مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره دوم، شماره هشتم، پاییز ۱۳۹۱

Research Article
مقاله تحقیقی

# مطالعه پاسخ پروتئوم برگ گیاه *Aeluropus littoralis* در شرایط تنش شوری

نجمه نصیری[۱*]، قربانعلی نعمت زاده[۲]، حسین عسکری[۳]، احسان شکری[۴]

[۱]کارشناس ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، ساری، ایران
[۲]استاد و محقق ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، ساری، ایران
[۳]دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی انرژی و فناوریهای نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
[۴]کارشناس ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، ساری، ایران

## چکیده:

**سابقه و هدف :** گیاهان هالوفیت به جهت متکامل شدن در شرایط تنش، از بهترین گزینه های پیش رو برای توصیف مبانی مولکولی فیزیولوژی تحمل به شوری و بهنژادی گیاهان زراعی می باشند. در همین راستا با توجه به اینکه گیاه *Aeluropus littoralis* یک هالوفیت تکلپه محسوب می شود و قرابت ژنتیکی با گندم، برنج و جو دارد، پژوهشی به منظور بررسی الگوی کلی بیان محتوای پروتئینی برگ های این گیاه در پاسخ به تنش شوری در چهار سطح نرمال و شوری ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار با استفاده از تکنیک پروتئومیکس انجام گردید.

**مواد و روش ها:** برای بررسی اثر تنش شوری بر روی الگوی پروتئوم گیاه آلوروپوس، تیمار نمک در ۳ سطح (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلیمولار کلرید سدیم) اعمال گردید و پس از ۲۱ روز در شرایط تنش در نهایت برگ های بالغ و کامل واقع در منطقه میانی گیاه، جهت استخراج پروتئین برداشت شد. پروتئین های استخراج شده در دو بعد بوسیله ژل های IPG با شیب pH: ۴-۷ (۲۴ cm) و ژل های اکریلآمید ۱۲/۵ درصد جداسازی شدند.

**یافته ها:** نتایج حاصل از ارزیابی آماری نشان داد، که از مجموع ۵۵۰ نقطه پروتئینی تکرار پذیر حداقل ۹۵ نقطه پروتئینی در سطوح شوری مورد مطالعه، تغییر بیان نشان دادند که این تغییرات شامل افزایش و کاهش بیان بود. همچنین بیشترین در صد پروتئین هایی که افزایش و یا کاهش بیان نشان دادند به ترتیب در مقایسه بین تیمارهای نرمال و ۲۰۰و سطوح ۲۰۰و ۳۰۰ بدست آمد. بر اساس آنالیز کلاستر مجموعه پروتئین های پاسخگو در ۱۰ کلاس پروتئینی همبیان قرار گرفت. ارزیابی کلاس های پروتئینی مختلف، نشان داد پروتئوم پاسخ دهنده به شوری در این گیاه از لحاظ همبیانی از چهار روند مشخص تبعیت می کند.

**نتیجه گیری :** نتایج این تحقیق نشان می دهد که مطالعه میزان تغییرات بیان پروتئین های منفرد به تنهایی راهگشا نخواهد بود بلکه شناخت مجموعه پروتئین های هم بیان و مطالعه الگوی تغییرات جمعی آن ها در پاسخ به سطوح مختلف تنش نیز از اهمیت برخودار است و درک بهتری می دهد.

**کلمات کلیدی:** پرتئومیکس، تنش شوری، الکتروفورز دو بعدی، *Aeluropus littoralis*

## مقدمه

دانش ما در مورد ژن ها و پروتئین های پاسخ دهنده به تنش همچنان ناقص مانده و کامل نگردیده است. لذا به تبع آن بسیاری از مکانیسم های سلولی- مولکولی و فرآیندهایی که در ایجاد پاسخ و بروز رفتار در شرایط تنش نقش دارند، کشف نشده و یا در ابهام باقیمانده است. در سال های اخیر توجه خاصی به روش هایی می شود که محققین را در ارزیابی کمّی، بیان هزاران ژن بصورت همزمان قادر میسازد. تحقیقات وسیعی بالاخص در سطوح ژنومیکس و توالی یابی و ESTها (*Expressed Sequence Tags*) در گیاهان مدل مانند آرابیدوبسیس، برنج و ذرت در

ادرس نویسنده مسئول: [۱]کارشناس ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، ساری، ایران
*Email: Najme.nasiri@gmail.com*
تاریخ دریافت مقاله:۹۱/۲/۱۱
تاریخ پذیرش:۹۰/۱۲/۸

