اثر تنش شوری بر الگوی پروتئینی دانه گرده زیتون

علی سلیمانی (۱)، علیرضا طلایی (۲)، محمدرضا نقوی (۳)، علیرضا لادن مقدم (۴) و ذبیح اله زمانی (۲)

۱- دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، ۲- دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم باغبانی، ۳- دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات ۴- دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گروه ترویج و آموزش کشاورزی

چکیده

دانه گرده ارقام روغنی و زرد تحت شرایط کنترل و تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم ($۲/٤dS.m^{-1}$) در محیط کشت مایع کشت گردیدند. مقایسه الگوی باند های پروتئینی نشان داد که تیمار شوری باعث تغییر در الگوی بیان Ole eI و P9KDa گردید. جوانه زنی دانه گرده باعث کاهش بیان Ole eI در هر دو رقم گردید. با این حال، میزان کاهش بیان در گرده جوانه زده در محیط کشت حاوی نمک در مقایسه با محیط شاهد شدیدتر بود. به نظر می رسد کاهش جوانه زنی گرده در محیط کشت شور، از عوامل عمده مؤثر در کاهش بیان Ole eI می باشد. باند P9KDa از لحاظ وزن ملکولی مشابه با پروتئین های غیر اختصاصی مؤثر در انتقال لیپیدهای غشایی می باشد. افزایش بیان این پروتئین بویژه در رقم روغنی ناشی از اثرات ویژه یونی حاصل از کلرید سدیم بر پایداری غشاء های اندامک های درون سلولی دانه گرده و یا لوله گرده باشد.

واژه های کلیدی: *دانه گرده، زیتون، تنش شوری، SDS-PAGE ، Ole eI*

مقدمه

تلاش اصلاح گران گیاهی جهت دستیابی به گیاهان مقاوم به تنش در سطح گیاه کامل بویژه در درختان میوه نیاز به صرف هزینه، مکان و زمان طولانی دارد. همپوشانی موجود در بیان ژن های مرحله اسپوروفیت و گامتوفیت گیاهان باعث بروز پاسخ مشابه در برابر تنش های مختلف زیستی و غیر زیستی در هر دو مرحله می شود (Hormaza and Herrero, 1996). از این رو گزینش گیاهان در برابر تنشهای مختلف در سطح دانه گرده دیدگاههای جدیدی را پیش روی اصلاح گران گیاهی قرار داده است(Vasiliy, 2000) هدف از تحقیق حاضر، تاثیر تیمار شوری در الگوی بیان پروتئین ها، دانه گرده زیتون ارقام روغنی و زرد می باشد.

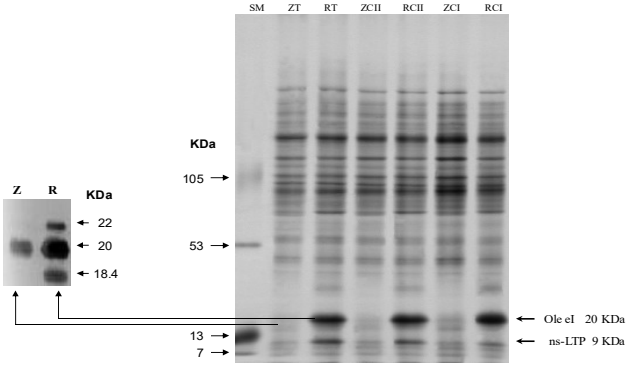
مواد و روش ها

دانه گرده ارقام روغنی و زرد تهیه و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران منتقل شد. تیمار شوری از طریق افزایش ۷/۵ سی سی از محلول پایه کلرید سدیم با غلظت ۲/۵ مولار در یک لیتر محیط کشت مایع حاصل گردید (هدایت الکتریکی در حدود ۲/٤ میلی موس بر سانتی متر). پروتئین های دانه های گرده جوانه زده استخراج و غلظت آنها با استفاده از معرف براد فورد تعیین گردید. پروتئین نمونه ها با استفاده از سیستم ژل تک بعدی

SDS-PAGE الکتروفورز گردیده و با روش رنگ آمیزی نیترات نقره روی ژل پلی آکریلامید ظاهر گردید. ژل های حاصل اسکن گردیده و الگوی باندی حاصل با نرم افزار Gel-Pro Analyzer مطالعه و I.O.D.[1] باندها تعیین گردید.

