

بررسی پروتئوم برگ ذرت هیبرید SC704 تحت تنش شوری

Leaf proteome analysis of maize hybrid SC704 under salinity stress

شیوا علیاری راد^۱، علی بنده حق^{۲*}، سارا دژستان^۱، مهدی بهنامیان^۳، سجاد محرم نژاد^۴
Shiva Aliyari Rad¹, Ali Bandehagh^{2*}, Sara Dezhsetan¹, Mahdi Behnamian³
and Sajjad moharramnejad⁴

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

۲- گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیل

۴- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران

¹ Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Iran.

² Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

³ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Iran.

⁴ Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bandehagh@tabrizu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۴)

چکیده

واژه‌های کلیدی

الکتروفورز دوبعدی،

پروتئومیکس،

تنش غیرزیستی

یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی، تنش شوری است که می‌تواند به میزان زیادی عملکرد گیاهان زراعی را کاهش دهد. برای ارزیابی تنش شوری در ذرت هیبرید SC704 از طریق رهیافت پروتئومیکس، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سیستم کشت هیدروپونیک با سه تکرار اجرا شد. تنش شوری (صفر و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم)، باعث کاهش صفت وزن خشک بخش هوایی نسبت به سایر صفات مورفولوژیک شد. به منظور بررسی پروتئین‌های دخیل در تنش شوری در مرحله رویشی، الگوی الکتروفورز دوبعدی پروتئوم برگ هیبرید SC704 مورد بررسی قرار گرفت. جهت استخراج پروتئین بافت برگ از روش TCA-استون استفاده شد. ژل‌های بعد دوم بعد از تصویر برداری، به کمک نرم افزار PD-quest، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و کمیت و کیفیت و فراوانی پروتئین‌ها در تیمارهای مختلف مورد مقایسه قرار گرفت. مقایسه الگوی پروتئوم برگ تحت تنش شوری، تغییر فراوانی ۱۶ لکه پروتئینی را نشان داد. این لکه‌ها با پنج گروه عملکردی که شامل سوخت و ساز و تولید انرژی، ترجمه و پردازش، دفاعی و چرخه نیتروژن و سایر پروتئین‌های مرتبط هستند. پروتئین EGG APPARATUS-1 بیش‌ترین افزایش فراوانی را داشت که این افزایش بر اساس فاکتور القاء به-دست آمد. این پروتئین در حفظ باروری گیاه تحت تنش در مرحله زایشی و تولید محصول نقش مهمی ایفا می‌کند. از میان پروتئین‌هایی که درگیر در دفاع سلول بودند، پروتئین V-type proton ATPase subunit F کاهش فراوانی نشان داد که این کاهش فراوانی منجر به مصرف کمتر ATP شده و به حفظ رشد ذرت تحت تنش شوری کمک می‌کند.

مقدمه

چشمگیری ارتباطات موجود بین سطوح پروتئین‌ها و سازش گیاه به تنش را آشکار نمایند (Kosova *et al.*, 2013). پروتئومیکس با دارا بودن توانایی کشف پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش از پتانسیل مطلوبی جهت استفاده در فرآیند اصلاح مقاومت برای تنش‌ها از جمله تنش شوری برخوردار است و در این راستا می‌توان تغییرات پروتئوم ژنوتیپ‌های مختلف را تحت تنش شوری بررسی کرد. ما و همکاران (Ma *et al.*, 2014) در بررسی اثر تنش شوری در دو اکوتیپ مختلف سویا توسط نرم افزار PD Quest 68 لکه تکرارپذیر در سویا شناسایی کردند، به‌طوریکه نتایج حاصل از MALDI-TOF-TOF MS این پروتئین‌ها جزء پروتئین‌های پاسخ دهنده به سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، متابولسم اسمولیتی، بیوستنز دیواره سلولی، تجزیه پروتئین‌ها، متابولیت ثانویه و متابولسم انرژی بودند.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز اجرا شد. ماده گیاهی مورد استفاده در این پژوهش ژنوتیپ ذرت سینگل کراس ۷۰۴ (SC704) بود که بذور آن پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد برای جوانه‌زنی و کشت در سیستم هیدروپونیک با بستر پرلیت و در قالب نقشه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار آماده شدند. از ویژگی‌های مهم این سیستم این است که کنترل شرایط محیطی مثل میزان pH و کنترل غلظت نمک با دقت بالا قابل انجام است. محلول غذایی مورد استفاده هوگلند بود، که با کمی تغییرات برای گیاه ذرت مورد استفاده قرار گرفت (Bandehagh *et al.*, 2008). محلول غذایی مورد استفاده از نظر pH به‌طور منظم کنترل و سعی می‌شد در محدوده ۷ ثابت نگه داشته شود. برای تنظیم pH محلول غذایی از اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال استفاده شد. زمانی که بوته‌ها دارای ۳ تا ۴ برگ بودند، اقدام به اعمال تنش شوری به‌صورت تدریجی و طی سه مرحله به میزان ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم به‌منظور جلوگیری از شوک ناگهانی به گیاه صورت پذیرفت و اعمال تنش شوری تا مرحله ۷-۸ برگی ادامه داشت.

ذرت یکی از محصولات راهبردی بوده و بعد از گندم و برنج سومین غله مهم جهان محسوب می‌شود. انسان از دانه یا بلال این گیاه تغذیه می‌کند و یکی از مواد غذایی اصلی در مرغداری‌ها، دامداری‌ها و مزارع پرورش ماهی محسوب می‌شود. بنابراین، توسعه و کشت ذرت و بهبود عملکرد و کیفیت آن از نظر تأمین غذای انسان، دام و طیور از اهمیت زیادی برخوردار است (Fageria *et al.*, 2010). تنش شوری اثرهای مخرب جهانی بر روی محصولات کشاورزی دارد و پیش‌بینی شده است که افزایش شوری زمین‌های مزروعی تا سال ۲۰۵۰، باعث می‌شود تا ۵۰ درصد از زمین‌های کشاورزی بدون استفاده شوند (Niu *et al.*, 2018). کشور ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه خشک دنیا قرار دارد، از این رو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات اصلی پیش روی زراعت کشور است. شوری خاک و آب آبیاری سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود، ضمن اینکه تحمل به شوری در گیاهان نیز خصوصیتی ثابت نبوده و ممکن است در مراحل مختلف رشد هر گونه، متفاوت باشد (Mohammadkhani, 2016). دو راهکار اساسی جهت افزایش تولید محصول و کشت در زمین‌های شور، استفاده بهینه از منابع آب و خاک در قالب طرح‌های به‌زراعی و بهبود صفت تحمل به شوری است. صفت تحمل به شوری یک پدیده پیچیده در گیاهان است که از جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی و مولکولی قابل بحث و بررسی است. کاهش مقدار آب بافت‌های گیاهی، یکی از اثرهای اولیه تنش شوری است، به‌عبارتی، شوری باعث افزایش انرژی لازم برای حفظ حالت طبیعی سلول است و در نتیجه انرژی کمتری برای نیازهای رشدی باقی می‌ماند (Pradhan *et al.*, 2015). با افزایش غلظت سدیم، تنش شوری سبب توقف تبادلات گازی برگ و فعالیت فتوشیمیایی PSII در نتیجه توقف رشد و توسعه گیاه می‌شود (Das *et al.*, 2015). سازش گیاهان با تنش، ارتباط عمیقی با تغییرات پروتئوم آن‌ها دارد. با توجه به اینکه پروتئین‌ها به‌طور مستقیم در پاسخ گیاه به تنش دخالت دارند، مطالعات پروتئومیکس می‌تواند به‌طور

نتایج و بحث

وزن خشک: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش شوری برای صفت وزن خشک بخش هوایی، ریشه در سطح پنج درصد معنی‌دار است. بیش‌ترین کاهش، مربوط به صفت وزن خشک بخش هوایی نسبت به سایر صفات مورفولوژیک می‌باشد.

