ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶
صفحه ۳۰۹ - ۲۹۳

بررسی گروه‌های عملکردی پروتئینی مشترک و غیر مشترک ارقام متحمل و حساس کلزا تحت تنش شوری و خشکی با استفاده از روش پروتئومیک

Evaluation of functional protein groups of the common and uncommon of tolerant and sensitive cultivars of rapeseed under salinity and drought using Proteomics method

معروف خلیلی*[۱]، محمدرضا نقوی[۱]

۱- استادیاران بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

Khalili M*[1], Naghavi MR[1]

1- Assistant Professors, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: makhalily@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۳۱)

چکیده

برای مطالعه پروتئین‌های مشترک و غیرمشترک پاسخ دهنده به تنش شوری و خشکی در کلزا (Brassica *napus* L.)، ارقام SW5001 و Sarigol به‌ترتیب به‌عنوان نماینده‌ای از ارقام متحمل و حساس به‌صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار در محیط گلخانه کشت شدند. برای بررسی الگوی پروتئینی با استفاده از تجزیه پروتئوم، نمونه‌های برگی، در دو آزمایش جداگانه دو هفته پس از اعمال تنش شوری و خشکی و در پایان مرحله روزت تهیه شد. استخراج پروتئین از بافت برگی انجام و الکتروفورز بعد اول به روش نوارهای IPG در گیاهان شاهد و تحت تیمار شوری انجام شد. پروتئین‌ها در بعد دوم با تکنیک SDS-PAGE تفکیک شدند و پس از رنگ‌آمیزی با آبی کوماسی تصویربرداری از ژل‌ها و تجزیه لکه‌های پروتئینی با نرم‌افزار PDQuest انجام شد. در نهایت به‌ترتیب تعداد ۱۷ و ۲۵ لکه پروتئینی معنی‌دار بین گیاهان شاهد و تحت تنش‌های شوری و خشکی در هر دو رقم، تشخیص داده شدند که از این تعداد به‌ترتیب تعداد ۱۰ و ۱۵ لکه پروتئینی بین دو رقم مشترک و تعداد چهار و شش لکه پروتئینی به‌ترتیب منحصر به رقم متحمل و تعداد سه و چهار لکه پروتئینی به‌ترتیب منحصر به رقم حساس تحت تنش‌های شوری و خشکی بودند. در مجموع از بین تمامی پروتئین‌های پاسخ‌دهنده تحت تنش شوری و خشکی در دو رقم SW5001 و Sarigol، سه پروتئین مشترک در هر دو رقم و هر دو تنش شامل Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit، Oxygen-evolving enhancer protein 2-chloroplastic و ATP synthase CF1 beta subunit از مهم‌ترین پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های خشکی و شوری شناسایی شدند. این پروتئین‌ها به سه عضو موثر در سلول یعنی کمپلکس فتوسیستم II، روبیسکو و ATP سنتاز تعلق دارند که به‌نظر می‌رسد از مهم‌ترین اجزای سلول تحت تنش شوری و خشکی باشند. بنابراین افزایش کارایی این سه مجموعه که با افزایش کارایی سلول همراه است، اثرات تنش شوری و خشکی را کم‌تر خواهد کرد.

واژه‌های کلیدی

پروتئومیک
پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش
تنش شوری و خشکی
کلزا

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

مقدمه

مطالعاتی که به‌منظور درک مکانیسم پاسخ به تنش خشکی و شوری انجام می‌شود در راستای توسعه ارقام متحمل به تنش است. به‌منظور رهایی از شرایط نامطلوب رشد، حفظ هموستازی، سم‌زدایی عناصر مضر و بازیابی رشد، تغییراتی در سطوح فیزیولوژیکی و مولکولی در گیاهان روی می‌دهد (Rampino et al. 2006). تحمل شوری و خشکی در گیاهان پدیده پیچیده‌ای بوده و با انواع ساز و کارهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در ارتباط است. در این راستا پروتئومیک یکی از رهیافت‌های مهم برای درک اساس مولکولی تحمل تنش است تا تغییرات القا شده توسط تنش در سطح پروتئین‌ها مورد شناسایی و بررسی قرار گیرد (Thiellement et al. 2002). با استفاده از پروتئومیک می‌توان اثر تنش‌های غیر زیستی از جمله کمبود آب و شوری را بررسی کرد (Zang and Komatsu 2007). در مطالعات متعدد، پروتئین‌های القا پذیر از تنش شوری و خشکی در گیاهان مختلف شناسایی شده‌اند. به‌عنوان مثال در مطالعه (1986) Munns and Termat با بررسی اثر تنش شوری بر روی برنج (به همراه اثر آبسزیک اسید و جاسمونیک اسید)، گروه جدیدی از پروتئین‌های غنی از گلایسین و یک سری از پروتئین‌های فراوان در مرحله جنین‌زایی (دی هیدرین‌ها) شناسایی شدند. هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در پاسخ به تنش شوری در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته است. در پنبه تیمارهای شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و گلوتاتیون رداکتاز (GR) در بوته‌های متحمل شده‌است. این در حالی است که در ارقام حساس، سطح بیان این دو آنزیم ثابت مانده و یا کاهش داشته است (Gossett et al. 1994). در اعمال تنش شوری ناشی از NaCl بر دو رقم برنج و مطالعه الگوهای پروتئینی، پروتئین اسکوربیت پر اکسیداز افزایش نشان داد. این آنزیم باعث تبدیل H_2O_2 به H_2O و O_2 می‌شود تا سلول‌ها را از اکسیژن فعال محافظت کند. لذا، گیاهان تحت تنش شوری، تحت تنش اکسیداتیو نیز قرار می‌گیرند (Hosseini Salekdeh et al. 2002a). در مطالعه‌ای دیگر یک رقم برنج بعد از قرار گرفتن در معرض تنش شوری تحت تجزیه پروتئوم قرار گرفت. برای این منظور گیاهچه‌های ۳ هفته‌ای برنج با ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl تیمار شدند. در مجموع ۳٤ عدد از لکه‌ها دارای فراوانی بیش‌تر و ۲۰ عدد دارای فراوانی کم‌تردر شرایط تنش بودند. تجزیه از طریق MS و جستجو در بانک اطلاعات ۱۲ لکه که ۱۰ پروتئین متفاوت را نشان می‌دادند، تشخیص داد. سه لکه معرف یک پروتئین بنام انولاز بودند. چهار عدد از آن‌ها قبلاً به‌عنوان پروتئین‌های پاسخ-دهنده به شوری تعیین شده بودند. شش پروتئین دیگر نیز جدید بودند. این پروتئین‌ها در متابولیسم انرژی، نیتروژن و کربوهیدرات، حذفROS، ساخت پروتئین‌ها و mRNA و پایداری ساختار سلولی دخیل می‌باشند. این مطالعه نشان داد که تنش‌شوری با تنظیم تولید و مقدار پروتئین‌های مختلف قابل کنترل است (Yan et al. 2005). از طرف دیگر، (2006) Ali and Komatsu به‌منظور ارزیابی تأثیر تنش خشکی در مراحل اولیه رشد برنج بر تغییرات میزان پروتئین‌های غلاف برگ این گیاه آزمایشی انجام دادند. در این بررسی گیاهچه‌های دو هفته‌ای برنج به مدت دو تا شش روز تحت تنش خشکی قرار گرفت و تجزیه پروتئوم توسط الکتروفورز دوبعدی با بعد اول IEF و بعد دوم SDS-PAGE، رنگ‌آمیزی آبی کوماسی و توالی‌یابی کروماتوگرافی مایع انجام شد. نتایج نشان داد که تعداد ۱۰ پروتئین افزایش میزان و ۲ پروتئین کاهش میزان معنی‌داری دارند که با گروه‌بندی این پروتئین‌ها مشخص شد که در فعالیت‌های دفاعی، تأمین انرژی، متابولیسم، ساختار سلولی و ترارسانی پیام نقش دارند. هم‌چنین آن‌ها اظهار داشتند که فاکتور actin depolymerizing یک پروتئین هدف القایی تحت تنش خشکی می‌باشد. Kausar et al. (2013) در تجزیه پروتئوم ژنوتیپ‌های جو به تنش خشکی اظهار داشتند که در مطالعه ژنوتیپ‌های متحمل و حساس پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز همراه با سنتز آمینواسیدها و پروتئین‌های مرتبط با تجزیه پروتئین‌ها میزان متفاوتی داشتند. این نتایج نشان‌دهنده این است که پروتئین‌های مرتبط با متابولیسم کلروپلاستی و تولید انرژی نقش مهمی در سازگاری با شرایط تنش کمبود آب در مرحله گیاهچه‌ای جو دارند. از طرف دیگر، در مطالعه دیگری روی ارقام جو پروتئین آلفا SNAP که در انتقال درون سلولی نقش دارد و نقش حیاتی در بقای سلول در طی تنش بر عهده دارد (Peter et al. 1998) در ارقام متحمل به میزان دو برابر ارقام حساس افزایش یافت که با توجه به نقش این پروتئین، می‌تواند

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

در تحمل به تنش مؤثر باشد (Kausar et al. 2013). در آزمایش دیگری روی گندم دوروم که توسط Caruso et al. (2009) انجام شد، تنش خشکی به مدت هفت روز بر گیاهچه‌های هفت روزه اعمال و با گیاهان شاهد مقایسه شد. تجزیه پروتئوم توسط الکتروفورز دوبعدی در بعد اول به‌صورت IPG و بعد دوم SDS-PAGE، رنگ‌آمیزی توسط کوماسی و طیف سنجی جرمی نشان داد که ۳۶ لکه پروتئینی به‌صورت تکرارپذیر دارای تغییرات معنی‌دار بین تنش و شاهد بودند. با گروه‌بندی این پروتئین‌ها مشخص شد که سهم نسبی این پروتئین‌ها به‌صورت دخالت در گلیکولیز، ۱۸ درصد؛ دخیل در حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، ۱۵ درصد؛ دخیل در بیوسنتز اسیدهای آمینه، ۱۲ درصد؛ در چرخه کالوین، ۹ درصد؛ در مکانیسم‌های دفاعی، ٦ درصد؛ و در تنظیم پس از ترجمه، ۳ درصد بود. در راستای این پژوهش‌ها، در آزمایشی روی کلزا و در شرایط تنش شوری ناشی از کلرورسدیم تجزیه و تحلیل ژل‌های دوبعدی منجر به شناسایی یک پلی‌پپتید ۱۲ کیلودالتونی شد که از افزایش معنی‌داری برخوردار بود (Reviron et al. 1992). این پروتئین که BnD22 نامیده شد، نقش بازدارندگی پروتئازها را دارد و منجر به تعویق پیری برگ‌ها می‌شود. در آزمایش دیگری روی کلزا اجزای زیرواحد مختلف ATP synthase complex شناسایی و تغییر میزان آن‌ها در مطالعه تجزیه پروتئوم مشاهده شد (Albertin et al. 2009). هم‌چنین، Zhu et al. (2010) گزارش کردند که در کلزا در اثر تنش آبسیزیک اسید پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز مانند PSBO و پروتئین‌های فعال‌کننده RuBisCO افزایش بیان نشان می‌دهند. هم‌چنین این پژوهشگران کاهش میزان پروتئین Cu/Zn superoxide dismutase را در سلول‌های محافظ روزنه تحت تنش مشاهده کردند. از طرف دیگر، در آزمایش تجزیه پروتئوم کلزا تحت تنش خشکی گزارش شده‌است که گروه‌های پروتئینی مرتبط با متابولیسم سلولی، پروتئین‌های درگیر با تجزیه و پیچش پروتئین‌ها و ترارسانی پیام تحت تنش کاهش میزان نشان دادند در حالی که پروتئین‌های مرتبط با تولید انرژی (فتوسنتز)، سنتز پروتئین و تولید پروتئین‌های دفاعی در سلول افزایش میزان داشتند (Koh et al. 2015).

