JSST Journal of Space Science and Technology

Vol. 16 / Issue 4 / 2023 / (No. 59)
Print ISSN: 2008-4560 / Online ISSN: 2423-4516
https://doi.org/10.30699/jsst.2023.1433

OPEN ACCESS

Pages: 83-89 / Technical Note / Received: 04 March 2023 / Revised: 26 April 2023 / Accepted: 21 May 2023

Journal Homepage: https://jsst.ias.ir

The Effect of Extreme Temperature Fluctuations Simulated of Space on the Electrophoretic Profile of Tomato (*Lycopersicum esculentum Mill.*) Seed Storage Proteins

Fateme Mousavi

Assistant Professor, Aerospace Research Institute of Iran Ministry of Science, Technology and Research, Tehran, Iran

E-mail: moosavi@ari.ac.ir

Abstract

Extreme temperature fluctuations in space, especially on the moon and Mars, are one of the most important challenges for space scientists to transfer plant seeds and grow them in outer space outside the atmosphere. The present research studied the effects of simulated space temperature fluctuations on the quantitative and qualitative content of dry tomato seed proteins. The results showed a double or more significant decrease in the intensity of protein bands with high molecular weight in the treated group compared to the control. The two-dimensional electrophoresis technique followed by mass spectrometry is suggested for the identification of unknown protein bands in future studies.

Keywords: Seed, Temperature fluctuations, Thermal cycle, Plant, Spacecraft

1. Introduction

The study of plants under real and simulated space conditions has important applications for basic and applied research supported by international space agencies [1]. Seeds have evolved as essential components of higher plants and enable drought tolerance and allow reproduction after long-term dry storage [2]. Dry seeds lose their viability when exposed to long-term storage or controlled deterioration treatments such as excessive dryness, lack of oxygen, and temperature fluctuations on the ground or in the outer atmosphere [3]. Proteomic changes can occur in the dry state for seeds. Therefore, for the first time, in the present study, using a space thermal cycle simulator, we studied the effects of space temperature fluctuations on the quantitative and qualitative protein content of dry tomato seeds.

2. Methodology

In order to simulate the conditions of temperature fluctuations outside the atmosphere, the dry seeds of the tomato plant (*Solanum lycopersicum*) cultivar Superchef were placed in the thermal cycle simulator. The thermal cycle was applied to the seeds in the temperature range of -72 to +80 degrees Celsius with a change rate of 5 degrees per minute. In order to measure the qualitative content of dry tomato seed proteins, protein electrophoresis by SDS-PAGE method was used. For this purpose, SDS-PAGE was performed in 10% acrylamide gel according to Laemmli's method. Image processing software (Image J) was used to measure the intensity of protein bands and determine the amount of protein in each band.

3. Discussion and Results

Tomato seeds are rich in protein and its protein content varies from 22.2% to 40% based on dry weight [4]. Electrophoresis, which reveals changes in protein composition and specific enzymes, can be an efficient tool to determine the physiological potential of treated or deteriorated seeds [5]. Degradation of proteins in the process of aging or deterioration of seeds leads to a decrease in the intensity of protein bands or their disappearance. In the present study, the protein profile of tomato seeds was prepared using the SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) method, which showed about 13 protein bands (Figure 1). Peptides were detected in the molecular weight range of

COPYRIGHTS
© 2023 by the authors. Published by Aerospace Research Institute. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

How to cite this article:
F. Mousavi, "The Effect of Extreme Temperature Fluctuations Simulated of Space on the Electrophoretic Profile of Tomato (*Lycopersicum Esculentum Mill.*) Seed Storage Proteins," *Journal of Space Science and Technology*, Vol. 16, No. 4, pp. 83-89, 2023 (in Persian), https://doi.org/10.30699/jsst.2023.1433.

91.82 to 8.89 kilodaltons. Intensity analysis of protein bands using densitometry showed a significant decrease in the intensity of all protein bands in the group treated with thermal cycle (Figure 2). This decrease was more evident in the protein bands with molecular weight above 45 kilodaltons (numbers 1 to 5) and a two-fold or more decrease in protein band intensity was observed. According to Hameed et al., [6], proteins such as DELLA protein, vicilin, alkaline alpha galactosidase and BIP are in this molecular weight range. DELLA protein is considered as the main inhibitor of growth and its expression increases in abiotic stresses [7]. In addition to providing nutrients during seed germination, vicilins play a role in maintaining the viability of seeds during natural decay or long-term storage [2]. Alkaline alpha-galactosidase plays a role in the mobilization of carbohydrate reserves during and after seed germination [8]. Binding immunoglobulin protein (BIP) is involved in the protein repair process in plants in response to heat shock and other stresses [9].