پس از تجزیه تصاویر ژل‌ها (شکل ۱) مشخص شد که از ۹۵ لکه ظاهر شده تکرارپذیر، ۱۶ لکه پروتئینی در اثر تنش شوری تغییر فراوانی نشان دادند. از بین ۱۶ لکه دچار تغییر فراوانی، ۱۵ لکه افزایش فراوانی و یک لکه کاهش فراوانی داشتند (جدول ۱).

پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش شوری

پس از شناسایی احتمالی، پروتئین‌ها بر اساس عملکرد در ۵ گروه قرار گرفتند (جدول ۱). گروه‌های عملکردی شامل پروتئین‌های درگیر در سوخت و ساز و تولید انرژی (۳۷ درصد)، پروتئین‌های دخیل در چرخه نیتروژن (۶ درصد)، پروتئین‌های دخیل در ترجمه و پردازش (۱۹ درصد)، پروتئین‌های دفاعی (۱۹ درصد) و سایر پروتئین‌های دارای تغییر فراوانی بودند. بیش‌ترین کم‌ترین تغییرات پروتئوم در اثر تنش شوری به ترتیب مربوط به پروتئین‌های درگیر در سوخت و ساز و تولید انرژی و پروتئین‌های دخیل در چرخه نیتروژن بودند.

با اعمال تنش شوری تمام پروتئین‌های دخیل در مسیرهای سوخت و ساز و تولید انرژی، چرخه نیتروژن، ترجمه و پردازش و دفاعی افزایش فراوانی داشتند به غیر از لکه شماره ۵۲۱۰ پروتئین (V-type proton ATPase subunit F) که جزء پروتئین‌های دفاعی می‌باشد. از میان پروتئین‌های دارای تغییر فراوانی، پروتئین EGG APPARATUS-1 افزایش فراوانی داشت که این پروتئین می‌تواند در حفظ باروری گیاه تحت تنش در مرحله زایشی و تولید محصول نقش مهمی ایفا کند. از میان پروتئین‌هایی که درگیر در دفاع سلول بودند، پروتئین V-type proton ATPase subunit F کاهش فراوانی نشان داد که کاهش فراوانی این لکه

وزن تر و خشک ریشه و بخش‌هوایی بر حسب گرم با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. نمونه‌های برگگی در مرحله ۷-۸ برگگی برداشت و در ازت مایع به آزمایشگاه منتقل و در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا در فاز دوم آزمایش (پروتئومیک) استفاده شود.

استخراج پروتئین

به‌منظور استخراج محتوای پروتئین برگ ذرت از روش TCA/acetone استفاده شد (Pavoković *et al.*, 2012). برای انجام الکتروفورز بعد اول از ژل‌های لوله‌ای دست ساز استفاده شد که حاوی آب دیونیزه، NP-40، محلول آکریل‌آمید ۳۰ درصد، آمفولین‌های با pH ۳ تا ۱۰ و ۵ تا ۸، APS ۱۰ درصد و محلول TEMED می‌باشد. برای تعیین غلظت پروتئین در نمونه‌های برگگی، از روش بردفورد (۱۹۷۶) استفاده گردید. محلول پروتئینی بر روی ژل بعد اول بارگذاری شد. برای جداسازی پروتئین‌ها بر اساس نقطه ایزوالکتریک آن‌ها، ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه ولتاژ ۲۰۰ ولت، به مدت ۱۶ ساعت ولتاژ ۴۰۰ ولت و به مدت یک ساعت ولتاژ ۶۰۰ ولت اعمال شد. برای جداسازی پروتئین‌ها بر اساس وزن مولکولی آن‌ها از روش SDS-PAGE استفاده شد. رنگ-آمیزی ژل‌ها با آبی کوماسی طبق دستورالعمل مربوطه رنگ‌آمیزی شد (Bandehagh *et al.*, 2011). برای تصویربرداری از ژل‌ها دستگاه Bio-Rad GS-800 مورد استفاده قرار گرفت. تصاویر به-دست آمده توسط نرم‌افزار PD-quest، با ورژن ۶، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و ژل‌ها به همراه تکرار آن‌ها بررسی شده و لکه‌های مشترک بین تکرارها توسط نرم‌افزار پرچسب زده شدند. برای شناسایی لکه‌های پروتئینی معنی‌دار و به‌منظور تعیین نوع تغییرات فراوانی پروتئین (افزایش یا کاهش فراوانی) به ترتیب از آزمون تی و شاخص القا (IF) استفاده شد.