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

رابطه با تنش های غیرزنده و محیطی صورت گرفته است اما اطلاعات حاصل از ژنوم به تنهایی بیانگر عملکرد ژن در یک مرحله خاص از زندگی گیاه و وقایع بیولوژیکی و شیمیایی که در هر مرحله رخ می دهد، نیست. علاوه بر ژنومیکس حتی اطلاعات حاصل از ترانسکریپتوم و متابولوم هم هیچکدام به تنهایی درک کاملی ایجاد نمی کنند (۱، ۱۹، ۲۳ ، ۲۰). امروزه با گسترش تکنیک هایی چون ژل الکتروفورز دو بعدی امکان آنالیز الگوی بیان ژن ها در سطح پروتئین میسر گردیده است و در حقیقت پروتئومیکس دانشی است که امکان بررسی الگوی بیان کل ژن های بیان شده توسط سلول، بافت یا اندامک خاص تحت شرایط محیطی ویژه را فراهم می کند (۱۳). آنالیز الگوی بیان ژن ها در سطح پروتئین علاوه بر این که تکمیل کننده داده های حاصل از ژنومیکس، ترانسکریپتومیکس و متابولومیکس می باشد مزیت های ویژه ای دارد، زیرا پروتئین ها، به عنوان اجزاء کلیدی بطور مستقیم مسئول اعمال سلولی هستند در حالی که ژنوم دارای اطلاعات کدکننده است که برای رشد و نمو جاندار کفایت می کند. علاوه بر این، مقدار پروتئین اغلب از روی میزان mRNA تولید شده در سلول قابل پیش بینی نیست و تغییرات پس از ترجمه ای که در ساختار پروتئین ها رخ می دهد برای کنش بیولوژیکی آن ها ضروری می باشد، لذا مطالعه پروتئین ها برای بررسی فعالیتشان در بافت های خاص یا در پاسخ به شرایط محیطی از اهمیت بالقوه ای برخوردار است (۲۵). در دهه های اخیر تنش شوری یکی از مهم ترین تهدید-های رو به گسترشی است که جامعه بین المللی تولید مواد-غذایی و محصولات کشاورزی با آن مواجه است. تنش شوری به شدت رشد و عملکرد گیاهان زراعی را محدود می نماید. بر پایه تخمین های برنامه محیط ملل متحد تقریباً ۲۰٪ اراضی کشاورزی و ۵۰٪ کل اراضی کره زمین دچار معضل شوری است (۱۱). علی رغم پیشرفت هایی که در زمینه بهره وری گیاه و ایجاد مقاومت بر علیه برخی از آفات و بیماری ها صورت گرفته است. بهبود تحمل به تنش شوری در گیاهان زراعی با ناکامی نسبی روبرو بوده است چراکه شوری بطور همزمان جنبه های متعددی از فیزیولوژی گیاه را درگیر می کند (۱۴) و در واقع مقاومت به شوری صفتی کمّی و پیچیده است که شامل پاسخ به تنش اسمزی، تنش های یونی و تنش های ثانویه بعدی نظیر تنش اکسیداتیو و تنظیمات در سطح کل گیاه می گردد (۶،۲۲،۱۴،۱۱). امروزه اطلاعات فراوانی در مورد پروتئین های پاسخ دهنده به شوری که به طور اختصاصی القاء می شوند گزارش شده است، این پروتئین ها طیف گسترده ای از مولکول ها هستند که در مکانیسم های مختلف فتوسنتز، تنفس نوری، تنظیم متابولیسم و فرآیندهای سیگنالینگ(*Signaling Pathway*)، پروتئین فولدینگ (*Protein Folding*)، کانال های یونی، اکسیداسیون و سیستم دفاعی گیاه نقش دارند (۲، ۴، ۸ و ۲۴). همچنین مطالعه پروتئوم در اندامک های مختلف سلولی شامل میتوکندری (۹)، کلروپلاست (۱۷)، پراکسیزوم (۱۲)، دیواره سلولی (۱۰)، رتیکولوم آندوپلاسمیک (۱۸)، گرده (۱۵)، جنین و آندوسپرم (۲۱) بطور روزافزونی در حال انجام است. گونه *Aeluropus littoralis* گیاهی است علفی، وحشی با سیستم فتوسنتزی $C_4$ از خانواده گرامینه، که قادر است در خاکه ایی با هدایت الکتریکی ۱۷/۵ تا ۶۲ دسیزیمنس بر متر رشد کند. این گیاه از لحاظ مقاومت به شوری یک هالوفیت اجباری است. این گونه یکی از هالوفیتهای بومی ایران است که در اراضی شور نواحی خشک و نیمه خشک کشور تکامل یافته (۳، ۴ و ۷) و دارای خصوصیات بیولوژیک و فیزیولوژیک بسیار ارزشمندی است که بواسطه آن یکی از موفق ترین گیاهان تک لپه مطرح برای تحمل به شوریهای بالا می باشد که می تواند به اولین گیاه هالوفیت تکلپه مدل ژنتیک با توجه به محتوی ژنومی کوچک مبدل گردد. در همین راستا با توجه به قرابت ژنتیک هالوفیت *Aeluropus littoralis* با گندم، برنج و جو، پژوهشی به منظور بررسی الگوی کلی بیان محتوای پروتئینی برگ های این گیاه در پاسخ به تیمارهای مختلف نمک با استفاده از روش پروتئومیکس انجام گردید. نتایج حاصل از این بررسی پس از شناخت پروتئین های پاسخگو و بررسی نقش احتمالی آن ها، در کنار داده های حاصل از سایر تکنیک های مولکولی، ضمن شناسایی دقیقتر اثرات شوری بر گیاه و مکانیزم های مقاومت به شوری در سطح مولکولی، می تواند بستر مناسبی را در جهت بهبود صفت مقاومت به شوری در گیاهان زراعی را فراهم آورد.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

## مواد و روش ها

### تهیه مواد گیاهی و نحوه اعمال تیمارها

مواد گیاهی مورد نیاز در این تحقیق از محل رستنگاه های وحشی این گیاه در منطقه آققلا گرگان جمع آوری گردید. سپس بوته های جمع آوری شده در داخل گلخانه تکثیر شد، و قلمه های یکسان که دارای سه گره مناسب بودند به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول غذایی هوگلند کامل منتقل گردید. تعویض محلول غذایی هر ۷ روز یکبار همراه با هوادهی مداوم و تنظیم pH (۵/۶) بصورت روزانه انجام گرفت. همچنین هدایت الکتریکی (*Electrical Conductivity*) تشتک ها هر روز توسط دستگاه EC سنج مدلJenway کنترل شد. پس از ۷۵ روز تیمار نمک بصورت تدریجی و روزانه تا رسیدن به آستانه مدنظر در ۳ سطح (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) و سه تکرار اعمال گردید و پس از تحقق سطوح شوری مورد مطالعه، گیاهان ۲۱ روز در شرایط تنش نگهداری شدند. در نهایت برگ های بالغ و کامل واقع در منطقه میانی گیاه، جهت استخراج پروتئین برداشت شد و بلافاصله در فریزر ۸۰- تا انجام مراحل بعدی تحقیق ذخیره گردید.

