"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و سوم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8

اثر تنش شوری بر پروفایل پروتئینی لاین‌های خویش‌آمیخته متحمل و حساس ذرت (*Zea mays* L.)

Effect of salinity stress on protein profile of susceptible and tolerant maize (*Zea mays* L.) inbred lines

علی بنده‌حق[۱]، ابراهیم دورانی[۲]، شیوا علیاری راد[۳]، نوید خلیلی کورانی[۴] و سجاد محرم‌نژاد[۵]

چکیده

بنده‌حق، ع.، ا. دورانی، ش. علیاری راد، ن. خلیلی کورانی و س. محرم‌نژاد. ۱۴۰۰. اثر تنش شوری بر پروفایل پروتئینی لاین‌های خویش‌آمیخته متحمل و حساس ذرت (*Zea mays* L.). **نشریه علوم زراعی ایران. ۲۳ (۲): ۱۷۲-۱۵۸.**

این پژوهش به‌منظور بررسی تغییرات الگوی پروتئوم در برگ لاین‌های B73 و MO17 ذرت در تیمارهای تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم و بدون تنش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط آبکشت (هیدروپونیک) در سال ۱۳۹۶ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. نتایج نشان داد که عملکرد زیستی در هر دو لاین در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد بدون تنش کاهش یافت. الکتروفورز دوبعدی منجر به شناسایی ۷۸ لکه پروتئینی تکرارپذیر در لاین B73 شد که از بین آن‌ها ۲۸ لکه و از ۱۲۳ لکه تکرارپذیر در لاین MO17، ۲۰ لکه در اثر تنش شوری تغییر فراوانی داشتند. شناسایی پروتئین‌ها با استفاده از دو شاخص نقطه ایزوالکتریک و وزن مولکولی نشان داد که پروتئین‌های کاندید جزء پروتئین‌های دخیل در مسیرهای متابولیسم و تولید انرژی، پیام‌رسانی و کانالی، حفاظت و دفاع سلولی و پروتئین‌های دخیل در ساختار و جای‌گیری پروتئین‌های دیگر بودند. در شرایط تنش شوری بیشترین تعداد لکه‌های پروتئینی تغییر بیان یافته در لاین B73 و MO17 مربوط به پروتئین‌های متابولیسم و انرژی، پروتئین‌های پیام‌رسانی و کانالی و پروتئین‌های دخیل در ساختار و جای‌گیری پروتئین‌های دیگر بودند. در هر دو لاینB73 و MO17، تمام پروتئین‌های کانالی و پیام‌رسان، در اثر تنش شوری، به‌ترتیب کاهش و افزایش فراوانی داشتند. از مهم‌ترین پروتئین‌های دارای تغییر فراوانی بالا، پروتئین Calmodulin-binding transcription activator 4 بود که فعال‌کننده رونویسی کالمودولین است و نقش مهمی در رشد گیاه و پاسخ به محرک‌های محیطی دارد. این لکه پروتئینی در لاین B73 کاهش و در لاین MO17 افزایش فراوانی داشت. با کاهش پروتئین‌های کانالی و پیام‌رسان از توسعه سیستم آوندی جلوگیری شده و در نتیجه از انتقال یون‌های سمی به سمت اندام‌های هوایی جلوگیری می‌شود. در لاین B73 کلیه پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و تولید انرژی در اثر تنش شوری کاهش فراوانی و در لاین MO17، بیشتر آنها افزایش فراوانی داشتند. این موضوع نشان می‌دهد که با افزایش نسبی این پروتئین‌ها، متابولیسم گیاه افزایش یافته و باعث صرف انرژی بیشتر گیاه برای مقابله با تنش شوری می‌شود. این نتایج می‌تواند بخشی از حساسیت بالای ذرت لاین MO17 نسبت به لاین B73 را در شرایط تنش شوری توجیه کند.

واژه‌های کلیدی: الکتروفورز دو بعدی، پروتئین‌های القاپذیر، تنش شوری و ذرت.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۶ این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده چهارم می‌باشد

۱- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: bandehhagh@tabrizu.ac.ir)
۲- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۳- دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۵- استادیار بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که بعد از گندم و برنج مقام سوم را در بین غلات دارا است. در سال زراعی ۱۳۹۸ سطح زیر کشت ذرت دانه‌ای در ایران حدود ۲۰۴۳۰۵ هکتار با تولید ۱۴۰۰۰۰۰ تن بوده است (FAO, 2019).

شوری خاک از عوامل محدود کننده پایداری تولید در مناطق خشک و نیمه خشک است. شوری با افزایش فشار اسمزی و در نتیجه کاهش جذب آب و همچنین از طریق اثرات سمیت یونی، جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه را محدود می‌کند (Farooq *et al*., 2008). با افزایش تنش شوری وزن خشک و طول گیاهچه‌های ذرت به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (Jiang *et al*., 2016). شوری باعث اختلال در تقسیم و بزرگ شدن سلول‌ها شده و بر کلیه واکنش‌های متابولیکی گیاه اثر سوء دارد. مقادیر بالای یون‌های سدیم و کلر باعث کاهش جذب یون‌های عناصر ضروری از جمله پتاسیم، کلسیم، آمونیوم و نیترات شده و باعث کاهش فعالیت آنزیم‌ها شده و ساختار غشاء را مختل می‌سازد. این اثرات باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی گیاه از جمله فتوسنتز شده و باعث کاهش رشد گیاهان در محیط‌های شور می‌شود (Ashraf, 2009).

تنش شوری باعث تغییر الگوی پروتئوم بافت‌های گیاهی شده و با توجه به اینکه پروتئین‌ها محل پاسخ گیاه به تنش هستند، رهیافت پروتئومیک می‌تواند در مطالعه این پاسخ به‌عنوان یک ابزار کارآمد مورد استفاده قرار گیرد. رهیافت پروتئومیک امکان مطالعه بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش شوری و شناسایی مسیرهای مولکولی یا انتقال پیام را فراهم می‌کند (Hosseini Salekdeh and Komatsu, 2007). درک درست از تعاملات بین گیاه ذرت و تنش شوری در سطح مولکولی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است، زیرا ممکن است منجر به شناسایی ژن‌های کاندیدای تحمل و متعاقب آن منجر به تولید ارقام متحمل شود. به‌منظور بررسی پروتئین‌های دخیل در تحمل گیاه ذرت به تنش شوری می‌توان از تجزیه پروتئوم بهره گرفت. تجزیه و تحلیل پروتئومیک یکی از روش‌های مهم در مطالعات پروتئین‌ها و مقدمه‌ای برای انتقال ژن و به‌نژادی ارقام محسوب می‌شوند. با استفاده از رهیافت پروتئومیک می‌توان تعداد زیادی از پروتئین‌ها را همزمان در یک ترکیب پیچیده، مانند محتویات سلول لیز شده (تحلیل یافته) مورد بررسی قرار داد (Bandehagh *et al*., 2011). سازش گیاهان با تنش، ارتباط زیادی با تغییرات پروتئوم آن‌ها دارد. با توجه به اینکه پروتئین‌ها به‌طور مستقیم در پاسخ گیاه به تنش دخالت دارند، مطالعات پروتئومیکس می‌تواند ارتباطات موجود بین پروتئین‌ها و سازش گیاه به تنش را نشان دهد (Kosová *et* al., 2011). پروتئومیکس با دارا بودن قابلیت کشف پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش از پتانسیل مطلوبی جهت استفاده در فرآیند اصلاح مقاومت برای تنش‌ها از جمله تنش شوری برخوردار است و با استفاده از این روش می‌توان تغییرات پروتئوم ژنوتیپ‌های مختلف را در شرایط تنش شوری مورد ارزیابی قرار داد.