نتایج و بحث

تیمار شوری اعمال شده در محیط کشت دانه گرده باعث کاهش در میزان بیان Ole eI با وزن ملکولی ۲۰ کیلو دالتون و افزایش در بیان نوعی پروتئین با وزن ملکولی ۹ کیلو دالتون (P 9KDa) گردیده است (شکل ۱). پروتئین Ole eI خاصیت تراوشی داشته و در حین جوانه زنی دانه گرده به محیط کشت تراوش می کند (Alche *et al*., 2004). از این نقطه نظر می توان کاهش حدود ۱۱ درصدی میزان پروتئین Ole eI را در دانه های گرده جوانه زده رقم روغنی در تیمار RCII در مقایسه با دانه های گرده تیمار RCI توضیح داد. عدم بروز چنین تغییری در دانه های گرده جوانه زده رقم زرد، بیشتر بخاطر پایین بودن میزان کلی پروتئین مذکور این رقم در مقایسه با رقم روغنی (حدود یک دهم بر اساس I.O.D.) می باشد. حدود وزن ملکولی و ماهیت تغییر در الگوی بیان P9KDa در اثر تنش محیطی تشابه بالایی با پروتئین های خانواده ناقل های غیر اختصاصی لیپید[2] با وزن ملکولی حدود ۹ کیلو دالتون دارد. ns-LTPs در همه بافت های گیاهی از جمله دانه گرده حضور داشته و در بروز واکنش های دفاعی گیاه به تنش های محیطی دخالت دارند (Kader, 1997). تغییر شدید در بیان P9KDa در رقم روغنی در مقایسه با رقم زرد در تیمار (CII) می تواند به حضور بیشتر ترکیبات لیپیدی در بافت دانه گرده رقم روغنی و دخالت این پروتئین یا پروتئین ها در بازسازی صدمات ناشی از شوری روی سیستم های غشائی مربوط باشد.



شکل۱- سمت راست: الگوی باند های پروتئین دانه گرده زیتون ارقام روغنی (R) و (Z) تحت شرایط تنش شوری (T)، تیمار CI (دانه گرده آبگیری شده ولی جوانه نزده) و تیمار CII (دانه گرده جوانه زده در محیط کشت کنترل و

[1] - Integrated Optical Density
[2] - non-specific Lipid Tranfer Proteins (ns-LTP)

فاقد نمک کلرید سدیم) سمت چپ: آنالیز وسترن بلات پروتئین Ole eI (عکس از سلیمانی، داده ها منتشر نشده است)

منابع

1. Alche, J.D., Mrani-Alaoui, M., Castro, A.J. and Rodriguez-Garcia, M.I. 2004. Ole eI, the major allergen from olive (*Olea europaea* L.) pollen, increases its expression and is released to the culture medium during in vitro germination. Plant Cell Physiol.45: 1149-1157
2. Hormaza, J. I. and Herrero, M. 1996. Male gametophytic selection as a plant breeding tool. Scientia Horticulture. 65: 321-333
3. Kader, J. C. 1997. Lipid-transfer proteins -a puzzling family of plant proteins. Trends Plant Science. 2: 66–70
4. Vasiliy, S. K. 2000. Male and female gametophyte selection of barley for salt tolerance. Hereditas. 132: 1-5

Salt stress effect on protein pattern and Ascorbate Peroxidase activity of olive pollen grain

[1]Soleimani, A., [2]Talaie, A. R., [3]Naghavi, M. R., [4]Ladan Moghadam and [2] Zamani, Z.

1- Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, 2- Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, 3- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tehran, 4- Azad Islamic University of Garmsar

Abstract

Olive pollen grains of cvs. Rowghani and Zard were exposed to NaCl salinity stress (2.4dS.m^{-1}) in liquid culture medium. Protein profile obtained by SDS-PAGE showed that the salinity stress caused a change in expression pattern of Ole eI and P9KDa. Generally, pollen germination caused an expression decrease in both cultivars. However, it decrease was more pronounced in pollen grains has been exposed to the salt stress. It seems that reduction of pollen germination under salinity, is one the major factors caused a decrease in Ole eI expression level. The band of P9KDa is similar to none specific-Lipid transfer Protein (ns-LTP) based on its molecular weight. An increase of its expression pattern under salinity, especially in 'Rowghani', could be an effect of ion-specific damage of NaCl on biological membranes of pollen organelles or pollen tube cell.

Keywords: *Pollen grain, olive, salt stress, SDS-PAGE, Ole eI*