

ID: 525

Effect of Some Halotolerant Bacteria and Archaea Applications on Protein Metabolism of Alfalfa Under Different Salinity Conditions

Dilara Kaynar¹, Fevziye Işıl Kesbiç²

¹Veterinary, Devrekani TOBB MYO, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey

²Central Research Laboratory, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey

Abstract

Alfalfa is an important forage crop grown widely worldwide. However, its productivity and quality can be significantly affected by various environmental stresses such as high salt levels in the soil (Athar et al, 2022). Salt stress can negatively affect the growth, development and physiology of alfalfa plants, leading to reduced yields and reduced nutritional value (Khan, et al 2019). One of the main metabolic pathways affected by stress in plants is protein metabolism, and alleviating the negative effects of stress factors on protein metabolism through various applications is one of the main strategies to increase plant yield today (Ramadoss et al 2013). In this study, the effects of different halotolerant bacteria (*Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Salinicoccus amylolyticus*) and different halotolerant archaea (*Haloarcula japonica*, *Halorubrum californiense*, *Haloterrigena thermotolerans*) on protein metabolism of alfalfa grown in the presence of NaCl at different concentrations (0, 50, 100, 200 and 400 mM) added to Hoagland medium were investigated. For this purpose, seedlings grown for 14 days at 25/15°C day/night temperature and 14 hours of natural daylight were collected at the end of the experiment and ground in liquid nitrogen in a mortar. The ground plant samples were then homogenized again by adding 4 times the dry matter PBS-t pH 7.4 with an ultraturrax homogenizer, and total protein level analysis with the BCA method (He, 2011) and protein profile analysis with the SDS-PAGE method (Laemmli, 1970), which are the main methods used to examine changes in protein metabolism in these homogenates, were performed.

While the total protein level of the alfalfa in the control group was determined to be 8.62 g/100 g, it was determined that the total protein amount increased with increasing salt concentration and reached 9.48 g/100 g at 50 mM NaCl concentration, 9.51 g/100 g at 100 mM NaCl concentration, 10.10 g/100 g at 200 mM NaCl concentration and 11.30 g/100 g at 400 mM NaCl concentration.

As a result of SDS-PAGE analysis, 18 individual proteins between 10.3 kDa and 374 kDa were found. Of these individual proteins, the protein with a molecular weight of 25.7 kDa was not expressed at all with salinity, while proteins with a molecular weight of 10.3 and 12.9 kDa were overexpressed. As a result of SDS-PAGE analysis, it was determined that general protein synthesis was suppressed with salinity, but overexpression of the 10.3 kDa protein increased the total protein concentration. As a result, when the total protein amount and protein profile were evaluated together, it was determined that all bacterial and archaeal applications used in the experiment could alleviate the negative effects of salt stress on alfalfa seedlings. However, at 50 mM salt concentration, *Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Haloarcula japonica*; at 100 mM salt concentration, *Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Haloarcula japonica*, *Halorubrum californiense*; At 200-400 mM salt concentration, *Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Haloarcula japonica* were found to be the most effective in reducing stress. These findings suggest that halotolerant bacteria or archaea applications may be a promising approach to reduce the negative effects of salinity on alfalfa production.

Key Words: Stress, alfa alfa, bacteria, archaea, SDS-PAGE, TLC



Bazı Halotolerant Bakteri ve Arkea Uygulamalarının Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Yetiştirilen Yonca Bitkisinde Protein Metabolizması Üzerine Etkisi

Özet

Yonca, dünya çapında yaygın olarak yetiştirilen önemli bir yem bitkisidir. Ancak, verimliliği ve kalitesi, topraktaki yüksek tuz seviyeleri gibi çeşitli çevresel streslerden önemli ölçüde etkilenebilir (Athar et al, 2022). Tuz stresi, yonca bitkilerinin büyümesini, gelişimini ve fizyolojisini olumsuz yönde etkileyerek verimin azalmasına ve besin değerinin düşmesine neden olabilir (Khan, et al 2019).

