلقیح و تیمار شوری). ستون‌های بالای محور X نشان‌دهنده افزایش بیان معنی‌دار و ستون‌های پایین محور X کاهش بیان معنی‌دار را نشان می‌دهند. اعداد روی ستون‌ها شماره لکه‌های پروتئینی و محور Y فاکتور القاء (IF) را نشان می‌دهند.

Figure4. Expression changes of identified proteins in plants inoculated with the bacterium under salt stress compared to control plants (without inoculation and salt treatment). Bars above X axis indicate significant up-regulation and bars below X axis indicate significant down-regulation. Numbers above bars show protein spot numbers and Y axis indicates induction factor (IF).



شکل ۵– لکه‌های پروتئینی با شدت بیان بیشتر در گیاهان تلقیح شده با باکتری تحت تنش شوری. نمودارها (سمت راست) میزان شدت بیان لکه‌های پروتئینی شماره ۱، ۲ و ۶ را نشان می‌دهند. ستون‌های خاکستری شدت بیان پروتئین‌ها در گیاهان تلقیح شده با باکتری (B*S) و ستون‌های سفید شدت بیان لکه‌های پروتئینی در گیاهان تلقیح نشده با باکتری (S) را نشان می‌دهند. لکه‌های پروتئینی مورد نظر روی ژل (عکس‌های سمت چپ) نشان داده شده‌اند. شماره لکه‌ها مطابق با شماره پروتئین‌های جدول ۲ می‌باشد.

Figure5. Protein spots with more expression intensity in plants inoculated with the bacterium under salt stress. Graphs (right side) indicate the expression intensity of protein spots 1, 2 and 6. Gray bars indicate the expression intensity of proteins in plant inoculated with the bacterium (B*S) and white bars indicate the expression intensity of protein spots in plants non-inoculated with the bacterium (S). Protein spots of interest are represented on the gel (left side). Spot numbers are according to protein numbers in table 2.

1- Saprophyte

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

منابع

1. Aki, F., S.K. Kazemitabbar, S.H. Hashemi and H. Najafi Zarini. 2016. Evaluated of Effect of Cold Stress on Proline, Malondialdehyde and Photosynthetic Pigments in Seedling Stage of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Genotypes. Journal of Crop Breeding, 8: 166-175 (In Persian).
2. Anjum, S.A., X.Y. Xie, L.C. Wang, M.F. Saleem, C. Man and W. Lei. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6: 2026-2032.
3. Ashraf, M. and T. McNeilly. 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences, 23: 157-174.
4. Banaei-Asl, F., A. Bandehagh, E.D. Uliaei, D. Farajzadeh, K. Sakata, G. Mustafa, and S. Komatsu. 2015. Proteomic analysis of canola root inoculated with bacteria under salt stress. Journal of proteomics, 124: 88-111.
5. Banaei-Asl, F., D. Farajzadeh, A. Bandehagh and S. Komatsu. 2016. Comprehensive proteomic analysis of canola leaf inoculated with a plant growth-promoting bacterium, Pseudomonas fluorescens, under salt stress. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 1864: 1222-1236.
6. Bandehagh, A., G.H. Salekdeh, M. Toorchi, A. Mohammadi and S. Komatsu. 2011. Comparative proteomic analysis of canola leaves under salinity stress. Proteomics, 11: 1965-1975.
7. Bandeh-Hagh, A., M. Toorchi, A. Mohammadi, N. Chaparzadeh, G.H. Salekdeh, and H. Kazemnia. 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. Journal of Food Agriculture and Environment, 6: 201-210.
8. Baxter, A., R. Mittler and N. Suzuki. 2014. ROS as key players in plant stress signaling. Journal of experimental botany, 65: 1229-1240.
9. Bhattacharyya, P. and D. Jha. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28: 1327-1350.
10. Blankenship, R.E. 2013. Molecular mechanisms of photosynthesis. John Wiley & Sons, US, 321.
11. Bradford, J. 1986. Methods of Soil Analysis: Part 1-Physical and Mineralogical Methods. Soil Science Society of America, US, 478.
12. Bricker, T.M. and L.K. Frankel. 2002. The structure and function of CP47 and CP43 in photosystem II. Photosynthesis research, 72: 131-146.
13. Chaves, M., J. Flexas and C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of botany, 103: 551-560.
14. Farajzadeh, D., N. Aliasgharzad, N.S. Bashir and B. Yakhchali. 2010. Cloning and characterization of a plasmid encoded ACC deaminase from an indigenous *Pseudomonas fluorescens* FY32. Current microbiology, 61: 37-43.
15. Fasciglione, G., E.M. Casanovas, V. Quillehauquy, A.K. Yommi, M.G. Goñi, S.I. Roura, and C.A. Barassi. 2015. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress. Scientia Horticulturae, 195: 154-162.
16. Fathi Saad Abadi, M., G. Ranjbar, M. Zangi, S.K. Kazemitabar and H. Najafi Zarini. 2017. Evaluation Salt Tolerance in Earliness Genotypes of Cotton (*Gossypium hirsutum*) at Seedling Stage. Journal of Crop Breeding, 9: 109-116 (In Persian).
17. Fu, J. and B. Huang. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environmental and Experimental Botany, 45: 105-114.
18. Gharelo Shokri, R., A. Bandehagh, D. Farajzadeh and M. Tourchi. 2016. Canola 2-dimensional proteom profile under osmotic stress and inoculation with *Pseudomonas fluorescens* FY32. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology 17: 257-266.
19. Giardi, M.T., J. Masojídek and D. Godde. 1997. Effects of abiotic stresses on the turnover of the D1 reaction centre II protein. Physiologia Plantarum, 101: 635-642.
20. Hidri, R., J. Barea, O.M.B. Mahmoud, C. Abdelly and R. Azcón. 2016. Impact of microbial inoculation on biomass accumulation by Sulla carnosa provenances, and in regulating nutrition, physiological and antioxidant activities of this species under non-saline and saline conditions. Journal of Plant Physiology, 201: 28-41.
21. Maere, S., K. Heymans and M. Kuiper. 2005. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks. Bioinformatics, 21: 3448-3449.
22. McFarland, J. 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. Journal of the American Medical Association, 49: 1176-1178.
23. Mishra, N.C. 2011. Introduction to proteomics: principles and applications. John Wiley & Sons, US, 200.
24. Mohammadi, P.P., A. Moieni and S. Komatsu. 2012. Comparative proteome analysis of drought-sensitive and drought-tolerant rapeseed roots and their hybrid F1 line under drought stress. Amino Acids, 43: 2137-2152.
25. O'brien, R.D. 2008. Fats and oils: formulating and processing for applications. CRC press, US, 680.
26. Penrose, D.M. and B.R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiologia plantarum, 118: 10-15.
27. Purty, R.S., G. Kumar, S.L. Singla-Pareek, and A. Pareek. 2008. Towards salinity tolerance in *Brassica*: an overview. Physiology and Molecular Biology of Plants, 14: 39-49.
28. Richmond, G.S. and T.K. Smith. 2011. Phospholipases A1. International journal of molecular sciences, 12: 588-612.
29. Sagi, M. and R. Fluhr. 2006. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. Plant physiology, 141: 336-340.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