هدف این پژوهش مقایسه الگوی الکتروفورز دوبعدی ارقام حساس و متحمل کلزا تحت تنش شوری و خشکی و در نهایت شناسایی پروتئین‌های دارای تغییرات میزان تحت هر دو تنش و بررسی نقش این پروتئین‌ها در مسیرهای ترارسانی مولکولی و ایجاد تحمل به تنش شوری و خشکی بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش دو رقم کلزای بهاره به‌نام‌های SW5001 به‌عنوان رقم متحمل و Sarigol به‌عنوان رقم حساس در مرحله گیاهچه‌ای به روش کشت سیستم آبکشت (هیدروپونیک) با استفاده از محلول هوگلند در سال ۹۵-۱۳۹٤ در گلخانه از نظر پاسخ به تنش شوری اعمال شده با NaCl و خشکی اعمال شده با PEG_{6000}[1] مورد ارزیابی قرار گرفتند. مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش در آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار بررسی شدند. در آزمایش تنش شوری فاکتورهای آزمایش شامل شوری از نوع کلریدسدیم در دو سطح صفر (شاهد) و ۳۰۰ میلی‌مولار و ارقام کلزا بود. هم‌چنین در آزمایش تنش خشکی از مقادیر 10% PEG_{6000} (-0.16MP) و 20% PEG_{6000} (-0.52MP) استفاده شد. در مدت آزمایش، دوره روشنایی ١٤ ساعت در نظر گرفته شد و برای تنظیم نور از روشنایی طبیعی و مصنوعی استفاده شد. دمای روزانه ۳±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شبانه ۳±۱۵ درجه سانتی‌گراد برای رشد گیاهچه‌ها فراهم شد. رطوبت نسبی گلخانه در طول مدت انجام آزمایش بین٦٠-٤٥ درصد در نوسان بود. برای یکنواختی کار و عدم تداخل سرعت جوانه‌زنی بذور بر تیمارهای شوری و خشکی در دو آزمایش جداگانه اقدام به تهیه نشا از ارقام شد. زمان نشا پنج روز پس از خیساندن رقم آخر و شروع تنش سه هفته بعد از نشا گیاهچه‌ها در بستر اصلی بود. تنش شوری به‌صورت تدریجی و هر روز به میزان ۵۰ میلی‌مولار اعمال شد. غلظت نمک کلرور سدیم در تیمار شوری و هم‌چنین هدایت الکتریکی محلول‌ها به‌طور روزانه کنترل شد. هم‌چنین در آزمایش تنش خشکی، اعمال پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد به‌صورت

[1] Polyethylene Glycol 6000

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

تدریجی و از زمان شروع تنش، هر روز مقدار پنج درصد پلی-اتیلن گلیکول به سطح تنش بود، به‌طوری که سطح ۲۰ درصد آن پس از چهار روز فراهم شد. دو هفته پس از اعمال هر دو تنش شوری و خشکی و در پایان مرحله روزت، نمونه‌برداری از برگ-های کلزا برای تجزیه پروتئوم انجام شد. برای استخراج پروتئین، محلول شماره یک شامل ۹ میلی‌لیتر استن، دو میلی‌لیتر TCA ۱۰۰ درصد و ۱٤ میکرولیتر ۲- مرکاپتواتانول تهیه شد. ۰/۵ گرم بافت برگی در ازت مایع خرد شده و سپس در دو میلی‌لیتر از محلول شماره یک یکنواخت شد. در مرحله بعد، عصاره اولیه به مدت یک ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و هر ۱۵ دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه (تا یک دقیقه) به‌طور کامل ورتکس شد. سپس سانتریفوژ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد، با دور ۹۰۰۰g و به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. با حذف روشناور، یک میلی‌لیتر از محلول شماره دو (متشکل از ۱۰ میلی‌لیتر استون و هفت میکرولیتر ۲- مرکاپتواتانول) روی رسوب ریخته شده و ورتکس شد. پس از این مرحله نمونه به مدت یک ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و هر ۱۵ دقیقه یک بار به مدت ۳۰ ثانیه (تا یک دقیقه) ورتکس شد. سپس سانتریفوژ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۲۰۰۰۰g و به مدت پنج دقیقه انجام شد که با حذف روشناور، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول شماره دو بر روی رسوب افزوده شده و ورتکس شد. این مرحله، دو بار دیگر نیز تکرار شد. در نهایت با حذف روشناور، رسوب خشک شد و در بافر لیز حل شد (Damerval et al. 1986).

رسوب حاصل از مرحله قبل با ٤۰۰ میکرولیتر بافر لیز (4.8 g Urea، 0.2ml NP-40، 0.2ml Ampholine (pH=3.5-10)، 0.5g Polyvinylpyrrolidone-40) حل شده و یک ساعت در دمای اتاق ورتکس شد. سپس سانتریفوژ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دور ۲۰۰۰۰g و به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. با انتقال روشناور به تیوپ جدید، سانتریفوژ با مشخصات قبل تکرار شده و در نهایت ۱۲۰ میکرولیتر از روشناور جهت بارگذاری در بعد اول به کار رفت (Damerval et al. 1986). الکتروفورز بعد اول به روش نوارهای IPG[1] و الکتروفورز بعد دوم به روش SDS-PAGE انجام شد (Herbert 1999). ژل‌های بعد دوم به-صورت دو تکه (شامل ژل جداکننده (Separating gel 15%) و ژل نگه دارنده (Stacking gel 5%) تهیه شدند. نوارهای بعد اول بر روی ژل‌های بعد دوم قرار گرفته و با استفاده از آگارز یک درصد به آن‌ها متصل شدند. در نهایت عملیات رانش با جریان ۳۵ میلی‌آمپر برای هر ژل انجام شد.

پس از پایان الکتروفورز بعد دوم رنگ‌آمیزی با استفاده از محلول آبی کوماسی انجام شد. سپس ژل‌ها به مدت دو ساعت روی شیکر قرار داده شدند. پس از سپری شدن زمان فوق، محلول رنگ آمیزی دور ریخته شده و محلول رنگ زدا (Destaining) تا پوشاندن کامل ژل‌ها به آن اضافه شد. رنگ‌زدایی به مدت یک شب روی شیکر انجام شد. سپس رنگ‌زدایی به مدت حداکثر ۳۰ دقیقه تکرار و سپس ژل‌ها جهت تصویربرداری مورد استفاده قرار گرفتند.

جهت تصویربرداری ژل‌ها از دستگاه اسکنر GS-800Bio-Rad استفاده شد. تجزیه کمی لکه های پروتئینی با نرم‌افزار PDQuest انجام شد. پس از تعیین لکه‌های پروتئینی با تغییرات میزان معنی-دار از دستگاه طیف‌سنجی جرمی دو مرحله‌ای (MS/MS) به همراه کروماتوگرافی مایع و ابزارهای بیوانفورماتیک برای شناسایی لکه‌ها استفاده شد. داده‌های حاصل از اسپکترومتری با نرم‌افزار بیوورکس (ver.3.3.1, Thermo Fisher) (Bioworks software) به فرمت قابل استفاده با موتور جستجوگر مسکات تبدیل شد. در نهایت لکه‌های پروتئینی تکرار دار در دو رقم متحمل و حساس توسط نرم‌افزار PDQuest شناسایی و برچسب زده شد. درصد حجمی این نقاط تکراردار که توسط نرم افزار کمی شده بودند، مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. در تجزیه واریانس برای انتخاب نقاط پروتئینی که نسبت به تنش عکس العمل معنی‌دار نشان داده بودند، سطح احتمال معنی داری پنج درصد مد نظر قرار گرفت. از بین نقاط انتخاب شده معنی‌دار، نقاطی که IF[2] آن‌ها بزرگ‌تر از ۲ و یا کوچک‌تر از ۰/۵ بود، مورد انتخاب نهایی قرار گرفتند. نقطه‌ای دارای IF بزرگتر از واحد است که تحت تنش شوری افزایش میزان نشان داده است. برای کاهش ریسک این مقدار بزرگ‌تر از ۲ گرفته شد. در مقابل، نقاط دارای IF کمتر از واحد دارای کاهش میزان تحت تنش شوری هستند و

[1] Immobilized pH Gradient

[2] Induction Factor

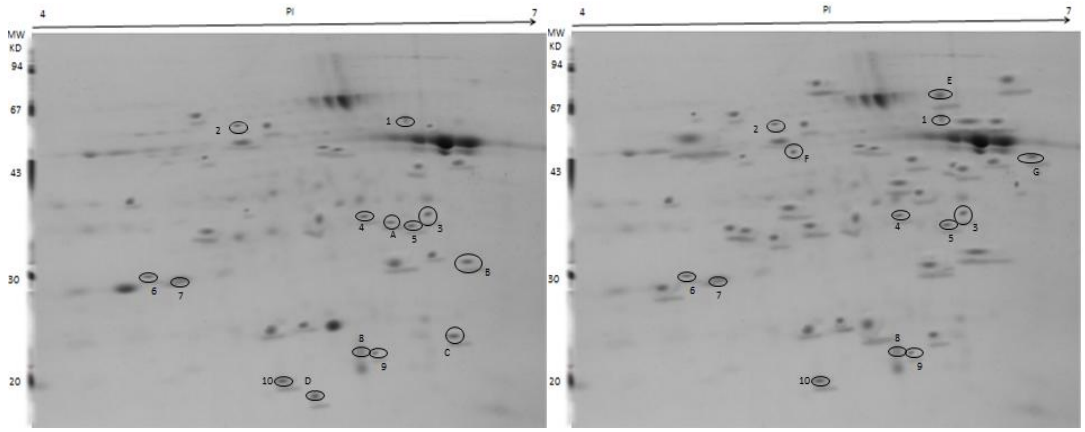
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