4. Conclusions

The reduction of seed reserve proteins during thermal cycle treatment shows that the role of these proteins is not limited to providing nutrients during seed germination and they are necessary to maintain seed vigor and viability under artificial or natural aging. Finally, two-dimensional electrophoresis technique followed by mass spectrometry is suggested for better resolution of tomato seed proteins and their better separation, as well as identification of unknown protein bands in future studies.

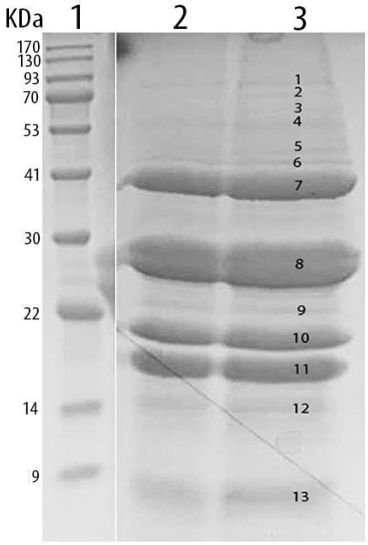


Figure 1. Electrophoretic profile of tomato (Solanum lycopersicum) seed storage proteins.
1. Molecular marker
2. Thermal cycle treatment
3. Control

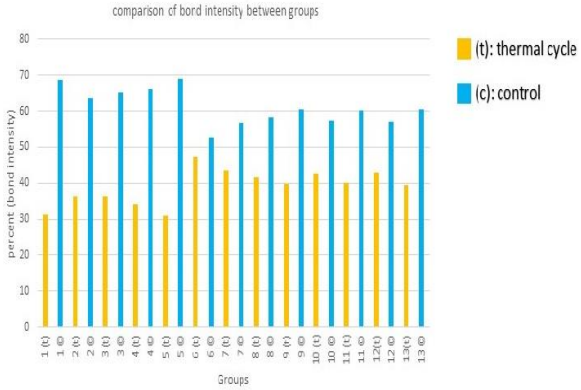


Figure 2. Densitometry analysis of expressed protein levels according to band intensity. Protein bands 1 to 13 were compared in both groups.

5. References

[1] M. Wang, K. Danz, V. Ly, and M. Rojas-Pierce, "Microgravity enhances the phenotype of Arabidopsis zigzag-1 and reduces the Wortmannin-induced vacuole fusion in root cells," *npj Microgravity*, vol. 8, no. 1, p. 38, 2022, doi: https://doi.org/10.1038/s41526-022-00226-3.

[2] T.-P. Nguyen, G. Cueff, D. D. Hegedus, L. Rajjou, and L. Bentsink, "A role for seed storage proteins in Arabidopsis seed longevity," *Journal of experimental botany*, vol. 66, no. 20, pp. 6399-6413, 2015, doi: https://doi.org/10.1093/jxb/erv348.

[3] A. M. Visscher, C. E. Seal, R. J. Newton, A. L. Frances, and H. W. Pritchard, "Dry seeds and environmental extremes: consequences for seed lifespan and germination," *Functional Plant Biology*, vol. 43, no. 7, pp. 656-668, 2016, doi: https://doi.org/10.1071/FP15275.

[4] Z. Pan, R. Zhang, and S. Zicari, *Integrated processing technologies for food and agricultural by-products*. Academic Press, 2019.

[5] I.-I. S. T. Association, "Handbook of variety testing: electrophoresis testing," *Zürich, ISTA. 50p*, 1992.

[6] A. Hameed, A. Gul, and T. Gulzar, "Characterization of tomato germplasm through seed storage protein profiling by SDS-PAGE," *Pak J Bot*, vol. 46, no. 3, pp. 827-832, 2014.

[7] E. H. Colebrook, S. G. Thomas, A. L. Phillips, and P. Hedden, "The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress," *Journal of experimental biology*, vol. 217, no. 1, pp. 67-75, 2014, doi: https://doi.org/10.1242/jeb.089938.

[8] T.-Y. Zhao *et al.*, "An alkaline α-galactosidase transcript is present in maize seeds and cultured embryo cells, and accumulates during stress," *Seed Science Research*, vol. 16, no. 2, pp. 107-121, 2006, doi: https://doi.org/10.1079/SSR2006243.

[9] G. J. Lee and E. Vierling, "A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein," *Plant physiology*, vol. 122, no. 1, pp. 189-198, 2000, doi: https://doi.org/10.1104/pp.122.1.189.

