مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره ۶، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۶
صفحه ۱۲۹-۱۱۷

# تاثیر تنش شوری در بیان پروتئین‌های مقاومت به شوری و فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در گیاه دارویی گاوزبان با کاربرد کلسیم

# Effect of calcium on salt tolerance protein expression and activity of antioxidants in borage under salinity condition

سدابه جهانبخش گده‌کهریز*[۱]، سمیرا خادم صدیقی[۲]، علی عبادی[۳]، نصیبه توکلی[۴]، مهدی داوری[۵]

**Sodabeh Jahanbakhsh Godehkahriz*[1], Samira Khadem Sedighi[2], Ali Ebadi[3], Nasibeh Tavakoli[4], Mehdi Davari[5]**

۱- دانشیار ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد و ۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، ۴- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۵- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

1- Associate Professor, 2-Msc Student, 3- Professor, Department of Agronomy and Plant Breading, 4- PhD Student of Crop Plant Physiology, 5- Associate Prof. Plant Pathology Dept., University of Mohaghegh Ardabili, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: **jahanbakhsh@uma.ac.ir**

(تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۸)

## چکیده

**با توجه به افزایش روزافزون زمین‌های شور به واسطه کم‌آبی و آبیاری با آبهای شور به نظر می‌رسد بررسی راهکارهای افزایش تحمل به تنش شوری ضروری می‌باشد. همچنین جهت غلبه بر تأثیر منفی تنش شوری، استفاده از مکمل یون کلسیم در محیط رشد برای بهبود عامل تنش اجتناب‌ناپذیر است. در راستای بررسی این موضوع آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش شوری در پنج سطح (آب دیونیزه شده) شاهد، ۳، ۶، ۹، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و کلرید کلسیم در دو سطح شاهد و پنج میلی‌مولار بود. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری به ترتیب میزان عنصر سدیم و مقدار بیوماس و فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. در سطوح شوری بالا و حضور سطح بالای کلرید کلسیم و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز افزایش اما میزان پرولین کاهش یافت. نتایج حاصل از الکتروفورز دو بعدی نیز نشان داد که میزان بیان برخی از پروتئین‌ها در سطح بالای شوری و سطح بالای کلرید کلسیم افزایش یافت و همچنین پروتئین‌های متفاوتی با شاهد بیان گردیدند که به احتمال زیاد این پروتئین‌ها مربوط به ایجاد مقاومت در برابر شوری می‌باشند.**

**واژه‌های کلیدی**

**گاوزبان،**
**شوری،**
**کلسیم،**
**الکتروفورز دو بعدی**

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

## مقدمه

گاوزبان ایرانی گیاهی علفی، دو یا چند ساله است. در ایران سه گونه دیگر از این جنس به نام گل گاوزبان خوزستانی (*Echium khuzistanicum*). گاو زبان روسی (*Echium russicum*) و گل گاوزبان ایتالیایی (*Echium italicum*) وجود دارد (Emad *et al*., 2012). شور شدن اراضی کشاورزی یی از مهمترین معظلات پیش روی بخش کشاورزی در سال‌های آینده می‌باشد. یکی از راهکارهای مقابله با پدیده شوری استفاده از گونه‌های گیاهی مقاوم به شوری است (Turkan, 2011). از آن جایی که گونه‌های گیاهی از نظر پاسخ به شوری متفاوت می‌باشند لذا مطالعه درباره مکانیزم‌های ایجاد کننده تحمل به شوری در گیاهان مختلف ضروری می‌باشد. به منظور غلبه بر اثرات منفی شوری افزودن مواد آلی مکمل مانند (Walker and Bernal, 2008)، نیتروژن (Frechilla *et al*., 2001) و کلسیم (Tuna *et al*., 2007) به عنوان عنصری بهبود دهنده مفید می‌باشد. یون کلسیم به عنوان یک پیام‌رسان ثانویه در بسیاری از سیستم‌های بیولوژیکی نقش دارد به طوری که در سیستم انتقال سیگنال فعالیت می‌کند و به ایجاد تعادل در شرایط تنش شوری کمک می‌کند (Hasegawa *et al*., 2000).

کربوهیدرات‌ها گروهی از ترکیبات آلی هستند که افزایش آن به عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود (Kocal *et al*., 2008). گیاه با افزایش ذخیره سازی کربوهیدرات‌ها، پرولین و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong *et al*., 2000). همچنین گیاهان به کمک سیستم آنتی‌اکسیدانی خود قادر به کاهش اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشند. این سازوکارها شامل در میزان آنزیم‌های دفاعی گیاه (پراکسیداز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز) و ترکیبات فنلی می‌باشد (Staskawicz *et al*., 1995). کاتالاز آنزیم مشترکی است که تقریبا در تمام موجودات زنده در حضور اکسیژن یافت می‌شود. کاتالاز پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند (Chelikani et al., 2004). امروز دو تعریف از پروتئومیکس وجود دارد در تعریف اول، پروتئومیکس آنالیز مقیاس بزرگی از محصولات ژن در زمان مطالعه تک پروتئین‌ها است. تعریف دوم بیشتر شامل مطالعه‌ی ترکیبات پروتئینی از طریق آنالیزهای بازخوانی ژنتیکی مانند آنالیز mRNA، ژنومیکس و آنالیز دو هیبریدی مخمر است (Panday & Mann, 2000). با توجه به اینکه بسیاری از زمین‌های کشاورزی در کشور ایران همواره در معرض تنش شوری هستند و کشت گیاهان دارویی برای استحصال متابولیت‌های ثاویه آنها از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از این پژوهش بررسی یمیزان تحمل گیاه گاو زبان به تنش شوری از طریق سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بیان پروتئین‌های تحمل به شوری بود.

## مواد و روش‌ها

جهت بررسی تحمل گاوزبان ایرانی به تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل با سه تکرار در گلخانه و آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. شرایط گلخانه‌ای شامل رطوبت نسبی ۶۵ و دمای ۲۵-۱۵ درجه سانتی‌گراد بود. از بستر کشت ماسه برای کشت بذور استفاده شد. بذرهای جوانه‌زده یک روز در میان با محلول هوگلند آبیاری گردید. و زمان رسیدن گیاهچه ها به مرحله شش برگی تیمار شوری اعمال شد و تا مرحله گلدهی ادامه داشت. همچنین کلرید کلسیم به صورت محلول در آب به محیط کشت اضافه شد.