IF = میانگین شاهد / میانگین تیمار

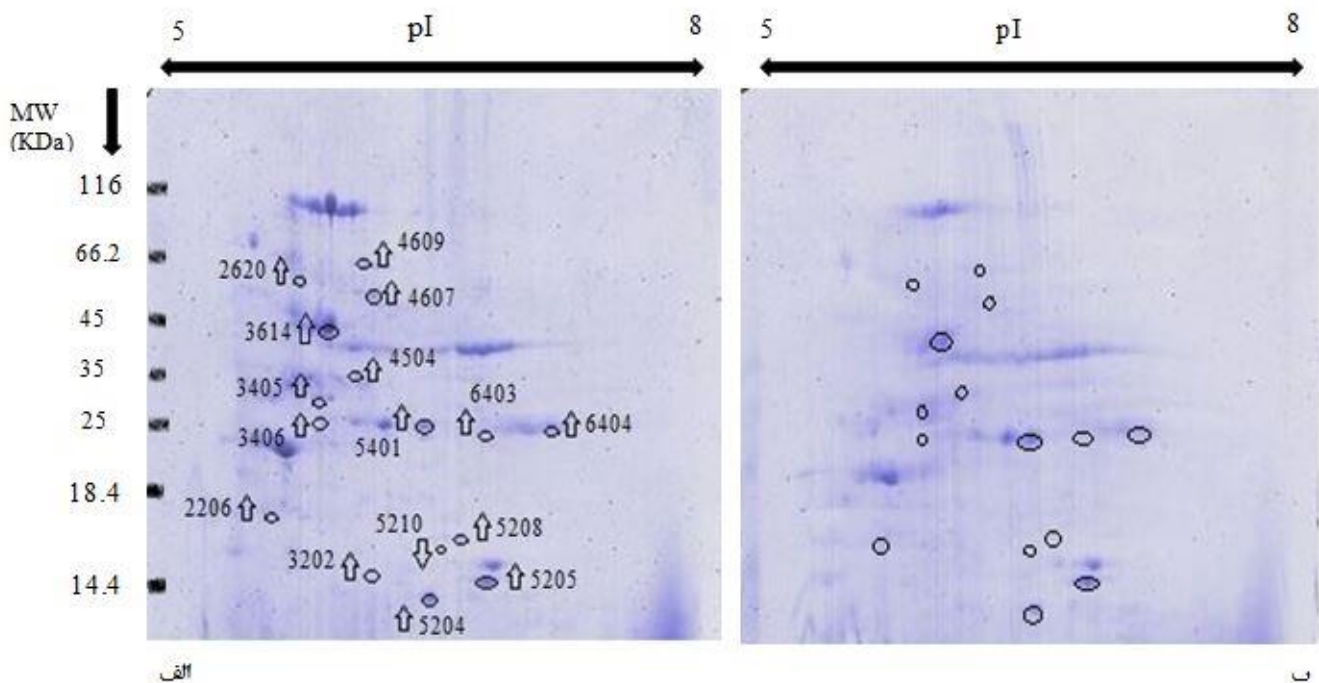
تجزیه ژل‌ها: به‌منظور شناسایی احتمالی لکه‌های پروتئینی از دو معیار نقطه ایزوالکتریک (pI) و وزن مولکولی (MW) در نرم‌افزار آنالین Expasy Tag-Ident داده پایگاه UniprotKB استفاده شد.

کلروپلاست زیر واحد اپسیلون نقش مهمی در این تنظیم دارد: ۱- تأثیرگذار بر کارایی اتصال ۲- تأثیر بر مسیر کاتالیزوری ۳- انتخابی مهار فعالیت هیدرولیز ATP. افزایش فراوانی ATP Synthase در تنش سرمای برنج به مدت ۲۴ ساعت گزارش شده است که با داده‌های حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (Lekklar, 2019). افزایش فراوانی این لکه شاید برای مقابله با تنش شوری و حفاظت از تخریب غشاء تیلاکوئید و کلروپلاست باشد (Longo, 2017). لکه شماره ۳۲۰۲ پروتئین (Ferrodoxin-thiorredoxin reductase, variable chain)، آنزیم وابسته به نور در سیستم نظارتی فتوستنز فاز روشنایی است. آنزیم FTRV یک پروتئین رنگی با یک توده مولکولی ظاهری حدود ۳۰ کیلو دالتون است و از دو زیر واحد جداگانه، به صورت زیر واحد متغییر و زیر واحد کاتالیزوری تشکیل شده است (Droux et al., 1987). فعالیت ATP Synthase کلروپلاستی توسط سیستم فریدوکسین تیوردوکسین تنظیم می‌شود

منجر به مصرف کمتر ATP شده و این ذخیره ATP به حفظ رشد ذرت تحت تنش شوری کمک می‌کند (Zhang, 2014).

پروتئین‌های درگیر در سوخت و ساز و تولید انرژی

پروتئین ATP Synthase epsilon chain, chloroplastic (لکه شماره ۲۲۰۶) از زیر واحدهای ATP Synthase Complex است که در مطالعه پروتئوم ساقه کلزا (Albertin et al., 2009) و برگ ذرت (Zhang et al., 2016) نیز شناسایی شده است. آنزیم ATP Synthase یک کمپلکس آنزیمی متصل به غشاء بوده که به عنوان کانال یونی نیز فعالیت دارد که سنتز ATP و هیدرولیز، همراه با انتقال پروتئین‌ها از عرض غشاء را بر عهده دارد و از انرژی حاصل از شیب پروتون و با شارش یون‌ها از عرض غشاء از طریق کانال پروتونی ATPase قادر به تولید ATP است. آنزیم ATP Synthase دارای نقش اصلی در تأمین انرژی در کلروپلاست و میتوکندری است (Ngara, 2012). گیاهان مقدار فراوانی ATP برای رشد، نمو و مقابله با تنش نیاز دارند. تنظیم فعالی ATP Synthase پیچیده است و شامل چندین مکانیزم مجزا است. در باکتری‌ها و



شکل ۱- زل‌های الکتروفورز دوبعدی برگ لاین ذرت SC704 تحت تنش شوری (۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) الف (شاهد)، ب (تنش)

Fig 1. Representative 2-DE gels of hybrid SC704 leaves under 0 and 200 mM NaCl left (Control), right (Stress)

جدول ۱- دانشته‌های پروتئین‌های شناسایی شده. The information of identified proteins

شماره لکه	نام پروتئین	Ac.No ^a	نوع فراوانی	فاکتور القا	T. MW ^b	T. pI ^c	O. MW ^d	T. pI ^e	شماره لکه
۲۲۰۶	ATP synthase epsilon chain, chloroplastic	P69443	افزایش	۱۰/۳۳	۱۵/۲۱	۵/۲۰	۱۵/۷۹	۵/۲۵	۲۲۰۶
۲۲۲۰	Cryptochrome-1	Q43125	افزایش	۵/۴۶	۷/۶۹	۵/۳۳	۵۳/۷۵	۵/۳۶	۲۲۲۰
۳۲۰۲	Ferredoxin-thioredoxin reductase, variable chain	P80680	افزایش	۷/۲۸	۱۰/۸۸	۵/۶۹	۱۰/۸۱	۵/۶۸	۳۲۰۲
۳۴۰۵	Peroxidase 42	A5H453	افزایش	۵/۵۶	۳۰/۳۳	۵/۶۴	۳۰/۴۱	۵/۶۱	۳۴۰۵
۳۴۰۶	Hydroxyethylthiazole Kinase	Q9LIQ4	افزایش	۴۱/۲۱	۲۸/۷۹	۵/۶۳	۲۸/۸۴	۵/۶۲	۳۴۰۶
۳۱۱۴	UDP-glycosyltransferase 708A6	A0A096SRM5	افزایش	۱۹/۸۹	۵۰/۶۰	۵/۵۸	۹۳/۵۱	۵/۵۶	۳۱۱۴
۴۵۰۴	Methylthioribose-1-phosphate isomerase	B6TZD1	افزایش	۵/۰۲	۳۸/۶۲	۵/۷۱	۸۳/۳۸	۵/۷۶	۴۵۰۴
۴۱۰۷	Pentatricopeptide repeat-containing protein , chloroplastic	A0A1D6IEG9	افزایش	۳/۱۹	۶۶/۵۸	۵/۹۷	۶۶/۰۶	۵/۸۳	۴۱۰۷
۴۶۰۹	DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 3A, chloroplastic	A0A1D6GDY8	افزایش	۳/۹۱	۷۶/۰۱	۵/۱۰	۷۷/۳۶	۵/۸۲	۴۶۰۹
۵۲۰۴	Protein EGG APPARATUS-1	Q5G8Z3	افزایش	۴/۴۷	۹/۴۷	۵/۹۱	۹/۵۴	۶/۰۸	۵۲۰۴
۵۲۰۵	Photosystem I reaction center subunit VI, chloroplastic	O65101	افزایش	۳/۹۵	۱۰/۱۵	۶/۳۳	۱۱/۳۴	۶/۳۵	۵۲۰۵
۵۲۰۸	14 kDa zinc-binding protein	P42856	افزایش	۳/۴۳	۱۴/۳۰	۶/۱۹	۱۳/۳۵	۶/۲۱	۵۲۰۸
۵۲۱۰	V-type proton ATPase subunit F	Q9ZQX4	کاهش	۰/۲۵	۱۴/۲۵	۶/۰۸	۱۳/۵۲	۶/۰۸	۵۲۱۰
۵۴۰۱	Urease accessory protein G	O64700	افزایش	۱۱/۰۴	۳۰/۰۸	۶/۰۶	۲۹/۳۱	۶/۰۷	۵۴۰۱
۶۴۰۳	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit beta	O24473	افزایش	۱۵/۹۶	۳۰/۳۸	۶/۴۰	۳۰/۸۵	۶/۴۹	۶۴۰۳
۶۴۰۴	Spindle and kinetochore-associated protein 1 homolog	B4FGS2	افزایش	۳/۳۳	۳۰/۳۷	۶/۷۷	۳۰/۴۵	۶/۷۹	۶۴۰۴