JSST
علوم و فناوری فضایی

دوره ۱۶ / شماره ۴ / ۱۴۰۲ / (پیاپی ۵۹)
شاپای چاپی: ۴۵۶۰-۲۰۰۸ / شاپای الکترونیکی: ۴۵۱۶-۲۴۲۳
https://doi.org/10.30699/jsst.2023.1433

OPEN ACCESS

ص. ص. ۸۹-۸۳ / یادداشت فنی/ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۳ / بازنگری: ۱۴۰۲/۰۲/۰۶ / پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۳۱

Journal Homepage: https://jsst.ias.ir

تأثیر نوسانات دمایی شدید شبیه‌سازی شده فضا بر نیم‌رخ الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum Mill.*)

فاطمه موسوی[†]

پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

ایمیل: moosavi@ari.ac.ir

چکیده

پیری بذر فرآیندی است که می‌تواند منجر به از دست دادن کامل زیست‌پذیری بذر شود. این فرآیند زمانی اتفاق می‌افتد که بذرها در معرض ذخیره طولانی‌مدت یا تیمارهای زوال کنترل شده نظیر خشکی بیش از حد، فقدان اکسیژن، و نوسانات دمایی روی زمین یا فضای خارج از جو قرار بگیرند. تغییرات پروتئومی می‌تواند در حالت خشک برای بذرها رخ دهد. نوسانات دمایی شدید فضا و به‌طور ویژه ماه و مریخ، یکی از چالش‌های مهم پیش رو دانشمندان فضایی جهت انتقال بذر گیاهان و پرورش آن‌ها در فضای خارج از جو می‌باشد. در مطالعه حاضر، اثرات نوسانات دمایی شبیه‌سازی شده فضا بر محتوای کمی و کیفی پروتئین‌های بذر خشک گوجه‌فرنگی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج ۱۳ باند پروتئینی را در محدوده وزن مولکولی ۹۱/۸۲ تا ۸/۸۹ کیلودالتون نشان داد. هم‌چنین کاهش دو برابر و یا بیشتر شدت باندهای پروتئینی با وزن مولکولی بالا در گروه تحت تیمار نسبت به شاهد مشاهده شد. درنهایت انجام روش الکتروفورز دوبعدی و به دنبال آن طیف‌سنجی جرمی برای وضوح بهتر پروتئین‌های بذر گوجه‌فرنگی و تفکیک بهتر آن‌ها و هم‌چنین شناسایی باندهای پروتئینی ناشناخته در مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: بذر، نوسانات دمایی، سیکل حرارتی، فضا، فضاپیما، الکتروفورز، پروتئین، زیست‌پذیری، ماه، مریخ

علائم و اختصارات

SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
BIP	Binding immunoglobulin protein
SIP	seed imbibition proteins
PTM	Posttranslational

مقدمه

مطالعه گیاهان تحت شرایط واقعی و شبیه‌سازی شده فضا کاربردهای مهمی برای تحقیقات پایه و کاربردی دارد که توسط سازمان‌های فضایی بین‌المللی مورد حمایت قرار می‌گیرد [۱, ۲]. در آینده نزدیک، فضانوردان احتمالاً باید بیش از یک تا دو سال را در ماه یا مریخ سپری نمایند. برای مأموریت‌های طولانی‌مدت انسانی، ارسال غذا پرهزینه و چالش‌برانگیز است [۳]. رشد گیاهان در فضا و سیستم‌های پشتیبان حیات بسته می‌تواند رژیم غذایی سالم و متنوعی را برای فضانوردان در طول مأموریت‌های فضایی فراهم کند. علاوه بر این گیاهان می‌توانند به احیا جو (با آزادسازی اکسیژن و تثبیت دی‌اکسیدکربن) و تصفیه آب (از طریق تعرق) کمک نمایند [۴].

ژرم پلاسم گیاهی شامل بذر، گرده گیاهان و هاگ قارچ‌ها می‌باشد. طول عمر ژرم پلاسم در حالت خشک به شرایط نگه‌داری به‌ویژه دمای محیط بستگی دارد [۵]. بذرها به‌عنوان اجزا ضروری

[†] استادیار

COPYRIGHTS
© 2023 by the authors. Published by Aerospace Research Institute. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

گیاهان عالی تکامل یافته و تحمل به خشکی را نیز میسر می‌سازند و پس از ذخیره‌سازی خشک طولانی‌مدت، اجازه تکثیر را می‌دهند [۶]. پیری بذر فرآیندی است که می‌تواند منجر به از دست دادن کامل زیست‌پذیری بذر شود. این فرآیند زمانی اتفاق می‌افتد که بذرها در معرض ذخیره طولانی‌مدت یا تیمارهای زوال کنترل شده نظیر خشکی بیش از حد، فقدان اکسیژن و نوسانات دمایی روی زمین یا فضای خارج از جو قرار بگیرند [۷, ۸]. بذرها در حالت خشک می‌توانند به‌واسطه دماهای شدید یا از طریق پیری تسریع شده یا واسرشته شدن ساختارهای سلولی به دلیل اثرات دماهای بالا زیست‌پذیری خود را از دست داده و بمیرند [۹, ۱۰]. به‌هرحال، بذرهای گونه‌های مختلف گیاهی، سرعت پیری بذر متفاوتی را در شرایط نگه‌داری یکسان نشان می‌دهند [۱۱].