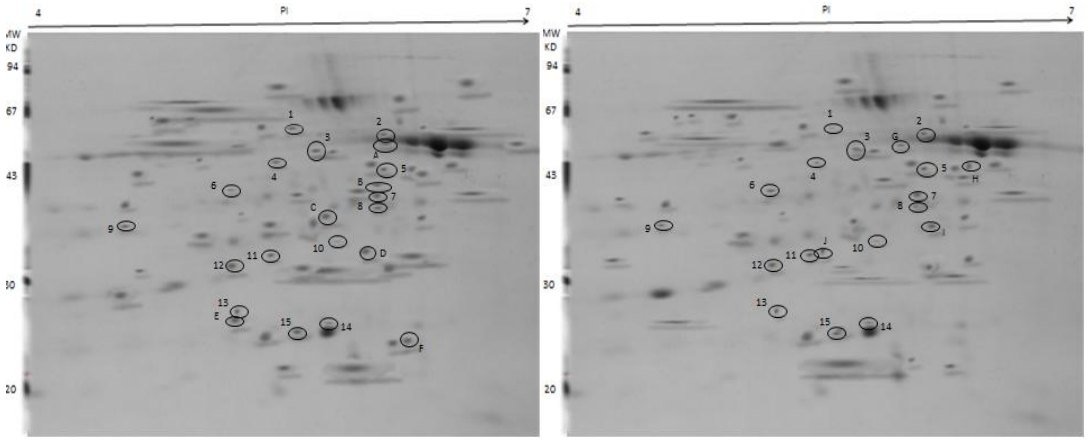
در اینجا هم برای کاهش ریسک، مقدار کمتر از ۰/۵ مد نظر قرار گرفت.

نتایج و بحث

از مجموع لکه‌های شناسایی شده بر روی ژل‌های رنگ‌آمیزی شده تعداد پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش شوری به‌ترتیب در رقم SW5001 و Sarigol، ۱٤ و ۱۳ و تحت تنش خشکی ۲۱ و ۱۹ بود که از این تعداد در شرایط تنش شوری ۱۰ لکه پروتئینی بین دو رقم مشترک بودند و چهار لکه فقط در رقم SW5001 تغییر میزان داشت و سه لکه هم تنها در رقم Sarigol تحت تنش تغییر میزان معنی‌دار نشان داد. به‌عبارت دیگر تحت تنش شوری در مجموع ۱۷ لکه پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش در این آزمایش در هر دو رقم شناسایی شد. در حالی‌که تحت تنش خشکی ۱۵ لکه پروتئینی بین دو رقم مشترک بودند و شش لکه فقط در رقم SW5001 تغییر میزان داشت و چهار لکه هم تنها در رقم Sarigol تحت تنش تغییر میزان معنی‌دار نشان دادند و در مجموع ۲۵ لکه پروتئینی پاسخ‌دهنده به تنش خشکی در هر دو رقم شناسایی شد. تصویر ژل مرجع مربوط به دو رقم SW5001 و Sarigol تحت هر دو تنش در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده‌است.



شکل ۱- ژل مرجع رقم SW5001 (سمت چپ) و رقم Sarigol (سمت راست) که در آن لکه‌های پروتئینی مشترک پاسخ دهنده به تنش شوری با شماره و لکه‌های غیر مشترک با حروف انگلیسی مشخص شده‌است.



شکل ۲- ژل مرجع رقم SW5001 (سمت چپ) و رقم Sarigol (سمت راست) که در آن لکه‌های پروتئینی مشترک پاسخ دهنده به تنش خشکی با شماره و لکه‌های غیر مشترک با حروف انگلیسی مشخص شده‌است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

بر اساس نتایج می‌توان اظهار داشت که در رقم متحمل تعداد پروتئین‌های دارای افزایش میزان در شرایط تنش شوری و خشکی نسبت به رقم حساس بیش‌تر بود (جدول ۱ و ۲). بیش‌تر بودن تعداد پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش در رقم SW5001 و هم‌چنین افزایش میزان اکثر پروتئین‌های معنی‌دار در این رقم نسبت به رقم حساس بیانگر این است که این رقم با دخالت دادن پروتئین‌های مختلف و افزایش میزان آن‌ها تحت تنش شوری و خشکی عکس‌العمل بهتری نسبت به رقم حساس جهت حفظ رشد خود داشته است. Hosseini Salekdeh et al. (2002b) در مطالعه پروتئوم ارقام حساس و متحمل برنج نسبت به تنش خشکی، زیاد بودن تعداد پروتئین‌های دارای افزایش میزان در رقم متحمل را گزارش کرده‌اند و این نتایج مشابه نتایج مطالعه حاضرروی دو رقم کلزا می‌باشد.

از بین پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش شوری آن‌هایی که بر روی ژل‌های رنگ‌آمیزی شده با آبی کوماسی قابل مشاهده بودند، جدا شده و برای انجام اسپکترومتری جرمی استفاده شدند. ۱۷ پروتئین در تنش شوری و ۲۵ پروتئین در تنش خشکی با استفاده از روش MALDI TOF/TOF MS مورد شناسایی قرار گرفت (جدول ۳). در روش MALDI TOF، شناسایی پروتئین‌ها به‌روش انگشت‌نگاری جرم پپتید (PMF) صورت می‌گیرد (Twyman 2004). جایگاه پروتئین‌های شناسایی شده در ژل در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند.

در مجموع ۱۰ لکه پروتئینی که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده‌است به‌طور مشترک بین دو رقم متحمل و حساس شناسایی شد که تحت تنش شوری تغییر میزان نشان دادند. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده‌است بر اساس عملکرد این پروتئین‌ها در داخل سلول، گروه‌بندی پروتئین‌ها انجام شد و بیش‌ترین درصد پروتئین‌های مشترک به‌ترتیب مربوط به واکنش نوری فتوسنتز (٤ پروتئین)، چرخه کالوین (۲)، حذف آنتی‌اکسیدان (۲)، ترارسانی علامت (۱) و تولید انرژی (۱) بودند. علاوه بر آن چهار لکه پروتئینی تنها در رقم متحمل تظاهر داشتند که بیش‌تر مربوط به واکنش نوری فتوسنتز بودند که با توجه به افزایش آن‌ها در جهت تقویت جذب و استفاده از نور تحت تنش فعالیت داشتند. در حالی که سه لکه پروتئینی تنها در رقم حساس دیده شدند که بیش‌تر مرتبط با چرخه کالوین بودند که با توجه به کاهش میزان آن‌ها نشان‌دهنده کاهش روند تولید قند تحت تنش در رقم حساس است (جدول ۱).

در دو رقم بیش‌ترین پروتئین‌ها مربوط به واکنش نوری فتوسنتز، چرخه کالوین و پروتئین‌های دخیل در حذف آنتی اکسیدان بودند که این امر نشان‌دهنده اهمیت متابولیسم کربن و هموستازی تحت تنش شوری می‌باشد. واکنش شیمیایی وابسته به نور (Photolysis) در مجموعه درگیر اکسیژن (OEC)[1] مرکز واکنش فتوسیستم II انجام می‌شود (Heide et al. 2004). زیرواحد فرعی کمپلکس PSII پروتئین‌هایی هستند که در سیستم فتوسنتزی نقش دارند و به‌عنوان پروتئین‌های OEC شناخته می‌شوند و در پایداری کمپلکس PSII نقش دارند (Ifuku et al. 2008). اختلال در این پروتئین‌ها باعث زیان نوری به فتوسیستم II می‌شود (Takahashi and Murata 2008). بنابراین با توجه به کاهش میزان یا عدم بیان این پروتئین‌ها در رقم حساس Sarigol که شامل لکه‌های پروتئینی ۳ و ٤ هستند، باعث اختلال در فعالیت فتوسیستم II شده و در نهایت کارایی واکنش نوری کاهش می‌یابد. در حالی‌که در رقم متحمل SW5001 این پروتئین‌ها و هم‌چنین لکه پروتئینی C افزایش میزان داشتند. این نتایج نشان می‌دهد که تنش شوری یکی از اجزای مهم ماشین فتوسنتز یعنی، چرخش اکسیژن و کمپلکس فتوسیستم II را به‌شدت تحت تأثیر قرار داده است و از این رو، در پیری برگ‌ها و احتمالاً مرگ تدریجی سلولی مشارکت خواهد داشت. بر اساس گزارش Komatsu and Tanaka (2004)، در تجزیه پروتئوم غلاف برگ‌های برنج تحت تنش شوری کلرور سدیم، فراوانی این گروه از پروتئین‌ها در پاسخ به تنش شوری افزایش یافته است که بیانگر نقش حفاظتی این پروتئین‌ها در برابر تنش است. از طرف دیگر، پروتئین‌های PSBO-2 که در این تحقیق در دو ایزوفرم مختلف ظاهر شدند (لکه‌های ٦ و ۷)، متعلق به خانواده Oxygen evolving هستند و گروه منگنز را که سایت اصلی شکسته شدن مولکول آب است، پایدار نگه می‌دارد (Kumara et al. 2003). این پروتئین‌ها در رقم متحمل افزایش میزان و در رقم حساس کاهش میزان داشتند. در این راستا، Zhu et al. (2010) گزارش کردند که در کلزا در اثر تنش

[1] Oxygen-evolving complex

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

آبسیزیک اسید پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز مانندPSBO در رقم متحمل افزایش میزان نشان می‌دهند. از طرف دیگر، روبیسکو یک آنزیم کلیدی برای تثبیت دی‌اکسیدکربن در فتوسنتز است که از چندین زیر واحد بزرگ کاتالیز کننده[1] (لکه‌های شماره ۱ و ۱۰) و چند زیر واحد کوچک تنظیم‌کننده[2] تشکیل شده‌است (Spreitzer and Salvucci 2002). در این آزمایش هر دو لکه شماره ۱ و ۱۰ در رقم SW5001 افزایش میزان بیش‌تری نسبت به رقم Sarigol تحت تنش نشان داد (شکل ۳). Ye et al. (2013) گزارش کردند که بعد از تنش ۷۲ ساعته پلی‌اتیلن‌گلیکول میزان روبیسکو در برگ‌های گندم افزایش می‌یابد که این افزایش و تغییر، گندم را در طی تنش اسمزی کمک می‌کند تا با افزایش استفاده از دی-اکسیدکربن و کارایی ماده‌سازی فتوسنتر بر تنش غلبه کند. Wan and Liu (2008) و Naghavi et al. (2010) نیز افزایش این آنزیم را به‌ترتیب در برگ گیاهچه‌های برنج و کلزا تحت تنش پراکسیدهیدروژن و اسمزی گزارش کردند.