مقایسه الگوی پروتئوم برگ لاین‌های ذرت در شرایط تنش شوری و بدون تنش و همچنین شناسایی پروتئین‌های القاپذیر و ارزیابی ارتباط آنها با نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های مورفولوژیک از اهداف تحقیق حاضر بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در شرایط دمایی ۲۵-۱۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و بدون

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

تنش (شاهد) و لاین‌های خویش‌آمیخته ذرت (B73 و MO17) بودند که به‌صورت آبکشت (هیدروپونیک، با بستر پرلیت) کشت شدند. بذرهای لاین‌های ذرت از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت و پس از ضد عفونی و جوانه‌دار کردن (Penrose and Glick, 2003) به گلدان انتقال داده شدند. از محلول پایه هوگلند به‌عنوان محلول غذایی استفاده شد (Bandehagh *et al.*, 2008) که هر ۱۰ روز یک بار در ابتدای صبح، بسته به اندازه گیاه، به گلدان‌ها افزوده می‌شد. تنش شوری در مرحله شش تا هشت برگی گیاهچه‌های ذرت به‌صورت تدریجی و طی سه مرحله با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار (جهت جلوگیری از شوک به بوته‌ها)، به مدت دو هفته اعمال شد. برای کنترل اثر تجمعی نمک، قبل از تجدید آبیاری با محلول هوگلند، گلدان‌ها با آب مقطر شستشو داده شده و با محلول هوگلند شاهد و شور شده (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) آبیاری انجام می‌شد. میزان شوری با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی قلمی اندازه‌گیری شده و اسیدیته محلول غذایی به‌طور منظم کنترل و در محدوده هفت ثابت نگه داشته می‌شد. برای اندازه‌گیری زیست توده، کل اندام‌های هوایی برداشت و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۸ درجه سانتی‌گراد در آون خشکانده شدند. برگ‌های جوان و توسعه یافته بوته‌ها برای انجام الکتروفورز دو بعدی برداشت و در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. جهت استخراج پروتئین برگ از روش TCA/acetone (تغییر یافته) استفاده شد (Pavoković *et al.*, 2012). تعیین غلظت پروتئین‌های محلول با استفاده از روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد. بعد اول الکتروفورز بر اساس روش Iso Electric Focusing (IEF) انجام شد. برای این منظور ژل‌های لوله‌ای با اوره، پلی آکریل‌آمید ۳۰ درصد، NP-40 ۱۰درصد (شوینده تجاری با شماره ثبت CAS 9016-45-9)، آمفولیت، آمونیوم پرسولفات و TEMED تهیه شدند. اختلاف پتانسیل الکتریکی برای بعد اول به‌صورت ۲۰۰ ولت؛ ۳۰ دقیقه، ۴۰۰ ولت؛ ۱۶ ساعت و ۶۰۰ ولت؛ ۶۰ دقیقه بود (O'Farrell, 1975). بعد دوم به روش SDS-PAGE بود که با استفاده از ژل پلی آکریل‌آمید ۱۵ درصد و شدت جریان ۳۵ میلی‌آمپر برای هر ژل اجرا شد. ژل‌ها با استفاده از آبی کوماسی G250 رنگ‌آمیزی و تصویربرداری از ژل‌ها با استفاده از دستگاه Biorad GS-800 انجام شد (Bandehagh *et al.*, 2011). تصاویر به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار PD-Quest مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از آزمون t برای شناسایی لکه‌های پروتئینی با فراوانی معنی‌دار و از شاخص فاکتور القا (IF) جهت تعیین نوع تغییرات فراوانی پروتئین‌ها (افزایش یا کاهش) استفاده شد. به‌منظور تعیین میزان کاهش و یا افزایش بیان پروتئین‌ها در شرایط تنش شوری و بدون تنش، میانگین درصد حجمی هر لکه در شرایط تنش به میانگین درصد حجمی همان لکه روی ژل‌های بدون تنش تقسیم و به‌عنوان شاخص تغییرات بیان پروتئین برای تعیین میزان کاهش یا افزایش بیان هر لکه پروتئینی مورد استفاده قرار گرفت. لکه‌هایی با IF بزرگتر از ۲ با افزایش فراوانی و لکه‌هایی با IF کمتر از ۰/۵ با کاهش فراوانی در نظر گرفته شدند. جهت شناسایی لکه‌های پروتئینی احتمالی از دو شاخص نقطه ایزوالکتریک (pI) و وزن مولکولی (MW) و همچنین از نرم‌افزارهای Expasy Tag-Ident و داده پایگاه‌های استفاده شد. مفروضات تجزیه واریانس قبل از تجزیه واریانس مورد بررسی قرار گرفته و از نرم‌افزار SPSS برای تجزیه آماری داده‌ها و از آزمون LSD برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه داده‌ها نشان داد که بین دو سطح تنش شوری و دو لاین ذرت از لحاظ زیست توده در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

مقدار زیست توده در هر دو لاین در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط بدون تنش، کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۱). مقایسه زیست توده نسبی (شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش) نشان داد که لاین B73 دارای کاهش رشد کمتری در شرایط تنش بود (شکل ۲). تجزیه تصاویر ژل‌ها، باعث شناسایی ۷۸ لکه پروتئینی تکرارپذیر در لاین B73 و ۱۲۳ لکه پروتئینی تکرارپذیر در لاین MO17 شد که از این تعداد، ۲۸ لکه پروتئینی در لاین B73 و ۲۰ لکه پروتئینی در لاین MO17 تغییرات فراوانی معنی‌داری داشتند (جدول‌های ۱ و ۲، شکل‌های ۲ و ۳). از ۲۸ لکه پروتئینی در برگ لاین B73 تعداد سه پروتئین افزایش فراوانی و ۲۵ پروتئین کاهش فراوانی داشتند. پروتئین‌های شناسایی شده به گروه‌های عملکردی شامل پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان (۲۹ درصد)، پروتئین‌های تنظیم‌کننده رونویسی (۲۵ درصد)، پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و تولید انرژی (۲۱درصد)، دخیل در ساختار سایر پروتئین‌ها (۱۴ درصد) و دفاعی (۱۱ درصد) گروه‌بندی شدند. در لاین MO17 از ۲۰ لکه پروتئینی معنی‌دار تعداد ۱۵ لکه پروتئینی افزایش فراوانی و پنج لکه کاهش فراوانی داشتند (شکل ۱) که شامل گروه‌های عملکردی سایر پروتئین‌های تغییر فراوانی یافته (۳۵ درصد)، پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و تولید انرژی (۳۰ درصد)، پروتئین‌های دخیل در ساختار سایر پروتئین‌ها (۲۰ درصد)، پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان (۱۰ درصد) و پروتئین‌های دفاعی (پنج درصد) بودند.