تغییرات پروتئومی می‌تواند در حالت خشک برای بذرها رخ دهد. رویکردهای پروتئومیکس ابزار مفیدی برای تعیین نقش‌ها و اعمال بیولوژیکی هر پروتئین و شناسایی ساز و کارهای مولکولی حاکم بر پیری بذرهای خشک بوده است [۱۲, ۱۳]. یک مطالعه اخیر در بذرهای ذرت نشان داد که پیری مصنوعی بر پروتئوم بذرهای خشک تأثیر می‌گذارد و ۱۶ پروتئین افزایش بیان را نشان دادند. پیری مصنوعی موجب افزایش پروتئازها و تجزیه پروتئین‌های ذخیره‌ای، اختلال در متابولیسم و تأمین انرژی و درنهایت منجر به زوال بذر می‌گردد [۱۴].

در زمینهٔ مأموریت‌های فضایی طولانی‌مدت انسانی مهم است بدانیم کدام گونه‌ها قادرند بذرهایی را تولید کنند که بتوانند شرایط محیطی شدید فضای بیرونی را تحمل نمایند. در سال ۱۹۷۱ میلادی، برای اولین بار، استوارت روزا صدها بذر از گونه‌های درختی را به مدار اطراف ماه آورد تا پس از بازگشت به زمین، محققان بتوانند رشد آن‌ها را در زمین مطالعه نمایند [۱۵]. پس از آن در اوایل سال ۲۰۱۹ میلادی، بذرهای گیاه پنبه توسط کاوشگر چانگ‌ای ۴ چین به ماه آورده شدند. بر طبق گزارش سازمان فضایی چین، بذرهای پنبه کاشته شده در سطح دور ماه برای اولین بار جوانه زدند [۱۶].

نوسانات دمایی شدید فضا و به‌طور ویژه ماه و مریخ، یکی از چالش‌های مهم پیش رو دانشمندان فضایی جهت انتقال بذر گیاهان و پرورش آن‌ها در فضای خارج از جو می‌باشد. مدارگرد مربوط به مأموریت اکتشافی چانگ‌ای ۶ کشور چین قرار است در سال ۲۰۲۴ میلادی به مدار ماه اعزام شود. محدوده دمایی که محموله‌های زیستی درون این مدارگرد متحمل خواهند شد بین ۱۰۰- تا ۸۰+ درجه سانتی‌گراد خواهد بود. بنابراین در مطالعه حاضر با استفاده از یک دستگاه شبیه‌ساز سیکل حرارتی فضا، اثرات نوسانات دمایی فضا را بر محتوای کمی و کیفی پروتئین‌های بذر خشک گوجه‌فرنگی مورد مطالعه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

به‌منظور شبیه‌سازی شرایط نوسانات دمایی فضای خارج از جو، بذرهای خشک گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum Mill.*) رقم سوپرچف[1] که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شده بود درون دستگاه شبیه‌ساز سیکل حرارتی واقع در پژوهشگاه فضایی ایران قرار داده شد. بدین منظور، برای اینکه انتقال حرارتی به‌خوبی انجام شود یک محفظه از جنس آلومینیوم ساخته شد و بذرهای خشک گوجه‌فرنگی درون آن قرار داده شدند. سپس سیکل حرارتی در محدوده دمایی ۷۲- تا ۸۰+ درجه سانتی‌گراد با نرخ تغییرات ۵ درجه بر دقیقه بر بذرها اعمال شد. بذرها ۱۵ دقیقه تحت دمای ۸۰+ درجه و ۱۵ دقیقه نیز تحت دمای ۷۲- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مدت‌زمان کل آزمون یک ساعت و بیست و پنج دقیقه بود. بذرهای گروه شاهد در دمای اتاق نگه‌داری شدند.

به‌منظور استخراج پروتئین‌های محلول و نامحلول بذرهای گوجه‌فرنگی شاهد و تحت تیمار، پروتئین‌های بذر خشک گوجه‌فرنگی با استفاده از روش شرح داده شده توسط Miskoska-Milevska و همکاران [۱۷] عصاره‌گیری شدند. بدین‌منظور، بذرهای خشک آسیاب شده در یک بافر (شامل ۰/۰۶۲۵ مول TRIS-HCl (PH=6.8)، ۲ ٪ SDS (W/V)، ۵٪ (V/V) مرکاپتواتانول، ۱۰٪ (W/V) گلیسرول و ۰/۰۰۲٪ (W/V) بروموفنول بلو) به نسبت ۱:۲,۵ مخلوط شدند. نمونه بذر با استفاده از ورتکس شدید همگن‌سازی شد و در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت نگه‌داری شد. سپس به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب واسرشت شد. پس از انجام این مراحل، نمونه در ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و از مایع‌رویی برای الکتروفورز استفاده گردید.