به منظور سنجش میزان پتاسیم و سدیم یک گرم از اندام هوایی خشک در کوره الکتریکی به خاکستر تبدیل شد. سپس به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر از اسید کلریدریک ۲ نرمال اضافه گردید و تا تبخیر کامل اسید حرارت داده شد. سپس نمونه داخل بالن ۱۰۰ میلی‌لیتر صاف و با آب مقطر به حجم رسانده شد. برای تعیین میزان پتاسیم و سدیم ابتدا محلول‌های استاندارد هرکدام از این عناصر تهیه شده و غلظت عناصر توسط دستگاه طیف‌سنج شعله‌ای (فلم فتومتر) و با استفاده از روش william (2000) قرائت شد. برای استخراج قندها از روش Omokolo و همکاران (1996) استفاده شد. بدین منظور ۰/۱ گرم نمونه برگی با ۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در هاون چینی سائیده شد و در بن‌ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. پس از جداشدن عصاره



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

الکلی دوباره برای تکرار عصاره گیری به بن ماری منتقل شد. عصاره به دست آمده سانتریفیوژ گردید. قسمت شفاف بالایی جدا شده و جهت اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت. استخراج پرولین از برگ‌ها با استفاده از روش Bates و همکاران (1973) صورت گرفت. بدین منظور ۰/۱ گرم بافت برگی در ۵ میلی‌لیتر اسید سولفو سالیسیلیک ۳ درصد سائیده و سانتریفیوژ گردید. به ۱ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۱ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک‌گلاسیال خالص افزوده شد سپس به حمام یخ منتقل شدند. مخلوط واکنش به شدت ورتکس گردید. مقدار جذب در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. استخراج پروتئین با استفاده از روش Damerval و همکاران (1986) با تغییرات جزئی انجام شد. اساس روش Brodford (1976) برای تعیین مقدار کمی (غلظت) پروتئین‌ها اتصال ماده شیمیایی کوماسی بریلیانت بلوجی ۲۵۰ به پروتئین در محیط اسیدی و تعیین جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. پس از آماده‌سازی عصاره پروتئینی فعالیت سینتیکی آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با روش Kar و Mishra (1976) بررسی شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. پس از آماده سازی عصاره پروتئینی فعالیت سینتیکی آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Chence و Maehly (1955) همراه با کمی تغییرات سنجیده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد پس از آماده سازی عصاره‌های پروتئینی، برای سنجش فعالیت سینیتیکی آنزیم پراکسیداز ۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره‌های پروتئینی را در حمام یخ با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. ( Kar & Mishra, 1976)داده‌های کمی پروتئین‌های محلول که به روش برادفورد تعیین گردید

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTATC انجام شد. همچنین ترسیم شکل‌های مربوط به داده‌های کمی آنزیم‌ها و پروتئین با استفاده از نرم‌افزارهای گرافیکی Excel تهیه شد. تصاویر ژل تک بعدی توسط نرم‌افزار UVIDocMW و تصاویر ژل دو بعدی توسط نرم‌افزارهای Progensis Samespots softwere vers.2.0 و بر پایه بار الکتریکی (نقطه ایزوالکتریک یا pI) و اندازه (جرم مولکولی نسبی یا $M_r$) ارزیابی شدند. لکه‌های پروتئینی حاصل با طیف سنجی جرمی MS/MS تجزیه شدند.

## نتایج و بحث

### تاثیر تیمارهای شوری و کلرید کلسیم بر وزن خشک

اثر ساده تنش شوری بر میزان وزن خشک گاوزبان معنی-دار شد (جدول ۱). مقایسات میانگین انجام شده نشان داد که افزایش غلظت سدیم تا ۶ دسی‌زیمنس موجب افزایش وزن خشک شد. اما با افزایش غلظت نمک از میزان وزن خشک کاسته شد. بالاترین میزان وزن خشک به ترتیب مربوط به شوری ۶ و ۳ دسی زیمنس بر متر بود و کمترین آن در شرایط شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل ۱). شوری روی وزن خشک گیاهچه تأثیر دارد (کومار و بانداداس، ۲۰۰۵). یالینگ و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که با افزایش شوری محلول غذایی جذب عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در ریشه گوجه فرنگی به طور معنی‌داری افزایش یافت. بنابراین ممکن است در اثر تاثیر شوری بر افزایش ماده خشک در اثر افزایش جذب مواد غذایی باشد.

### تاثیر تیمارهای شوری و کلرید کلسیم بر صفات فیزیولوژیک

سدیم و پتاسیم و بیوماس: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده وجود اثرات متقابل معنی‌دار تیمارهای آزمایشی بر محتوای سدیم و پتاسیم نمونه‌ها بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تجمع سدیم در گیاهان تیمار شده با شوری ۹ دسی زیمنس بر متر با ۱۰ میلی مولار کلسیم کلراید، و کمترین تجمع سدیم در گیاهان تیمار شده با شوری ۳ دسی زیمنس بر متر بوده است (شکل ۲). همچنین نتایج مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین تجمع عنصر پتاسیم در گیاهان تیمار شده با شوری ۳ دسی زیمنس بر متر با عدم کاربرد کلرید کلسیم بود و کمترین تجمع آن در گیاهان تیمار شده با شوری ۹ دسی زیمنس بر متر با عدم کاربرد کلرید کلسیم ملاحظه گردید (شکل ۲).



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

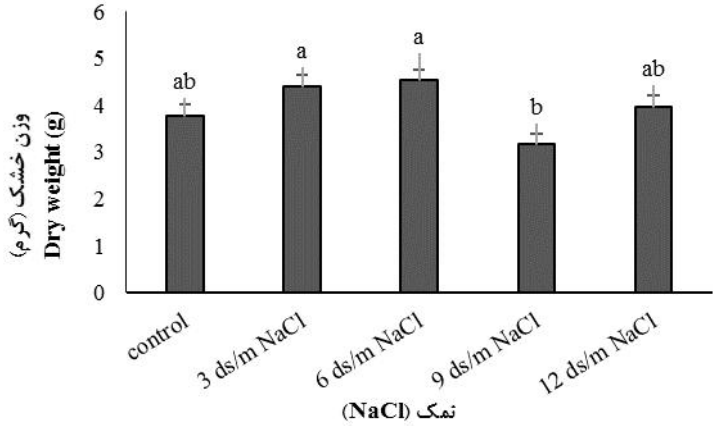
**جدول ۱**– تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری و کلرید کلسیم بر صفات فیزیولوژیک گاوزبان ایرانی.

**Table 1.** Anova for the effects of salinity and calcium chloride on physiological characteristics of Iranian borage

| منابع تغییرات | میانگین مربعات | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | درجه آزادی Df | سدیم Na | پتاسیم K | وزن خشک Dry matter | قند محلول Soluble Sugar | پروتئین کل Total protein | پراکسیداز Peroxidase | کاتالاز Catalas | پلی فنل اکسیداز PPO |
| شوری Salt | 4 | 1670.1** | 1677.7** | 1.7* | 0.2* | 1010135** | 166724** | 0.33* | 2006442** |
| کلسیم کلراید $CaCl_3$ | 1 | 250.8* | 743** | 0.1ns | 0.002ns | 748769* | 375480** | 0.2741ns | 14212820** |
| شوری × کلسیم کلراید CaCl2×Salinity | 4 | 318.9** | 925.6** | 0.3ns | 0.1** | 2736205** | 92351** | 3.03** | 2154850** |
| خطا Eror | 20 | 41.5 | 81.9 | 0.6 | 0.01 | 192294 | 7902.1 | 0.11 | 69841 |
| ضریب تغییرات CV (٪) | – | 21.9 | 12.6 | 20.6 | 14.1 | 11.5 | 6.1 | 19.3 | 12.8 |