### استخراج پروتئین و الکتروفورز دو بعدی

۱۰۰ میلی گرم بافت برگی در حضور ازت مایع بمنظور تخریب دیواره سلولزی و آزاد سازی اجزای سلولی ساییده شد و محتوی پروتئینی آن طبق دستورالعمل ترایزول (Trizol reagent-;Invitrogen) مورد استخراج قرار گرفت. سپس اندازه گیری میزان غلظت پروتئین‌های نمونه به روش برادفورد و با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام شد. در نهایت غلظت مناسب (۳۰۰ میکروگرم) پروتئین برای هر نمونه در ژل های IPGs (Immobilize PH Gradient strip) ۲۴ سانتیمتری ( شماره کاتالوگ 163-2044 شرکت بیورد) با محدوده pH= ۴-۷ به مدت ۱۶ ساعت بارگذاری گردید. در این تحقیق از دستگاه PROTEAN ساخت شرکت بیورد برای انجام بعد اول (IEF) به مدت۲۲ ساعت و ۴۰ دقیقه استفاده شد. برای بارگذاری کردن ژل نیاز به ۴۲ هزار ولت هورس (42 Kvh) است که این میزان ولت هورس در چهار مرحله 150vh تا ولتاژ 300v، 300v تا ولتاژ 500v، 2000vh تا ولتاژ 3500v و 39500vh در ولتاژ 3500v تأمین شد. پس از اتمام بعد اول نوارهای ژل به مدت ۱۵ دقیقه در محلول (50mM Tris-HCl, pH 8.8., 6M, Urea., 2%, SDS., 30%, Glycerol., 1%, DTT., 0.002%, Bromophenol Blue) متعادل سازی شد و بعد دوم با استفاده از دستگاه ProteinII Xi Cell (ساخت شرکت بیورَد) انجام گردید. مراحل رنگ آمیزی طبق پروتوکل Blum و همکاران (1987) انجام شد. پس از رنگ آمیزی، ژل ها با استفاده از دنسیتومتر Gs800 (ساخت شرکت بیورَد) اسکن و ذخیره شدند. برای بررسی کمی و کیفی لکه ها در تیمارهای مختلف از نرم افزار Melanie 6.2 (GeneBio, Geneva, Switzerland) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا لکه ها شناسایی شدند و سپس لکه های متناظر در ژل های تیمارهای مختلف علامتگذاری و داده هایی که نشاندهنده مقدار کمی درصد حجمی (%Vol) لکه ها بودند مورد آنالیز آماریLSD قرار گرفتند، لکه هایی که در سطح آماری ۰/۰۵ درصد تفاوت معنی داری نشان دادند و تغیرات بیان ۲ برابری داشتند به عنوان لکه های کاندیدا شناخته شدند. سپس با استفاده از ابزار پیش بینی TagIdent سرور Expasy و با استفاده از اطلاعات بدست آمده از وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک لکه های انتخاب شده توصیف شدند.

### آنالیز کلاستر پروتئین های کاندید

به منظور تعیین رابطه هم بیانی پروتئین های پاسخگو یک مجموعه داده (Data Set) با ۹۵ عضو تعیین شد. مطابق روش Eisen و همکاران در سال ۱۹۹۸، با استفاده از نرم افزار Cluster 2.11 ارائه شده در سایت http://rana.lbl.gov/EisenSoftware.htm با الگوریتم Average Linkage و ضریب همبستگی پیرسون داده های پروتئینی که تغییرات معنی داری را نشان داده بودند مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین به منظور تعیین صحیحترین تعداد خوشه، ۴ برش که به ترتیب تعداد ۲۴، ۱۶، ۱۰ و ۶ گروه هم بیان را شکل داد بر روی الگوی به دست آمده اجرا شد و جهت مقایسه آماری مطابق روش Tomida و همکاران (۲۰۰۲)، مفهوم انحراف استاندارد میانگین(Average STDEV) محاسبه شد. به منظور ارزیابی تأثیر آنالیز کلاستر بر سطح انحراف استاندارد میانگین (ASD)، تمام تغییرات با مقدار پایه ASD در شرایط بدون گروه بندی(Classification) مقایسه شد.



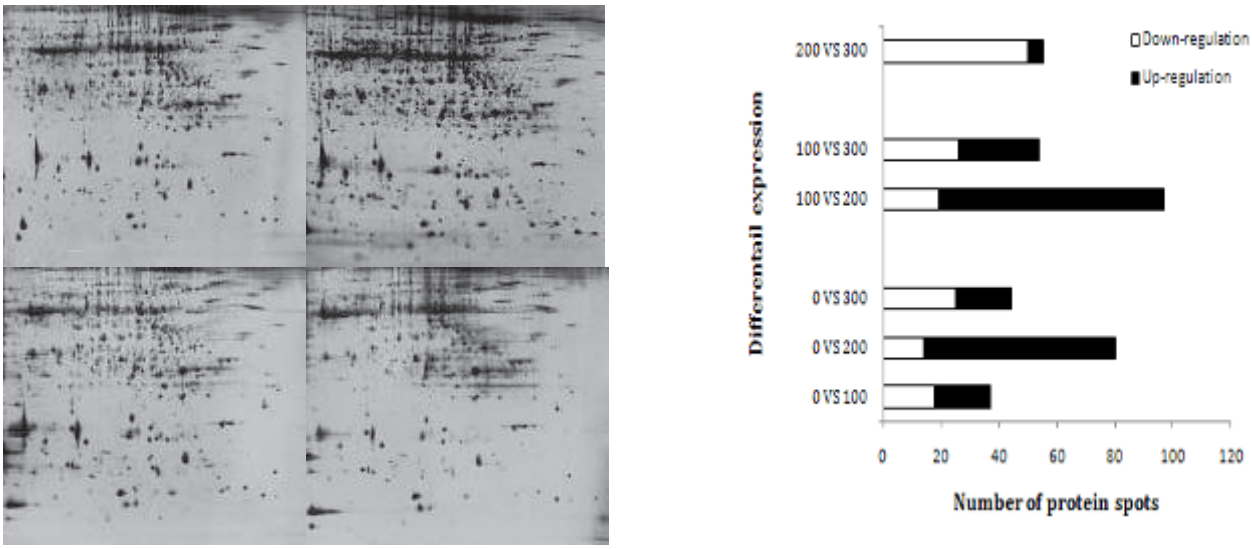
[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