کمبود آب موجب بسته شدن روزنه‌های برگ می‌شود و این امر باعث کاهش جریان دی‌اکسیدکربن به داخل برگ شده و باعث افزایش هیدرولیز نشاسته و تجمع قندها و هم‌چنین کاهش بازدهی محصولات فتوسنتزی می‌شود. همه این تغییرات در نتیجه کاهش فتوسنتز اتفاق می‌افتد (Yordanov et al. 2003). روبیسکو یک آنزیم کلیدی برای تثبیت دی‌اکسیدکربن در فتوسنتز است که از چندین زیر واحد بزرگ کاتالیز کننده (لکه‌های پروتئینی مشترک ۱ و ۱۰) و چند زیر واحد کوچک تنظیم‌کننده تشکیل شده‌است (Spreitzer and Salvucci 2002). در تجزیه پروتئوم غلاف برگ برنج در طی تنش کمبود آب گزارش شده که زیر واحد بزرگ روبیسکو کاهش یافته است (Ali and Komatsu 2006).

Costa et al. (1998) نیز شواهدی مبنی بر تجزیه زیر واحد بزرگ روبیسکو در طی تنش کمبود آب مشاهده کردند. هم‌چنین، در آزمایش Han et al. (2009) نیز در شرایط تنش گرما زیرواحد بزرگ روبیسکو کاهش میزان نشان داد. افزون بر این، در طی تنش آبسیزیک‌اسید این پروتئین‌ها کاهش میزان نشان دادند (Zhu et al. 2010). هم‌چنین کاهش میزان زیرواحد بزرگ روبیسکو در طی تنش خشکی در لاین‌های حساس گندم گزارش شده‌است که نشان‌دهنده نقش آن در تحمل تنش خشکی در گندم می‌باشد (Demirevska et al. 2009). Zhu et al. (2010) گزارش کردند که در کلزا در اثر تنش آبسیزیک اسید در رقم متحمل پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز مانندPSBO (لکه‌های مشترک شماره ٦ و ۷) افزایش میزان نشان می‌دهند. در این پژوهش هم‌چنین پروتئین‌های فعال‌کننده RuBisCO (لکه پروتئینی G در رقم Sarigol) در رقم متحمل افزایش میزان و در رقم حساس کاهش میزان نشان دادند. حضور پروتئین‌های copper/zinc superoxide dismutase (لکه شماره ۹) و type 2 peroxiredoxin (لکه شماره ۸) دلالت بر القای تنش اکسایشی به‌همراه تنش شوری است. پروتئین‌های گروه superoxide dismutase (SOD) در واقع اولین خط دفاعی در برابر ROS محسوب می‌شوند که سوپر اکسید را به مولکول-های پراکسید هیدروژن که سمیت کمتری دارند تبدیل می‌کنند. در غیاب دی اکسید کربن کافی به‌عنوان پذیرنده نهایی الکترون، الکترون‌ها از غشا فتوسنتزی به سمت مولکول‌های اکسیژن از طریق واکنش Mehler جاری شده و یون‌های سوپر اکسید را بوجود می آورند (Cakmak 2005). در پاسخ به تنش شوری، فراوانی Cu-Zn SOD کلروپلاستی (لکه شماره ۹) در رقم حساس (Sarigol) افزایش میزان کمتری داشت امّا افزایش میزان در رقم متحمل SW5001 بیشتر از رقم حساس بود. همسو با این نتایج، تجمع SOD در رقم متحمل برنج و کاهش فراوانی آن در رقم حساس در پاسخ به تنش شوری گزارش شده‌است (Komatsu and Tanaka 2004).

کمتر بودن این پروتئین در برگ‌های تحت تنش Sarigol بیانگر سطح بالای تولید رادیکال‌های هیدروکسیل در کلروپلاست‌های این رقم می‌باشد. به‌عبارت دیگر، در شرایط تنش شوری که میزان تولید ROS افزایش می‌یابد، تعادل بین تولید و حذف آن میزان اثر تنش اکسایشی و هم‌چنین میزان حساسیت نسبت به آن را می-رساند (Sun et al. 2006).

در بررسی الگوی باندی تحت تنش خشکی در مجموع ۱۵ لکه پروتئینی به‌طور مشترک بین دو رقم متحمل و حساس شناسایی شد که تغییر میزان نشان دادند (جدول ۲).

[1] Catalytic large subunits
[2] Regulative small subunits

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

جدول ۱- مشخصات ۱۰ لکه پروتئینی مشترک شناخته شده از کل لکه‌های معنی‌دار و چهار لکه غیر مشترک در رقم SW5001 و سه لکه غیر مشترک در رقم Sarigol کلزا تحت تنش شوری

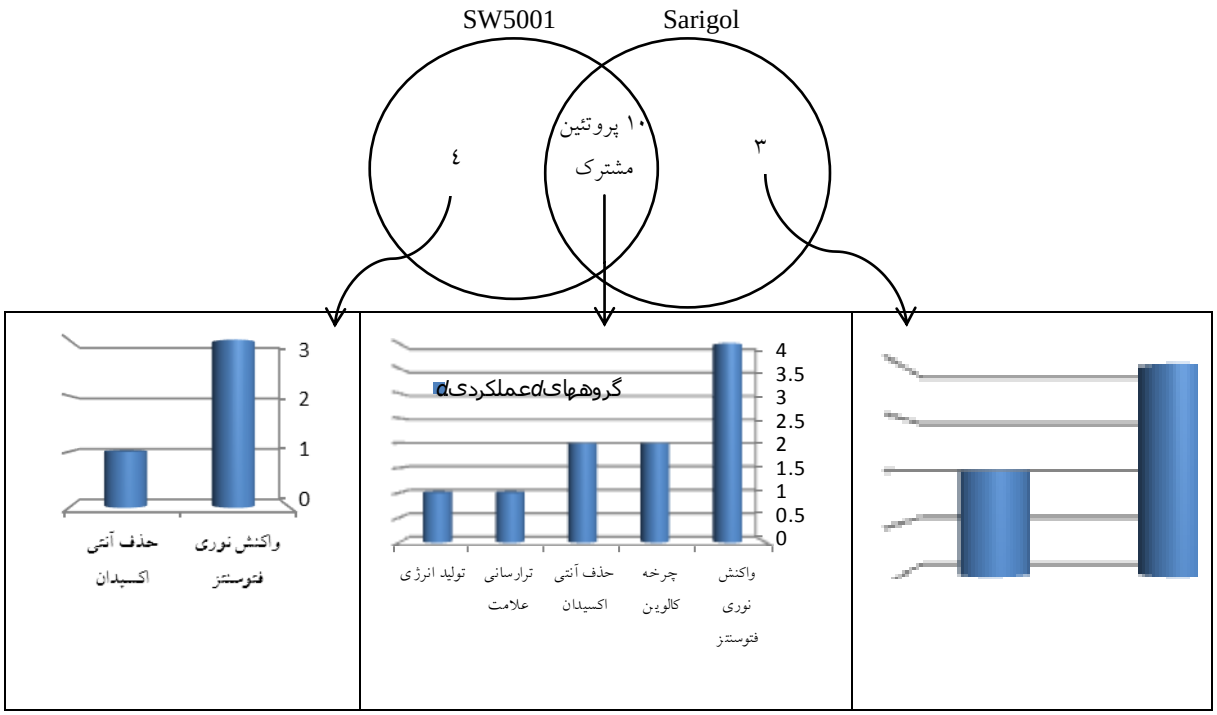
گروه عملکردی پروتئین	شماره لکه	تجربی		تئوری		اسم پروتئین	Accession number	روند تغییر میزان در رقم متحمل SW5001	روند تغییر میزان در رقم حساس Sarigol
		MW	pI	MW	pI				
چرخه کالوین	1	64	6.00	52.5	6.09	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-large subunit	gi|52001641	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
ترارسانی علامت	2	61.01	5.10	53.88	5.06	ATP synthase CF1 beta subunit	gi|14017579	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
واکنش نوری فتوسنتز	3	37.5	6.20	37	6.78	Oxygen evolving photosystem II protein	gi|474352688	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
واکنش نوری فتوسنتز	4	37.2	5.92	27.42	8.84	Oxygen-evolving enhancer protein 2, (OEE2)	gi|131394	افزایش	کاهش
تولید انرژی	5	35	6.14	33	7.67	Triose-phosphate isomerase	gi|1174749	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
واکنش نوری فتوسنتز	6	31	4.95	35	5.92	PSBO-2/PSBO2 (photosystem II subunit o-2) oxygen evolving	gi|15230324	افزایش	کاهش
واکنش نوری فتوسنتز	7	30.1	5.05	35	5.92	PSBO-2/PSBO2 (photosystem II subunit o-2) oxygen evolving	gi|15230324	افزایش	کاهش
حذف آنتی اکسیدان	8	25	5.67	17	5.37	Type 2 peroxiredoxin	gi|473787383	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
حذف آنتی اکسیدان	9	24.5	5.95	22.2	6.28	Copper/Zinc superoxide dismutase	gi|3273753	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
چرخه کالوین	10	20.2	5.35	17.7	5.43	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	gi|156143205	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
واکنش نوری فتوسنتز	A	36	6.00	24.44	8.11	light-harvesting complex I, partial (chloroplast)	gi|544700	افزایش	-
واکنش نوری فتوسنتز	B	31.62	6.38	29.30	8.69	Chlorophyll a-b binding protein 8, chloroplastic	gi|474121685	افزایش	-
واکنش نوری فتوسنتز	C	26	6.30	14	9.71	Photosystem II oxygen-evolving complex protein 2	gi|474352688	افزایش	-
حذف آنتی اکسیدان	D	18.2	5.45	22.2	6.28	Copper/Zinc superoxide dismutase	gi|3273753	افزایش	-
پروتئین شوک گرمایی	E	73.2	6.10	76.36	6.16	Heat shock 70 kDa protein, mitochondrial	gi|473970552	-	کاهش
چرخه کالوین	F	47.20	5.20	42.21	5.94	Fructose-bisphosphate aldolase, chloroplastic	gi|473848356	-	کاهش
چرخه کالوین	G	42.5	6.50	51.24	6.9	Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase activase A, chloroplastic	gi|474153435	-	کاهش