**ns**، *و ** به ترتیب وجود اختلاف معنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns,*, and ** show no significant and significant at P≤0.05 and P≤0.01, respectively

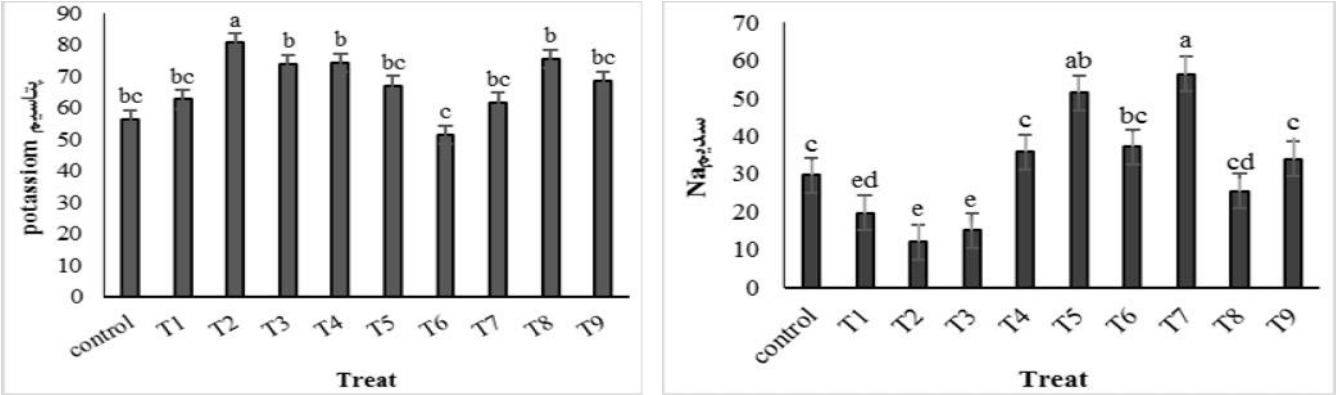



**شکل ۱**– مقایسه میانگین اثر تیماری شوری (NaCl) وزن خشک در گیاه گاوزبان

**Figure 1.** Mean comparison for the effects of NaCl salinity on borage dry weight



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]




**شکل۲**- مقایسه میانگین تاثیر ترکیب تیمار شوری (NaCl) و کلرید کلسیم روی عنصر سدیم (راست) و روی عنصر پتاسیم (چپ)

(تیمارها شامل Control (شاهد)، T1 (0 NaCl and 10 mM CaCl2)، T2 (3 ds/m NaCl and 0mM CaCl2)، T3 (3 ds/m NaCl and10 mM CaCl2)، T4 (6 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T5 (6 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T6 (9 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T7 (9 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T8 (12 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T9 (12 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2) بودند)

**Figure 2**. Interaction of salinity and calcium chloride on sodium (right) and on potassium (left).

سدیم به عنوان یک عنصر ضروری برای گیاه در نظر گرفته نمی‌شود و تجمع سدیم در گیاه تحت تنش شوری منجر به کاهش میزان کلسیم و پتاسیم می‌شود (Parviz & Satyawati, 2008).

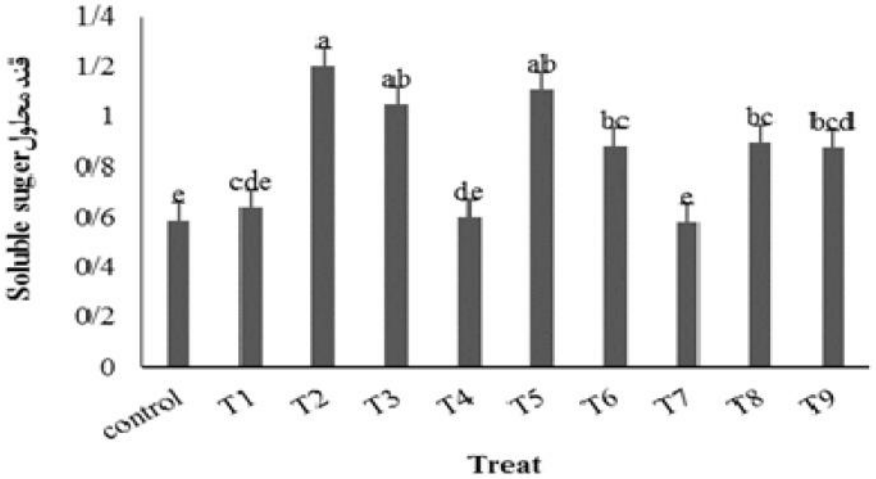
**تاثیر تیمارهای شوری و کلرید کلسیم بر صفات بیوشیمیایی**

محتوای قند محلول کل تحت تاثیر اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول۱). بر اساس مقایسات میانگین انجام شده بالاترین میزان قند محلول کل مربوط به ترکیب تیمار شوری ۳ دسی زیمنس بر متر بدون کاربرد کلرید کلسیم با میانگین ۱/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و کمترین میزان قند محلول مربوط به ترکیب تیمار شوری ۹ دسی زیمنس بر متر با ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم با میانگین ۰/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. عمل اصلی این ترکیبات حفاظت اسمزی، تنظیم اسمزی، ذخیره کربن و حذف رادیکالهاست. قندها سبب تنظیم اسمزی همچنین پایداری غشاها و پروتئین‌های موجود در سلول می‌شوند (توکلی و همکاران.، ۱۳۹۳). این عمل می‌تواند از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل قندها و زنجیره‌های قطبی پروتئین‌ها و بالاخره پایدار سازی پروتئین‌ها صورت گیرد. برای مثال تجمع ساکارز موجب حفظ فسفولیپدهای غشاء شده و از تغییرات ساختاری در پروتئین‌های محلول در سلول جلوگیری می‌کند (Parviz & Satyawati, 2008).

**پرولین**

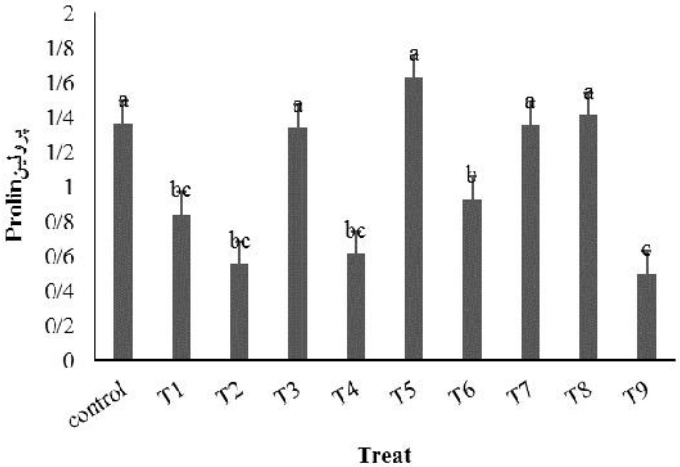
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری و کلرید کلسیم بر میزان پرولین معنی-دار بود (جدول ۱). بالاترین میزان پرولین تولید شده مربوط به ترکیب تیماری شوری ۶ دسی زیمنس بر متر بدون کاربرد کلرید کلسیم با میانگین ۱/۶۲ میکروگرم بر گرم بود و کمترین میزان آن به شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر با ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم با میانگین ۰/۵۰ میکروگرم بر گرم تعلق گرفت. Cheruth & Azooz (2009) با مطالعه تیمار NaCl و $CaCl_2$ بر رروی گیاه *Withania somnifera* اعلام کردند که حضور کلسیم در شرایط تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز و کاهش محتوای پرولین در گیاه می‌شود.