به‌منظور سنجش محتوای کیفی پروتئین‌های بذر خشک گوجه‌فرنگی، از الکتروفورز پروتئین‌ها به روش SDS-PAGE استفاده شد. بدین منظور SDS-PAGE در ژل آکریلامید ۱۰ درصد مطابق با روش لاملی انجام شد [۱۷]. به‌طور خلاصه، مخلوط بافر و نمونه در ترمال سایکلر به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۹ درجه سانتی‌گراد دناتوره شد و به ازای هر نمونه، در هر چاهک ۱۰ میکرولیتر از این مخلوط بارگذاری شد.

پس از رنگ‌آمیزی ژل توسط کوماسی بلو و سپس رنگ‌بری آن به‌منظور شدت‌سنجی باندهای پروتئینی[2] برای تعیین مقدار پروتئین در هر باند، تصویر ژل با استفاده از نرم‌افزار پردازش تصویر image J آنالیز شد.

1. Super Chief
2. Densitometry

نتایج و بحث

گوجه‌فرنگی یک از گونه‌های گیاهی کاندید ناسا برای سفرهای فضایی و کشت روی مریخ است به‌طوری‌که در طی سال‌های ۱۹۸۴ و ۱۹۹۷ میلادی، ناسا مقادیر زیادی از بذرهای گوجه‌فرنگی را در طی مأموریت‌های شاتل‌های فضایی چلنجر [۳]و آتلانتیس [۴]به فضا پرتاب کرد. هدف از این پرتاب‌ها بررسی تأثیر شرایط فضا بر زیست‌پذیری و قدرت رویش بذر و هم‌چنین ویژگی‌های دانه رست گیاه گوجه‌فرنگی بود. گوجه‌فرنگی به‌عنوان یکی از محبوب‌ترین سبزیجات در جهان، سرشار از لیکوپن، فنولیک اسید، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و بسیاری از اجزای مفید دیگر است [۱۸]. بذر آن غنی از پروتئین است و میزان پروتئین آن از ۲۲/۲ ٪ تا ۴۰٪ بر اساس وزن خشک متغیر است [۱۹, ۲۰]. پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گوجه‌فرنگی شامل آلبومین، گلوبولین، گلیادین و گلوتنین هستند. فراوانترین پروتئین‌ها در آندوسپرم، پروتئین‌های ذخیره‌ای نظیر لگومین‌ها، ویسیلین‌ها و آلبومین‌ها می‌باشند [۲۱].