a: شماره دسترسی در داده پایگاه‌های NCBI، b: TagIdent و MASCOT، c: وزن مولکولی تئوری؛ d: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ e: نقطه ایزوالکتریک تجربی؛ f: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ g: وزن مولکولی تجربی؛ h: نقطه ایزوالکتریک تجربی؛ i: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ j: وزن مولکولی تئوری؛ k: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ l: نقطه ایزوالکتریک تجربی؛ m: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ n: وزن مولکولی تجربی؛ o: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ p: وزن مولکولی تجربی؛ q: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ r: وزن مولکولی تجربی؛ s: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ t: وزن مولکولی تجربی؛ u: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ v: وزن مولکولی تجربی؛ w: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ x: وزن مولکولی تجربی؛ y: نقطه ایزوالکتریک تئوری؛ z: وزن مولکولی تجربی

a: Access number in databases NCBInr, MASCOT, TagIdent- c:T.pI- d: Observed. MW- e: Observed.pl

مجموعه هسته باشد (Jensen *et al.*, 2007). افزایش فراوانی زیر واحد Psac در رقم افضل جو تحت تنش شوری گزارش شده است (Rasoulnia *et al.*, 2011). بسیاری از آنزیم‌های دخیل در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد. فراوانی این لکه در این پژوهش در تیمار با شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم افزایش نشان داد. شاید این افزایش فراوانی به دلیل استفاده بهینه از انرژی نور برای فرآیندهای مختلف سلولی در جهت مقابله با آسیب تنش شوری به‌عنوان یک تنش غیرزیستی صورت گرفته است (Martin, 2017). اتم‌های فلزی از جمله روی برای عملکرد، ساختار و پایداری پروتئین‌ها حیاتی هستند. روی یکی از فراوان‌ترین و مهم‌ترین یون‌های فلزی است و نقش مهمی در پروتئین‌های سلولی مانند سنتز پروتئین‌ها، تکثیر و رونویسی DNA، آپوپتوز سلول، متابولیسم و کاتابولیسم دارد. روی به‌عنوان الکتروفیل حیاتی در بسیاری از هیدرولیزها عمل می‌کند و بسیاری از پروتئین‌ها را تثبیت ساختاری می‌کند، روی به‌عنوان الکتروفیل حیاتی در بسیاری از هیدرولیزها عمل می‌کند و بسیاری از پروتئین‌ها را تثبیت ساختاری می‌کند (Sithtisarn *et al.*, 2017). پروتئین 14KDa Zinc-binding protein مربوط به لکه شماره ۵۲۰۸ در این پژوهش افزایش فراوانی نشان داد. شاید این افزایش فراوانی به‌دلیل مقابله با تنش‌های فیزیولوژیکی حاصل از ناکارایی سیستم‌های متعدد آزمایشی و دیگر اعمال متابولیکی باشد. همچنین می‌تواند برای جلوگیری از اختلال در سوخت و ساز بافت سلولی مؤثر باشد. با افزایش فراوانی می‌تواند اثر منفی نمک کلرید سدیم را با محدود کردن جذب سدیم و کلر و یا انتقال آن را در گیاه تخفیف دهد (Mann *et al.*, 2019). افزایش فراوانی پروتئین Dof Zinc-finger protein در جو (Eggert, 2011) گزارش شده است.

پروتئین پروتئین‌های درگیر در ترجمه و پردازش

گلیکوزیل ترانسفرازها در تمامی موجودات زنده یافت می‌شوند. تعداد بسیاری از این گلیکوزیل ترانسفرازها دارای موتیف خاصی هستند که این گروه به UDP گلیکوزیل ترانسفرازها معروف هستند. موتیف UDP گلیکوزیل ترانسفرازهای گیاهی در دامنه‌ای از فعالیت‌ها درگیر هستند و در بسیاری از آن‌ها از UDP-glucose در واکنش انتقال استفاده می‌شود (Cazorla *et al.*, Rodríguez)