## یافته ها

### آنالیز بیان پروتئین و مقایسه الگوی بیان پروتئوم در تیمارهای مختلف

پس از شناسایی نمودن لکه های پروتئینی بوسیله نرم افزار، به طور متوسط تعداد ۶۰۰ لکه به طور تکرار پذیری در شاهد مشاهده گردید. نتایج حاصل از جفت نمودن ژل ها در تیمار شاهد نشان داد که تعداد ۵۵۰ لکه به طور تکرارپذیری با هم جفت هستند. آزمون آماری LSD در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد که تعداد ۳۷، ۸۰ و ۴۴ لکه پروتئینی به ترتیب بین تیمار شاهد و تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار تفاوت معنی داری از نظر تغییرات سطح بیان دارند. هم چنین تعداد ۹۷ لکه بین تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلیمولار تفاوت معنیداری نشان دادند که از این تعداد ۷۸ لکه افزایش بیان و ۱۹ لکه کاهش بیان داشتند، بین تیمارهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار نمک نیز ۵۶ لکه تفاوت معنی داری نشان دادند که از این تعداد ۲۸ لکه افزایش بیان و ۲۶ لکه کاهش بیان داشت و در نهایت تعداد ۵۵ لکه معنی دار در بین تیمار ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار شناسایی شد که از این تعداد ۵ لکه افزایش بیان و ۵۰ لکه




(ب) (الف)

شکل۱-(الف): درصد لکه هایی که در بین تیمارهای مختلف افزایش و یا کاهش بیان داشته اند. (ب): نمون های از ژل های مورد ارزیابی در ۴ سطح (نرمال (A) و تیمارهای ۱۰۰ (B)، ۲۰۰ (C)و ۳۰۰ میلی مولار (D)). ژل های اجرا شده پس از رنگ آمیزی با استفاده از دنسیتومتر در قدرت تفکیک ۶۰۰ دی پی آی اسکن شده و مورد آنالیز قرار گرفتند.

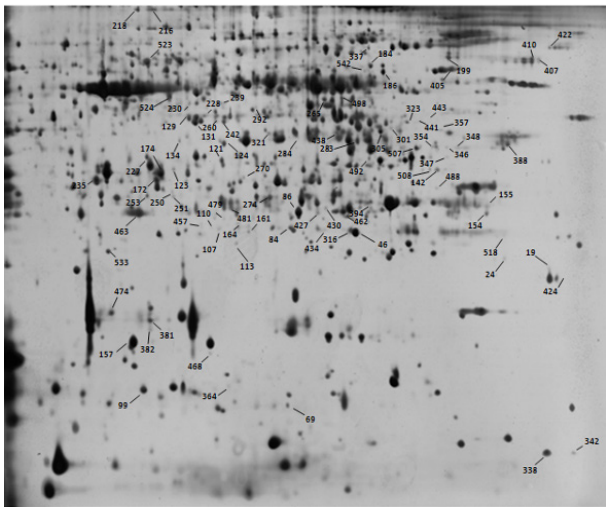
همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است پروتئین های پاسخگو تقریباً در تمامی سطح ژل و نقاط مختلف ایزوالکتریک پراکنده شده اند. بدین ترتیب نقاط کاندیدا برای آنالیز هم-بیانی تعیین و مشخص شدند. بر این اساس بیشترین درصد پروتئین های افزایش یافته (۸۲,۵٪) و (۸۰,۴٪) به ترتیب در مقایسه بین سطوح صفر و ۲۰۰، و تیمارهای ۱۰۰و ۲۰۰ می باشد، در حالی که بیشترین میزان پروتئین هایی (۹۰٪) که کاهش بیان نشان می دهند در مقایسه سطوح ۲۰۰ و ۳۰۰ بروز کرده اند. نتایج حاصل از آنالیز ژل ها با نرم افزار نشان داد که بین ۵۵۰ لکه ای که به طور تکرار پذیر در شاهد مشاهده شدند تعدادی از لکه ها (۱۷۰ عدد) به طور افتراقی سطح بیانشان تغییر یافته است که از این تعداد ۸۷ لکه تغییر دو برابری، ۶۲ لکه تغییر سه برابری و تعداد ۵۳ لکه تغییر چهار برابری در بیان داشتند. بررسی دقیق الگوی بیان لکه هایی که در طول روند تیمارها تغییر در میزان بیان دارند، نشان می دهد که برخی از لکه ها از لحاظ تغییرات بیان روند منظمی داشته اند به طوری که در نمونه های گیاهی استرس ندیده بیان پایین (لکه شماره ۹۹ ) یا بالایی (لکه شماره ۱۰۷) داشته در حالی که در طول شرایط تنش بیانشان افزایش یا کاهش یافته و در سطوح مختلف تنش شوری سطح بیان خود را بصورت پایدار حفظ نموده اند (شکل۲). همچنین موقعیت پروتئین های پاسخ دهنده به تنش نسبت به تیمار شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ مشخص شده است (شکل۳ ).