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]




**شکل۳ – اثر متقابل تنش شوری (NaCl) و کلرید کلسیم بر محتوای قند محلول در گاوزبان ایرانی** (تیمارها شامل Control (شاهد)، T1 ( 0 NaCl and 10 mM CaCl2)، T2 (3 ds/m NaCl and 0mM CaCl2)، T3 (3 ds/m NaCl and10 mM CaCl2)، T4 (6 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T5 (6 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T6 (9 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T7 (9 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T8 ( 12 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T9 (12 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2) بودند)

**Figure 3** - Mean comparison for the effects of of salinity (NaCl) and calcium chloride on soluble sugar in Iranian borage




**شکل۴** – مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری شوری (NaCl) و کلرید کلسیم بر محتوای پرولین در گاوزبان ایرانی

**Figure 4** - Mean comparison for the effects of salinity (NaCl) and calcium chloride on the proline in Iranian borage.

## پروتئین کل، پراکسیداز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز

محتوای پروتئین، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز و پراکسیدازتحت تاثیر اثرات متقابل تنش شوری و کاربرد کلرید کلسیم قرار گرفت (جدول ۱). نتایج حاصل نشان داد که بالاترین میزان پروتئین کل به ترتیب در ترکیب تیماری ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم بدون تنش شوری با میانگین ۴۶۷۸/۹ میلی گرم در گرم وزن تر مشاهده شد و کمترین میزان آن مربوط به ترکیب تیماری ۳ دسی‌زیمنس بر متربدون کاربرد کلرید کلسیم با میانگین ۴۶۷۸/۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر بود. بسیاری از پروتئین‌های القاء شده در اثر تنش شوری چاپرون‌های مولکولی هستند و تعدادی نیز برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از شوری سنتز می‌شوند و از تخریب پروتئین‌های ساختمانی و عملکردی در اثر تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند (Smirnoff, 1998).

نتایج مقایسات میانگین انجام شده بر روی آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز نشان داد که بالاترین میزان آنزیم پراکسیداز به ترتیب در ترکیب تیماری ۱۲ دسی زیمنس بر متر شوری با ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم با میانگین ۱۷۰۱/۵۶ مشاهده شد و کمترین میزان این آنزیم در گیاهان شاهد با میانگین ۹۲۳/۴۴ مشاهده شد. بالاترین میزان آنزیم کاتالاز طبق نتایج حاصل مربوط به ترکیب تیماری ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم در شرایط عدم شوری با میانگین ۳/۳۷۷۷ بود و کمترین میزان آن مربوط به شوری ۳ دسی‌زیمنس بر متر بدون کاربرد کلرید کلسیم با میانگین ۱/۰۵۵ بود. همچنین بالاترین میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز در ترکیب تیماری شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با ۱۰



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

میلی مولار با میانگین ۳۶۸۶/۵ و کمترین میزان آن به ترتیب در تیمار شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر بدون کاربرد کلسیم‌کلراید با میانگین‌های ۷۸۲/۹ مشاهده شد. در طی تنش آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گیاهان از قبیل (کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز) فعال می‌شوند. که این ترکیبات آنتی اکسیدانتی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تجزیه می‌کنند در نتیجه ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان با تحمل تنش در گیاهان، رابطه مستقیم دارند (Mittler, 2002).

**ارزیابی الگوهای الکتروفورزی (SDS-PAGE) پروتئین‌های کل محلول برگی گاوزبان ایرانی تحت تنش شوری و تیمار کلرید کلسیم**

نمونه‌ها در حالت تیمار و شاهد برای تعیین وزن مولکولی پلی‌پپتیدها مورد بررسی قرار گرفتند که تعیین وزن مولکولی از روی میزان Rf و همچنین نشانگر مورد استفاده توسط نرم‌افزار UVIDocMW انجام گرفت. وزن مولکولی پلی پتیدها بین ۲۰ تا ۱۳۰ کیلودالتون رده‌بندی شدند. نتایج نشان داد که تجمع پروتئین‌ها با وزن مولکولی بالاتر با افزایش سطح شوری نسبت به شاهد افزایش نشان دادند، با اضافه کردن کلرید کلسیم، وزن مولکولی پروتئین‌های تجمع یافته مشابه با شاهد بودند. وقتی گیاهان در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند، در سطح کل گیاه، سطح سلولی و یا مولکولی به تنش پاسخ می‌دهند. الگوی تولید بسیاری از پروتئین‌ها در پاسخ به کاهش آب گیاه تغییر می‌نماید که از جمله این پروتئین‌ها، پروتئین‌های درگیر در مسیرهای سیگنالی تنش، پروتئین‌های مخصوص سم زدایی تنش اکسیداتیو و پروتئین‌های با اعمال غیر مستقیم با تنش هستند. به طور کلی، پاسخ‌های گیاه برای بقای هومئوستازی، سم زدایی مواد مضر و بازگشت رشد است (Hajheidari et al, 2005). پروتئین‌های ۷۰ کیلو دالتونی پروتئین‌های شوک حرارتی هستند اعضای این خانواده در طی مسیر تکامل به شدت حفاظت شده‌اند. HSP70 علاوه بر شوک‌های حرارتی توسط دیگر شکل‌های تنشهای سلول نیز شدیداً تحریک می‌شوند. در شرایط عدم تنش پروتئین‌های HSPها از لحاظ ساختاری سریع تشکیل می‌شوند و وظایف اساسی را در این شرایط بر عهده دارند. این پروتئین‌ها شامل شامل dnak اکولای، پروتئین‌های سیتولوژیکی، مخمر saplp و... می‌باشند

پلی‌پپتید ۵۰-۵۵ کیلودالتونی مربوط به روبیسکو، آنزیم کلیدی چرخه‌ی کلوین است و واکنش تبدیل دی ریبولوز ۱و ۵ بیس فسفات و دی اکسید کربن به دو مولکول ۳-فسفو دی گلیسرات را کاتالیز می‌کند. تنش‌های محیطی می‌توانند موجب غیر فعال شدن قابل برگشت یا غیر قابل برگشت روبیسکو شوند. روبیسکو غیرفعال شده غیر قابل برگشت بوسیله‌ی نسخه‌های جدید سنتز شده جایگزین می‌شود. پلی‌پپتید ۴۰-۴۵ کیلودالتونی به نظر می‌رسد مربوط به پروتئین متصل به نوکلئوتید گوانین $G_1$ (protein) زیر واحد آلفا باشد که شامل ۳۰۰-۴۰۰ آمینو اسید می‌باشد. پروتئین‌های G گیاهی در انتقال علامت از گیرنده‌های هورمونی شامل هورمون‌های گیاهی جیبرلین و آبسزیک اسید و همچنین در بیان ژن و مرگ سلولی دخالت دارند (Lovegrove & Hooley, 2000).