در پلاستیدها احیای Trxها (y, f, m, x) وابسته به نور و به‌واسطه آنزیم فریدوکسین-تیوردوکسین ردوکتاز (FTR) است (Schuermann, 2008). افزایش فراوانی این پروتئین در برنج رقم FL478 تحت تنش شوری گزارش شده است (Buey, 2018). این لکه در این آزمایش افزایش فراوانی داشت که این افزایش فراوانی به‌دلیل محافظت از ATP Synthase می‌تواند باشد و از ایجاد ROSها در مراحل اولیه تنش ممانعت می‌کند که از این طریق آسیب وارده به غشاء سلولی کاهش می‌یابد (Schuermann, 2008). L-متیونین فرم صد درصد فعال متیونین از لحاظ بیولوژیکی است و برای گرده‌افشانی بسیار مفید و رویش دانه گرده را افزایش و باعث افزایش طول لوله گرده‌افشانی در گل می‌شود. L-متیونین یکی از فاکتورها در ایجاد تعادل بین گیاه و محیط کشت به شمار می‌آید (Wang *et al.*, 2016). در این پژوهش لکه شماره ۴۵۰۴ - مربوط به پروتئین Methylthioribose-1-Phosphate isomerase افزایش فراوانی داشت که متیل تری ریبوز-۱-فسفات (MTR-1-R) را به متیل تری ریبولوز-۱-فسفات (MTRu-1-P) تبدیل می‌کند (Parihar *et al.*, 2015). این پروتئین همچنین در مسیری که L-S-methyl-5-thio-alpha-D-ribose 1-Phosphate را از سنتز می‌کند، درگیر است. افزایش فراوانی این پروتئین تحت تأثیر اسید بوریک در جو (Patterson *et al.*, 2017) افزایش گزارش شده است. در رابطه با پروتئین DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 3A, chloroplastic لکه شماره ۴۶۰۹، نشان داده شده است که جعبه DEAD، خانواده RNA هلیکاز نقش اساسی در سوخت و ساز DNA و RNA مانند تکرار، ترمیم، نوترکیبی، رونویسی، ترجمه، تولید ریپوزوم دارند (Sithtisarn *et al.*, 2017). حضور هلیکازها در ORFهای ناشی از استرس شناسایی شده توسط میکروارگاد cDNA نشان می‌دهد که هلیکازها ممکن است نقش مهمی در ثبات رشد گیاهان تحت استرس داشته باشند. با توجه به اینکه ارگانسیم‌های گیاهان با تنش‌های غیرزیستی مواجه می‌شوند، فعالیت RNA هلیکازها ممکن است برای سازگاری‌های سلولی به شرایط محیطی تغییر یافته مورد نیاز باشد (Banroques *et al.*, 2011). پروتئین Photosystem I reaction center subunit (PsaH) chloroplastic (VI) لکه شماره ۵۲۰۵ ممکن است در اتصال از مجموعه آنتن LHCI (مجموعه دریافت کننده نور) به

یک ترکیب سه گانه TC با GTP و آغازگر Met-tRNA^{iMet} را تشکیل می‌دهد. عامل آغازگر ترجمه یوکاریوتی ۲ (eIF2) در مراحل اولیه سنتز پروتئین با تشکیل یک پیچیدگی سه گانه با GTP و آغازگر tRNA و اتصال به زیر واحد واحد ریوزوم ۴۰S عمل می‌کند. پروتئین eIF2 از سه زیر واحد، آلفا (α)، بتا (β) و گاما (γ) تشکیل شده است. زیر واحد بتا مبادله تولید ناخالص داخلی GDP را برای GTP تثبیت می‌کند، که مجموعه eIF2 را برای دور بعدی ترجمه آغاز می‌کند (Roll-Mecak et al., 2004). این پروتئین در این آزمایش افزایش فراوانی پیدا کرد. افزایش فراوانی پروتئین eIF5A2 تحت تنش شوری در برنج رقم IR29 گزارش شده است (Hosseini et al., 2015).

پروتئین‌های دفاعی

لکه‌های شماره ۲۶۲۰، ۳۴۰۵، ۵۲۱۰ پروتئین‌های دفاعی هستند که در اثر تنش شوری تغییر فراوانی نشان دادند که در این میان لکه ۵۲۱۰ پروتئین V-type proton ATPase subunit F تنها لکه دارای کاهش فراوانی در این پژوهش بود. لکه شماره ۲۶۲۰ به عنوان گیرنده نور است ابتدا در آراییدوپسیس کشف شده اما بعداً در سایر گیاهان، میکروب‌ها و حیوان‌ها نیز یافت شد. مطالعات بر روی جهش یافته‌های گیرنده نور آبی، مشخص کرد که ژن کریپتوکروم ۱، جزء اولین فاکتورهای اولیه درگیر در تنظیم پاسخ‌های ریخت-زایی نوری از جمله منع طویل شدن هیپوکوتیل، تجمع آنتوسیانین، گسترش برگ و کوتیلدون است. پروتئین 42 Peroxidase لکه شماره (۳۴۰۵) از جمله آنزیم‌های فراوانی است که در مسیر تنفس سلولی دخالت می‌کند. در این مطالعه، تنش شوری باعث افزایش فراوانی معنی‌دار آنزیم پراکسیداز شد. آنزیم پراکسیداز در فرآیندهای متنوع سلولی نظیر لیگنینی شدن دیواره‌های سلولی (Quiroga et al. 2000)، اکسیداسیون فنول‌ها (Lagrimini 1991)، مقاومت به شوری (Hiraga et al. 2001) و محافظت بافت‌ها از زخم و آلودگی به وسیله میکروارگانیسم‌های پاتوژن شرکت می‌کند (Sakharov et al. 2000; Sat 2008). این آنزیم‌ها با استفاده از پراکسید هیدروژن، بسیاری از سوبسترهای آلی و غیرآلی را اکسید کرده و از این رو در حذف انواع عوامل اکسید کننده و رادیکال‌های آزاد دخالت و نیز پراکسید هیدروژن اضافی تولید شده در شرایط

2018. این واکنش چندین نتیجه مهم دارد: ۱- در نتیجه اتصال گلوکر این ترکیبات ممکن است فعال یا غیرفعال می‌شوند. برای مثال بسیاری از هورمون‌ها در نتیجه گلیکوزیل شدن غیرفعال می‌شوند ۲- گلیکوزیل شدن با افزایش خصوصیات هیدروفیلیک باعث تغییر حلالیت ترکیبات می‌شوند در نتیجه گلیکوزیل شدن از طریق تنظیم سطح، فعالیت و محل متابولیت‌های کلیدی سلول باعث یک پایداری نسبی سلولی می‌شود (Rodríguez Cazorla et al., 2018) پروتئین UDP-glycosyltransferase 708A6 لکه شماره ۳۶۱۴ مسئول انتقال گلیکوزیل از یک دهنده فعال به یک مولکول گیرنده است و یک باند گلیکوزیک را ایجاد می‌کند. افزایش فراوانی پروتئین UDP-glycosyltransferase تحت تنش خشکی در *Pennisetum glaucum* L. گزارش شده است (Ghatak et al., 2016) پروتئین Pentatricopeptide repeat-containing (CRP1) یک بخشی از یک مجموعه چند منظوره در استروما کلوپلاست است. این پروتئین بزرگ‌ترین خانواده پروتئین‌های مرتبط با RNA در گیاهان است که به میتوکندری یا کلروپلاست‌ها متصل می‌شوند، جایی که آن‌ها نقش اصلی را در سوخت و ساز RNA دارند (Fisk, 1999). پروتئین CRP1، از پروتئین PPR ساخته شده است که در ترجمه mRNA های petA و petD کلروپلاست و پردازش petD mRNA از یک پیش ماده پلی سیسترونیک ضروری است. ژن petD کلروپلاستی، کد کننده زیر واحدی از کمپلکس سیتوکروم b6 است که انتقال الکترون بین PSI و PSII را واسطه‌گری می‌کند (Watson et al., 2016). افزایش فراوانی این پروتئین تحت تأثیر فلزات مس و کادمیوم در برنج (*Oryza Sativa* L.) گزارش شده است که با داده‌های این پژوهش مطابقت دارد (Qrunfleh, 2018). شاید افزایش فراوانی این پروتئین در شرایط تنش برای مقابله با اثرهای تنش شوری صورت گیرد که باعث تخریب میتوکندری، کلروپلاست و کاهش ترجمه شود و همچنین احتمال دارد از طریق افزایش پروتئین petD باعث افزایش انتقال الکترون بین PSI و PSII شود که کلروپلاست می‌تواند به وضعیت انتقال دوباره الکترون از PSII و تولید انرژی برای مقابله با تنش برسد (Qrunfleh, 2018). لکه شماره ۶۴۰۳ پروتئین (eIF2B)، پروتئینی است که در یوکاریوت‌ها یافت می‌شود. پروتئین eIF2B یک عامل ضروری برای سنتز پروتئین است که