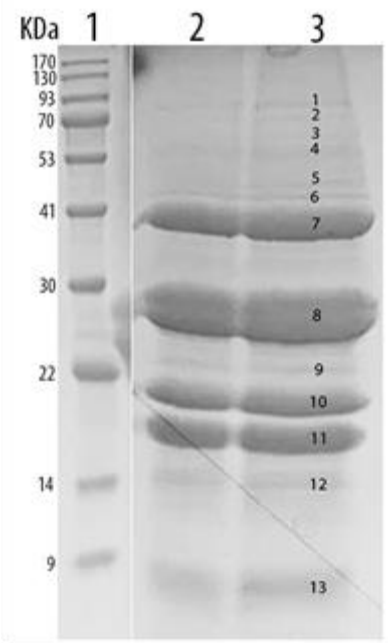
در سطح مولکولی بسیاری از تغییرات در بیوشیمی بذر با زوال بذر در ارتباط است که شامل تغییر در محتوای درشت مولکول‌ها و ترکیباتی نظیر لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، و یکپارچگی غشا است [۲۲]. الکتروفورز که تغییرات در ترکیب پروتئینی و آنزیم‌های خاص را آشکار می‌سازد می‌تواند ابزار کارآمدی برای تعیین پتانسیل فیزیولوژیکی بذرهای تحت تیمار و یا زوال یافته باشد [۲۳]. تغییرات پس ترجمه‌ای [۵](PTM) پروتئین‌ها در بذرهای خشک نقش اصلی را در شکستن خواب بذر، از سرگیری متابولیسم و فرآیندهای پیری دارد [۲۴]. این محققان هم‌چنین نشان دادند که تجمع پروتئین‌های اکسیدشده (کربونیله شده) در بذرهای خشک مرتبط با پیری است و ممکن است باعث از بین رفتن عملکرد پروتئین‌ها و آنزیم‌ها شود [۱۲]. تخریب پروتئین‌ها در فرآیند پیری یا زوال بذر منجر به کاهش شدت باندهای پروتئینی یا ناپدید شدن آن‌ها می‌گردد. در مطالعه حاضر تأثیر نوسانات دمایی شبیه‌سازی شده محیط فضا بر شدت باندهای پروتئینی بذر خشک گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نیمرخ پروتئینی بذر گوجه‌فرنگی با استفاده از روش SDS-PAGE تهیه شد که حدود ۱۳ باند پروتئینی را نشان داد. پپتیدها در محدوده وزن مولکولی ۹۱/۸۲ تا ۸/۸۹ کیلودالتون شناسایی شدند. شکل (۱) نیمرخ‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گوجه‌فرنگی را در دو گروه شاهد و تحت تیمار سیکل حرارتی نشان می‌دهد. آنالیز شدت‌سنجی باندهای پروتئینی با استفاده از دانسیتومتری، کاهش قابل توجه شدت تمامی باندهای پروتئینی را در گروه تحت تیمار سیکل حرارتی نشان داد (شکل ۲). این کاهش در باندهای پروتئینی با وزن مولکولی بالاتر از ۴۵ کیلودالتون (شماره ۱ تا ۵) مشهودتر بود و تا حدود دو برابر و یا بیشتر کاهش شدت باند پروتئینی مشاهده شد. مطابق با Hameed و همکاران [۲۵]، پروتئین‌هایی نظیر پروتئین DELLA، ویسیلین، آلکالین آلفا گالاکتوزیداز و BIP در این محدوده وزن مولکولی قرار می‌گیرند. پروتئین DELLA به‌عنوان بازدارنده اصلی رشد مطرح است و بیان آن در تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌یابد [۲۶]. این پروتئین‌ها در غیاب جیبرلین موجب سرکوب رویش و جوانه‌زنی بذر می‌شوند [۲۷]. ویسیلین‌ها علاوه بر تأمین مواد غذایی در طی رویش بذر، در حفظ قوه نامیه و زیست‌پذیری آن در طی زوال طبیعی بذر و یا ذخیره طولانی‌مدت آن نقش ایفا می‌کنند [۶]. کاهش و ناپدید شدن باندهای پروتئین‌های ذخیره‌ای ویسیلین در بذرهای Vicia faba نیز طی پیری و زوال طبیعی بذر گزارش شده است [۲۸]. آلکالین آلفا گالاکتوزیداز جز پروتئین‌های جذب آب بذر [۶] (SIP) است. فعالیت آلکالین آلفا گالاکتوزیداز در بذرها تنها در مراحل نهایی جوانه‌زنی قابل مشاهده است. به‌هرحال، در Zea mays و گوجه‌فرنگی، فعالیت آلکالین آلفا گالاکتوزیداز هم در بذرهای خشک و هم بذرهای در حال جوانه‌زنی مشاهده شده است. این آنزیم در فراهم آوردن ذخایر کربوهیدرات در طول رویش بذر و پس از آن نقش ایفا می‌کند [۲۵– ۲۹]. پروتئین متصل به ایمونوگلوبولین (BIP) در فرآیند ترمیم پروتئین در گیاهان در پاسخ به شوک حرارتی و تنش‌های دیگر درگیر می‌باشد [۳۰, ۳۱]. چندین محقق دیگر نیز تخریب پروتئین‌های بذر را از نظر کاهش باندها و شدت آن‌ها با افزایش سن بذر و یا زوال آن گزارش نموده‌اند [۳۲–۳۴]. به‌هرحال، در مطالعه حاضر از ژل آکریلامید با غلظت ۱۰ درصد استفاده شد. بدیهی است با افزایش درصد ژل، پروتئین‌ها با وزن مولکولی پایین‌تر بهتر تفکیک شده و ممکن است تفاوت‌هایی نیز در شدت باندهای پروتئینی با وزن مولکولی کم مشاهده گردد.

نتیجه‌گیری

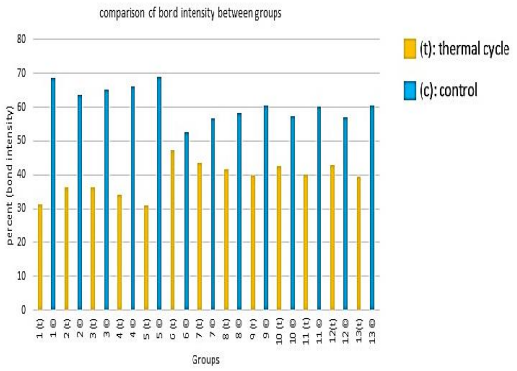
کاهش پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر در طی تیمار سیکل حرارتی نشان می‌دهد نقش این پروتئین‌ها تنها محدود به تأمین مواد مغذی در طی رویش بذر نمی‌شود و برای حفظ قوه نامیه و زیست‌پذیری بذر تحت پیری مصنوعی و یا طبیعی ضروری هستند. درنهایت انجام تکنیک الکتروفورز دوبعدی و به دنبال آن طیف‌سنجی جرمی برای وضوح بهتر پروتئین‌های بذر گوجه‌فرنگی و تفکیک بهتر آن‌ها و

3. Challenger
4. Atlantis
5. Posttranslational
6. Seed Imbibition Proteins

هم‌چنین شناسایی باندهای پروتئینی ناشناخته در مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد.