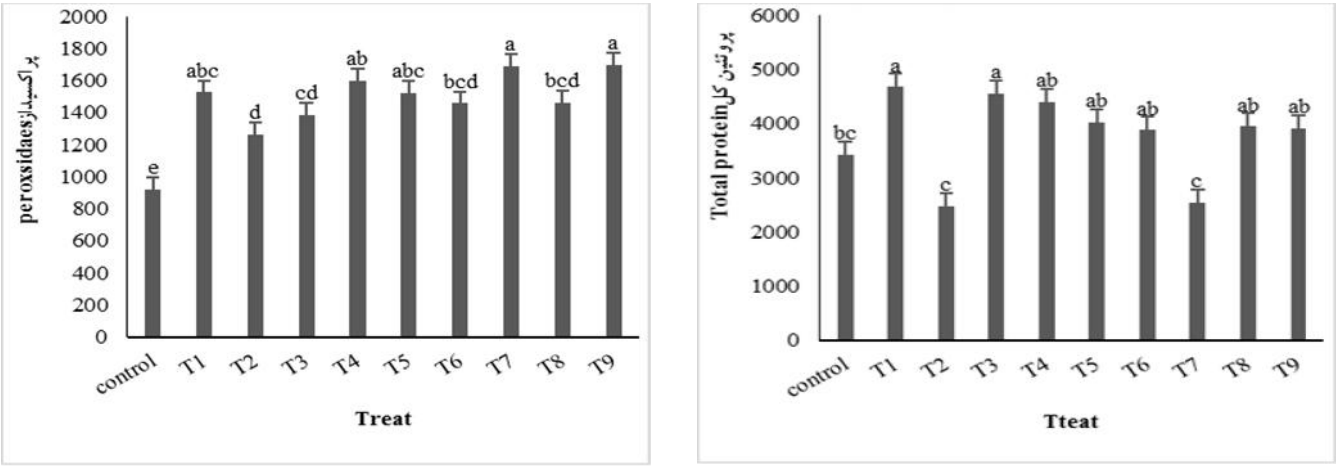
پلی‌پپتیدهای ۲۵-۳۵ کیلودالتونی B-1,3- glucanases پروتئین‌های فراوانی می‌باشند که به‌صورت گسترده در انواع گیاهان وجود دارند و به‌صورت مونومرهایی هستند که جز اولین پروتئین‌های Pathogenesis related protein (PR)، دارای فعالیت آنزیمی می‌باشند (Kauffman *et al.*, 1987). میزان بیان این ژن در بافت در طول نمو و از طریق محرک‌هایی مانند انواع تنش محیطی، هورمون‌ها و مواد شیمیایی متفاوت تنظیم می‌شود (Mohen *et al.*, 1985).

**نتایج ژل الکتروفورز ۲ بعدی**

برای شناسایی تفاوت پروتئین‌های مرتبط با تاثیر تیمار شوری و کلرید کلسیم در مقایسه با نمونه‌ی شاهد نقشه پروتئوم (2D-PAGE) برگ گاوزبان ایرانی تیمار شده با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با ۱۰ میلی مولار کلرید کلسیم با نمونه‌ی شاهد مقایسه شدند. لکه‌های نقشه‌ی پروتئوم شناسایی شده با استفاده از نرم افزار TotalLab و Top Spot بر پایه‌ی بارالکتریکی (نقطه ایزوالکتریک یا PI) و اندازه (جرم مولکولی نسبی یا $M_r$)، ارزیابی شدند.



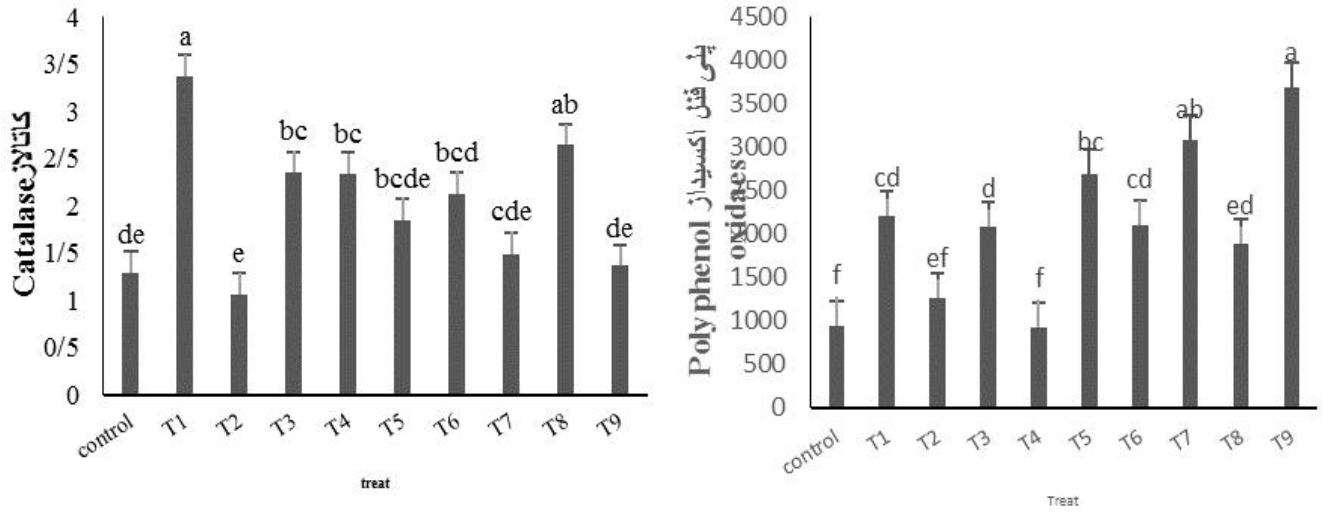
[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]




**شکل۵**- مقایسه میانگین تاثیر ترکیب تیماری شوری (NaCl) و کلسیم کلراید بر محتوای پروتئین کل (راست) و بر روی فعالیت آنزیم پرواکسیداز (چپ) در گاوزبان ایرانی

(تیمارها شامل Control (شاهد)، T1 (0 NaCl and 10 mM CaCl2)، T2 (3 ds/m NaCl and 0mM CaCl2)، T3 (3 ds/m NaCl and10 mM CaCl2)، T4 (6 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T5 (6 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T6 (9 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T7 (9 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T8 (12 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T9 (12 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2) بودند)

**Figure 5-** Mean comparison for the effects of salinity (NaCl) and calcium chloride on the total protein (right) and on peroxidase enzyme activity (left) in Iranian borage