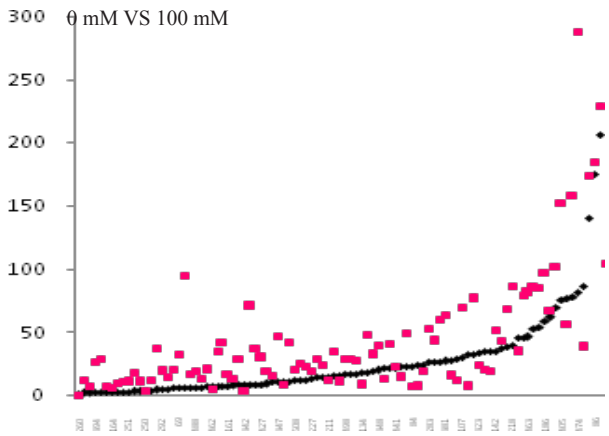
[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

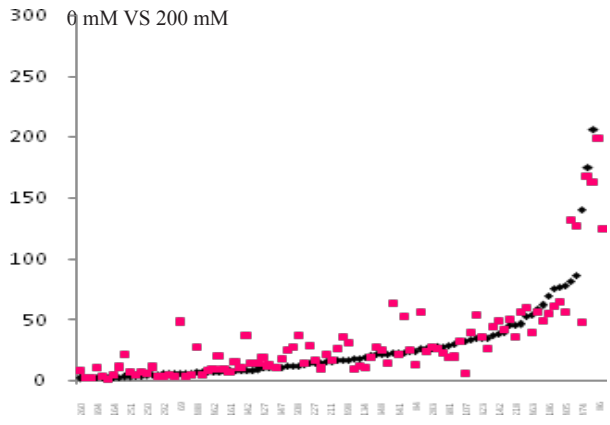
[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

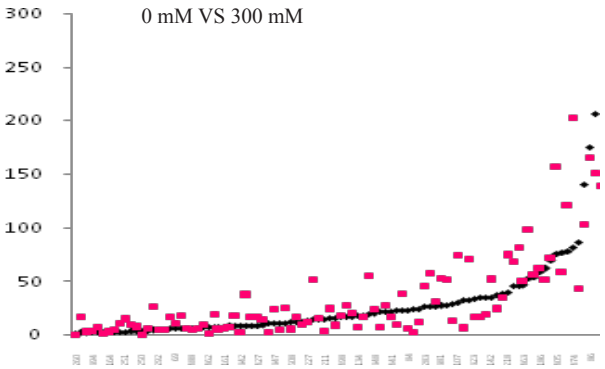
کاهش بیان را نشان دادند. هیستوگرام شکل (۱الف) درصد لکه هایی که بین تیمارهای مختلف کاهش و یا افزایش بیان داشتند را نشان می دهد



شکل۲- تعداد ۹۵ نقطه پروتئین پاسخگو به شوری با استفاده از خطوط سیاه نمایش داده شدند. بر اساس نتایج این تحقیق نقاط پاسخگودر تمامی وزنهای مولکولی قابل شناسایی هستند.




شکل ۳- تغییر الگوی بیان پروتئین های پاسخ دهنده به تنش شوری در مقایسه با تیمار شاهد (دایره های سیاه رنگ). محور افقی بیانگر شماره لکه های پروتئینی و محور عمودی نشان دهنده میزان بیان هر لکه می باشد.

بر اساس اطلاعات به دست آمده از آنالیز شجره ای (شکل۴) سه گروه بزرگ هم بیان شناسایی شد که دو گروه واجد قرابت نزدیک تری بودند. بر اساس آنالیز کلاستر بر سطح انحراف استاندارد میانگین در شکل (۴)، ۵ گروه بزرگ با تعداد عضو متفاوت ۹۵، ۲۴، ۱۶، ۱۰ و ۶ تایی بوجود آمد که گروهی که ۱۰ کلاس را شامل می شد بدلیل انحراف از میانگین استاندارد کمتر و نداشتن کلاس تک عضوی، به عنوان گروهی که عمده تغییرات پروتئین های پاسخگو به شوری را نشان می دهد انتخاب گردید. در این گروه روند همبیانی پروتئین ها در سطوح مختلف تنش شوری در کلاسترهای A، L و C (شامل ۲۶ پروتئین) الگوی مشابهی دارد، به همین ترتیب کلاسترهای BH، F،M و E ( شامل ۶۰ پروتئین ) هم از روند مشخصی تبعیت می کنند. کلاسترهای D و G به دلیل تعداد عضو کمتر الگوی متفاوتی از دو دسته قبلی دارند.

## بحث

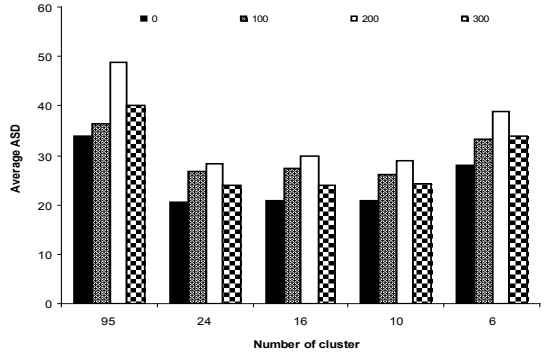
بر اساس آنالیز کلاستر می توان نتیجه گرفت که روند هم بیانی پروتئین ها در گروه ۱۰ کلاستری، چهار الگوی مشخص را نشان می دهد شکل (۵). از آنجائی که ۶۳ درصد از کل پروتئین های مورد بررسی در کلاسترهای H،B، F، M و E ، قرار دارند می توان نتیجه گرفت که روند همبیانی غالب پروتئین ها همان الگویی است که در این گروه بزرگ دیده می شود. بر اساس این الگو بطور کلی میزان بیان پروتئین در سطوح ۰، ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی مولار صعودی است و سپس در سطح ۳۰۰ میلی مولار کاهش می یابد. با این وجود پیش بینی مجموعه پروتئین های همبیان در کلاس های دارای روند مشابه بر اساس تخمین وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک نشان داد که