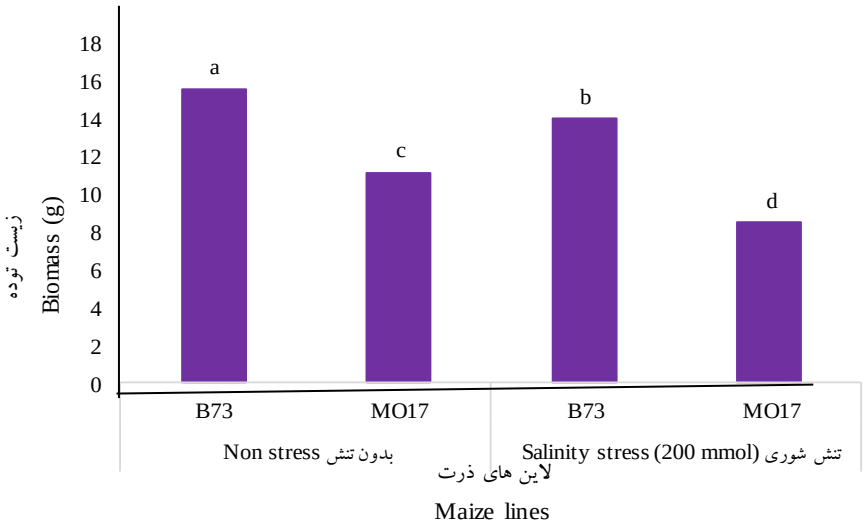
نتایج نشان داد که اکثر پروتئین‌های دارای تغییر فراوانی (القاپذیر از تنش) در پروتئوم برگ لاین B73 در گروه پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان دخیل بوده و کلیه لکه‌های پروتئینی این گروه (۲۰۴، ۱۵۰۴، ۲۵۱۱، ۲۶۰۵، ۲۶۰۸، ۳۲۰۷، ۳۶۰۶ و ۷۳۰۷) کاهش فراوانی داشتند. بعد از پروتئین‌های کانال و تنظیم‌کننده رونویسی، اکثر پروتئین‌های دارای تغییرات فراوانی در پروتئوم برگ ذرت لاین B73 در گروه متابولیسم و تولید انرژی دخیل هستند. کلیه لکه‌های پروتئینی این گروه شامل لکه‌های ۲۲۱۰، ۲۲۱۱، ۴۲۰۵ و ۳۶۰۵ کاهش فراوانی داشتند. کلیه پروتئین‌های درگیر در دفاع که شامل Peptide methionine sulfoxide reductase B2, chloroplastic؛ Transportin MOS14 و Cathepsin B-like protease 1 بودند (لکه‌های ۲۲۱۲، ۲۶۰۹ و ۵۳۰۷) همانند پروتئین‌های دخیل در متابولیسم و پروتئین‌های کانال، کاهش فراوانی داشتند. لکه‌های ۲۴۰۹، ۵۲۰۵، ۶۴۰۴ و ۶۲۰۷ در گروه پروتئین‌های دخیل در ساختار سایر پروتئین‌ها قرار داشتند که لکه ۶۲۰۷ (Isoform 3 of Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase 2) افزایش فراوانی و سایر لکه‌ها کاهش فراوانی داشتند. پروتئین‌های تنظیم‌کننده رونویسی شامل لکه‌های ۱۵۰۵، ۲۴۰۸، ۲۵۱۵، ۳۲۰۶، ۴۲۰۴، ۶۲۰۶ و ۶۴۰۷ بودند که لکه ۶۲۰۶ (Transcription factor ILI 6) در شرایط تنش شوری افزایش فراوانی و سایر لکه‌ها کاهش فراوانی داشتند (شکل ۲ و جدول ۱).

نتایج نشان داد که اکثر پروتئین‌های دارای تغییرات فراوانی (القاپذیر از تنش) در پروتئوم برگ ذرت لاین MO17 در فرایند رونویسی دخیل بوده و برخی از لکه‌های پروتئینی این گروه افزایش و برخی کاهش فراوانی داشتند. لکه‌های ۲۴۰۴، ۳۳۰۴، ۴۸۱۰، ۸۰۰۶ و ۸۴۰۲ افزایش فراوانی و لکه‌های ۶۲۰۴ (Basic leucine zipper 24) و ۸۰۰۵ (Auxin-responsive protein IAA5) کاهش فراوانی داشتند. بعد از پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی، بیش‌ترین لکه‌های پروتئینی دارای تغییرات فراوانی در گروه پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و تولید انرژی قرار داشتند که لکه‌های ۴۸۰۸، ۱۴۰۶، ۱۴۰۷، ۲۶۰۳ و ۸۵۰۸ افزایش فراوانی و لکه‌های ۵۳۰۳ (ATP synthase subunit gamma, chloroplastic) و ۸۴۰۱ (Anthranilate O-methyltransferase 2) کاهش فراوانی داشتند. لکه ۴۸۰۹ (Calmodulin-binding transcription activator 4) مربوط به گروه

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

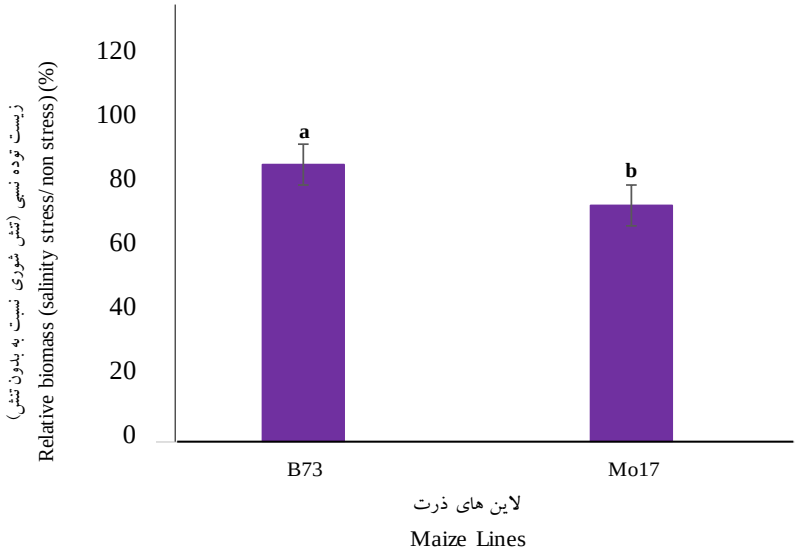
[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان افزایش فراوانی داشت. لکه‌های ۱۰۰۸، ۳۱۰۹، ۶۱۰۵ و ۹۵۰۴ جزء پروتئین‌های درگیر در ساختار سایر پروتئین‌ها هستند و کلیه این لکه‌ها افزایش فراوانی داشتند. لکه ۷۱۰۸ (Dual specificity protein phosphatase 1B) در گروه پروتئین‌های دفاعی قرار داشته و تحت تنش شوری افزایش فراوانی داشت (شکل ۳ و جدول ۲).



شکل ۱- زیست توده لاین‌های B73 و MO17 ذرت در تیمارهای بدون تنش و تنش شوری

Fig. 1. Biomass of maize inbred lines (B73 and MO17) in non stress and salinity stress treatments



شکل ۲-زیست توده نسبی (تنش شوری نسبت به بدون تنش) لاین‌های B73 و MO17 ذرت در شرایط تنش شوری

Fig. 2. Relative biomass (salinity stress/ non stress) of maize inbred lines (B73 and MO17) under salinity stress condition

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

جدول ۱- اطلاعات پروتئین‌های شناسایی شده در لاین خویش‌آمیخته ذرت (B73) در تیمار تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم)

Table 1. Identified proteins in maize inbred line (b73) in salinity stress (200 mm nacl) treatment