سایر پروتئین‌های دارای تغییر فراوانی

پروتئین EGG APPARATUS-1 (EA1) لکه شماره ۵۲۰۴، برای هدایت لوله‌گرده میکروپیلار (PT) در ذرت مورد نیاز است و آخرین مرحله از حرکت PT در طی فرآیند بارور شدن مضاعف در گلدھی گیاهان است. پروتئین Spindle and kinetochore-1 homolog protein (لکه شماره ۶۴۰۴)، یکی از زیر مجموعه SKA است که پروتئین آن می‌تواند میکروتوبول‌های دوک را به‌طور پیوسته به کیتوکور در میتوز متصل کند. ژن SKA1 بر روی کروموزوم 18 q21.1 قرار دارد که شامل ۲۵۵ اسید آمینه است و تقریباً ۳۰ کیلو دالتون است (Abad and Medina 2014). پروتئین SKA1 یک مولفه ضروری برای اتصال پایدار کیتوکور و میکروتوبول است و ممکن است ترکیبی از کیتوکور و توبولین را ترمیم کند و تنظیم دپلی‌مریزاسیون توبولین و هماهنگ‌سازی مهاجرت کروموزومی و حرکت به سمت ۲ قطب را تنظیم کند. پروتئین SKA1 ممکن است نه تنها در دوک بلکه در کیتوکور بیان شود (Guimaraes and Deluca 2009). انتهای کربوکسیل آن حاوی دامنه اتصال با میکروتوبول محافظت شده با سایت‌های مختلف فسفوریلاسیون است که توسط آرورا کیناز B فسفرید می‌شود تا ترکیبی از SKA1 و میکروتوبول‌ها را تنظیم کند (Boeszoermenyi *et al.*, 2014). تشکیل مجموعه SKA برای اطمینان از موقعیت صحیح دوک و کیتوکور برای ترویج انتقال از میتوز میانه و تأخیر کمک می‌کند (Boeszoermenyi *et al.*, 2014). ویتامین B₁ یا تیامین دارای دو حلقه هتروسیکلیک است که یکی از آن‌ها گوگردار به نام تiazول و دیگری در ازت‌دار پیریمیدین است. حلقه پیریمیدین به صورت ۲ و ۵- دی متیل ۴- آمینوپیریمیدین و حلقه تiazول به صورت ۴- متیل ۵- هیدروکسی اتیل تiazول است این دو حلقه توسط ازت حلقه تiazول و ریشه متیل کربن ۵ پیریمیدین به یکدیگر متصل می‌شوند. پروتئین Hydroxyethylthiazole Kinase، لکه شماره ۳۴۰۶ در این پژوهش افزایش فراوانی پیدا کرد. حلقه تiazول به عنوان آنزیم کلیدی برای سنتز ویتامین B₁ ضروری است (Turan *et al.*, 2009). تجزیه تیامین (ویتامین B₁) و فسفات آن، بخش تiazول؛ ۴- متیل ۵- هیدروکسی اتیل تiazول (THZ) را آزاد می‌کند که

استرس دارند. کاهش فراوانی این پروتئین تحت تنش خشکی در ذرت و افزایش فراوانی آن در برنج رقم IR29 تحت تنش شوری گزارش شده است. لکه ۵۲۱۰ نقش مهمی در ایجاد یک گرادیان H⁺ الکتروشیمیایی در سراسر تونوپلاست، در جذب Na⁺ به واکوئل مرکزی و افزایش تحمل تنش شوری در گیاهان دارد. در گیاهان، تنها پمپی که شیب پروتونی در غشاء پلاسمایی ایجاد می‌کند، پمپ پروتونی یا همان H⁺-ATPases است که بعداً سایر انتقال دهنده‌ها مثل آنتی‌پورترهای سدیمی/ هیدروژنی از این نیروی محرکه استفاده کرده و انتقال ثانویه را انجام می‌دهند. به همین دلیل تصور می‌شود که پمپ پروتونی غشاء پلاسمایی نقش مهمی در تحمل به شوری داشته باشد. حدود ۲۵ تا ۵۰ درصد از ATP سلولی توسط این پمپ مصرف می‌شود که بیانگر اهمیت این پمپ یونی می‌باشد. پمپ پروتونی غشاء پلاسمایی در بسیاری از کارکردهای فیزیولوژیک نظیر وقایع مرتبط با تورژسانس مانند رشد سلول و گیاه، باز و بسته شدن روزنه و تحمل به شوری نقش اساسی دارد. کاهش فراوانی این پروتئین در ذرت تحت تنش خشکی و در گندم تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی-مولار (Kamal 2012) گزارش شده است. کاهش فراوانی این لکه منجر به مصرف کمتر ATP شده و این ذخیره ATP به حفظ رشد ذرت تحت تنش شوری کمک می‌کند.

پروتئین درگیر در چرخه نیتروژن

لکه شماره ۵۴۰۱ پروتئین (Urease accessory protein G)، فعال کردن آنزیم اوره‌آز را بر عهده دارد. اوره‌آز یک آنزیم وابسته به نیکل است. نیکل یکی از اجزای اصلی آنزیم اوره‌آز است. این پروتئین نیکل را به آنزیم اوره‌آز تحویل می‌دهد. نقش آنزیم اوره‌آز این است که امکان استفاده از اوره درون یاخته‌ای و یا اوره مصرف شده از کود را به عنوان منبع نیتروژن برای گیاه فراهم می‌کند (Myrach and Witte 2017). افزایش فراوانی این پروتئین شاید با تأمین نیتروژن کافی در چرخه نیتروژن باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری و متوقف نشدن رشد و زرد نشدن برگ‌ها - شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

در مسیرهای متابولیسم و تولید انرژی، چرخه‌ی نیترژن، ترجمه و پردازش، دفاعی و سایر پروتئین‌های تغییر فراوانی یافته به‌غیر از لکه‌ی شماره‌ی ۵۲۱۰ (V- type proton ATPase subunit F) افزایش فراوانی داشتند. این لکه کاهش فراوانی داشت که جزء پروتئین‌های دفاعی بود. از میان پروتئین‌های تغییر فراوانی یافته، پروتئین EGG APPARATUS-1 افزایش فراوانی داشت که این پروتئین می‌تواند در حفظ باروری گیاه تحت تنش در مرحله‌ی زایشی و تولید محصول نقش مهمی ایفا می‌کند. از میان پروتئین‌هایی که درگیر در دفاع سلول بودند، پروتئین V- type proton ATPase subunit F کاهش فراوانی نشان داد که کاهش فراوانی این لکه منجر به مصرف کم‌تر ATP شده و این ذخیره ATP به حفظ رشد ذرت تحت تنش شوری کمک می‌کند.