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

پروتئین های موجود در کلاستر های A ، L و C در فرآیندهای همچون سیکل سلولی، تشکیل و تجزیه دیواره سلولی، بیوسنتز لیگنین، تنظیم رونویسی، متابولیسم آمینواسیدها و هموستازی جیبرلین دخالت دارند و همچنین شامل فاکتورهای رونویسی مؤثر در رشد و تنظیم نمو گیاه هستند. در حالی که نقاطی که در کلاسترهای B، H، F،M و E قرار می گیرند عمدتاً پروتئین هایی هستند که در پیام رسانی سلولی و در مکانیسم‌های‌دفاعی‌گیاه،پراکسیداسیون‌وسمیت‌زدایی رادیکال های خطرناک، فتوسیستم دو، تنفس نوری، سیکل کالوین، گلیکولیز، سنتز اسمولیت ها، بیوسنتز اسیدهای چرب، بیوسنتز پلی آمینها، بیوسنتز کلروفیل، فلاونوئید و رنگدانه، تجزیه لیپیدها، متابولیسم قندها، کاتابولیسم نشاسته، هموستازی اکسین، سیتوکنین، آبسزیک اسید و تشکیل دیواره سلولی ثانویه نقش دارند. سایر پروتئین هایی که نیز از الگوی همبیانی موجود در کلاسترهای D و G تبعیت می کنند از لحاظ نوع فعالیت شامل فاکتورهای رونویسی (شامل MYB، Bhlh، WRKY ) و فاکتورهای رونویسی پاسخ دهنده به اتیلن) پروتئین کینازها و بازدارنده پروتئازها می باشند، و در فعالیت های پلی یوبیکوئیشن، پروتئین فولدینگ، تجزیه هیدروژن پراکساید، بیوسنتز گلوتامین، بیوسنتز اس-آدونوزیل متیونین (S-adenosylmethionine-SAM) و بیوسنتز ایزوپرنوئیدها نقش دارند. Jiang و همکاران (۱۶) تغییرات الگوی پروتئوم ریشه آرابیدوبسیس در شرایط هیدروپونیک در غلظت ۱۵۰ میلی مولار نمک را مورد بررسی قرار دادند. این پروتئین ها شامل پروتئین های پاسخ دهنده به تنش و پروتئین های دخیل در چرخه حذف ROS، انتقال پیام در سلول، ترجمه، بیوسنتز دیواره سلول، تجزیه پروتئین ها، متابولیسم انرژی، متابولیسم آمینو اسیدها و هورمون ها بودند. همچنین Zorb و همکاران (۲۶) به بررسی پروتئوم ساقه و ریشه ذرت تحت تنش ۲۵ و ۱۰۰ میلی مولار نمک پرداختند. تعداد ۱۴ پروتئین از مجموع پروتئین ها به وسیله MALDI-TOF شناسایی شد. این ۱۴ پروتئین در ۳ گروه مجزا تقسیم بندی شدند. دسته اول پروتئین هایی بودند که در بیوسنتز پروتئین ها و تغییرات پروتئینی بوسیله کینازها نقش داشتند. گروه دوم آنزیم های متابولیسم کربوهیدرات بودند و دسته دوم دربرگیرنده آنزیم های دخیل در چرخه نیتروژن، تعداد ۸ پروتئین از مجموع پروتئین یاد شده در تنش ۱۰۰ میلی مولار افزایش بیان داشتند که در چرخه های رونویسی و ترجمه نقش ایفا می کردند. بر طبق این نتایج، مشخص گردید که ذرت مکانیسم سازگاری خاص برای تنش شوری نداشته و در سطوح پائین و یا بالای تنش دچار آسیب می گردد.




شکل۴-تأثیر آنالیز کلاستر بر سطح انحراف استاندارد میانگین (ASD) با مقدار پایه ASD در شرایط بدون گروه بندی