شماره لکه روی ژل Spot ID	هویت لکه Identity	شماره دسترسی Accession number [a]	گونه گیاهی - species	فاکتور القا Induction Factor	وزن مولکولی نظری Molecular Weight- Theoratical (KDa)	نقطه ایزوالکتریک نظری Isoelectric Point- Theoratical	وزن مولکولی مشاهده شده Molecular weight -Observed (KDa)	نقطه ایزوالکتریک مشاده شده Isoelectric point- Observed
0204	Peroxiredoxin-2E, chloroplastic	Q949U7	*A. thaliana*	0.047	17.27	5.01	18.10	5.01
1212	Photosystem I chlorophyll a/b-binding protein 2, chloroplastic	Q9SYW8	*A. thaliana*	0.096	24.51	5.02	24.43	5.17
1402	Bifunctional dolabella-3,7-dien-18-ol synthase/dolathalia-3,7,11-triene synthase TPS20, chloroplastic	A0A178U9Y5	*A. thaliana*	0.073	63.47	5.22	63.28	5.17
1504	Vacuolar protein sorting-associated protein 35B	F4I0P8	*A. thaliana*	0.16	34.59	5.23	33.55	5.17
1505	B3 domain-containing transcription factor ABI3	Q01593	*A. thaliana*	0.057	82.41	5.22	79.50	5.20
2210	Adenine phosphoribosyltransferase 4	Q9SU38	*A. thaliana*	0.23	19.58	5.28	20.35	5.35
2211	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 14	P42747	*A. thaliana*	0.058	19.55	5.34	18.59	5.36
2212	Peptide methionine sulfoxide reductase B2, chloroplastic	Q9C5C8	*A. thaliana*	0.13	15.74	5.37	15.10	5.36
2408	Protein NTM1-like 9	F4JN35	*A. thaliana*	0.023	57.52	5.35	57.25	5.33
2409	D-2-hydroxyglutarate dehydrogenase, mitochondrial	O23240	*A. thaliana*	0.005	54.00	5.37	52.43	5.42
2511	Protein TIC110, chloroplastic	Q8LPR9	*A. thaliana*	0.012	106.33	5.32	106.33	5.36
2515	Histone-lysine N-methyltransferase MEDEA	O65312	*A. thaliana*	0.04	78.47	5.31	77.41	5.50
2605	Calmodulin-binding transcription activator 4	Q9FYG2	*A. thaliana*	0.024	113.06	5.33	117.96	5.34
2608	Exportin-T	Q7PC79	*A. thaliana*	0.038	111.45	5.49	111.46	5.44
2609	Transportin MOS14	Q8GUL2	*A. thaliana*	0.18	111.23	5.56	106.91	5.61
3206	Cold shock protein	Q41188	*A. thaliana*	0.07	19.65	5.61	18.69	5.84
3207	Protein TRIGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL 5, chloroplastic	Q8VY77	*A. thaliana*	13.88	8.99	5.61	9.17	5.60
3605	Protein translocase subunit SECA1, chloroplastic	Q9SYI0	*A. thaliana*	0.077	111.15	5.63	107.45	5.64
3606	Isoform 2 of Protein translocase subunit SECA2, chloroplastic	D8WUA4	*A. thaliana*	0.097	112.98	5.69	116.37	5.90
4204	Nuclear transcription factor Y subunit B-2	Q5QMG3	*O .sativa*	0.033	18.47	5.81	19.15	5.82
4205	Protein mago nashi homolog 1	A0A0P0XB70	*O .sativa*	0.09	18.93	6.00	18.18	5.97
5205	Beta carbonic anhydrase 1, chloroplastic	P27140	*A. thaliana*	0.07	26.81	6.12	25.57	6.13
5307	Cathepsin B-like protease 1	F4HVZ1	*A. thaliana*	0.21	29.88	6.13	29.20	6.18
6206	Transcription factor ILI6	Q0DUR2	*O .sativa*	3.38	11.05	6.62	10.39	6.57
6207	Isoform 3 of Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase 2	Q64J17	*A. thaliana*	11.20	21.66	6.69	24.02	6.60
6404	Peptide chain release factor PrfB3, chloroplastic	F4J264	*A. thaliana*	0.05	47.61	6.70	45.96	6.74
6407	Transcription factor TGA10	E3VNM4	*A. thaliana*	0.053	46.54	6.50	46.59	6.55
7307	Phytolongin Phyl2.2	Q9LVV3	*A. thaliana*	0.069	30.45	6.98	29.13	6.78

a: NCBI database access numbers

a: شماره دسترسی در داده پایگاه‌های NCBI

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

جدول ۲- اطلاعات پروتئین‌های شناسایی شده در لاین خویش‌آمیخته ذرت (MO17) در تیمار تنش شوری (۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم)

Table 2. Identified proteins in maize inbred line (mo17) in salinity stress (200 mm nacl) treatment

شماره لکه روی ژل Spot ID	هویت لکه Identity	شماره دسترسی Accession number [a]	گونه گیاهی - species	فاکتور القا Induction Factor	وزن مولکولی نظری Molecular Weight- Theoratical (KDa)	نقطه ایزوالکتریک نظری Isoelectric Point- Theoratical	وزن مولکولی مشاهده شده Molecular weight –Observed (KDa)	نقطه ایزوالکتریک مشاده شده Isoelectric point- Observed
1008	Thioredoxin H3	Q42403	*A. thaliana*	24.48	13.65	5.09	12.97	5.05
1406	Magnesium-chelatase subunit ChlI-1, chloroplastic	P16127	*A. thaliana*	7.20	41.13	5.10	39.92	5.05
1407	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 3	O65378	*A. thaliana*	11.39	37.39	5.06	36.53	5.09
2404	Dehydration-responsive element-binding protein 2A	O82132	*A. thaliana*	33.41	36.55	5.19	37.70	5.17
2603	(S)-beta-macrocarpene synthase	Q1EG72	*Zea mays*	38.48	62.68	5.13	63.93	5.14
3109	Metacaspase-4	O64517	*A. thaliana*	6.08	19.73	5.28	20.55	5.25
3304	Putative casein kinase II subunit beta-4	O80507	*A. thaliana*	12.90	31.90	5.24	31.57	5.20
4808	Protein CHLOROPLAST UNUSUAL POSITIONING 1	Q9LI74	*A. thaliana*	0.03	114.01	5.37	115.67	5.46
4809	Calmodulin-binding transcription activator 4	Q9FYG2	*A. thaliana*	7.35	115.09	5.32	117.96	5.34
4810	Small RNA 2'-O-methyltransferase	Q9C5Q8	*A. thaliana*	7.14	105.19	5.31	104.45	5.30
5303	ATP synthase subunit gamma, chloroplastic	P0C1M0	*Z. mays*	0.19	33.91	5.45	34.95	5.68
6105	Soluble inorganic pyrophosphatase 1	Q93V56	*A. thaliana*	8.40	24.39	5.76	24.48	5.74
6204	Basic leucine zipper 24	Q8GTS1	*A. thaliana*	0.039	25.59	5.84	26.09	5.86
7108	Dual specificity protein phosphatase 1B	Q9M8K7	*A. thaliana*	28.25	17.52	6.07	17.31	6.05
8005	Auxin-responsive protein IAA5	P33078	*A. thaliana*	0.21	16.08	6.36	18.35	6.37
8006	Dehydrin HIRD11	Q9SLJ2	*A. thaliana*	13.29	13.46	6.78	11.19	6.67
8401	Anthranilate O-methyltransferase 2	B6SU46	*Z. mays*	0.17	44.26	6.52	42.66	6.57
8402	Homeotic protein knotted-1	P24345	*Z. mays*	5.28	40.38	6.43	39.82	6.41
8508	Equilibrative nucleotide transporter 1	Q8VXY7	*A. thaliana*	14.55	50.10	6.73	49.34	6.76
9504	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)] GPDHC1, cytosolic	O22216	*A. thaliana*	5.48	50.21	6.83	51.49	6.82

a: NCBI database access numbers

a: شماره دسترسی در داده پایگاه‌های NCBI

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

مهم‌ترین واکنش گیاه به افزایش شوری خاک، کاهش سرعت رشد است. محاسبه کاهش نسبی رشد نشان داد که میزان رشد هر دو لاین ذرت کاهش یافته و در لاین B73 کمتر از لاین دیگر بود. این موضوع نشان دهنده تحمل نسبی بالاتر این لاین است، زیرا در شرایط شوری، ابتدا رشد رویشی گیاه و توسعه برگ‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرند (Marshner, 1995). پروتئین Translocase subunit SECA1, chloroplastic (لکه ۳۶۰۵) به‌عنوان پروتئینی که در هیدرولیز ATP برای اتصال به پروتئین‌ها در سراسر غشاء تیلاکوئید نقش متمرکز دارد، شناسایی شد. این پروتئین همچنین درگیر ترکیبات فتوسنتزی بوده و برای خروج پروتئین‌ها از کلروپلاست مورد نیاز است (Sanjog *et al.*, 2011). این پروتئین در گیاه آرابیدوپسیس با قرار گرفتن گیاه در شرایط تنش اکسیداتیو القاء شده و کمپلکس‌های فتوسنتزی پروتئین‌های رونویسی کلروپلاست را وادار به کدگذاری کرده و کمپلکس تنفسی دچار جهش می‌شود (Liu *et al.*, 2010). فراوانی این پروتئین در لاین B73 در تیمار شوری نسبت به شرایط بدون تنش با کاهش فراوانی همراه بود که ممکن است به‌دلیل تخریب کلروپلاست‌ها در اثر تنش شوری باشد.