گروه‌بندی پروتئین‌ها بر طبق عملکرد این پروتئین‌ها در داخل سلول انجام شد و بیش‌ترین درصد پروتئین‌های مشترک به‌ترتیب مربوط به واکنش نوری فتوسنتز (٦ پروتئین)، چرخه کالوین (٤)، حذف آنتی‌اکسیدان (۲)، سنتز یا تجزیه پروتئین، انتقال پروتون و پروتئین شوک گرمایی (هر کدام یک پروتئین) بودند (شکل ٤). علاوه بر آن شش لکه پروتئینی تنها در رقم متحمل تظاهر داشتند که بیش‌تر مربوط به چرخه کالوین و واکنش نوری فتوسنتز بودند که با توجه به افزایش آن‌ها در جهت تقویت جذب و استفاده از نور تحت تنش فعالیت داشتند. در حالی‌که چهار لکه پروتئینی تنها در رقم حساس دیده شدند که بیشتر مرتبط با چرخه کالوین بودند که با توجه به کاهش میزان آن‌ها نشان‌دهنده کاهش روند تولید قند تحت تنش در رقم حساس است (جدول ۳ و شکل ٤).

در مجموع در هر دو رقم بیش‌ترین تعداد پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش مربوط به واکنش نوری فتوسنتز و چرخه کالوین بود. به‌عبارت دیگر، در مجموع بیش‌ترین تعداد پروتئین‌ها مربوط به پروتئین‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات بودند. در این گروه عملکردی بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی و مسیرهای متابولیکی از قبیل واکنش نوری فتوسنتز، چرخه کالوین، بیوسنتز قندها، گلیکولیز و سیستم شاتلینگ مالات/اگزالواستات وجود داشتند. در نتیجه میزان مشارکت بالای پروتئین‌ها در این گروه نشان‌دهنده اهمیت بالای این دسته از پروتئین‌ها در رشد و نمو گیاه و مقابله با تنش خشکی است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]



شکل ۳- تعداد و گروه‌بندی پروتئین‌های مشترک و غیر مشترک پاسخ دهنده به تنش شوری در ارقام SW5001 و Sarigol

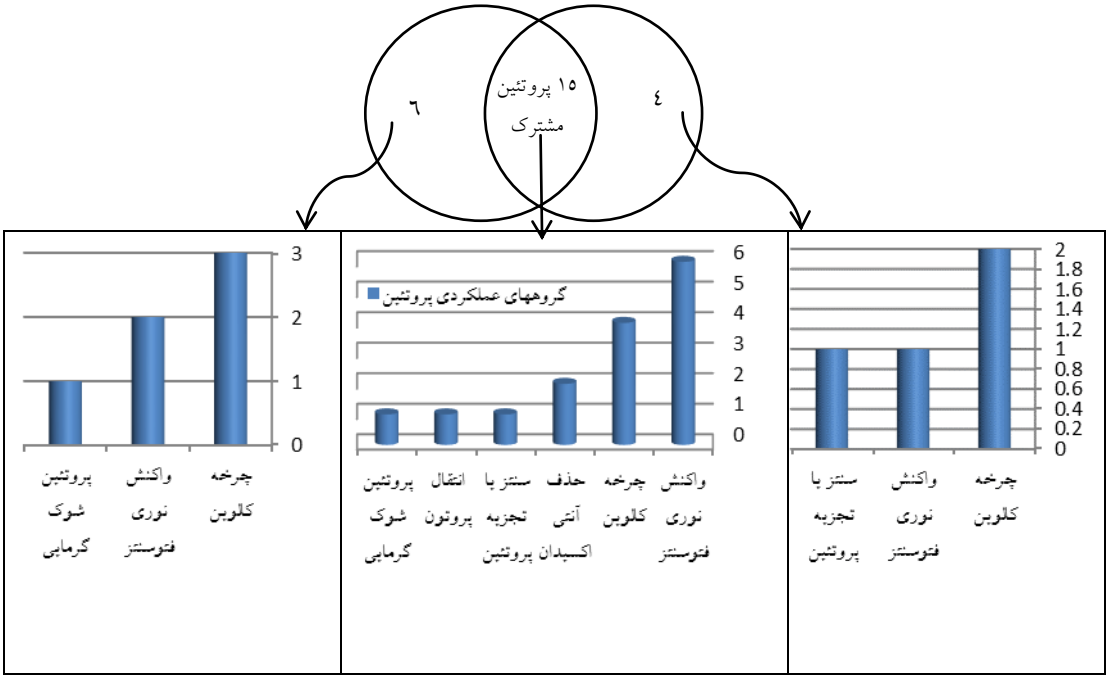
این نتایج مشابه نتایج به‌دست آمده در مطالعه پروتئوم ذرت (Porubleva et al. 2001)، برنج (Nozu et al. 2006) و گندم (Naghavi et al. 2014) می‌باشد. در مجموع، در دو رقم SW5001 و Sarigol بیش‌ترین پروتئین‌های مشترک درگروه واکنش نوری فتوسنتز مربوط به، پروتئین‌های OEC (شامل لکه-های پروتئینی مشترک ۲، ۵ و ۱۱، لکه پروتئینی C و B در SW5001 و هم‌چنین لکه پروتئینی H در Sarigol) بودند. با توجه به کاهش میزان این پروتئین‌ها در رقم حساس Sarigol، فعالیت فتوسیستم II مختل شده و در نهایت کارایی واکنش نوری کاهش می‌یابد. در حالی‌که در رقم متحمل SW5001 این پروتئین‌ها افزایش میزان داشتند. از طرف دیگر، پروتئین HCF136 (لکه مشترک ۹) که یک پروتئین اساسی برای تعمیر، ساخت و پایداری کمپلکس فتوسیستم II می‌باشد (Plucken et al. 2002) و در تجزیه پروتئوم گندم تحت تنش خشکی کاهش میزان آن گزارش شده‌است (Ford et al. 2011)، در این آزمایش در رقم SW5001 نسبت به رقم Sarigol کاهش میزان کمتری نشان داد.

در طی فتوسنتز، انرژی نوری توسط رنگیزه‌های فتوسنتزی در کلروپلاست جذب شده و از طریق دستگاه فتوسنتزی به انرژی شیمیایی تبدیل می‌شود و این انرژی شیمیایی در تثبیت دی-اکسیدکربن طی چرخه کالوین استفاده می‌شود. تحت شرایط تنش کمبود آب، غلظت دی‌اکسیدکربن در برگ‌ها در اثر بسته شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد (Kaiser and Kappen 1997) در نتیجه منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در چرخه کالوین می‌شود (Chaves et al. 2002). در گیاهانی که با تنش کمبود آب مواجه می‌شوند انرژی نوری جذب شده از طریق رنگیزه‌های فتوسنتزی بیشتر از نسبت مصرف آن در چرخه کالوین است که علت آن کاهش فعالیت چرخه کالوین و کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در این چرخه می‌باشد. در نتیجه به دستگاه فتوسنتزی مخصوصاً پروتئین‌های هسته‌ای D_1 و D_2 مرکز واکنش فتوسیستم II) زیان نوری وارد می‌شود (Aro et al. 1993). گیاهان برای جلوگیری از زیان نوری به دستگاه فتوسنتزی، چندین مکانیسم شامل تعدیل آنتن‌های جذب کننده نور (که پروتئین‌ها در این آنتن‌ها LHC نامیده می‌شوند) (لکه پروتئینی مشترک شماره ۱) و کاهش اندازه آنتن‌ها برای کاهش جذب نور را انجام می‌دهند (Eberhard et al. 2008). از طرف دیگر، TL29 (لکه پروتئینی مشترک شماره ۱۰) که یک پروتئین ۲۹ کیلودالتونی است و در لومن تیلاکوئید قرار گرفته است (Kieselbach et al. 2000)، بر اساس تشابه بالایی که با اسکوربات پراکسیداز (APX) دارد APX4 نیز گفته می‌شود و

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

قبلاً تصور بر این بود که در حفاظت سلول‌ها علیه گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد (Panchuk et al. 2005). اخیراً بر اساس آزمایشات Granlund et al. (2009) گزارش شده‌است که این پروتئین‌ها در ارتباط با فتوسیستم II و بازدارندگی زیان نوری به این فتوسیستم نقش دارند.

از طرف دیگر، در دو رقم SW5001 و Sarigol بیش‌ترین پروتئین‌ها درگروه چرخه کالوین زیرواحد بزرگ روبیسکو بودند. روبیسکو یک آنزیم کلیدی برای تثبیت دی‌اکسیدکربن در فتوسنتز است که از چندین زیر واحد بزرگ کاتالیز کننده (شامل لکه‌های پروتئینی مشترک ۳، ۱۳ و هم‌چنین لکه پروتئینی D در SW5001) و چند زیر واحد کوچک تنظیم‌کننده (شامل لکه پروتئینی A در SW5001) تشکیل شده است (Santos et al. 2004). در تجزیه پروتئوم غلاف برگ برنج در طی تنش کمبود آب توسط گزارش شده‌است که زیر واحد بزرگ و کوچک روبیسکو کاهش یافته است (Ali and Komatsu 2006). هم‌چنین کاهش میزان زیرواحد کوچک روبیسکو در طی تنش خشکی در لاین‌های حساس گندم گزارش شده که نشان‌دهنده نقش آن در تحمل به تنش خشکی در گندم می‌باشد (Demirevska et al. 2009). از طرف دیگر، گزارش شده‌است که پروتئین‌های مرتبط با فتوسنتز مانند پروتئین اتصال یافته به روبیسکو، روبیسکو اکتیواز (شامل لکه پروتئینی مشترک ٦ و هم‌چنین لکه پروتئینی J در Sarigol) در رقم حساس جو کاهش میزان نشان دادند، در حالی که این پروتئین‌ها در رقم متحمل جو تغییر میزان نداشته و یا افزایش میزان نشان دادند (Kausar et al. 2013). از طرف دیگر، مرحله یا فاز سوم چرخه کالوین توسط یکسری واکنش‌های آنزیمی شناخته می‌شود که تریوز فسفات را به RuBP تبدیل می‌کند (Macdonald and Bauchanan 1997). برخی از آنزیم‌های واسطه یا میانجی در این فاز شامل sedoheptulose-1,7-biphosphate و fructose 1,6-biphosphate aldolase (لکه مشترک شماره ٤، لکه پروتئینی E در SW5001 و هم‌چنین لکه پروتئینی G در Sarigol) می‌باشند. این دو آنزیم با همدیگر واکنشی را کاتالیز می‌کنند که نتیجه آن تشکیل ribulose-5-phosphate می‌باشد. سپس ribulose-5-phosphate فسفریله شده و RuBP را تشکیل دهد که این فسفریله شدن توسط فسفوریبولوکیناز انجام می‌شود که در مطالعه حاضر شناسایی شد. بعضی از تریوزفسفات‌های تولید شده در چرخه کالوین برای بیوسنتز قند و نشاسته استفاده می‌شوند (Tamoi et al. 2005). در مجموع با توجه به کاهش میزان پروتئین‌های ذکر شده، رقم Sarigol در مسیر متابولیکی چرخه کالوین تحت تنش خشکی آسیب بیشتری می‌بیند.