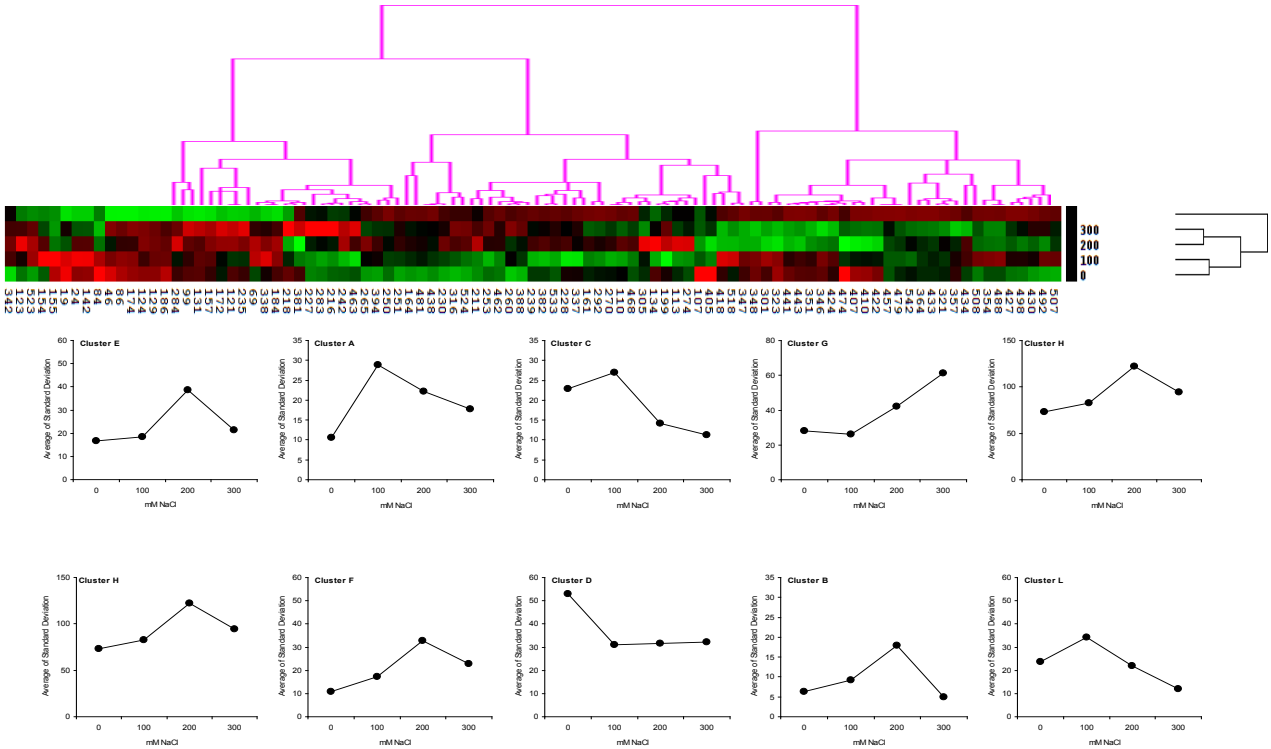
به منظور درک مکانیسم مقاومت گیاه تحت تنش شوری و شناسایی پروتئین های پاسخ دهنده به تنش شوری در این مطالعه الگوی پروتئوم برگ گیاهان تنش دیده و شاهد در غلظت های مختلف نمک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که بیان تعداد زیادی از پروتئین ها در پاسخ به تنش تغییر می کند. از این لحاظ لکه های پروتئینی در چهار گروه کلی جای گرفتند: ۱- لکه های پروتئینی که بیان آن ها در گیاهان تحت تنش شوری به موازات تشدید سطح تنش بصورت پایدار افزایش یافت (مثل کلاس G )، ۲- لکه هایی که با افزایش سطح تنش بصورت پایدار کاهش بیان داشتند (کلاس D)، ۳- لکه هایی که با افزایش غلظت نمک تا سطح ۲۰۰ میلی مولار بیشتر بیان شدند ولی این افزایش بیان پایدار نماند (کلاس های B، H، F، M و E) و در نهایت لکه های پروتئینی که در پاسخ به کمترین غلظت شوری (۱۰۰ میلی مولار) به بالاترین درجه بیان رسیدند و سپس با افزایش شوری بتدریج کاهش یافتند (کلاس های A، L و C). بر این اساس تفاوت ها در روند همبیانی وطیف وسیعی از پروتئین هایی که تحت تأثیر قرار گرفته اند نشان می دهد که فرآیندهای مختلفی در اثر تنش شوری متأثر می شوند. اکثر پروتئین های بررسی شده در گیاه *Aeluropus*



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

*littoralis* تحت تنش شوری افزایش بیان نشان می دهند، که این مطلب به نوعی نشان می دهد که گیاه آلوروپوس به عنوان یک گیاه شورزی در مواجهه با نمک نه تنها بخوبی می تواند فرآیند رونویسی و ترجمه سلولی را از آسیب حفاظت کند بلکه قادر است با القاء رونویسی و تنظیم بیان پروتئین ها ماشین متابولیکی سلول در جهت سازگاری و تحمل نمک در سطح گیاه کامل سوق دهد. استراتژی که به نظر می رسد در گیاهان گلیکوفیتی مثل ذرت بر اساس نتایج Zorb et al (۲۶) ضعیف و ناکارآمد است. همچنین نتایج حاصل از جفت کردن ژل ها در شرایط تنش با الگوی ژل بدست آمده از گیاهان نرمال نشان می دهد که هیچ لکه پروتئینی جدیدی در گیاهان تنش دیده در مقایسه با شاهد پدیدار یا ناپدید نشده است و این یافته می رساند که برای مقابله با شوری در سطح مولکولی لزوماً نیازی به بیان دسته جدیدی یا نوع خاصی از پروتئین ها که در شرایط نرمال حضور ندارند نیست و آنچه مهم تر است نحوه تنظیم همبیانی و تداخلات مولکولی به گونه ای است که مقاومت به شوری در سطح گیاه کامل تظاهر فنوتیپی یابد. در مجموع بررسی جامع پروتئوم عکس العمل دهنده به شوری در هالوفیت *Aeluropus littoralis*، نشان می دهد که مقاومت به شوری در سطح گیاه کامل یک صفت کمی کاملاً پیچیده است که ابعاد مختلفی از فرآیندهای بیوشیمیایی و ساختاری در گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد. بر این اساس گیاه *Aeluropus littoralis* بواسطه تکامل بلند مدت در زیستگاه های شور و نامناسب، از قابلیت بالایی برای سازگاری و مواجه با غلظت های بالای نمک برخوردار است و این قابلیت بر پایه یافته های مولکولی بدست آمده در این تحقیق تنها مربوط به بیان پروتئین های منفرد خاصی نیست بلکه پاسخ کلی گیاه به شوری نتیجه تغییر در میزان بیان مجموع های از پروتئین ها با عملکردهای متفاوت و تنظیم دقیق شبکه پروتئین های هم بیان و برهمکنش پروتئین-پروتئین می باشد. بدیهی است انجام مطالعات بیشتر بر روی هالوفیت آلوروپوس لیتورالیس به عنوان یک گیاه هم خانواده با غلات مهّمی همچون گندم، جو و برنج می تواند الگوهای مولکولی مناسبی را برای اصلاح مقاومت به شوری درگیاهان تک لپه فراهم کند.




شکل ۵:الگوی هم بیانی پروتئین هایی که تغییرات معنی داری به تنش شوری نشان دادند.



[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

## تشکر و قدردانی

از حمایت های مالی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان در تأمین هزینه های این تحقیق سپاسگزاری می شود.