شکل ۱- پروفایل الکتروفورزی پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر گوجه‌فرنگی (Solanum lycopersicum)
۱. مارکر مولکولی ۲. تیمار سیکل حرارتی ۳. شاهد



شکل ۲- آنالیز دانسیتومتری سطوح پروتئینی بیان‌شده برحسب شدت باند.
باندهای پروتئینی ۱ تا ۱۳ در هر دو گروه مقایسه شدند

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

مراجع

[1] M. Wang, K. Danz, V. Ly, and M. Rojas-Pierce, "Microgravity enhances the phenotype of Arabidopsis zigzag-1 and reduces the Wortmannin-induced vacuole fusion in root cells," *npj Microgravity*, vol. 8, no. 1, p. 38, 2022, doi: https://doi.org/10.1038/s41526-022-00226-3.

[2] G. Clément and K. Slenzka, *Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space*. Springer Science & Business Media, 2006.

[3] D. Barta and D. Henninger, "Regenerative life support systems—Why do we need them?," *Advances in Space Research*, vol. 14, no. 11, pp. 403-410, 1994, doi: https://doi.org/10.1016/0273-1177(94)90329-8.

[4] C. A. Mitchell, "Bioregenerative life-support systems," *The American journal of clinical nutrition*, vol. 60, no. 5, pp. 820S-824S, 1994, doi: https://doi.org/10.1093/ajcn/60.5.820S.

[5] D. Ballesteros, H. W. Pritchard, and C. Walters, "Dry architecture: towards the understanding of the variation of longevity in desiccation-tolerant germplasm," *Seed Science Research*, vol. 30, no. 2, pp. 142-155, 2020 , doi: https://doi.org/10.1017/S0960258520000239.

[6] T.-P. Nguyen, G. Cueff, D. D. Hegedus, L. Rajjou, and L. Bentsink, "A role for seed storage proteins in Arabidopsis seed longevity," *Journal of experimental botany*, vol. 66, no. 20, pp. 6399-6413, 2015, doi: https://doi.org/10.1093/jxb/erv348.

[7] X. Yin, D. He, R. Gupta, and P. Yang, "Physiological and proteomic analyses on artificially aged Brassica napus seed," *Frontiers in plant science*, vol. 6, p. 112, 2015, doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00112.

[8] A. M. Visscher, C. E. Seal, R. J. Newton, A. L. Frances, and H. W. Pritchard, "Dry seeds and environmental extremes: consequences for seed lifespan and germination," *Functional Plant Biology*, vol. 43, no. 7, pp. 656-668, 2016, doi: https://doi.org/10.1071/FP15275.

[9] C. Culshaw, P. Espinosa, H. Pritchard, and J. Engels, "Thermal scarification of hard seeds by wet heat treatments risks accelerated seed ageing: evidence from five woody taxa," in *Proceedings of the International Union of Forestry Research Organizations Tree Seeds Meeting, China*, 2002, pp. 34-39.

[10] S. González-Pérez, J. M. Vereijken, K. B. Merck, G. A. van Koningsveld, H. Gruppen, and A. G. Voragen, "Conformational states of sunflower (Helianthus annuus) helianthinin: effect of heat and pH," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 52, no. 22, pp. 6770-6778, 2004, doi: https://doi.org/10.1021/jf049612j.

[11] A. Vashisth and S. Nagarajan, "Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (Helianthus annuus) seeds exposed to static magnetic field," *Journal of plant physiology*, vol. 167, no. 2, pp. 149-156, 2010, doi: https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.08.011.

[12] L. Rajjou, Y. Lovigny, S. P. Groot, M. Belghazi, C. Job, and D. Job, "Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: a comparison between artificial and natural aging protocols," *Plant physiology*, vol. 148, no. 1, pp. 620-641, 2008, doi: https://doi.org/10.1104/pp.108.123141.

[13] L. Rajjou, L. Miche, R. Huguet, C. Job, and D. Job, "The use of proteome and transcriptome profiling in the understanding of seed germination and identification of

diversity: how quiescent seeds restart their metabolism to prepare seedling establishment," *Proteomics*, vol. 11, no. 9, pp. 1606-1618, 2011, doi: https://doi.org/10.1002/pmic.201000641.

[25] A. Hameed, A. Gul, and T. Gulzar, "Characterization of tomato germplasm through seed storage protein profiling by SDS-PAGE," *Pak J Bot*, vol. 46, no. 3, pp. 827-832, 2014.

[26] E. H. Colebrook, S. G. Thomas, A. L. Phillips, and P. Hedden, "The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress," *Journal of experimental biology*, vol. 217, no. 1, pp. 67-75, 2014, doi: https://doi.org/10.1242/jeb.089938.

[27] W. Ge and C. M. Steber, "Positive and negative regulation of seed germination by the Arabidopsis GA hormone receptors, GID1a, b, and c," *Plant Direct*, vol. 2, no. 9, p. e00083, 2018, doi: https://doi.org/10.1002/pld3.83.