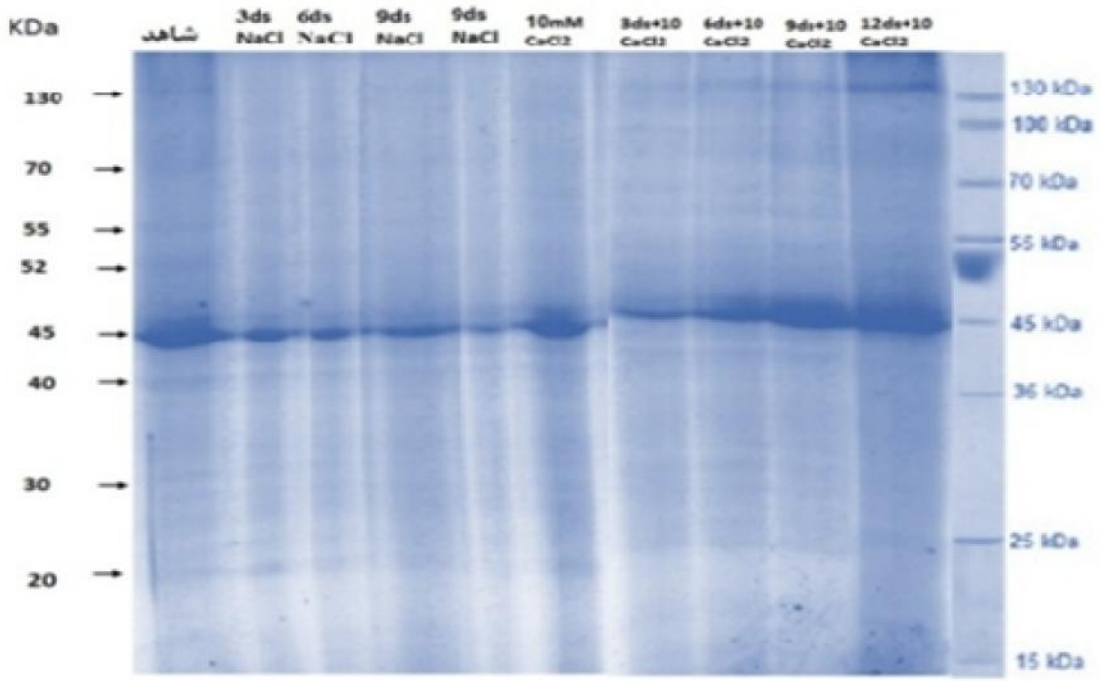



**شکل ۶**- مقایسه میانگین تاثیر ترکیب تیماری شوری (NaCl) و کلرید کلسیم بر روی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (راست) و بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز (چپ) در گاوزبان ایرانی

(تیمارها شامل Control (شاهد)، T1 (0 NaCl and 10 mM CaCl2)، T2 (3 ds/m NaCl and 0mM CaCl2)، T3 (3 ds/m NaCl and10 mM CaCl2)، T4 (6 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T5 (6 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T6 (9 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T7 (9 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2)، T8 (12 ds/m NaCl and 0 mM CaCl2)، T9 (12 ds/m NaCl and 10 mM CaCl2) بودند)

**Figure 6-** Mean comparison for the effects of salinity (NaCl) and calcium chloride on the polyphenol oxidase enzyme activity (right) on catalase activity (left) in the Iranian borage

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]




شکل۷- تصویر ژل الکتروفورز تک بعدی در گاوزبان ایرانی

**Figure 7.** one-dimensional electrophoresis gel image in Iranian borage

مقایسه لکه‌های گیاهان تیمار شده با گیاهان شاهد نشان داد که لکه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۹ متعلق به پروتئین‌هایی هستند که در گیاهان تیمار شده و شاهد به صورت مشترک وجود دارند ولی پروتئین-های ۵، ۸، ۱۶، ۱۵، ۱۷ نسبت به شاهد افزایش بیان نشان دادند. لکه‌های ۲۳،۲۴،۲۲،۲۵،۲۱،۲۶،۱۱ جزء پروتئین‌هایی هستند که در گیاهان شاهد دیده نشدند و احتمالا مربوط به تیمار شوری و کلرید کلسیم هستند. Jiang و همکاران (2007) تغییرات الگوی پروتئوم ریشه آرابیدوپسیس در شرایط هیدروپونیک در غلظت ۱۵۰میلی مولار نمک را مورد بررسی قرار دادند. پروتئین‌های بیان شده شامل پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش و پروتئین‌های دخیل در چرخه حذف ROS، انتقال پیام در سلول، ترجمه، بیوسنتز دیواره سلول، تجزیه پروتئین‌ها، متابولیسم انرژی، متابولیسم آمینواسیدها و هورمون‌ها بودند که نشان می‌دهد احتمالا برای افزایش تحمل به تنش شوری بیان شده‌اند. همچنین Zorb و همکاران (2004) به بررسی پروتئوم ساقه و ریشه ذرت تحت تنش ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک پرداختند. تعداد ۱۴ پروتئین از مجموع پروتئین‌ها شناسایی شد که ۱۴ پروتئین در ۳ گروه مجزا تقسیم بندی شدند. دسته اول پروتئین‌هایی بودند که در بیوسنتز پروتئین‌ها و تغییرات پروتئینی بوسیله کیتازها نقش داشتند. گروه دوم آنزیم‌های متابولیسم کربوهیدرات بودند و دسته سوم دربرگیرنده آنزیم‌های دخیل در چرخه نیتروژون بودند. بسیار فراوان دیده شده است که پاسخ‌های بیشماری از طرف گیاه نسبت به شوک‌های محیطی وجود دارد و بسیاری از تغییرات ژن‌ها در این ارتباط در بین چندین نوع تنش، مثل سرما، شوری، گرما و تنش اسمزی مشترک هستند (Hajheidari, 2005).

### سیگنال دهی و درک سیگنالROS

از آن جا که گیاهان موجودات ساکنی هستند و توانایی فرار از شرایط نامساعد محیطی را ندارند، به شبکه سیگنال دهی منظم و قوی برای تنظیم فرآیندهای مختلف در طول رشد و نمو و پاسخ به محرک‌های محیطی نیاز دارند (Petrov & Breusegem, 2012). نقش $H_2O_2$ به علت دارا بودن نیمه عمر طولانی‌تر نسبت به سایر ROSها و تبدیل سایر ROSها به آن، در سیگنال‌دهی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. امروزه مشخص شده که تحت تنش‌های محیطی، $H_2O_2$ تنظیم کننده فعالیت‌های فیزیولوژیکی



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

بسیاری مانند القای پاسخ‌های دفاعی، مقاومت اکتسابی، تقویت دیواره سلولی، پیری، تولید فیتوالکسین، فتوسنتز، باز شدن روزنه و تنظیم چرخه سلولی می‌باشد (Mubarakshina *et al.*, 2010). تولید فعال $H_2O_2$ به طور عمده در فضای آپوپلاستی رخ داده زیرا برای شروع زنجیره اکسداتیو که بخشی از پاسخ فوق حساسیت به پاتوژن، رشد و نمو طبیعی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌باشد، ضروری است. منبع اصلی تولید $H_2O_2$ گروهی از اکسیدازهای وابسته به NADPH غشای سلولی مانند همولوگ اکسیداز زنجیره تنفسی (Rboh) هستند که دسته‌ای از پروتئین‌ها ($ROP_s$) آن را تنظیم می‌کنند (Oda *et al.*, 2010). با وجود نقش سیگنال دهی ROSها تصور این موضوع مشکل به نظر می‌رسد که چگونه این مولکول‌های سمی می‌توانند چنین نقشی را در سلول بازی می‌کنند.