پروتئین Calmodulin-binding transcription activator 4 (لکه ۲۶۰۵) در پاسخ به محرک‌های هورمونی (اکسین، اتیلن، آبسیزیک اسید و سالیسیلیک اسید) بیان می‌شود (Yang *et al.*, 2012; Yang and Poovaiah, 2002). فعال‌کننده رونویسی کالمودیولین نقش مهمی در رشد گیاهان و پاسخ به محرک‌های محیطی ایفاء می‌کند. گزارش شده است که پروتئین CAMTA4 در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری در شاخه‌ها و برگ‌های گیاه ذرت (همانند آزمایش حاضر) کاهش فراوانی داشت (Yue *et al.*, 2015). کالمودیولین پروتئین تنظیم‌کننده کلسیم است و در بسیاری از اعمال سلول‌ها مانند متابولیسم، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و پاسخ‌های ایمنی گیاه دخالت دارد. مرگ برنامه‌ریزی شده سلول با تامین انرژی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اندامک‌های میتوکندری و کلروپلاست‌ها در تنظیم واکنش‌های مرگ گیاه نقش اساسی دارد. یکی از علل برتری نسبی لاین B73 نسبت به MO17 در آزمایش حاضر می‌تواند به کاهش فراوانی کالمودیولین در لاین B73 مرتبط باشد. به نظر می‌رسد که کاهش فراوانی این پروتئین باعث تولید کمتر گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین تامین کمتر انرژی برای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و جلوگیری از پیر شدن گردیده و باعث افزایش تحمل نسبی این لاین نسبت به MO17 شده است. گزارش شده است که کاهش این پروتئین باعث افزایش بیان دو ژن *MtHKT1;1* و *MtHKT1;2* می‌شود. این دو ژن در کد کردن پروتئین‌هایی درگیر هستند که باعث حذف یون‌های سدیم از بخش هوایی گیاه شده و افزایش بیان این دو ژن باعث افزایش تحمل به تنش شوری در گیاه می‌شود (Shkolnik *et al.*, 2019).

پروتئین Cathepsin B-like Protease 1 (لکه ۵۳۰۷) نقش مهمی را در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های گیاهی داشته و علاوه بر نقش آن در تخریب پروتئین، ممکن است چندین پروتئین هدف را از بین برده و یا تجزیه کند و انتقال پیام را برای مرگ برنامه ریزی شده سلول فعال کند. این پروتئین به افزایش فعالیت Caspase-3 پس از مرگ سلول در اثر UV-C کمک کرده و برای مرگ برنامه‌ریزی شده ناشی از تنش‌های غیرزیستی مورد نیاز بوده و درگیر تنظیم پیری و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در گیاهان است (Ge *et al.*, 2016). این پروتئین در گیاهان بیش‌تر در شرایط تنش و آسیب دیدگی دیده شده و در گیاهان خانواده سولاناسه رونوشت‌های CTSB (Cathepsin B) در پاسخ به محرک‌های غیرزیستی، زخم و قطع اندام‌ها بیان می‌شود (Sanjog *et al.*, 2011). در آزمایش حاضر این پروتئین در تیمار تنش شوری در لاین B73 ذرت کاهش فراوانی داشت. بنابراین و با توجه به گزارش‌های

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

فوق، این کاهش فراوانی نشان‌دهنده اثر تنش شوری و القای تحمل در لاین B73 است. این لکه در لاین MO17 کاهش فروانی زیادی داشته، به طوری که شناسایی نشد. با توجه به اینکه این پروتئین در لاین B73 کاهش فراوانی کمتری داشته و به‌طور کامل حذف نشد و می‌تواند دلیل تحمل نسبی بالای لاین B73 نسبت به MO17 شود. عدم وجود این لکه پروتئینی و به‌عبارت دیگر کاهش شدید فراوانی این پروتئین در لاین MO17 می‌تواند یکی از دلایل حساسیت بیش‌تر آن به شوری باشد.

لکه ۶۲۰۷ (Isoform 3 of Protein-L-isoaspartate O-methyltransferase 2) استری کردن متیل L-ایزوآسپاراتیل باقی مانده را در پپتیدها و پروتئین‌ها کاتالیز کرده که باعث تجزیه خود به خود باقی‌مانده L-آسپارتیل و L-آسپاراژینیل می‌شود و نقش مهمی در ترمیم یا تخریب پروتئین‌های آسیب دیده ایفا می‌کند. کاهش فراوانی این پروتئین در گیاه گندم در شرایط تنش شوری گزارش شده است (Fercha *et al.*, 2014). در آزمایش حاضر با اعمال تنش شوری روی لاین B73 ذرت، این پروتئین افزایش فراوانی داشت که می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که القای افزایش بیان این پروتئین جهت ترمیم پروتئین‌های آسیب دیده ناشی از تنش شوری بوده و نشان دهنده مقابله گیاه با تنش شوری باشد.

لکه ۲۴۰۸ به‌عنوان فاکتور رونویسی NAC with Transmembrane Motif 1 هنگام بیان شدن در گیاه با کاهش تقسیم سلولی، باعث ایجاد تغییرات فنوتیپی از جمله پاکوتاهی شده و برگ‌ها دندانه‌دار و ساختارهای گلدهی تغییر می‌کنند (Park *et al.*, 2011). پارک و همکاران (Park *et al.*, 2011) با بررسی نقش هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد از جمله جیبرلیک اسید، اکسین و آبسیزیک اسید بر جوانه‌زنی بذر گیاه آرابیدوپسیس گزارش کردند که در شرایط تنش شوری، اکسین با پیوستن به ژن IAA30 به‌وسیله پیام‌های ATF112، NAM و CUC2 در طی جوانه زنی بذر با ژن NTM در ارتباط است و تحمل شوری در گیاهچه‌های گیاه آرابیدوپسیس پس از بیان بالای ژن IAA30 که به‌وسیله NTM در شرایط شوری تحریک شده بود، از بین رفت. ژن NTM در گیاهان تحت تنش، جهت پاسخ به تنش بیان می‌شود. ژن NTM به مقدار کم توسط آبسیزیک اسید در شرایط شوری القاء شد ولی نقش آن در جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های تحت تنش شوری بالا مستقل از آبسیزیک اسید بود (Holdsworth *et al.*, 2008). فاکتور NTM یک پیام رسانی ناشی از شوری است که با غشاهای پلاسمایی در ارتباط بوده و پروتئین NTM در شوری بالا از غشاء پلاسمایی جدا می‌شود. در آزمایش حاضر با کاهش این پروتئین در لاین B73 ذرت تحت تنش شوری، به‌نظر می‌رسد که شوری احتمالا با جدا کردن این پروتئین از غشاهای پلاسمایی باعث کاهش دخالت آن در تنظیم تنش و در نهایت باعث عکس‌العمل ضعیف گیاه در شرایط تنش شوری شده است.

پروتئین Magnesium-chelatase subunit chlI-1, chloroplastic (لکه ۱۴۰۶) در بیوسنتز کلروفیل نقش دارد. این پروتئین محل اتصال یون منیزیم به پروتوپورفیرین IX را کاتالیز می‌کند تا ترکیب Mg-protoporphyrin IX حاصل شود. منیزیم کلاتاز یک کمپلکس از سه زیر واحد، CHLI، CHLD و CHLH است که واکنش یا عکس العمل آن در دو مرحله انجام می‌شود، اول اینکه ATP را فعال کرده و به‌دنبال آن ATP را کلاته می‌کند. بالا بودن میزان ATP می‌تواند نقش مهمی در بیوسنتز کلروفیل داشته باشد. آندره و همکاران (André *et al.*, 2009) این پروتئین را به‌عنوان یک گیرنده آبسیزیک اسید در گیاه آرابیدوپسیس گزارش کردند. فراوانی این لکه پروتئینی پس از قرار گرفتن در شرایط تنش شوری، افزایش فراوانی داشت که نشان دهنده افزایش بیوسنتز کلروفیل است.