شکل ٤- تعداد و گروه‌بندی پروتئین‌های مشترک و غیر مشترک پاسخ دهنده به تنش خشکی در ارقام SW5001 و Sarigol

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

جدول ۲- مشخصات ۱۵ لکه پروتئینی مشترک شناخته شده از کل لکه‌های معنی‌دار در رقم SW5001 و Sarigol کلزا تحت تنش خشکی

گروه عملکردی پروتئین	شماره لکه	تجربی		تئوری		اسم پروتئین	Accession number	روند تغییر میزان در رقم متحمل SW5001	روند تغییر میزان در رقم حساس Sarigol
		MW	pI	MW	pI				
واکنش نوری فتوسنتز	1	62	5.53	24.44	8.69	light-harvesting complex I, partial (chloroplast)	gi|544700	کاهش کمتر	کاهش بیشتر
واکنش نوری فتوسنتز	2	61	6.10	14	9.71	Photosystem II oxygen-evolving complex protein 2	gi|474352688	افزایش	کاهش
چرخه کالوین	3	53.1	5.72	53.4	6.2	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase Large subunit	gi|61378609	افزایش	کاهش
چرخه کالوین	4	45.5	5.44	42.21	5.94	Fructose-bisphosphate aldolase, chloroplastic	gi|473848356	افزایش	کاهش
واکنش نوری فتوسنتز	5	43.9	6.10	27.42	8.84	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	gi|131394	افزایش	کاهش
چرخه کالوین	6	42.1	5.30	47.34	8.62	ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activase isoform	gi|167096	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
سنتز یا تجزیه پروتئین	7	40.5	6.25	39.9	6.5	Triticain gamma	gi|111073719	افزایش	کاهش
انتقال پروتون	8	40.2	6.02	53.88	5.06	ATP synthase CF1 beta subunit	gi|14017579	افزایش	کاهش
واکنش نوری فتوسنتز	9	39	4.65	37.01	5.4	photosystem II stability/assembly factor HCF136, chloroplastic-like	gi|357117071	کاهش کمتر	کاهش بیشتر
واکنش نوری فتوسنتز	10	38.8	5.80	28.6	7.7	Thylakoid lumenal 29.8 kDa protein	gi|195656049	افزایش	کاهش
واکنش نوری فتوسنتز	11	35.6	5.50	27.42	8.84	Oxygen-evolving enhancer protein 2, (OEE2) chloroplastic	gi|131394	افزایش	کاهش
حذف آنتی اکسیدان	12	33.5	5.31	23.39	5.4	2-Cys peroxiredoxin BAS1, chloroplastic	gi|2499477	افزایش	کاهش
چرخه کالوین	13	27.5	5.34	17.7	5.43	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	gi|156143205	افزایش بیشتر	افزایش کمتر
حذف آنتی اکسیدان	14	25.2	5.80	20.35	5.3	Cu/Zn superoxide dismutase	gi|1572627	افزایش	کاهش
پروتئین شوک گرمایی	15	25	5.55	73.72	4.9	70kDa heat shock protein	gi|254211611	افزایش	کاهش

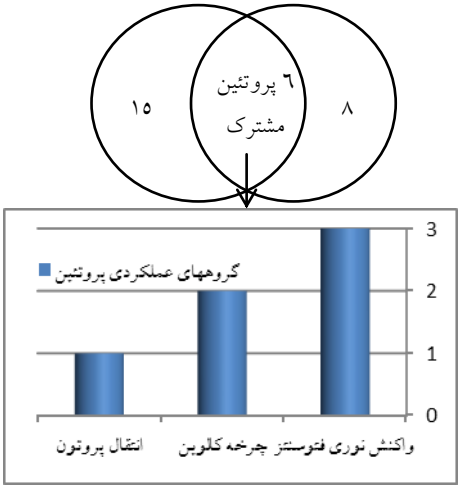
جدول ۳- مشخصات شش لکه پروتئینی غیر مشترک در رقم SW5001 و چهار لکه پروتئینی غیر مشترک در رقم Sarigol تحت تنش خشکی

گروه عملکردی پروتئین	شماره لکه	تجربی		تئوری		اسم پروتئین	Accession number	روند تغییر میزان در رقم متحمل SW5001	روند تغییر میزان در رقم حساس Sarigol
		MW	pI	MW	pI				
چرخه کالوین	A	55.6	6.10	18.80	8.83	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit	gi|4038719	افزایش	-
واکنش نوری فتوسنتز	B	43.5	6.03	27.42	8.84	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	gi|131394	افزایش	-
واکنش نوری فتوسنتز	C	40.0	5.75	27.42	8.84	Oxygen-evolving enhancer protein 2, (OEE2) chloroplastic	gi|131394	افزایش	-
چرخه کالوین	D	35.8	5.90	52.5	6.09	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-large subunit	gi|52001641	افزایش	-
چرخه کالوین	E	27.2	5.30	42.21	5.94	Fructose-bisphosphate aldolase, chloroplastic	gi|473848356	افزایش	-
پروتئین شوک گرمایی	F	24.5	6.15	73.72	4.9	70kDa heat shock protein	gi|254211611	افزایش	-
چرخه کالوین	G	53.7	5.93	42.21	5.9	chloroplast fructose-bisphosphate aldolase	gi|223018643	-	کاهش
واکنش نوری فتوسنتز	H	44.5	6.40	27.42	8.84	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	gi|131394	-	کاهش
سنتز یا تجزیه پروتئین	I	39.0	6.12	24.4	10.1	50S ribosomal protein L10	gi|218192573	-	کاهش
چرخه کالوین	J	35.8	5.45	47.34	8.62	ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activase isoform	gi|167096	-	کاهش

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

جدول ٤- مشخصات شش لکه پروتئینی مشترک در رقم SW5001 تحت تنش شوری و خشکی

گروه عملکردی پروتئین	شماره لکه در شرایط تنش شوری	شماره لکه در شرایط تنش خشکی	اسم پروتئین	Accession number	روند تغییر میزان در شرایط شوری	روند تغییر میزان در شرایط خشکی
واکنش نوری فتوسنتز	A	1	light-harvesting complex I, partial (chloroplast)	gi|544700	کاهش کمتر	کاهش بیشتر
واکنش نوری فتوسنتز	C	2	Photosystem II oxygen-evolving complex protein 2	gi|474352688	افزایش	افزایش
واکنش نوری فتوسنتز	4	5	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	gi|131394	افزایش	افزایش
انتقال پروتون	2	8	ATP synthase CF1 beta subunit	gi|14017579	افزایش بیشتر	افزایش
چرخه کالوین	10	13	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	gi|156143205	افزایش بیشتر	افزایش بیشتر
چرخه کالوین	1	D	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-large subunit	gi|52001641	افزایش بیشتر	افزایش



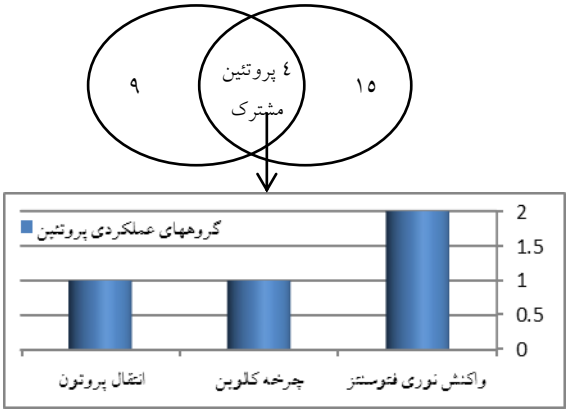
شکل ۵- تعداد و گروه‌بندی پروتئین‌های مشترک و غیر مشترک پاسخ دهنده به تنش شوری و خشکی در رقم SW5001

جدول ۵- مشخصات چهار لکه پروتئینی مشترک در رقم Sarigol تحت تنش شوری و خشکی

گروه عملکردی پروتئین	شماره لکه در شرایط تنش شوری	شماره لکه در شرایط تنش خشکی	اسم پروتئین	Accession number	روند تغییر میزان در شرایط شوری	روند تغییر میزان در شرایط خشکی
واکنش نوری فتوسنتز	F	4	Fructose-bisphosphate aldolase, chloroplastic	gi|473848356	کاهش	کاهش
واکنش نوری فتوسنتز photoreaction of photosynthesis	4	5	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	gi|131394	کاهش	کاهش
انتقال پروتون proton transport	2	8	ATP synthase CF1 beta subunit	gi|14017579	افزایش کمتر	کاهش
چرخه کالوین Calvin cycle	10	13	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	gi|156143205	افزایش کمتر	افزایش کمتر

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]



شکل ٦- تعداد و گروه‌بندی پروتئین‌های مشترک و غیر مشترک پاسخ دهنده به تنش شوری و خشکی در رقم Sarigol

در مجموع شش لکه پروتئینی به‌طور مشترک در رقم متحمل SW5001 شناسایی شد که تحت تنش شوری و خشکی تغییر میزان نشان دادند. بر طبق عملکرد این پروتئین‌ها، بیش‌ترین درصد پروتئین‌های مشترک به‌ترتیب مربوط به واکنش نوری فتوسنتز (۳ پروتئین)، چرخه کالوین (۲) و انتقال پروتون (۱) بودند (جدول ٤ و شکل ٥). در مجموع چهار لکه پروتئینی به‌طور مشترک در رقم حساس Sarigol تحت تنش شوری و خشکی شناسایی شد که بر طبق عملکرد این پروتئین‌ها، بیشترین درصد پروتئین‌های مشترک به‌ترتیب مربوط به واکنش نوری فتوسنتز (۲ پروتئین)، چرخه کالوین (۱) و انتقال پروتون (۱) بودند (جدول ٥ و شکل ٦).