**پروتئین‌های مقاومت به تنش شوری**

پروتئین عمومی تنش پروتئین سیتوپلاسمی کوچک می‌باشد که در هنگام رویارویی سلول با تنش بیان آن افزایش می‌یابد. یکی از پروتئین‌های افزایش یافته در تنش شوری پروفیلین می‌باشد که این پروتئین در تغییر و تبدیل اکتین در ساختار سیتوپلاسمس نقش دارد. پروفیلین به مونومر اکتین متصل شده و پلیمریزه شدن و دپلیمریزه شدن فیلامنت‌های اکتین را موجب می‌شود و دپلیمریزه شدن آن‌ها سلول‌های گیاهی را برای پاسخ به سیگنال‌های داخلی و خارجی القا می‌کند (Chen *et al.*, 2007). سیکلوفیلین‌ها پروتئین‌هایی هستند که در کلیه اجزای سلولی وجود دارند و در فرآیندهای متعددی از قبیل نمو و انتقال دارند. به دلیل خصوصیات آنزیمی، فراوانی بالا استقرار سلولی و نقش آن‌ها در تا شدن پروتئین به گروهی از پروتئین‌ها تحت عنوان چاپرون‌ها تعلق دارند. اگرچه سیکلوفیلین‌های گیاهی در فرآیندهای متعددی نقش دارند اما اساس مولکولی واکنش آن‌ها ناشناخته است. پروتئین‌های متصل شونده به RNA، خانواده‌ای از پروتئین‌های دارای موتیف شناسایی RNA می‌باشند که در سنتز mRNA، پردازش hnRNA و شاهد پس از ترجمه ژن‌های کلروپلاستی نقش دارند. پروتئین‌های متصل شونده به RNAی کلروپلاستی cp29 در آرابیدوپسیس در اثر تنش طولانی مدت شوری افزایش یافته است(Fei *et al.*, 2008). متیونین در پروتئین‌ها یک جزء مهم می‌باشد که بوسیله گونه‌های اکسیژن فعال اکسیده شده و تبدیل به متیونین سولفوکسید می‌شود. Kwon وهمکاران (2007) اهمیت متیونین سولفوکسید ردوکتاز، $MsrB_3$ را در سازگاری به سرما در آرابیدوپسیس نشان دادند. افزایش بیان متیونین سولفوکسید ردوکتاز می‌تواند به سلول در برابر خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو کمک کرده و قادر است رادیکال‌های اکسیژن را که موجب خسارت DNA می‌شوند، غیر فعال سازد. نقش آنزیم فعال کننده روبیسکو حذف ریبولوز ۱و ۵ بیس فسفات‌هایی (از طریق هیدرولیز ATP در نور) می‌باشد. که بطور غیر فعال به محل فعالسازی روبیسکو در تاریکی متصل شده و در نتیجه این محل‌ها را برای فعالسازی بوسیله $CO_2$ و $mg_2c$ آزاد می‌سازد.

**جدول ۲**- پروتئین‌های شناسایی شده در گاوزبان ایرانی تحت تنش شوری

**Table 2-** proteins identified in Iranian borage under salt stress

| لکه | ID پروتئین | وزن (KD) | pI | IDپیش بینی |
|---|---|---|---|---|
| 2 | ATP syntase beta subunit | 53.7 | 5 | gi/ 21684925 |
| 5 | PR10 protein | 6.16 | 4.5 | gi 1616609 |
| 9 | Ribulose 1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase active isoform | 45 | 5.6 | gi/167096 |
| 12 | Ribulose 1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit | 14 | 5.4 | gi/4038699 |
| 13 | 30sribosomal proteinS1 | 46 | 4.6 | gi/149391139 |
| 15 | Ribulose 1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subuni | 33 | 5.7 | gi/11990897 |
| 16 | Tirosphoshate isomeraseTchloroplastic | 31.95 | 6 | gi/1174245 |
| 19 | Oxlate oxidase- like protein or germin like protein | 26 | 6.5 | gi/1070358 |
| 21 | Ribulose 1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small chain | 39 | 6.3 | gi/3914588 |
| 22 | chainA, crystal stracture of Barly Thioredoxin H isoforms | 9 | 5 | gi/186972808 |



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

**شکل۸**- الگوی پروتئوم بافت برگ گاوزبان ایرانی در ژل دو بعدی مربوط به شاهد (راست) مربوط به تیمار با ۱۲ دسی زیمنس NaCl و ۱۰ میلی مولار کلسیم کلراید (چپ)

**Figure 8**- Iranian borage leaf tissue proteome pattern in two-dimensional gel. Control (right) and treatment with 13- dS NaCl, 10 mM calcium chloride (left).

**نتیجه‌گیری**

نتایج حاصل از بررسی محتوای پرولین و کربوهیدرات محلول نشان داد تنش شوری بر میزان فعالیت این پارامترها تاثیر گذار بوده و کلسیم باعث بهبود اثرات مخرب تنش شوری در گیاه گاوزبان ایرانی شده است. نتایج حاصل نشان داد که افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل-اکسیداز موجب افزایش تحمل به شوری در گیاه شد. این آنزیم‌ها در شوری بالا دارای فعالیت بیشتر هستند. نتایج حاصل از مطالعات پروتئومیکسی با استفاده از الکتروفورز دوبعدی نشان داد که به طور کلی پروتئین‌های درگیر در تحمل به شوری و پروتئین‌های دخیل در مسیرهای متابولیکی بیشترین سهم را در بین پروتئین‌های دارای تغییرات بیان معنی‌دار به خود اختصاص دادند.

**منابع**

**Bates LS, Waldren RP, Teare ID. 1973.** Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant soil*. 39: 205-208.

**Bradford MM. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 72: 248−254.

**Chance B, Maehly AC. 1955.** Assay of catalases and peroxidases. Method Enzymol. 11: 764-755.

**Chelikani P, Fita I, Loewen PC. 2004.** Diversity of structures and properties among catalases. Cell Molecular Life Sci*ence*. 61 (2): 192–208.

**Chen AP, Wang GL, Qu ZL, Lu CX, Liu N, Wang F. 2007**. Ectopic expression of ThCYP1, a stress-responsive cyclophilin gene from *Thellungiella halophila*, confers salt tolerance in fission yeast and tobacco cells. *Plant Cell Rep*, 26, 237-245.

**Cheruth AJ, Azooz MM. 2009**. Exogenous calcium alters pigment composition, γ-glutamyl kinase and praline oxidase activities in salt-stressed *Withania somnifera*. *Plant Omics Journal*, 2(2):85-90.

**Damerval C, Vienne Dde, Zivy M, Thiellement H. 1986**. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*. 7: 52-54.