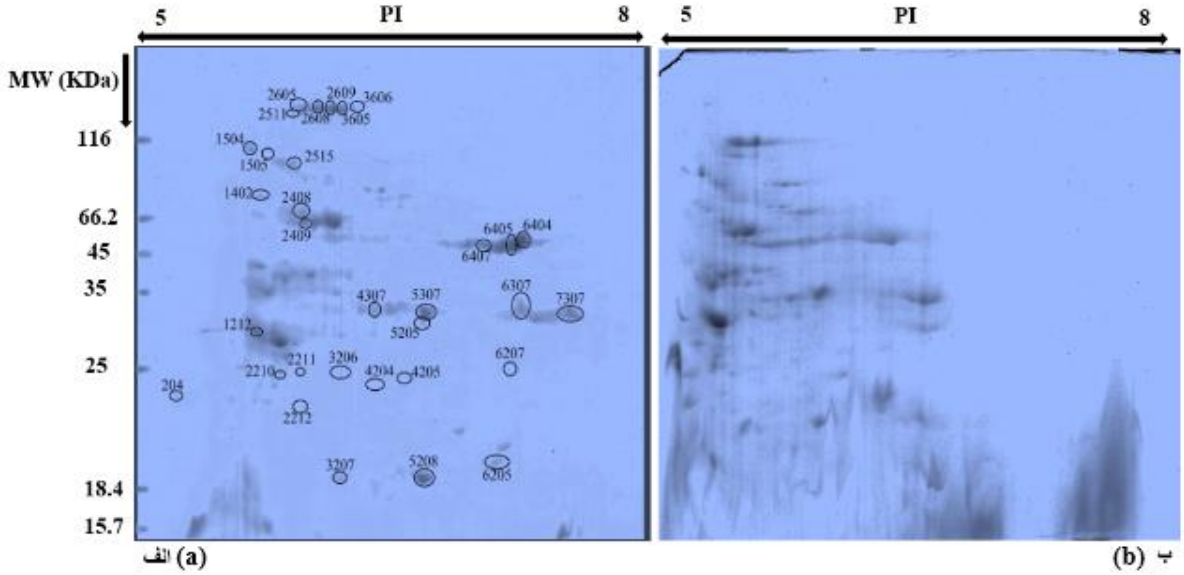
[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

لکه ۴۸۰۸ در فرآیند جابجایی کلروپلاست‌های سلول‌های گیاهی در پاسخ به تغییرات شدت نور دخیل است. این پروتئین (Chloroplast Unusual Positioning 1) در غشای خارجی کلروپلاست قرار دارد. این پروتئین قادر به تعامل با اکتین و پروفیلین بوده و با بازسازی رشته‌های اکتین، جای‌گیری کلروپلاست را ممکن می‌سازد (Lehmann *et al*., 2011). در لاین MO17 در شرایط تنش شوری این پروتئین کاهش فراوانی داشت که می‌تواند با افزایش تجمع کلروپلاست‌ها در برگ‌ها ارتباط داشته باشد، زیرا جای‌گیری کلروپلاست‌ها به‌خوبی انجام نمی‌گیرد.

پروتئین Dual specificity protein phosphatase 1 (لکه ۷۱۰۸) دارای خاصیت دوگانه نسبت به پروتئین‌های حاوی Ser/Thr و Tyr است و از خسارت تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله ازن، تنش اکسیداتیو و عوامل بیماری‌زا جلوگیری می‌کند. این پروتئین ممکن است در پاسخ به آبسیزیک اسید و تنش دخالت داشته و پروتئین‌های MPK3 و MPK6 را دفسفریله می‌کند. این پروتئین در شرایط تنش شوری و خشکی در گیاه آرابیدوپسیس افزایش و در شرایط تنش سرما کاهش داشت (Berrocal-lobo *et al*., 2011). فراوانی این لکه پروتئینی در لاین MO17 پس از اعمال تنش شوری افزایش فراوانی نشان داد.

پروتئین Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)GPDHC1, cytosolic (لکه ۹۵۰۴) در هموستازی اکسید و احیا سلول نقش دارد. برای حفظ یک حالت ثابت $NADH/NAD^+$ سلولی از طریق رفت و برگشت اکسید و احیای گلیسرول ۳-فسفات میتوکندری ضروری است. این پروتئین ممکن است با گلیسرول-۳-فسفات دهیدروژناز SDP6 وابسته به FAD میتوکندری کار کند و جهت تنفس، اکی‌والانت‌های رفت و برگشت به میتوکندری را کاهش دهد. علاوه بر نقش کاتابولیسم گلیسرول، در رفت و برگشت گلیسرول ۳ فسفات از سیتوزول به میتوکندری نیز نقش دارد. فراوانی رونوشت‌های GPDHC1 و FAD-GPDH در شرایط تنش شوری در گیاه آرابیدوپسیس افزایش نشان داد (Shen *et al*., 2006). این پروتئین دارای افزایش فراوانی در تیمار تنش شوری بود.

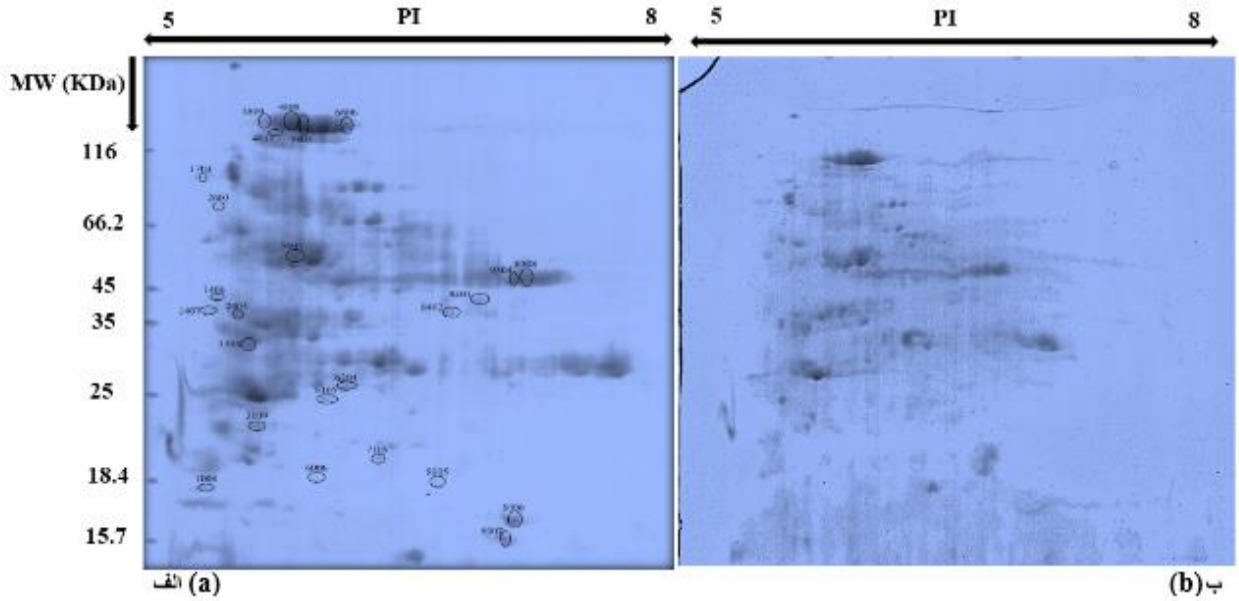


شکل ۳- الکتروفورز دوبعدی پروتئوم لاین خویش‌آمیخته ذرت (B73) در تیمارهای بدون تنش (الف)، تنش شوری؛ ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (ب)