میکروارگانیزم‌ها و گیاهان می‌توانند برای استفاده مجدد در سنتز تیامین، به‌کار گیرند (Turan *et al.*, 2009). فرآیند استفاده مجدد با AFP وابسته به فسفریلاسیون THZ شروع می‌شود. ژنوم آرآبیدوپسیس و ذرت به‌ترتیب همولوگ‌های (THiM At3g24030 و GRMZM2G094558) را رمزگذاری می‌کنند. همولوگ‌های THiM منبع اصلی فعالیت‌های THZ کیناز در گیاهان هستند و در نتیجه برای بازیافت تیامین بسیار مهم هستند (Yazdani *et al.*, 2013). افزایش فراوانی پروتئین ۴- متیل ۵- بتا هیدروکسی اتیل تیازول تحت تأثیر اسید سالیسیک در آرآبیدوپسیس گزارش شده است (Abad, 2014).

نتیجه‌گیری: چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تنش شوری باعث کاهش صفت وزن خشک بخش هوایی نسبت به سایر صفات مورفولوژیک شد. با اعمال تنش شوری تمام پروتئین‌های دخیل

منابع

- principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72:248-254.
- Abad MA, Medina B, Santamaria A. 2014. Structural basis for microtubule recognition by the human kinetochore Ska complex. *Nature Communications* 5: 2964.
- Albertin WO, Langella J, Joets L, Negroni M, Zivy C, Damerval, Thiellement H. 2009. Comparative proteomics of leaf, stem, and root tissues of synthetic *Brassica napus*. *Proteomics* 9:793-799.
- Bandehagh A, Toorchi M, Mohammadi A, Chaparzadeh N, Salekdeh GH, Kazemnia H. 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 6:201-208. (In Farsi with English abstract).
- Bandehagh A, Salekdeh GH, Toorchi M, Mohammadi A, Komatsu S. 2011. Comparative proteomic analysis of canola leaves under salinity stress. *Proteomics* 11:1965-1975. (In Farsi with English abstract).
- Banroques J, O Cordin M, Doère P, Linder NK, Tanner. 2011. Analyses of the functional regions of DEAD-box RNA "helicases" with deletion and chimera constructs tested in vivo and in vitro. *Journal Molecular Biology*, 413: 451-472.
- Boeszoermyeni A, Schmidt JC, Cheeseman IM, Oberer M, Wagner G, Arthanari H. 2014. Resonance assignments of the microtubule-binding domain of the *C. elegans* spindle and kinetochore-associated protein 1. *Biomolecular NMR Assignments* 8: 275-278.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72:248-254.
- Buey RM, Fernández-Justel D, de Pereda JM, Revuelta JL, Schürmann P, Buchanan BB, Balsera M. 2018. Ferredoxin-linked flavoenzyme defines a family of pyridine nucleotide-independent thioredoxin reductases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115: 12967-12972.
- Das P, Nutan KK, Singla-Pareek SL, Pareek A. 2015. Understanding salinity responses and adopting 'omics-based' approaches to generate salinity tolerant cultivars of rice. *Frontiers in plant science*, 6: 712.
- Droux M, Jacquot JP, Miginiac-Maslow M, Gadal P, Huet JC, Crawford NA, Yee BC, Buchanan BB. 1987. Photosynthesis: purification and properties of the enzyme from C3, C4 and cyanobacterial species. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1: 426-439.
- Dianna GF, Walker MB, Barkan A. 1999. Molecular cloning of the maize gene *crp1* reveals similarity between regulators of mitochondrial and chloroplast gene expression. *The EMBO Journal* 18:2621-2630.
- Eggert Kai, Pawelzik E. 2011. Proteome analysis of Fusarium head blight in grains of naked barley (*Hordeum vulgare* subsp. *nudum*). *Proteomics* 11:972-985.
- Fageria NK, Baligar VC, Jones ChA. 2010. Growth and mineral nutrition of field crops. Third Edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton 586.
- Fisk DG, Walker MB, Barkan A. 1999. Molecular cloning of the maize gene *crp1* reveals similarity between regulators of mitochondrial and chloroplast gene expression. *The EMBO Journal* 18: 2621-2630.