**Emad M, Gheibi F, Rasouli SM, Khanjanzadeh R,Mohammadijozani S. 2012**. Viper's bugloss, 48P (InFarsi with English abstract)

**Fei G, YiJun Z, LingYun H, DaCheng H, GenFa Z. 2008.** Proteomic analysis of long-term salinity stressresponsive proteins in *Thellungiella halophila* leaves. *Chinese Science Bulletin*, 53(22),3530-3537.

**Frechilla S, Lasa B, Ibarretxe L, Lamsfus C, Aparicio-TejoP. 2001**. Pea responses to saline stress is affected by the source of nitrogen nutrition (ammonium or



[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]
[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

nitrate). *Plant. Growth*. Regul., 35: 171-179.

**Hajheidari M, Abdollahian-Noghabi M, Askari H, Heidari M, Sadeghian SY, Ober ES. Hosseini Salekdeh Gh. 2005.** Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. Proteomics 5: 950-960.

**Hasegawa P, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. 2000**. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Ann.Rev.Plant Physiol. *Plant Mol. Biol*. 51: 463–499.

**Hong Z, Lakkineni K, Zhang Z, Verma DS. 2000**. Removal of feedback inhibition of 1-pyrrolin-5-carboxylate synthetas resalts in increased prolin accumulation and prodaction of plant from osmotic stress. Plant Physiol. 122:1129-1136.

**Jiang Y, Yang B, Harris NS, Deyholos MK. 2007.**Comparative Stress-Responsive Proteins in Arabidopsis Roots. J Exp Bot; 58:3591-3607.

**Kar M, Mishra D. 1976.** Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. *Plant Physiol*. 57: 315-319.

**Kauffmann S, Legrand M, Geoffroy P, Fritig B. 1987**. Biological function of pathogenesis-related proteins: four PR-proteins have 13-1.3-glucanase activity. *EMBO J*. 6: 3209-3212.

**Kocal N, Sonnewald U, Sonnewald S. 2008**. Cell wall-bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris pv.* Vesicatoria . Plant Physiol. 148: 1523-1536.

**Kumar Parida A, Bandha Das A. 2005.** Salt tolersnce and salinity effect on plants: areview. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60: 324-349.

**Kwon SJ, Kwon S, Seok Bae MS, Cho EJ. Park OK. 2007.** Role of the methionine sulfoxide reductase msrb3 in cold acclimation in arabidopsis. *Plant Cell Physiol*, 48(12), 1713-1723.

**Lovegrove A, Hooley R. 2000**. Gibberellin and abscisic acid signalling in aleurone. *Science Ltd*. 5: 1360-1385.

**Mittler R, 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405-410.

**Mohnen D, Shinshi H, Felix G, Meins F. 1985**. Hormonal regulation of p-1,3 glucanase messenger RNA levels in cultured tobacco tissues. *EMBO J*. 4: 1631-1635.

**Mubarakshina MM, Ivanov BN, Naydov IA. 2010.** Production and diffusion of chloroplastic $H_2O_2$ and its implication to signalling. J Exp Bot; 61(13): 3577-87.

**Ndoumou DO, Ndzomo GT, Djocgoue PF. 1996.** Changes in carbohydrate, amino acid and phenol contents in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthoramegakarya* . Annals of Botany,77: 153–158.

**Oda T, Hashimoto H, Kuwabara N, Akashi S, Hayashi K, Kojima C. 2010.** Structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications. J Chem Biol; 285(2): 1435-45.

**Pandey A, Mann M. 2000**. Proteomics to study genes and genomes. Nature. 405:837–846.

**Parvaiz A, Satyawati S. 2008**. Salt stress and phyto-blochemical responses of plants. *Plant Soil Environment.* 54: 89-99. (In Farsi with English abstract).

**Petrov VD, Breusegem FV. 2012**. Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. Cell Biology; 14: 1093-1206.

**Smirnoff N. 1998**. Plant resistance to environmental stress, Current Opinion in Biotechnology, 9: 214-219.

**Staskawicz, B. J., Ansubel, F. M., Baker, B. J., Ellis, J. G., and Jones, J. G. 1995.** Molecular genetics of plant disease resistance. Science. 268: 661-667.

**Tavakoli Hasanaklou H, Ebadi A, Jahanbakhsh S. 2014.** Study of some tolerance mechanisms to water deficit stress in bread wheat genotypes (*Triticumaestivum* L.). Cereal Research, 4(1): 13-25.

**Tuna AL, Kaya C, Ashraf M, Altunlu H, Yokas I, Yagmur B. 2007**. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. Environmental and Experimental Botany. 59: 173-178.

**Walker DJ, Bernal MP. 2008.** The effects of olive mill waste compost and poultry manure on the availability and plant uptake of nutrients in a highly saline soil. Bioresource Technology. 99: 396-403.

**William H. 2000**. Official methods of analysis of AOAC international. 17nd ed. USA: AOAC International. 100p.

**Ya Ling L, Stanghellini C, Challa H. 2001.** Effect of electrical conductivity and transpiration on production of greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum L.*). Scientia Hort. 88: 11- 29.

**Zorb C, Schmitt S, Neeb A, Karl S, Linder M, Schubert S. 2004**. 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 Science.* 167:91-100.

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]

# Effect of calcium on salt tolerance protein expression and activity of antioxidants in borage under salinity condition

**Sodabeh Jahanbakhsh Godehkahriz[*1], Samira Khadem Sedighi[2], Ali Ebadi[3], Nasibeh Tavakoli[4] , Mehdi Davari[5]**

1- Associate Professor, 2-Msc Student, 3- Professor, Department of Agronomy and Plant Breading, 4- PhD Student of Crop Plant Physiology, 5- Associate Prof. Plant Pathology Dept., University of Mohaghegh Ardabili, Iran

*Corresponding Author: jahanbakhsh@uma.ac.ir

## Abstract

Considering the importance of the herb borage and its growing use in traditional medicine and the pharmaceutical industry, the waste resulting from the indiscriminate exploitation of wild plants, the need to cultivate this plant is widely seen as commercially necessary. To overcome the negative effects of salinity, the use of calcium supplements to improve the growth environment is an essential requirement. In order to investigate this issue we preformed a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Factors included salinity levels (0, 3, 6, 9, 12ds / m-1) and calcium at two levels 0 and 5 mM, respectively. The seeds were grown in Gldanbh for hydroponics. One week after planting treatments were applied. One month after treatment the leaves were sampled. The results showed that with increasing salinity levels, the element sodium and the amount of biomass and the guidance and catalase activity decreased. The high salinity levels and the presence of high levels of calcium chloride total chlorophyll and Falyt peroxidase and polyphenol oxidase were increased but there was decreased proline. Results of Khasl 2D electrophoresis showed that the expression of some proteins in high levels of salinity and chloride increased calcium levels and also different proteins expressed this protein was likely to create resistance and important loss of salt.

**Keywords**: *Borago Officinalis*, Calcium Salinity, 2-dimensional electrophoresis

[ Downloaded from gebsj.ir on 2026-01-02 ]

[ DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.1.13.5 ]