[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]

# منابع


(۱) قرهچاهی ج، علیزاده ه، نقوی م ر، حسینیسالکده ق. آنالیز پروتئوم گندم وحشی تحت تنش سرمایی. پایاننامه ارشد دانشکده علوم زراعی دانشگاه تهران، ۱۳۸۶.
(۲) قهرمان ا. فلور رنگی ایران. جلد هشتم. انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. ۱۳۶۵.
(۳) مبین ص. رستنیهای ایران. جلد اول. نهانزادان آوندی، بازدانگان و تک لپهایها. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۵۴.
(۴) نصرآبادی د، حسینیسالکده ق. آنالیز پروتئوم ریشه و برگ برنج تحت تنش شوری. پایاننامه ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۳۸۵.
(۵) رضوی خ، ملبوبی م ع، فرهیآشتیانی ص، قناتی ف. بررسی پارهای از پاسخهای فیزیولوژیکی و مولکولی برخی از گیاهان وحشی غلات خویشاوند گندم (آلورپوس) به تنش شوری. پایاننامه دکتری دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۶.

(6) Agastian P, Kingsley SJ, Vivekanandan M. Effect of Salinity on Photosynthesis and Biochemical Characteristics in Mulberry Genotypes. Photosynthetica, 2000; 38: 287-290.
(7) Akhani H, Ghorbanli M. A Contribution to the Halophytic Vegetation and Flora of Iran. Towards the Rational Use of High Salinity Tolerant Plant, 1999; 1: 35-44.
(8) Askari H, Edqvist J, Hajheidari M, Kafi M, Salekdeh GH. Effects of Salinity Levels on Proteome of *Suaeda aegyptiaca* Leaves. Proteomics, 2005; 6:2542–2554.
(9) Bardel J, Louwagie M, Jaquinod M, Jourdain A, Luche S, Rabilloud T, Macherel D, Garin J, Bourguignon J. A Survey of the Mitochondrial Proteome in Relation to Development. Proteomics, 2002; 2:880–898.
(10) Bayer E, Bottrill AR, Walshaw J, Vigouroux M, Naldrett MJ, Thomas CL, Mule AJ. Arabidopsis Cell Wall Proteome Defined Using Multidimensional Protein Identification Technology. Proteomics, 2005; 6:301–311.
(11) Chinnusamy V, Zhu JK. Plant Salt Tolerance. In Plant Responses to Abiotic Stress (edsHirt, H. and Shinozaki, K. Springer, Berlin, 2003; 241–261.
(12) Fukao Y, Hayashi M, Nishimura M. Proteomic Analysis of Leaf Peroxisomal Proteins in Greening Cotyledons of *Arabidopsis thaliana* . Plant Cell Physiol, 2002; 43:689–696.
(13) Gygi SP, Rist B, Aebersold R. Measuring Gene Expression by Quantitative Proteome Analysis. Curr Opin Biotech, 2000; 396-401.
(14) Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity. Annu Rev Plant Phys, 2000; 51: 463–499.
(15) Holmes-Davis R, Tanaka CK, Vensel WH, Hurkman WJ, McCormick S. Proteome Mapping of Mature Pollen of *Arabidopsis thaliana*. Proteomics, 2005; 5:4864–4884.
(16) Jiang Y, Yang B, Harris NS, Deyholos MK. Comparative Stress-Responsive Proteins in Arabidopsis Roots. J Exp Bot, 2007; 58:3591-3607.
(17) Kleffmann T, Russenberger D, von-Zychlinski A, Christopher W, Sjolander K, Gruissem W, Baginsky S. The *Arabidopsis thaliana* Chloroplast Proteome Reveals Pathway Abundance and Novel Protein Functions. Curr Biol, 2004;14:354–362.
(18) Maltman DJ, Simon WJ, Wheeler CH, Dunn MJ, Wait R, Slabas AR. Proteomic Analysis of the Endoplasmic Reticulum from Developing and Germinating Seed Castor. Electrophoresis, 2002; 23:626–639.
(19) Munns R. Genes and Salt Tolerance: Bringing them Together. New Phytol, 2005; 167: 645–663.
(20) Seki M, Narusaka M, Ishida J, Nanjo T, Fujita M, Oono Y, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Taji T, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Shinozaki K. Monitoring the Expression Profiles of 7000 Arabidopsis Genes under Drought, Cold, and High-Salinity Stresses Using a Full-Length cDNA Microarray. Plant J, 2002; 31:279-292.
(21) Sheoran IS, Olson JH, Ross ARS, Sawhney VP. Proteome Analysis of Embryo and Endosperm from Germinating Tomato Seeds. Proteomics, 2005; 5:3752–3764.
(22) Song JQ, Mei XR, Fujiyama H. Adequate Internal Water Status of NaCl - Salinized Rice Shoots Enhanced Selective Calcium and Potassium Absorption. J Plant Nutr Soil Sci, 2006; 52: 300-304.
(23) Vinocour B, Altman A. Recent Advances in Engineering Plant Tolerance to Abiotic Stress: Achievements and Limitations. Curr Opin Biotech, 2005; 16:1–10.
(24) Yan S, Tang Z, Su W, Sun W. Proteomic Analysis of Salt Stress-Responsive Proteins in Rice Roots. Proteomics, 2005; 5:235-336.
(25) Zivy M, DeVienne D. Proteomics: A link Between Genomics, Genetics and Physiology. Plant Mol Biol, 2000; 44:575-580.
(26) Zorb C, Schmitt S, Neeb A, Karl S, Linder M, Schubert S. The Biochemical Reaction of Maize (*Zea mays* L.) to Salt Stress is Characterized by A Mitigation of Symptoms and Not by A Specific Adaptation. Plant Sci, 2004; 167:91-100.1


[ Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.22285458.1391.2.8.3.2 ]