Fig. 3. Two-dimensional electrophoresis of maize inbred line (B73) proteom in non stress (a) and salinity stress (200 mM NaCl) (b) treatments

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]



شکل ۴- الکتروفورز دوبعدی پروتئوم لاین خویش‌آمیخته ذرت (MO17) در تیمارهای بدون تنش (الف)، تنش شوری؛ ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (ب)

Fig. 4. Two-dimensional electrophoresis of maize inbred line (MO17) proteom in non stress (a) and salinity stress (200 mM NaCl) (b) treatments

پروتئین Auxin-responsive protein IAA5 (لکه ۸۰۰۵) فاکتور رونویسی کوتاه مدت است که به‌عنوان سرکوب کننده‌های ژن پاسخ زود هنگام اکسین در غلظت کم اکسین عمل می‌کند (Liscum and Reed, 2002). پروتئین AUX/IAA یک مهارکننده حساس به اکسین است که فرایندهای متعدد فیزیولوژیکی و تکاملی را در گیاهان متمایز می‌کند. کنترل رونویسی ژن‌های AUX/IAA نقش مهمی در ایجاد مسیرهای پیام‌رسانی اکسین دارد که باعث اندام‌زایی، رشد و پاسخ به تنش‌های محیطی می‌شود. این پروتئین پس از اعمال تنش شوری نسبت به شاهد کاهش فراوانی داشت.

پس از مشخص شدن تعداد پروتئین‌های تغییر فراوانی یافته در هر دو لاین ذرت B73 و MO17، پروتئین Calmodulin-binding transcription activator 4 به‌صورت مشترک در هر دو لاین شناسایی شد که پس از اعمال تنش شوری نسبت به شاهد تغییر فراوانی داشت، با این تفاوت که در لاین B73 کاهش فراوانی و در لاین MO17 افزایش فراوانی داشت. در لاین B73 کلیه پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و تولید انرژی در اثر تنش شوری کاهش فراوانی داشتند، در مقابل در لاین MO17، اکثر پروتئین‌های دخیل در متابولیسم و تولید انرژی در تیمار تنش شوری افزایش فراوانی داشتند، یعنی با افزایش نسبی این پروتئین‌ها، متابویسم گیاه افزایش یافته و گیاه برای مقابله با تنش، انرژی بیش‌تری را هزینه می‌کند (Bandehagh *et al*., 2011) که احتمالا یکی از دلایل کاهش رشد گیاه و حساسیت نسبی این لاین باشد که گیاه در شرایط تنش انرژی بیش‌تری مصرف می‌کند. پس از اعمال تنش شوری اکثر پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان تغییر فراوانی یافته در لاین B73 دارای کاهش فراوانی بودند، در حالی که در لاین MO17 اکثر این پروتئین‌ها افزایش فراوانی داشتند. افزایش فراوانی پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان در لاین MO17 می‌تواند نشان دهنده القای زیاد و

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

عکس‌العمل انرژی بر حرکت مواد به سمت بخش هوایی این لاین باشد تا گیاه بتواند با تنش مقابله کند، ولی در عین حال انتقال یون‌ها و مواد سمی نیز به بخش هوایی افزایش یافته و گیاه بیش‌تر درگیر تنظیم یونی ناشی از شوری و پیام‌های خارجی قرار می‌گیرد (Shokri-Gharelo and Noparvar, 2018). این نتایج نیز می‌تواند نشان‌دهنده حساسیت بالای لاین MO17 نسبت به لاین B73 به تنش شوری باشد. تعداد سه پروتئین دفاعی در لاین B73 شناسایی شدند که در شرایط تنش شوری کاهش فراوانی داشتند. این نتایج شاید نشان‌دهنده این باشد که در لاین B73 جهت حفظ رشد گیاه در شرایط تنش شوری، سیستم دفاعی گیاه فعال‌تر می‌باشد. از میان این پروتئین‌های دفاعی در لاین B73، پروتئین Cathepsin B-like protease 1 کاهش فراوانی داشت که این پروتئین در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های گیاهی و تنظیم پیری در گیاهان نقش مهمی دارد. در لاین MO17 فقط یک پروتئین دفاعی ردیابی شد (specificity protein phosphatase 1B Dual) که افزایش فراوانی داشت. این پروتئین در جلوگیری از تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان نقش دارد.

در لاین B73 اکثر پروتئین‌های دخیل در ساختار سایر پروتئین‌ها کاهش فراوانی داشتند و فقط ایزوفرم ۳ پروتئین Protein-L- isoaspartate O-methyltransferase 2 افزایش فراوانی نشان داد. افزایش بیان این پروتئین نشان دهنده نقش آن در ترمیم پروتئین‌های آسیب دیده است. این افزایش فراوانی ممکن است نشان دهنده تلاش گیاه برای مقابله با تنش شوری باشد. در لاین MO17 نیز کلیه پروتئین‌های دخیل در ساختار سایر پروتئین‌ها از جمله پروتئین Metacaspase-4 افزایش فراوانی داشتند. این پروتئین نیز دارای نقش تنظیمی مثبت در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌های گیاهی در شرایط تنش می‌باشد. با پروتئین‌های تغییر فراوانی یافته در این دو لاین می‌توان استنباط کرد که هر دو لاین نسبت به تنش شوری حساس بوده، ولی لاین B73 نسبت به لاین MO17 دارای توان و تحمل بالاتری برای مقابله با تنش شوری است و به‌عبارتی لاین B73 متحمل‌تر از لاین MO17 می‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق در شرایط تنش شوری در ذرت لاین B73، با کاهش فراوانی پروتئین‌های کانال و پیام‌رسان، از توسعه سیستم آوندی از انتقال یون‌ها و مواد سمی به سمت اندام‌های هوایی جلوگیری شده و همچنین با کاهش فراوانی این پروتئین که باعث افزایش بیان ژن‌های عامل دفع سدیم از بخش هوایی می‌شود، تحمل نسبی این لاین به تنش شوری افزایش داشت. در ذرت لاین MO17 این پروتئین افزایش یافته و روند ذکر شده برعکس شد. در لاین B73 کلیه پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و تولید انرژی در اثر تنش شوری کاهش فراوانی و در لاین MO17، اکثرا افزایش فراوانی داشتند، به‌عبارت دیگر با افزایش نسبی این پروتئین‌ها، متابویسم گیاه افزایش یافته و گیاه برای مقابله با تنش انرژی بیش‌تری را مصرف می‌کند. با بررسی پروتئین‌های تغییر بیان‌یافته در این دو لاین می‌توان استنباط کرد که هر دو لاین در شرایط تنش شوری متأثر می‌شوند، ولی لاین B73 نسبت به لاین MO17 دارای تحمل بالاتری برای مقابله با تنش شوری بوده و به‌عبارت دیگر لاین B73 متحمل‌تر از لاین MO17 به تنش شوری می‌باشد.

منابع مورد استفاده

References

André, H. and M.H. Müller. 2009. The barley magnesium chelatase 150-kD subunit is not an abscisic acid receptor. Plant Physiol. 150 (1): 157-166.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnol. Adv. 27: 84-93.

Bandeh-Hagh, A., M. Toorchi, A. Mohammadi, N. Chaparzadeh, Gh. Hosseini Salekdeh and H. Kazemnia. 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. J. Food Agric. Environ. 6: 201-208.

Bandehagh, A., Gh. Hosseini Salekdeh, M. Toorchi, A. Mohammadi and S. Komatsu. 2011. Comparative proteomic analysis of canola leaves under salinity stress. Proteomics, 11: 1–11.

Berrocal-lobo, M., C. Ibanez, P. Acebo, A. Ramos, E. Perez-Solis, C. Collada, R. Casado, C. Aragoncillo and I. Allona. 2011. Identification of a homolog of *Arabidopsis* DSP4 (SEX4) in chestnut: its induction and accumulation in stem amyloplasts during winter or in response to the cold. Plant Cell Environ. 34: 1693-1704.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytic. Biochem. 72: 248-254.