[28] A. I. Piotrowicz-Cieślak *et al.*, "Physiological characteristics of field bean seeds (Vicia faba var. minor) subjected to 30 years of storage," *Agriculture*, vol. 10, no. 11, p. 545, 2020, doi: https://doi.org/10.3390/agriculture10110545.

[29] T.-Y. Zhao *et al.*, "An alkaline α-galactosidase transcript is present in maize seeds and cultured embryo cells, and accumulates during stress," *Seed Science Research*, vol. 16, no. 2, pp. 107-121, 2006, doi: https://doi.org/10.1079/SSR2006243.

[30] G. J. Lee and E. Vierling, "A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein," *Plant physiology*, vol. 122, no. 1, pp. 189-198, 2000, doi: https://doi.org/10.1104/pp.122.1.189.

[31] S. Gurusinghe, A. L. Powell, and K. J. Bradford, "Enhanced expression of BiP is associated with treatments that extend storage longevity of primed tomato seeds," *Journal of the American Society for Horticultural Science*, vol. 127, no. 4, pp. 528-534, 2002,doi: https://doi.org/10.21273/JASHS.127.4.528.

[32] R. H. Sammour, "Effect of ageing on the major reserve molecules and their related enzyme in natural aged seeds of flax," *Journal of Islamic Academy of Sciences*, vol. 2, no. 4, pp. 247-251, 1989.

[33] P. Coello and J. M. Vázquez-Ramos, "Maize DNA polymerase 2 (an α-type enzyme) suffers major damage after seed deterioration," *Seed Science Research*, vol. 6, no. 1, pp. 1-7, 1996, doi: https://doi.org/10.1017/S0960258500002932.

[34] K. Vishwanath, K. Prasanna, R. Gowda, S. R. Prasad, S. Narayanaswammy, and H. Pallavi, "Influence of accelerated ageing on total soluble seed protein profiles of tomato," *SEED RESEARCH-NEW DELHI-*, vol. 35, no. 2, p. 194, 2007.

intrinsic markers determining seed quality, germination efficiency and early seedling vigour," in *Seeds: biology, development and ecology. Proceedings of the Eighth International Workshop on Seeds, Brisbane, Australia, May 2005*, 2007, pp. 149-158: CABI Wallingford UK, doi:https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/9781845931971.0149.

[14] X. Xin, X. H. Lin, Y. C. Zhou, X. L. Chen, X. Liu, and X. X. Lu, "Proteome analysis of maize seeds: the effect of artificial ageing," *Physiologia Plantarum*, vol. 143, no. 2, pp. 126-138, 2011, doi: https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2011.01497.x.

[15] L. C. Rourks, "Moon Trees," *Prairie Schooner*, vol. 88, no. 1, pp. 147-156, 2014.

[16] A. Jones, "China grew two leaves on the moon: The Chang'e-4 spacecraft also carried potato seeds and fruit-fly eggs to the lunar far side-[News]," *IEEE Spectrum*, vol. 56, no. 11, pp. 9-10, 2019, doi:10.1109/MSPEC.2019.8889900.

[17] E. Miskoska-Milevska, B. Dimitrievska, K. Poru, and Z. T. Popovski, "Differences in tomato seed protein profiles obtained by SDS-PAGE analysis," *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, vol. 53, no. 1, pp. 13-23, 2008, doi: https://doi.org/10.2298/JAS0801013M.

[18] G. Giovanelli and A. Paradiso, "Stability of dried and intermediate moisture tomato pulp during storage," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 25, pp. 7277-7281, 2002, doi: https://doi.org/10.1021/jf025595r.

[19] R. Niesche and M. Haase, "Emotions and ethics: A Foucauldian framework for becoming an ethical educator," *Educational philosophy and theory*, vol. 44, no. 3, pp. 276-288, 2012, doi: https://doi.org/10.1111/j.1469-5812.2010.00655.x.

[20] Z. Pan, R. Zhang, and S. Zicari, . *Integrated processing technologies for food and agricultural by-products*. Academic Press, 2019.

[21] O. Y. Bässler *et al.*, "Evidence for novel tomato seed allergens: IgE-reactive legumin and vicilin proteins identified by multidimensional protein fractionation− mass spectrometry and in silico epitope modeling," *Journal of proteome research*, vol. 8, no. 3, pp. 1111-1122, 2009, doi:https://doi.org/10.1021/pr800186d.

[22] R. G. Shatters, A. Abdelghany, O. Elbagoury, and S. West, "Soybean seed deterioration and response to osmotic priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds," *Seed science research*, vol. 4, no. 1, pp. 33-41, 1994, doi: https://doi.org/10.1017/S0960258500001975.

[23] I.-I. S. T. Association, "Handbook of variety testing: electrophoresis testing," *Zürich, ISTA. 50p*, 1992.

[24] E. Arc *et al.*, "Reboot the system thanks to protein post-translational modifications and proteome