Bitkilerde stres altında etkilenen başlıca metabolik yollardan birisi protein metabolizmasıdır ve stres faktörlerinin protein metabolizması üzerine olumsuz etkilerini çeşitli uygulamalar ile hafifletmek günümüzde bitki verimini artırmaya yönelik başlıca stratejilerden biridir (Ramadoss et al 2013). Bu çalışmada, Hoagland mediumuna eklenmiş farklı konsantrasyonlarda (0, 50, 100, 200 ve 400 mM) NaCl varlığında büyüyen yoncada protein metabolizması üzerine farklı halotolerant bakteri (*Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Salinicoccus amyolyticus*) ve farklı halotolerant arkeanın (*Haloarcula japonica*, *Halorubrum californiense*, *Haloterrigena thermotolerans*) etkileri araştırılmıştır.

Bunun için 14 gün 25/15°C gündüz/gece sıcaklık ve 14 saat doğal gün ışığı altında büyütülen fideler deneme sonunda toplanarak havanda sıvı azot içinde öğütülmüştür. Öğütülen bitki örnekleri daha sonra ultraturax homojenizatör ile kuru maddenin 4 katı PBS-t pH 7,4 eklenerek tekrar homojenize edilmiş ve bu homojenatlarda protein metabolizmasındaki değişimlerin incelenmesinde kullanılan başlıca yöntemler olan BCA yöntemi ile (He, 2011) total protein düzeyi analizi ve SDS-PAGE yöntemi ile (Laemmli, 1970) protein profil analizi gerçekleştirilmiştir.

Kontrol grubundaki yonca fidelerinin total protein düzeyi 8,62 gr/100gr tespit edilirken, artan tuz konsantrasyonu ile birlikte toplam protein miktarının arttığı ve 50 mM NaCl konsantrasyonunda 9,48 gr/100gr, 100 mM NaCl konsantrasyonunda 9,51 gr/100gr, 200 mM NaCl konsantrasyonunda 10,10 gr/100gr ve 400 mM NaCl konsantrasyonunda 11,30 gr/100gr' a ulaştığı tespit edilmiştir.

SDS-PAGE analizi sonucunda ise 10,3 kDa ile 374 kDa arasında 18 bireysel protein bulunmuştur. Bu bireysel proteinlerden 25,7 kDa molekül ağırlığındaki proteinin tuzlulukla birlikte hiç eksprese olmadığı, 10,3 ve 12,9 kDa molekül ağırlığındaki proteinlerin ise aşırı eksprese olduğu görülmüştür. SDS-PAGE analizi sonucu tuzlulukla birlikte genel protein sentezinin baskılandığı ancak 10,3 kDa' luk proteinin aşırı ekspresyonunun toplam protein konsantrasyonunu arttırdığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak total protein miktarı ile protein profili beraber değerlendirildiğinde denemede kullanılan tüm bakteri ve arkea uygulamalarının yonca fideleri üzerindeki tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifletebildiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte 50 mM tuz konsantrasyonunda *Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Haloarcula japonica*; 100 mM tuz konsantrasyonunda *Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Haloarcula japonica*, *Halorubrum californiense*; 200-400 mM tuz konsantrasyonunda ise *Salicola marasensis*, *Halobacillus trueperi*, *Haloarcula japonica*'nın stresi azaltmada en etkili olduğu belirlenmiştir.

Bu bulgular, halotolerant bakteri veya arkea uygulamalarının, tuzluluğun yonca üretimi üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmada umut verici bir yaklaşım olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Stres, yonca, bakteri, arkea, SDS-PAGE, TLC

References

- Athar, H. U. R., Zulfiqar, F., Moosa, A., Ashraf, M., Zafar, Z. U., Zhang, L., ... & Siddique, K. H. (2022). Salt stress proteins in plants: An overview. *Frontiers in Plant Science*, 13, 999058.
- He, F. (2011). BCA (bicinchoninic acid) protein assay. *Bio-protocol*, e44-e44.
- Khan, M A., Asaf, S., Khan, A L., Adhikari, A., Jan, R., Ali, S., Imran, M., Kim, K., & Lee, I. (2019, October 20). Halotolerant Rhizobacterial Strains Mitigate the Adverse Effects of NaCl Stress in Soybean Seedlings. *Hindawi Publishing Corporation*, 2019, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2019/9530963>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature*, 227(5259), 680-685.
- Ramadoss, D., Lakshini, V. K., Bose, P., Ali, S., & Annapurna, K. (2013). Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *SpringerPlus*, 2, 1-7.