در مجموع سه پروتئین به‌طور مشترک در رقم متحمل و حساس تحت تنش شوری و خشکی شناسایی شد که شامل Oxygen-evolving enhancer protein 2-chloroplastic، Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit و ATP synthase CF1 beta subunit بودند (جدول ٦ و شکل ٧).

با توجه به نتایج به‌دست آمده سه پروتئین مشترک در هر دو رقم و هر دو تنش به‌عنوان مهم‌ترین پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش‌های خشکی و شوری در کلزا شناسایی شدند. همان‌گونه که از نام آن‌ها پیداست این پروتئین‌ها به سه عضو موثر در سلول یعنی کمپلکس فتوسیستم II، روبیسکو و ATP سنتاز تعلق دارند که به‌نظر می‌رسد از مهم‌ترین اجزای سلول تحت تنش شوری و خشکی باشند. بنابراین با افزایش کارایی این سه عضو که با افزایش کارایی سلول همراه است اثرات تنش شوری و خشکی کمتر خواهد شد. پروتئین‌های OEC فتوسیستم II در نگهداری و حفظ یون‌های کلسیم و کلرید نقش دارند که این یون‌ها دو کوفاکتور غیرآلی برای واکنش تجزیه آب می‌باشند (Ifuku et al. 2005). پروتئین‌های OEC وظیفه بهینه‌سازی گروه منگنز در طی تجزیه شیمیایی آب و حفاظت از پروتئین‌های مرکز واکنش II در برابر خسارت ناشی از تشکیل رادیکال‌های اکسیژن در اثر نور را بر عهده دارند.

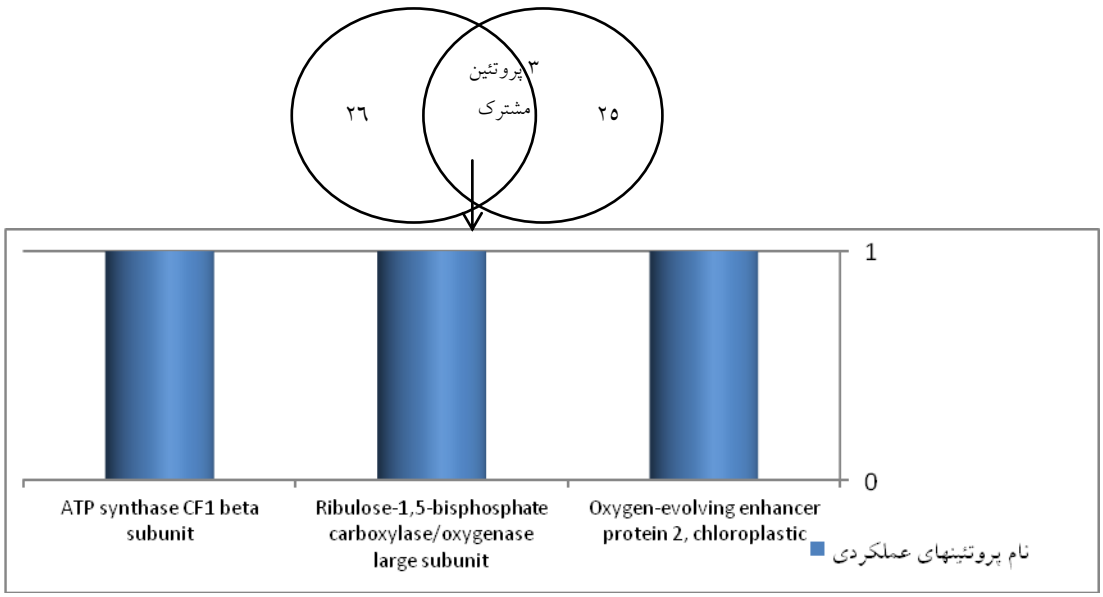
گروه دیگر از پروتئین‌های مشترک از نظر نوع عمل مربوط به پروتئین‌های دخیل در انتقال پروتون هستند. لکه‌های پروتئینی ۲ و ۸ به‌ترتیب تحت تنش شوری و خشکی در دو رقم مورد مطالعه نشان‌دهنده زیرواحد بتای ATP synthase complex هستند. اجزای زیرواحد مختلف این مجموعه در مطالعه پروتئوم ساقه کلزا (Albertin et al. 2009) و برگ ذرت (Porubleva et al. 2001) شناسایی شده‌اند. از نظر ساختاری ATP سنتاز کلروپلاستی دارای دو جزء اصلی می‌باشد که عبارتند از extrinsic CF1 و CF0 که ATP سنتاز با کمک آن‌ها باعث انتقال پروتون از غشای تیلاکوئید می‌شود. CF1 دارای پنج زیر واحد آلفا، بتا، گاما، دلتا و اپسیلون است در حالی که CF0 دارای سه زیر واحد a، b و c می‌باشد (von Ballmos and Dimtoth 2007). CF1، یک کمپلکس آنزیمی است که از پنج زیرواحد ساخته شده‌است. یکی از این زیرواحدها زیرواحد β است که یک catalytic and ADP-binding unit می‌باشد و نقش مهمی در متابولیسم انرژی بواسطه تبدیل ADP به ATP درصورت وجود شیب پروتون درون غشایی دارد (Ye et al. 2013). وظیفه فیزیولوژیکی اصلی ATP سنتاز

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

کلروپلاستی تولید ATP از ADP در حضور شیب پروتون از طریق غشای تیلاکوئید می‌باشد (von Ballmos and Dimtoth 2007). این شیب پروتون در نتیجه واکنش نوری فتوسنتز ایجاد می‌شود. سپس ATP پروسه سلولی مصرف انرژی را مانند چرخه کالوین در طی رشد و نمو سلولی گیاهان فعال می‌کند (von Ballmos and Dimtoth 2007). مطالعات نشان داده است که در طی تنش خشکی میزان ATP synthase کاهش می‌یابد (Tezara et al. 1999) و هم‌چنین کاهش میزان زیرواحد بتای ATP synthase در طی تنش خشکی اعمال شده توسط پلی‌اتیلن-گلیکول گزارش شده‌است و اظهار شده که این امر موجب کاهش تولید ATP و کاهش نسبت فتوسنتزی و کارایی چرخه کالوین می‌شود (Ye et al. 2013). به‌طور کلی در چند پژوهش قبلی کاهش میزان پروتئین‌های مرتبط با تولید ATP تحت تنش گزارش شده‌است (Caruso et al. 2009 ; Kausar et al. 2013). از طرف دیگر، افزایش میزان پروتئین‌های مرتبط با سنتز ATP تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی شامل خشکی و شوری در چند مطالعه قبلی گزارش شده‌است (Wang et al. 2008; Guo et al. 2012). افزایش سطح میزان چنین پروتئین‌هایی نظیر ATP سنتاز بر نقش غیر مستقیم آن در جهت هموستازی یون تحت تنش (مخصوصاً تنش شوری) دلالت می‌کند، زیرا افزایش سطوح ATP تحریک‌کننده H+-ATPases برای ایجاد شیب پروتون می‌باشد و این عمل آنتی‌پورترهای Na^+/H^+ را برای انتقال یون‌های Na^+ و Cl^- به واکوئل و تونوپلاست تحریک می‌کند (Gao et al. 2011).

جدول ٦- مشخصات سه لکه پروتئینی مشترک در دو رقم SW5001 و Sarigol تحت تنش شوری و خشکی

Accession number	اسم پروتئین	شماره لکه در شرایط تنش خشکی	شماره لکه در شرایط تنش شوری	گروه عملکردی پروتئین
gi|131394	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	5	4	واکنش نوری فتوسنتز
gi|14017579	ATP synthase CF1 beta subunit	8	2	انتقال پروتون
gi|156143205	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit	13	10	چرخه کالوین



شکل ۷- اسامی پروتئین‌های مشترک پاسخ دهنده به تنش شوری و خشکی در دو رقم SW5001 و Sarigol

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع در شرایط تنش شوری تعداد ۱۷ لکه پروتئینی معنی‌دار بین شرایط شاهد و تیمار تنش شوری، تشخیص داده شدند که از این تعداد ۱۰ لکه پروتئینی بین دو رقم مشترک بودند و تعداد چهار و سه لکه پروتئینی به‌ترتیب منحصر به رقم متحمل و حساس بودند. در تنش خشکی تعداد ۲۵ لکه پروتئینی معنی‌دار بین گیاهان شاهد و تیمار تنش شوری، تشخیص داده شدند که از این تعداد ۱۵ لکه پروتئینی بین دو رقم مشترک بودند و تعداد شش و چهار لکه پروتئینی به‌ترتیب منحصر به رقم متحمل و حساس بودند.

هم‌چنین از بین تمامی پروتئین‌های پاسخ‌دهنده تحت تنش شوری و خشکی در دو رقم SW5001 و Sarigol، سه پروتئین مشترک در هر دو رقم و هر دو تنش شامل Oxygen-evolving enhancer protein 2-chloroplastic، Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit و ATP synthase CF1 beta subunit از مهم‌ترین پروتئین‌های پاسخ‌دهنده مشترک به تنش‌های خشکی و شوری شناسایی شدند. این پروتئین‌ها به سه عضو موثر در سلول یعنی کمپلکس فتوسیستم II، روبیسکو و ATP سنتاز تعلق دارند که به‌نظر می‌رسد از مهم‌ترین اجزای سلول تحت تنش شوری و خشکی باشند. هم‌چنین بر طبق نتایج، اهمیت زیرواحد بزرگ روبیسکو، پروتئین‌های تقویت‌کننده فرآوری اکسیژن و زیر واحد بتای ATP سنتاز آشکار می‌شود و در مجموع اهمیت فتوسنتز و حفظ کارایی اجزای پروتئینی مؤثر بر آن تحت تنش شوری و خشکی بیش از پیش مشخص می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری دکتر سارا لینالدوچی متخصص بخش پروتئومیک دانشگاه توشای ایتالیا تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

Albertin W, Langella O, Joets J, Negroni L, Zivy M, Damerval C, Thiellement H (2009). Comparative proteomics of leaf, stem, and root tissues of synthetic Brassica napus. Proteomics, 9: 793-799.