30. Samancioglu, A., E. Yildirim, M. Turan, R. Kotan, U. Sahin and R. Kul. 2016. Amelioration of Drought Stress Adverse Effect and Mediating Biochemical Content of Cabbage Seedlings by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. International Journal of Agriculture & Biology, 18: 948-956.
31. Sengupta, S. and A.L. Majumder. 2009. Insight into the salt tolerance factors of wild halophytic rice, *Porteresia coarctata*: a physiological and proteomic approach. Planta, 229: 911-929.
32. Sharma, P., A.B. Jha, R.S. Dubey and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany, 2012: 1-26.
33. Shih, P.H., C.T. Yeh and G.C. Yen. 2007. Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis. Journal of agricultural and food chemistry, 55: 9427-9435.
34. Siegel, D., D.L. Gustafson, D.L. Dehn, J.Y. Han, P. Boonchoong, L.J. Berliner and D. Ross. 2004. NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1: role as a superoxide scavenger. Molecular pharmacology, 65: 1238-1247.
35. Tiwari, S., C. Lata, P.S. Chauhan and C.S. Nautiyal. 2016. *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery. Plant Physiology and Biochemistry, 99: 108-117.
36. Van Loon, L.C., B.P. Geraats, and H.J. Linthorst. 2006. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. Trends in plant science, 11: 184-191.
37. Wahid, A. and E. Rasul. 2005. Handbook of photosynthesis. CRC Press US, 952.
38. Weller, D.M., J.M. Raaijmakers, B.B.M. Gardener and L.S. Thomashow. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens 1. Annual review of phytopathology, 40: 309-348.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]

Evaluation of the Proteome Profile Changes of Canola Leaf Inoculated With *Pseudomonas Florescence* FY32 under Salinity Stress

Ali Bandehagh[1], Mahmoud Toorchi[2], Davod Farajzadeh[3], Ebrahim Dorani Uliaie[4], Reza Shokri Gharelo[5] and Aysel Malekpour[5]

1- Associate Professor, Department of Breeding and Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, (Corresponding author: bandehhagh@tabrizu.ac.ir)
2 and 4- Professor and Associate Professor, Department of Breeding and Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
3- Associate Professor, Azarbaijan Shahid Madani University
5- Graduated M.Sc. Student, Department of Breeding and Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
Received: August 8, 2016 Accepted: December 4, 2016

Abstract

Plant growth-promoting bacteria enhance plant performance under stressful conditions using various mechanisms. This study was aimed to investigate the effects of *Pseudomonas florescence* FY32 on growth characteristics and to identify proteins involved in plant-bacterium interaction under salt stress. The results indicated that under salt stress (150 and 300 mM NaCl), plants inoculated with bacteria compared to non-inoculated plants possess better growth characteristics. Study of proteome pattern changes in leaf indicated that of 170 reproducible spots, 20 spots had differentially expression changes. Differentially expressed proteins were categorized into six functional groups, including energy metabolism (25%), antioxidants (20%), gene expression regulation (20%), photosynthesis (15%) and membrane proteins (1%). All of these proteins underwent same changes either in uninoculated or inoculated plants under salt stress, except Photosystem II CP47 (spot no. 1), Photosystem II CP43 (spot no. 2), and NAD(P)H-quinone oxidoreductase (spot no. 6) which had more expression level in inoculated plants than those non-inoculated plants. In general, results indicated that inoculation of Sarigol with the bacterium could improve its growth under salt stress.

Keywords: Canola, Plant-bacterium interaction, Protein profile, *Pseudomonas florescence* FY32, Salt stress

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-14]

[DOI: 10.29252/jcb.9.24.40]