- Ghatak A, Chaturvedi P, Nagler M, Roustan V, Lyon D, Bachmann G, Postl W. 2016.** Comprehensive tissue-specific proteome analysis of drought stress responses in *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. (Pearl millet). *Journal of proteomics* 143: 122-135.
- Guimaraes GJ, Deluca JG. 2009.** Connecting with Ska, a key complex at the kinetochore-microtubule interface. *EMBO Journal* 28:1375-1377.
- Hosseini SA, Gharechahi J, Heidari M, Koobaz P, Abdollahi Sh, Mirzaei M, NaKhoda B, Hosseini Salkadeh G. 2015.** Comparative proteomic and physiological characterisation two closely related rice genotypes with contrasting responses to salt stress. *Functional Plant biology* 42:527-542. (In Farsi with English abstract).
- Hiraga SK, Sasaki Hito, Ohashi Y, Matsui H. 2001.** A large family of class III plant peroxidases. *Plant. Cell Physiology* 42: 462-468.
- Jensen PE, Bassi R, Boekema EJ, Dekker JP, Jansson S, Leister D, Robinson C, VibeScheller H. 2007.** Structure, function and regulation of plant photosystem I. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics* 1767:335-352.
- Komatsu S, Kamal Abu HM, Hossain Z. 2012.** Wheat proteomics: proteome modulation and abiotic stress acclimation, *Frontiers in plant science* 5:684.
- Kosová K, Vítámvás P, Urban MO, Práčil IT. 2013.** Plant proteome responses to salinity stress-comparison of glycophytes and halophytes. *Functional Plant Biology* 40: 775-786.
- Lagrimini LM. 1991.** Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase. *Plant Physiology* 96:577-583.
- Lekklar C, Suriya-arunroj D, Pongpanich M, Comai L, Kositsup B, Chadchawan S, Buaboocha T. 2019.** Comparative Genomic Analysis of Rice with Contrasting Photosynthesis and Grain Production under Salt Stress. *Genes* 10: 562.
- Mann A, Kumar N, Lata C, Kumar A, Kumar A, Meena B. 2019.** Functional annotation of differentially expressed genes under salt stress in *Dichanthium annulatum*. *Plant Physiology Reports*, 24(1): 104-111.
- Martin BA, Frymier PD. 2017.** A review of hydrogen production by photosynthetic organisms using whole-cell and cell-free systems. *Applied biochemistry and biotechnology*, 183: 503-519.
- Mohammadkhani N, Sharifi P. 2016.** Anti-oxidative response of different wheat genotypes to drought during anthesis. *Plant Physiology*, 6: 1845-1854.
- Myrach T, Zhu A, Witte CO. 2017.** The assembly of the plant urease activation complex and the essential role of the urease accessory protein G (UreG) in delivery of nickel to urease. *Journal of biological Chemistry* 292:14556-14565.
- Ngara R, Ndimba R, Borch-Jensen J, Jensen ON, Ndimba B. 2012.** Identification and profiling of salinity stress-responsive proteins in *Sorghum bicolor* seedlings. *Journal of Proteomics* 75: 4139-4150.
- Niu L, Yuan H, Gong F, Wu X, Wang W. 2018.** Protein extraction methods shape much of the extracted proteomes. *Frontiers in plant science* 9: 802.
- Parihar P, Singh S, Singh R, Singh VP, Prasad SM. 2015.** Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 4056-4075.
- Pavoković D, Križnik B, Krsnik-Rasol M. 2012.** Evaluation of Protein Extraction Methods for Proteomic Analysis of Non-Model Recalcitrant Plant Tissues. *Croatica Chemica Acta* 85:177-183.
- Pradhan N, Prakash P, Manimurugan C, Tiwari SK, Sharma R, Singh P. 2015.** Screening of tomato genotypes using osmopriming with PEG 6000 under salinity stress. *Research in Environment and Life Sciences*, 8: 245-250.
- Qrunfleh IM. 2018.** 'Superior Seedless' grapevine grafted on three rootstocks grown on calcareous soil under diluted brackish water irrigation. III. Stomatal resistance. *International journal of fruit science*, 18: 243-253.
- Quiroga MC, Guerrero MA, Botella A, Barcelo I, Amaya MI, Medina FJ, Alonso DE, Milrad S, Forchetti H, Tigier Valpuesta V. 2000.** A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiology* 122: 1119-1127.
- Rasoulnia A, Bihamta MR, Peighambari S A, Alizadeh H. 2011.** Proteomic response of barley leaves to salinity. *Molecular Biology Reports* 38:5055-5063. (In Farsi with English abstract).
- Rodríguez-Cazorla E, Ortuño-Miquel S, Candela H, Bailey-Steinitz LJ, Yanofsky MF, Martínez-Laborda A, Ripoll JJ. 2018.** Ovule identity mediated by pre-mRNA processing in *Arabidopsis*. *PLoS genetics*, 14: e1007182.
- Roll-Mecak A, Alone P, Cao Ch, Dever TE. 2004.** X-ray Structure of Translation Initiation Factor eIF2γ. *Journal of Biological Chemistry* 279:10634-10642.
- Sairam RK, Srivastava GC. 2001.** Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science* 186:63-70.
- Sakharov IY, Castillo JL, Areza JC, Galaev IY. 2000.** Purification and stability of peroxidase of African oil palm *Elaeis guineensis*. *Bioseparation* 9:125-132.
- Sat IG. 2008.** The effect of heavy metals on peroxidase from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *African Journal of Biotechnology* 7:2248-2253.
- Schuermann P, Buchanan BB. 2008.** The ferredoxin/thioredoxin system of oxygenic photosynthesis. *Antioxidants & redox signaling*, 10: 1235-1274.
- Sithisarn S, Yokthongwattana K, Mahong B, Roytrakul S, Paemane A, Phaonakrop N, Yokthongwattana C. 2017.** Comparative proteomic analysis of *Chlamydomonas reinhardtii* control and a salinity-tolerant strain revealed a differential protein expression pattern. *Planta*, 246: 843-856.
- Turan MA, AH Awad Alkarim, N Taban, S Taban. 2009.** Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. *Journal of African Agriculture Research*, 4: 893-897.
- Zhang D, Wang Z, Shi, L, Shang W, Fu Z, He D, He SL. 2016.** Protein Associated with Adventitious Root Induction Analysis of Tree Peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.)

Plantlets In Vitro by Two-dimensional Electrophoresis and Mass Spectrometry 24: 89-95.

Zhang XH, Li B, Hu YG, Chen L, Min DH. 2014. The wheat E subunit of V-type H⁺-ATPase is involved in the plant response to osmotic stress. International journal of molecular sciences, 15:16196-16210.

Wang F, Tong W, Zhu H, Kong W, Peng R, Liu Q, Yao Q. 2016. A novel Cys 2/His 2 zinc finger protein gene from sweetpotato, IbZFP1, is involved in salt and drought tolerance in transgenic Arabidopsis. Planta, 243: 783-797.

Wang W, Scali M, Vignani R, Spadafora A, Sensi E, Mazzuca S, Cresti M. 2003. Electrophoresis 24: 2369 – 2375.

Watson KB, Dai S, Paul P, Carlson SA, Carroll DD, Fulton J. 2016. The attributable proportion of specific leisure-time

physical activities to total leisure activity volume among US adults, National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2006. Journal of physical activity and health, 13(11): 1192-1201.

Widodo, Patterson JH, Newbiggin ED, Tester T, Bacic A, Roessner Ute. 2007. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance, Journal of Experimental Botany 60:4089–4103.

Yazdani M, Zallot R, Tunc-Ozdemir M, de Crécy-Lagard V, Shintani DK, Hanson AD. 2013. Identification of the thiamin salvage enzyme thiazole kinase in Arabidopsis and maize. Phytochemistry 94:68-73.

Genetic Engineering and Biosafety Journal

Volume 8, Number 1

Leaf proteome analysis of maize hybrid SC704 under salinity stress

Shiva Aliyari Rad¹, Ali Bandehagh*², Sara Dezhsetan¹, Mahdi Behnamian³ and Sajjad moharramnejad⁴¹ Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Iran.² Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.³ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mohagheh Ardabili, Iran.⁴ Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran.

*Corresponding Author, Email: bandehhagh@tabrizu.ac.ir

Abstract

Salinity stress is one of the most important abiotic stresses that can reduce the yield of crops such as maize. In order to evaluate the effect of salinity stress on maize hybrid SC704 an experiment was performed in completely randomized design with three replications under hydroponic cultural system. The applied salt stress (0 and 200 mM NaCl) decreed dry weight. leaf proteins were analyzed on two-dimensional gel electrophoresis. Comparison of leaf proteins showed that abundance of 16 protein spots was significantly altered under salinity stress. Identification of these spots showed that these proteins were divided into five functional groups: metabolism and energy production, translation and processing, defense, nitrogen cycle, and other protein-rich changes. V-type proton ATPase subunit F protein decreased significantly and EGG APPARATUS-1 protein had the most abundance, which can play an important role in maintaining plant fertility under stress at reproductive stage and crop production.

Keywords: Abiotic stress, Proteomics, Two-dimensional electrophoresis