Ali GM, Komatsu S (2006). Proteomic Analysis of Rice Leaf Sheath during Drought Stress. Journal of Proteome Research 5: 396-403.

Aro EM, Virgin I, Andersons B (1993). Photo inhibition of photosystem-II–inactivation, protein damage and turnover. Biochimistry and Biophysics Acta 1143: 113-134.

Cakmak I (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. Journal of Plant Nutrient and Soil Science 168: 521-530.

Caruso G, Cavaliere C, Foglia P, Gubbiotti R, Samperi R, Laganà A (2009). Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. Plant Science, 177: 570-576.

Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osorio ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C (2002). How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and Growth Annual Botany 89: 907-916.

Costa R, Bahrman N, Frigerio JM, Kremer A, Plomion C (1998). Water deficit-response proteins in maritime pines. Plant Molecular Biology 38: 587-596.

Damerval C, De Vienne D, Zivy M, Thiellement H (1986). Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling roteins. Electrophoresis 7: 52-4.

Demirevska K, Zasheva D, Dimitrov R, Simova-Stoilova L, Stamenova M, Feller U (2009). Drought stress effects on rubisco in wheat: Changes in the rubisco large subunit. Acta Physiologiae Plantarum 31: 1129-1138.

Eberhard S, Finazzi G, Wollman FA (2008). The dynamics of photosynthesis. Annual Review of Genetics 42: 463-515.

Ford KL, Cassin A, Bacic A (2011). Quantitative proteomic analysis of wheat cultivars with differing drought stress tolerance. Plant Science 2: 1-11.

Gao L, Yan X, Li X, Guo G, Hu Y, Ma W, Yan Y (2011). Proteome analysis of wheat leaf under salt stress by two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). Phytochemical 72: 1180-1191.

Gossett DR, Millhollon EP, Lucas MC (1994). Antioxidant responses to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. Crop Science 34: 706-714.

Granlund I, Storm P, Schubert M, Garcia-Cerdi JG, Funk C, Wolfgang PS (2009). The TL29 Protein is Lumen Located, Associated with PSII and Not an Ascorbate Peroxidase. Plant Cell Physiology 50(11): 1898-1910.

Guo G, Ge P, Ma C, Li X, Lv D, Wang S, Ma W, Yan Y (2012). Comparative proteomic analysis of salt response proteins in seedling roots of two wheat varieties. Journal of Proteomics 75: 1867-1885.

Han F, Chen H, Yan MF, Liu GS, Shen SH (2009). A comparative proteomic analysis of rice seedlings under various high-temperature stresses. Biochimica et Biophysica Acta 1794: 1625-1634.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

Heide H, Kalisz HM, Follmann H (2004). The oxygen evolving enhancer protein 1 (OEE) of photosystem II in green algae exhibits thioredoxin activity. Journal of Plant Physiology 161: 139-149.
Herbert B (1999). Advances in protein solubilisation for two-dimensional electrophoresis. Electrophoresis 20: 660-663.
Hosseini Salekdeh Gh, Siopongco J, Wade LJ, Ghareyazie B, Bennett J (2002a). A proteomic approach to analyzing drought- and salt- responsiveness in rice. Field Crops Research 76: 199-219.
Hosseini Salekdeh Gh, Siopongco J, Wade LJ, Ghareyazie B, Bennett J (2002b). Proteomics analysis of rice leaves during drought stress and recovery. Proteomics 2: 1131-1145.
Ifuku K, Ishihara S, Shimamoto R, Ido K, Sato F (2008). Structure, function, and evolution of the PsbP protein family in higher plants. Photosynthesis Research 98: 427-437.
Ifuku K, Nakatsu T, Shimamoto R, Yamamoto Y, Ishihara S, Kato H, Sato F (2005). Structure and function of the PsbP protein of photosystem II from higher plants. Photosynthesis Research 84: 251-255.
Kaiser H, Kappen L (1997). In situ observations of stomatal movements in different light- dark regimes: the influence of endogenous rhythmicity and long-term adjustments. Journal of Experimental Botany 48: 1583-1589.
Kausar R, Arshad M, Shahzad A, Komatsu S, (2013). Proteomics analysis of sensitive and tolerant barley genotypes under drought stress. Amino Acids 44: 345-359.
Kieselbach T, Bystedt M, Zentgraf U (2000). A peroxidase homologue and novel plastocyanin located by proteomics to the Arabidopsis chloroplast thylakoid lumen. Febs Letters 480: 271-276.
Koh J, Chen G, Yoo M-J, Zhu N, Dufresne D, Erickson JE, Shao H, Chen S. (2015). Comparative proteomic analysis of *Brassica napus* in response to drought stress. . Journal of Proteome Research 14: 3068-3081.
Komatsu S, Tanaka N (2004). Rice proteome analysis: A step toward functional analysis of the rice genome. Proteomics 4: 938-949.
Kumara SG, Reddya AM, Sudhakar C (2003). NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) with contrasting salt tolerance. Plant Science 165: 1245-1251.
Macdonald FD, Buchanan BB (1997). The reductive pentose phosphate pathway and its regulation. In: Dennis, DT, Turpin DH, Lefebvre DD, Layzell DB (Eds.), Plant Metabolism. 2nd edn. Essex: Addison Wesley Longman. 299-313.
Munns R, Termat A (1986). Whole plant response to salinity. Journal of Plant Physiology 13: 143-160.
Naghavi MR, Moghaddam M, Toorchi M, Shakiba MR (2014). Evaluation of spring wheat cultivars under drought stress and proteome analysis for the most tolerant and sensitive ones. PhD Thesis. Department of Plant Breeding and Biotechnology. Faculty of Agriculture. University of Tabriz. (In Farsi)
Naghavi MR, Toorchi M, Moghaddam M, Neyshabouri MR, Bandeh hagh A (2010). Response and 2-Dimensional electrophoresis pattern of spring rapeseed genotypes under osmotic stress. M.Sc. Dissertation. Department of Agronomy and Plant Breeding. Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran. (In Farsi).
Nozu Y, Tsugita A, Kamijo K (2006). Proteomic analysis of rice leaf, stem and root tissues during growth course. Proteomics 6: 3665-3670.
Panchuk II, Zentgraf U, Volkov RA (2005). Expression of the Apx gene family during leaf senescence of Arabidopsis thaliana. Planta, 222: 926-932.
Peter F, Wong SH, Subramaniam VN, Tang BL, Hong W. (1998). a-SNAP but not c-SNAP is required for ER-Golgi transport after vesicle budding and the Rab1-requiring step but before the EGTA-sensitive step. Journal of Cell Science 111: 2625-2633.
Plucken H, Muller B, Grohmann D, Westhoff P, Eichacker LA, (2002). The HCF136 proteinis essential for assembly of the photosystem II reaction center in Arabidopsis thaliana. FEBS Letters 532: 85-90.
Porubleva L, Vander Velden K, Kothari S, Oliver DJ, Chitnis PR (2001). The proteome of maize leaves: use of gene sequences and expressed sequence tag data for identification of proteins with peptide mass fingerprints. Electrophoresis 22: 1724-1738.
Rampino P, Pataleo S, Gerardi C, Mita G, Perrotta C (2006). Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. Plant, Cell and Environment 29: 2143-2152.
Reviron MP, Vartanian NM, Sallantin JC, Huet JC, Pernollet J, de Vienne D (1992). Characterization of a novel protein induced by progressive or rapid drought and salinity in *brassica napus* leaves. Plant Physiology 100: 1486-1493.
Santos C, Pereira A, Pereira S, Teixeira J (2004). Regulation of glutamine synthetase expression in sunflower cells exposed to salt and osmotic stress. Scientia Horticulturae 103: 101-111.
Spreitzer RJ, Salvucci ME (2002). Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. Annual Review of Plant Biology 53: 449-475.
Sun Y, Ahokas RA, Bhattacharya SK, Gerling IC, Carbone LD, Weber KT (2006). Oxidative stress in aldosteronism. Cardiovascular Research 71: 300-309.
Takahashi S, Murata N (2008). How do environmental stresses accelerate photo inhibition? Trends Plant Science 13: 178-182.
Tamoi M, Nagaoka M, Yabuta Y, Shigeoka S (2005). Carbon metabolism in the Calvin cycle. Plant Biotechnology 22: 355-360.
Tezara W, Mitchell V, Driscoll S, Lawlor D (1999). Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. Nature, 401: 914-917.
Thiellement H, Zivy M, Plomion C (2002). Combining proteomic and genetic studies in plants. Chromatography B 782: 137-149.
Toorchi M, Yukawa K, Nouri MZ, Komatsu S (2009). Proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in soybeans roots. Peptides 30: 2108-2117.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]

Twyman RM (2004). Principles of proteomics. BIOS Scientific Publishers.
von Ballmoos C, Dimroth P (2007). Two distinct proton binding sites in the ATP synthase family. Biochemistry 46: 11800-11809.
Wan XY Liu JY (2008). Comparative proteomics analysis reveals an intimate protein network provoked by hydrogen peroxide stress in rice seedling leaves. Molecular Cell Proteomics 7: 1469-1488.
Wang MC, Peng ZY, Li CL, Li F, Liu C, Xia GM (2008). Proteomic analysis on a high salt tolerance introgression strain of Triticum aestivum/Thinopyrum ponticum. Proteomics 8: 1470-1489.
Xue GP, Mcintyre CL, Glassop D, Shorter R, (2008). Use of expression analysis to dissect alterations in carbohydrate metabolism in wheat leaves during drought stress. Plant Molecular Biology 67: 197-214.
Yan S, Su Z, Tang W, Sun W (2005). Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in riceroot. Proteomics 5: 235-244.
Ye J, Wang S, Zhang F, Xie D, Yao Y (2013). Proteomic analysis of leaves of different wheat genotypes subjected to PEG6000 stress and rewatering. Plant Omics Journal 6: 286-294.
Yordanov I, Velikova V, Tsoney T (2003). Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgarian Journal of Plant Physiology Special Issue 187-206.
Zang X, Komatsu S (2007). A proteomic approach for identifying osmotic-stress-relatedproteins in rice. Phytochemistry 68: 426-437.
Zhu M, Simons B, Zhu N, David G, Oppenheimer M, Chen S (2010). Analysis of abscisic acid responsive proteins in Brassica napus guard cells by multiplexed isobaric tagging. Journal of Proteomics 73: 790-805.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.14.6]