Farooq, M., T. Aziz, S. M.A. Basra, M.A. Cheema and H. Rehman. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. Blackwell J. Agron. Crop Sci. 194: 161-168.

FAO, 2019. Food Outlook Global Market Analysis. http://www.Fao.org.

Fercha, A., A. L. Capriotti, G. Caruso, C. Cavaliere, R. Samperi, S. Stampachiacchiere and A. Lagana. 2014. Comparative analysis of metabolic proteome variation in ascorbate- primed and unprimed wheat seeds during germination under salt stress. J. Proteomics. 108: 238-257.

Ge, Y., Y. M. Cai, L. Bonneau, V. Rotari, A. Danon, E.A. McKenzie, H. McLellan, L. Mach and P. Gallois. 2016. Inhibition of cathepsin B by caspase-3 inhibitors blocks programmed cell death in *Arabidopsis*. Cell Death Differentiation. 23 (9): 1493-1501.

Holdsworth, M.J., L. Bentsink and W.J. Soppe. 2008. Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, after- ripening, dormancy and germination. New Phytol. 179: 33-54.

Hosseini Salekdeh, G. and S. Komatsu. 2007. Crop proteomics: aim at sustainable agriculture of tomorrow. Proteomics. 7(16): 2976-2996.

Jiang, C., Q. Cui, K. Feng, D. Xu, C. Li and Q. Zheng. 2016. Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. Acta Physiologiae Plantarum, 82: 1-9.

Kosová, K., P. Vítámvás, I.T. Prášil and J. Renaut. 2011. Plant proteome changes under abiotic stress—contribution of proteomics studies to understanding plant stres sresponse. J. Proteomics. 74: 1301–1322.

Lehmann, P., J. Nothen, S. Schmidt von Braun, M.T. Bohnsack, O. Mirus and E. Schleiff. 2011. Transitions of gene expression induced by short-tem blue light. Plant Biol. 13 (2): 349-361.

Liscum, E. and J.W. Reed. 2002. Genetics of AUX/IAA and ARF action in plant growth and development.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

Plant Mol. Biol. 49 (3-4): 387-400.

Liu, D., Q. Gong, Y. Ma, J. Li, S. Yang, L. Yuan, Y. Yu, D. Pan, F. Xu and N.N. Wang. 2010. cpSecA, a thylakoid protein translocase subunit, is essential for photosynthetic development in *Arabidopsis*. J. Exp. Bot. 61 (6): 1655-1669.

Marshner, H. 1995. Mineral Nutrient of Higher Plants. Second Edition. London: Academic Press.

O'Farrell, P.H. 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem. 250 (10): 4007-21.

Park. J., Y.S. Kim, S.G. Kim, J.H. Jung, J.C. Woo and C.M. Park. 2011. Integration of auxin and salt signals by the NAC transcription factor NTM2 during seed germination in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 156: 537–54.

Pavoković, D., B. Križnik and M. Krsnik-Rasol. 2012. Evaluation of protein extraction methods for proteomic analysis of non-model recalcitrant plant tissues. Croatica Chemica Acta, 85: 177–183.

Penrose, D.M. and B.R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase- containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiologia Plantarum. 118:10-5.

Salari, B., M. Shamsedin Said and A. Askarian Sardari. 2009. Effects of NaCl Priming on Agronomical and Physiological Characters in Corn (SC 704) under Salt Stress Conditions. J. Water Soil Sci. 12(46):143-153.

Sanjog, T.T., F.P. S. Khan and S.P.S. Khanuja. 2011. Cathepsin B-like protease from chili pepper revealed by in silico approach. Plant Omics J. 4 (3): 120-125.

Shen, W., Y. Wei, M. Dauk, Y. Tan, D.C. Taylor, G. Selvaraj and J. Zou. 2006. Involvement of a glycerol-3-phosphate dehydrogenase in modulating the NADH/NAD^+ ratio provides of a mitochondrial glycerol-3-phosphate shuttle in *Arabidopsis*. J. Plant Cell. 18 (2): 441-442.

Shkolnik D., A. Finkler, M. Pasmanik-Chor and H. Fromm. 2019. Calmodulin- Binding Transcription Activator 6: a key regulator of Na^+ homeostasis during germination. Plant Physiol. 180 1101–1118.

Shokri-Gharelo, R. and P.M. Noparvar. 2018. Molecular response of canola to salt stress: insights on tolerance mechanisms. Peer J. 6: e4822. DOI: 10.7717/peerj.4822

Yang, T. and B.W. Poovaiah. 2002. Hydrogen peroxide homeostasis: activation of plant catalase by calcium/calmodulin. Proceedings of the National Academy of Sciences. 99 (6): 4097-4102.

Yang, T. Y., C. Hu and M.M. Abu-Omar. 2012. Conversion of glucose into furans in the presence of AlCl 3 in an ethanol–water solvent system. Bioresour. Technol. 116: 190-194.

Yue, R., C. Lu, T. Sun, T. Peng, X. Han, J. Qi, S. Yan and S. Tie. 2015. Identification and expression profiling analysis of calmodulin-binding transcription activator genes in maize (*Zea mays* L.) under abiotic and biotic stresses. Plant Sci. 6: 576.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

Effect of salinity stress on protein profile of susceptible and tolerant maize (*Zea mays* L.) inbred lines

Bandehagh, A.[1], E. Dorani[2], S. Aliyari Rad[3], N. Khalili Korani[4] and S. Moharramnejad[5]

ABSTRACT

Bandehagh, A., E. Dorani, S. Aliyari Rad, N. Khalili Korani and S. Moharramnejad. 2021. Effect of salinity stress on protein profile of susceptible and tolerant maize (*Zea mays* L.) inbred lines**. Iranian Journal of Crop Sciences. 23(2): 157-172. (In Persian).**

This syudy was performed to study the variation in proteome pattern in leaves of maize B73 and MO17 inbred lines under 200 mM sodium chloride salinity stress and also non stress conditions. The experiment carried out as factorial arrangements in randomized block design in hydroponic systems at the faculty of agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, in 2017. Biological yield in both lines decreased under salinity stress compared to the control. Proteome analysis of leaf tissue showed that 28 from 78 repeatable protein spots in B73 and 20 from 123 repeatable protein spots in MO17 had significant frequency variation under stress. Identification of proteins was done by *pI* and molecular weight. Candidate proteins involved in the pathways of metabolism and energy production, messenger and channel, cell protection and defense and proteins involved in the folding of other proteins. The highest number of stress response proteins in B73 and MO17 lines related to the pathways of metabolism and energy production, messenger and channel, and proteins involved in the folding of other proteins. In both B73 and MO17 lines, all channel and messenger proteins decreased and increased, under salinity stress, respectively. One of the most important proteins with significant frequency variation was observed for calmodulin-binding transcription activator 4 protein, which plays an important role in plant growth and responses to environmental stimuli. This protein decreased in B73 line and increased significantly in MO17 line. Development of the vascular system is prevented by reducing the channel and messenger proteins as well as the transfer of ions and toxic substances to the shoot. All proteins involved in metabolism and energy production decreased under salinity stress in B73, and in contrast, most of these proteins increased in MO17. In other words, the relative increase in these proteins lead to an increase in plant metabolism and then the plant fuels more energy to cope with stress. These results can explain, to some extents, the relative susceptibility of MO17 in comparison with B73 under salinity stress conditions.

Key words: Induced proteins, Maize, Salinity stress and Two-dimensional electrophoresis

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-12-08]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1400.23.2.2.8]

Received: November, Accepted: July, 2021

1. 1 (Corresponding author) (Email: bandehhagh@tabrizu.ac.ir)
2. Associate Prof., University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Ph.D. Student, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
4. M.Sc. Student, University of Tabriz, Tabriz, Iran
5. Assistant Prof., Field and Horticultural Crops Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran