

## مطالعه پاسخ پروتئوم برگی *Hordeum bulbosom* به تنش شوری

فواد فاتحی<sup>۱\*</sup>، عبدالهادی حسین زاده<sup>۲</sup> و هوشنگ علیزاده<sup>۳</sup>  
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق دکتری، دانشیار و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران  
(تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۲۶ - تاریخ تصویب: ۹۰/۱۱/۱۹)

### چکیده

تنش شوری از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی محسوب می شود. در این تحقیق از روش پروتئومیکس به منظور شناسایی پروتئین های پاسخ دهنده تنش شوری در *(H. bulbosom)* استفاده شد. به منظور مطالعه اثر تنش شوری طولانی مدت بر روی الگوی پروتئوم *H. bulbosom*، بذور جو در گلخانه آزمایشی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران کشت شدند. اعمال تنش بر روی گیاهان در مرحله ۴ برگی، با سطوح صفر (آب معمولی بعنوان شاهد) و ۳۰۰ میلی مولار NaCl صورت گرفت. نمونه گیری با جدا کردن برگ چهارم گیاهان پس از ۲۱ روز بعد از اعمال تنش انجام شد. استخراج پروتئین کل بر اساس روش TCA-استون تغییر یافته انجام شد. پروتئین های استخراج شده از برگ جو در بعد اول به وسیله ژل های IPG با شیب پی اچ ۷-۴ جداسازی شدند. در بعد دوم ژل های اکریل آمید با غظت ۱۲/۵ درصد استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه ژل ها نشان داد که از میان بیش از ۵۰۰ لکه پروتئینی دارای تکرارپذیری، تعداد ۶۲ لکه دارای تفاوت معنی دار در بین تیمارها بودند که از میان آنها ۴۶ لکه افزایش بیان و ۱۶ لکه کاهش بیان داشتند. آنالیز ۲۰ لکه پروتئینی با استفاده از طیف سنج جرمی MALDI-TOF-TOF منجر به شناسایی پروتئینهایی از قبیل *Oxygen-evolving enhancer protein 2*، *Rubisco*، پروتئین های ریوزومی، پروفیلین، پروتئین شبه جرمین، پروکسی ردوکسین، دهیدرواسکوربات ردوکتاز، تیوردوکسین، گلیسین دکربوکسیلاز، نوکلئوزید دی فسفات کیناز، فاکتور همانند سازی C، پروتئین تومور کنترل شده در مرحله ترجمه و ساکارز سنتتاز که در مکانیسمهای فتوسنتز، اکسایش-کاهش، ترجمه، انتقال سیگنال و انتقال پروتئین دخیل هستند.

**واژه های کلیدی:** الکتروفورز دو بعدی، پروتئومیکس، شوری، جو

### مقدمه

میلیون هکتار از اراضی ایران تحت تاثیر شوری است (Eivazi et al., 2005). شوری بالاتر از حد آستانه گیاه منجر به تنش اکسیداتیو می گردد، همچنین باعث سمیت یونی، کمبود آب و مواد غذایی می شود، رشد گیاه را مختل می کند و در نهایت منجر به نابودی گیاه می شود (Munns, 2002). جو یکی از

تنش شوری از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی محسوب می شود. تخمین زده شده بیش از ۲۰٪ از کل زمین های جهان و نزدیک به نیمی از زمین های کشاورزی آبی از شوری متاثر هستند (Munns, 2002). نزدیک به ۲۴

است (Seki et al., 2002). اما این اطلاعات به دست آمده که مانند داده‌های خام هستند، به اندازه‌ای نیست که به توان به وظیفه و عمل ژن‌ها پی برد. بین فراوانی mRNA و فراوانی پروتئین در سلول، بخصوص در مورد پروتئین‌های با فراوانی کم، ارتباط ضعیفی وجود دارد. از سوی دیگر در فاصله بین تبدیل اطلاعات نهفته در یک ژن به یک کنش بیوشیمیایی خاص، مسیر نسبتاً طولانی طی می‌شود و وقایع مختلفی رخ می‌دهد که سرانجام شدت عمل ژن، محل ایفای نقش آن و نوع آن را تعیین می‌کند. این وقایع که به تغییرات پس از رونویسی و پس از ترجمه موسوم هستند به شکل پیرایش و تغییرات مختلف در سطح mRNA و پروتئین (مثل فسفوریلاسیون و گلیکوزیلاسیون) عمل می‌نمایند (Kawasaki et al., 2001). از این رو بررسی پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در سطح پروتئین از اهمیت زیادی برخوردار است

با توجه به اینکه بیان پروتئین‌ها در طول نمو، تحت شرایط محیطی مختلف و در بافت‌های مختلف متغیر می‌باشد، همچنین از آنجا پروتئین‌ها بهترین توصیف برای عمل تک‌تک ژن‌ها در سطح مولکولی هستند مطالعه الگوی پروتئین‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Hajheidari et al., 2005).

پروتئومیکس ابزار قدرتمندی برای بررسی بیوشیمیایی محسوب می‌شود. از مطالعات پروتئومیکس برای بررسی پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی استفاده شده است. تغییرات الگوی پروتئوم در آپوپلاست برگ گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum*) تحت تنش شوری توسط Dani et al. (2005) بررسی شد. بر روی ژل‌های دو بعدی ۱۵۰ پروتئین به صورت تکرارپذیر ظاهر شدند. تعداد ۲۰ لکه پروتئین دارای تغییر قابل ملاحظه، تشخیص داده شد. این نقاط توسط دستگاه طیف سنج جرمی مورد شناسایی قرار گرفتند. دو لکه پروتئین که جزء کتینازها بودند و

گیاهان زراعی مهم است که دارای رتبه چهارم تولید در جهان می‌باشد و در بین غلات دانه ریز غالباً به گرما، قلیاء و نمک مقاومت نشان می‌دهد. اهمیت جو بواسطه رشد آن در نواحی حاشیه‌ای با حاصلخیزی کم است که معمولاً بوسیله خشکی، دمای پایین و شوری محدود شده است (Baum et al., 2004).

گونه‌های وحشی گیاهان منبع مهمی برای مقاومت در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده هستند. بسیاری از گونه‌های جو در مناطق شور رشد می‌کنند و می‌توانند به عنوان منبعی برای مقاومت به شوری مورد استفاده قرار گیرند. بعلاوه گونه‌های وحشی جو مقاومت بالاتری را نسبت به ارقام زراعی نشان داده‌اند (Nevo et al., 1993; Nevo & Chen, 2010). همچنین جو نیز همانند دیگر غلات مهم دارای پایه ژنتیکی باریک بوده و *H. bulbosom* می‌تواند به عنوان منبع ژنی برای معرفی ژنهای مهم جهت افزایش تنوع ژنتیکی و بهبود ارقام موجود مورد توجه قرار گیرد.

اصلاح برای عملکرد بالا در خاکهای شور نیازمند شناخت مکانیسم‌های مقاومت به شوری می‌باشد. شناسایی پروتئین‌های دخیل در مقاومت به شوری و نقش آنها در مکانیسم‌های مقاومت می‌تواند به ارائه یک برنامه اصلاحی برای مقاومت به شوری کمک کند (Shavrukov et al., 2010).

گیاهان قادرند در پاسخ به تنش‌های محیطی مکانیسم‌های سازگاری خود را فعال کنند و با تغییر بیان ژن‌هایشان به عوامل محیطی واکنش نشان دهند. مقاومت به شوری یک صفت پیچیده پلی ژنیک است بنابراین ضروری است که پروتئین‌های مسئول مقاومت شناسایی و با اطلاع از نقش آن‌ها در مکانیسم مقاومت، استراتژی‌های موثر برای اصلاح مقاومت به شوری ایجاد گردد. یکی از راه‌های بررسی الگوی بیان ژن‌ها و اندازه‌گیری میزان رونوشت‌های mRNA کد شده از تک‌تک ژن‌ها

یا بالای تنش شوری دچار آسیب می گردد (Zorb et al., 2004).

هدف از این تحقیق تجزیه پروتئین برگی *H. bulbosom* در شرایط تنش شوری طولانی مدت و شناسایی پروتئین های دخیل در مقاومت به شوری می باشد.

## مواد و روش ها

### اعمال تنش و نمونه گیری

در این تحقیق بذور جو *H. bulbosom* (ژنوتیپ مقاوم حاصل از مطالعات پیشین - اطلاعات منتشر نشده) به عنوان ماده ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. بذور نمونه های گیاهی در گلخانه های ۲/۵ لیتری حاوی پرلیت و کوکوبیت (به نسبت ۳ به ۱) در گلخانه آزمایشی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران کشت شدند. بعد از مرحله دو برگی گیاهان با استفاده از محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند و این کار تا زمان اعمال تنش شوری یعنی مرحله ۴ برگی ادامه یافت. برای اعمال تنش از سطوح صفر (به عنوان شاهد)، و ۳۰۰ میلی مولار NaCl استفاده شد. نمونه گیری بعد از ۲۱ روز اعمال تنش شوری انجام گرفت. نمونه های برگی در نیتروژن مایع منجمد و تا هنگام استخراج پروتئین در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

### استخراج پروتئین و الکتروفورز دو بعدی

استخراج پروتئین از بافت برگی (برگ چهارم) بر اساس روش Damerval et al. (1986) با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای اندازه گیری میزان غلظت پروتئین نمونه ها از روش Bradford (1976) استفاده شد. در این آزمایش برای وارد نمودن پروتئین ها به داخل ژل های IPG با شیب پی ایچ ۷-۴، پروتئین ها در استوک بازجذب<sup>۲</sup> حل شده و همزمان با عمل بازجذب وارد ژل شدند. عمل باز جذب در طول شب و به طور متوسط ۱۴ تا ۱۶ ساعت طول کشید. در این تحقیق از دستگاه مولتی فور II ساخت شرکت آمرشام بیوساینس برای انجام بعد اول (IEF) استفاده شد. برای انجام بعد دوم از دستگاه ProteinII Xi Cell ساخت شرکت بیورد استفاده

یک لکه پروتئینی Germin-like دچار افزایش بیان شده بودند. دو پروتئین دخیل در انتقال لیپیدها به صورت *de novo* سنتز شده بودند (Dani et al., 2005). Jiang et al. (2007) تغییرات الگوی پروتئوم ریشه آرابیدوپسیس در شرایط هیدروپونیک در غلظت ۱۵۰ میلی مولار نمک بررسی نمودند. ۱۸ روز پس از سبز شدن بذور تنش شوری اعمال شد و در زمان های ۶ و ۴۸ ساعت نمونه گیری انجام گرفت. بیش از ۱۰۰۰ لکه پروتئینی به صورت تکرارپذیر ظاهر شدند. تعداد ۱۱۲ لکه افزایش بیان و ۱۰۳ لکه پروتئینی کاهش بیان نشان دادند. از طریق LC/MS/MS<sup>۱</sup>، ۸۶ تا از این پروتئین ها شناسایی شدند. این پروتئین ها شامل پروتئین های پاسخ دهنده به تنش و پروتئین های دخیل در چرخه های حذف ROS، انتقال پیام در سلول، ترجمه، بیوسنتز دیواره سلول، تجزیه پروتئین ها، متابولیسم انرژی، متابولیسم آمینو اسیدها و هورمون ها بودند (Jiang et al., 2007).

Zorb et al. (2004) به بررسی پروتئوم ساقه و ریشه ذرت (*Zea mays L.*) تحت تنش ۲۵ و ۱۰۰ میلی مولار نمک پرداختند. تعداد ۱۴ پروتئین از مجموع پروتئین ها به وسیله MALDI- TOF شناسایی شد. این ۱۴ پروتئین در سه گروه مجزا قرار گرفتند. دسته اول پروتئین هایی بودند که در بیوسنتز پروتئین ها و تغییرات پروتئینی به وسیله کینازها نقش داشتند. گروه دوم، آنزیم های متابولیسم کربوهیدرات بودند و دسته سوم آنزیم های دخیل در چرخه نیتروژن. تعداد ۸ پروتئین از مجموع ۱۴ پروتئین یاد شده در تنش ۱۰۰ میلی مولار افزایش بیان داشتند که در چرخه های رونویسی و ترجمه نقش ایفا می کردند. بر طبق این نتایج، نتیجه گیری شد که ذرت مکانیسم سازگاری خاص برای تنش شوری نداشته و در سطوح پائین و

1. Liquid chromatography tandem mass

2. Rehydration

الگوی پروتئوم برگ جو *H. bulbosom* گیاهچه های ۴ برگی تحت تنش شوری قرار گرفتند. پروتئین ها از برگ های چهارم گیاهچه های تحت تنش شوری و نرمال استخراج شدند. پس از آنالیز ژل های رنگ آمیزی شده با نیترات نقره بیش از ۵۰۰ لکه پروتئینی به طور تکرار پذیر در ژل ها شناسایی و مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. به منظور بررسی تغییرات کمی بیان پروتئین ها از مقدار درصد حجمی هر لکه بصورت نرمالیزه استفاده شد. داده های حاصل سپس در نرم افزار اکسل تجزیه شدند. از آزمون آماری تی استیودنت برای شناسایی تغییرات بیان بین لکه ها در تیمار های شاهد و تنش دیده در سطح آماری ۵ درصد استفاده شد. نتایج حاصل از آزمون تی استیودنت نشان داد که تعداد ۶۲ لکه پروتئینی در مقایسه تیمار شوری با شاهد تغییر ۱/۵ برابری در بیان نشان می دهند. از بین این تعداد ۴۶ لکه پروتئینی افزایش بیان و تعداد ۱۶ کاهش بیان نشان دادند.

### شناسایی پروتئین های پاسخ دهنده به تنش شوری

از بین لکه های پروتئینی که تغییر ۱/۵ برابری در بیان داشتند تعداد ۲۰ لکه با استفاده از طیف سنج جرمی MALDI-TOF-TOF شناسایی شدند. پروتئین های شناسایی شده در جدول ۱ آورده شده اند. در بین تمام پروتئین های شناسایی شده همبستگی خوبی بین مقادیر نقطه ایزوالکتریک (PI) و وزن مولکولی (MW) تئوریک و آزمایشی دیده می شود. برای غالب پروتئین های شناسایی شده hit های اول و با بالاترین میزان اسکور در نظر گرفته شدند.

در بین لکه های شناسایی شده، ۳ لکه (لکه شماره ۱، ۲ و ۳) به عنوان زیرواحدهای روبیسکو شناسایی شدند (جدول ۱). آنزیم روبیسکو یکی از پروتئین های چند زیر واحدی (۸ زیر واحد کوچک و ۸ زیر واحد بزرگ) کلیدی مسیر تثبیت کربن است که اولین واکنش چرخه کالوین را کاتالیز می کند. زیر واحدهای کوچک این آنزیم توسط ژنوم کلروپلاست کد می شوند. روبیسکو یک منبع اصلی

شد. مراحل رنگ آمیزی طبق پروتوکل Bloom et al. (1987) انجام شد. پس از رنگ آمیزی، ژل ها با استفاده از دنسیتومتر GS800 ساخت شرکت بیورد اسکن و به فرمت تیف ذخیره شدند. برای بررسی کمی و کیفی لکه ها در تیمارهای مختلف از نرم افزار Melanie 7 استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا لکه ها شناسایی شدند و سپس لکه های متناظر در ژل های تیمارهای مختلف را علامت زده و پس از استخراج مقدار کمی درصد حجمی (Vol%) لکه ها داده ها مورد آنالیز آماری t استیودنت قرار گرفتند. لکه هایی که مقادیر کمی بیان آنها در سطح آماری ۵ درصد تفاوت معنی دار داشتند (به میزان بیش از ۱/۵ برابر افزایش یا کاهش بیان) به عنوان لکه های کانیدیدا شناخته شدند.

### هضم پروتئین ها در ژل و آنالیز با طیف سنج جرمی

لکه هایی که در سطح آماری ۰/۰۵ تفاوت معنی دار نشان دادند و تغییر بیان ۱/۵ برابری داشتند به منظور شناسایی بوسیله طیف سنج جرمی از ژل های رنگ آمیزی شده با کوماسی بلو جدا شدند. لکه های پروتئینی جدا شده سه بار با آب خالص شستشو داده شدند، سپس با محلول ۵۰ میلی مولار  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  در ۵۰٪ استونیتریل رنگ زدایی شدند. پس از این مرحله با استفاده از محلول ۱۰ میلی مولار DTT در ۵۰٪ استونیتریل احیاء و با محلول ۴۰ میلی مولار یدواستامید در ۵۰٪ استونیتریل آلکیله شدند. در نهایت دو بار با محلول ۱۰۰٪ استونیتریل خشک شدند. هضم آنزیمی در طول شب و در دمای ۳۷ درجه با استفاده از آنزیم تریپسین انجام گرفت. پپتیدها سپس با استفاده از محلول ۰/۱٪ TFA در ۵۰٪ استونیتریل استخراج شدند. آنالیز طیف سنج جرمی با استفاده از MALDI-TOF-TOF در دانشگاه یورک انگلستان انجام شد. داده های حاصل از طیف سنج جرمی با استفاده از موتور جستجوگر MASCOT و بانک اطلاعاتی NCBIInr مورد آنالیز قرار گرفتند.

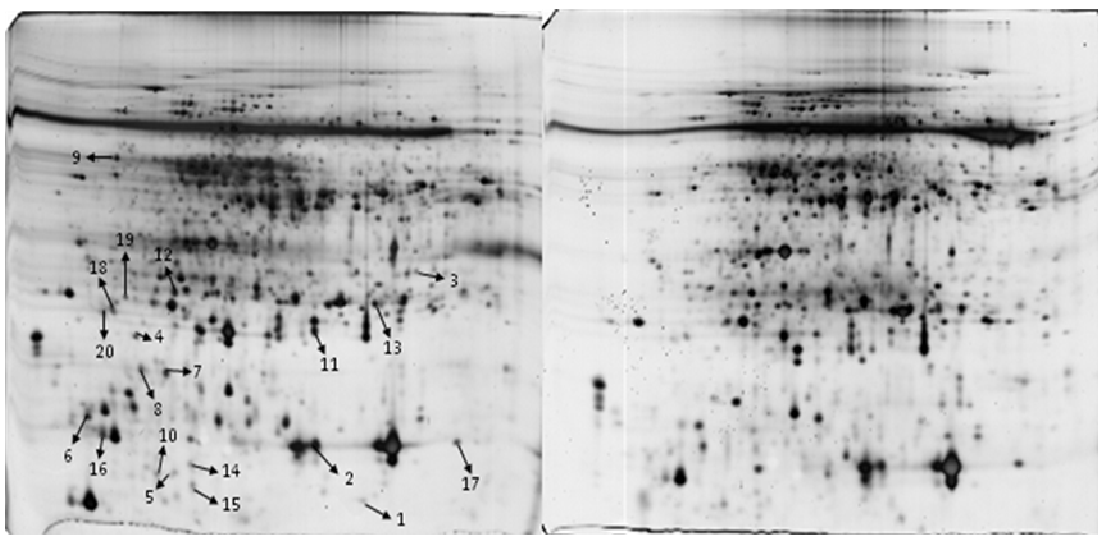
### نتایج و بحث

#### بررسی پروتئوم برگ

به منظور بررسی اثر تنش شوری بر روی

افزایش بیان روبیسکو را به ترتیب در برنج و چغندر قند در اثر تنش خشکی گزارش کردند. بنظر می‌رسد که گیاه بواسطه ناپداری بودن زیر واحد های روبیسکو بیان آنها را تحت تنش افزایش داده است.

پروتئین در برگها و در نتیجه یک منبع امینواسید برای اجزای زایشی می‌باشد. همان طور که مشاهده می‌شود بیان این پروتئین‌ها در تنش شوری به میزان زیادی افزایش نشان داد. که این نتایج با یافته‌های Salekdeh et al. (2002) و Hajheidari et al. (2005) مطابقت دارد که



شکل ۱- الگوی پروتئوم برگ‌گی *H. bulbosom* تحت شرایط نرمال (راست) و تنش (چپ)

پروتئین یا تغییرات در پروتئینهای دارای اثر متقابل با OEE 2 می‌باشد.

لکه شماره ۵ به عنوان پروتئین W مرکز واکنش فتوسیستم ۲ شناسایی شد و بیان آن به ترتیب به میزان ۲/۹ برابر تحت تنش افزایش نشان داد (جدول ۱). منع نوری (کاهش در ظرفیت فتوسنتزی القا شده بوسیله نور) ناشی از عدم تعادل بین تخریب و تعمیر فتوسیستم ۲ می‌باشد و معمولاً وقتی گیاه در معرض تنشهایی از قبیل نور زیاد، ترکیب نور و سرما، اشعه ماوراء بنفش و شوری بالا باشد اتفاق می‌افتد (Allakhverdiev & Murata, 2004). چنین تنشهایی با تاثیر بر بازسازی فتوسیستم ۲ موجب منع نوری شده و منجر به خسارت تجمعی در غشاهای فتوسنتزی می‌شود. خسارتهای القاشده بوسیله نور بطور عمده پروتئین D1 در مرکز واکنش و کمپلکس افزایش دهنده اکسیژن در PSII-LHCII تحت تاثیر قرار می‌دهد. Lu et al. (2003) نشان دادند که شوری بالا تاثیری بر راندمان فتوسیستم

لکه شماره ۴ به عنوان Oxygen-evolving enhancer protein شناسایی شد و افزایش ۴ برابری را نشان داد (جدول ۱). در تحقیق مشابهی که توسط Komatsu\_Abbasi and (2004) انجام گرفت مشخص شد بیان OEE2 در ساعات اولیه (۲۴ ساعت پس از اعمال تنش) تنش شوری در برگ برنج افزایش می‌یابد. اما پس از گذشت زمان به تدریج کاهش می‌یابد. پروتئین های OEE شامل سه زیر واحد (OEE1 (33 kDa), OEE2 (23 kDa) و OEE3 (16 kDa) هستند. مشخص شده است که کمپلکس OEE به سهولت تحت تنش شوری از کمپلکس فتوسیستم II در غشاء تیلاکوئید جدا می‌شود. Murota et al. (1994) ضمن بررسی OEE 2 را در مرحله سازگاری با نمک در سلولهای کشت شده سبز تنباکو مشاهده کردند که تجزیه OEE 2 از دیواره تیلاکوئید در سلولهای غیر سازگار با شوری اتفاق می‌افتد. آنها پیشنهاد کردند که ارتباط OEE 2 در سلولهای سازگار ناشی از تغییرات در

رفع می کند. پروتئین های صدمه دیده نیز توسط مکانیسم های دخیل در تجزیه پروتئین در سلول تجزیه شده و دوباره به چرخه تولید پروتئین برگردانده می شوند.

لکه شماره ۱۰ به عنوان پروفیلین شناسایی شد (جدول ۱) و تحت تنش شوری افزایش ۲/۸ برابری را نشان داد. پروفیلین یک پروتئین متصل شونده به اکتین است و در تغییر و تبدیل اکتین در ساختار سیتوپلاسمی نقش دارد. پروفیلین در کلیه یوکاریوتها و اکثر سلولها یافت شده است. اهمیت پروفیلین در کنترل رشد میکروفیلانتهای اکتین می باشد؛ که یک فرایند اصلی در تحرک سلولی و تغییرات شکل سلول است. پروفیلین به مونومر اکتین متصل شده و پلیمریزه شدن و دپلیمریزه شدن فیلامنهای اکتین را موجب می شود. پلیمریزه شدن فیلامنهای اکتین تغییرات اسکلت سیتوپلاسمی را موجب می شوند و دپلیمریزه شدن آنها باعث تحریک سلولهای گیاهی برای پاسخ به سیگنالهای داخلی و خارجی می شود. بیان پروفیلین برای طویل شدن سلول و تغییر شکل آن در اراییدوپسیس مهم است (Ramachandran et al. 2000). Askari et al.

(2006) افزایش بیان پروفیلین را در برگهای *Suaeda aegyptiaca* تحت تنش شوری مشاهده کردند. افزایش بیان پروفیلین می تواند عامل تغییرات سلولی برای نگهداری میزان نمک و کاهش سمیت آن در سلولها باشد.

لکه شماره ۱۱ به عنوان پروتئین شبه جرمین شناسایی شد (جدول ۱). این پروتئین تحت تنش شوری افزایش ۳/۷ برابری را نشان داده است. جرمین ها در طی جوانه زنی دانه در گیاهچه های جوان گندم و جو و همچنین در برگهای بالغ در واکنش به حمله پاتوزن بیان می شوند. پروتئین های شبه جرمین به عنوان پروتئین های مرتبط با دیواره سلولی توصیف شده اند و بیان آنها در تنش اسمزی در ریشه افزایش نشان داده است. برخی از اعضای خانواده شبه جرمین فعالیت شبه اگسالات اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نشان می دهند. تولید  $H_2O_2$  در نتیجه فعالیت سوپراکسید دیسموتازی حاکی از نقش این دسته از پروتئین ها در استحکام دیواره سلولی و مقاومت در برابر حمله پاتوزن ها و تنش های غیر زیستی است (Lane, 1994). تجمع

II گیاه هالوفیت *Artimisia anethifolia* ندارد ولی Zeng & Vonshak (1998) نشان دادند که تنش شوری موجب کاهش فعالیت فتوسیستم II در *Spirulina platensis* می شود. نتایج نشاندهنده افزایش فعالیت فتوسیستم II می باشد که با نتایج (1998) Zeng & Vonshak و Lu et al. (2003) مطابقت دارد.

در بین پروتئین های شناسایی شده ۴ پروتئین جزء پروتئینهای ریبوزومی بودند (لکه های شماره ۶، ۷، ۸ و ۹) (جدول ۱). که دو لکه دارای gi مشابه هستند. لکه های ۷ و ۸ هر دو یک پروتئین هستند (پروتئین ریبوزومی L12) که بواسطه تغییر اندک در میزان pI در دو موقعیت افقی در ژل ظاهر شده اند. این تغییر در موقعیت افقی ممکن است ناشی از تغییر بار خالص پروتئین بواسطه اضافه شدن گروه های باردار یا حذف بار صورت گرفته باشد. بیان کلیه پروتئین های ریبوزومی در شرایط تنش افزایش یافته است.

پروتئینهای ریبوزومی بخش عمده ای از پروتئین های سلولی یوکاریوتها و پروکاریوتها (بیش از ۱۵ درصد) را تشکیل می دهد (Mager, 1988). قبلا تصور می شد که ژن های کد کننده پروتئین های ریبوزومی جزء ژن های خانه دار<sup>۱</sup> می باشند ولی تحقیقات بعدی نشان داد که این ژن ها بطور نموی و محیطی در گیاهان بیان می شوند. افزایش در میزان بیان پروتئین های ریبوزومی را می توان افزایش در تعداد و میزان ریبوزوم های سلولی دانست که این افزایش بیانگر یک فرایند عمومی برای مقابله با شوری است. یکی از اثرات اصلی تنش شوری ایجاد مسمومیت یونی است. افزایش غلظت یونهای سدیم و کلر در سلول باعث می گردد تا پروتئینهای داخل سلول نیز دچار تغییر در ساختار و شکل فضایی شوند و یا در حین تا شدن<sup>۲</sup> عمل تا خوردن پروتئین به طور صحیح صورت نگیرد. در اینحالت پروتئین تولید شده کارایی خود را از دست خواهد داد و سلول با افزایش تعداد پروتئین های تولیدی خود نیاز خود را به پروتئین ها و آنزیمهای فعال رفع می کند.

1. House keeping

2. Folding

پروتئین‌های مشابه جرمین در ریشه جو تحت تنش شوری و همچنین افزایش فعالیت اکسالات اکسیداز در ریشه جو تحت تاثیر آلومینیوم مشخص شده است (Hurkman et al., 1994; Tamás et al., 2004). برخی از پروتئین‌های شبه جرمین دارای فعالیت مشابه سوپراکسید دسموتاز (SOD) هستند (Gucciardo et al., 2006). افزایش بیان پروتئین شبه جرمین را می‌توان عاملی برای تولید پروکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) (با توجه به فعالیت شبه اکسالات اکسیدازی یا سوپراکسید دسموتازی) دانست که می‌تواند به عنوان مولکول سیگنالینگ نقش ایفا کند.

لکه شماره ۱۲ به عنوان پروکسی ردوکسین شناسایی شد (جدول ۱) و بیان آن به میزان ۲/۸ برابر تحت تنش افزایش داشته است. پروکسی ردوکسین‌ها در همه موجودات زنده شناسایی شده‌اند. این آنزیم یکی از آنزیم‌های دخیل در سم زدایی  $H_2O_2$  از سلول است (Chae et al., 1993). این آنزیم علاوه بر سم زدایی  $H_2O_2$  در خنثی کردن پروکسید نیتروژن فعال نیز نقش ایفا می‌کند (Bryk et al., 2000). Wang et al. (2008) افزایش بیان پروکسی ردوکسین را در *Physcomitrella patens* در تنش شوری بالا مشاهده کردند. افزایش در بیان این پروتئین‌ها جزوی از پاسخ عمومی گیاه به شرایط تنش است که برای حذف سوپراکسید، و سایر رادیکال‌های آزاد در گیاه به کار گرفته می‌شود.

لکه های شماره ۱۴ و ۱۵ به عنوان ایزوفرم‌های ساختار کریستالی تیوردوکسین h شناسایی شدند (جدول ۱) و تحت تنش شوری به ترتیب افزایش ۲/۴ و ۲/۷ برابری را نشان دادند. تیوردوکسین‌ها پروتئین‌های کوچکی هستند که در تنظیم کاهش-اکسایش سلولی نقش دارند. این پروتئین‌ها در کلیه موجودات یوکاریوت و پروکاریوت یافت شده و در موجودات فتوسنتز کننده دارای تنوع بالایی می‌باشند (Buchanan et al., 2002). تیوردوکسین کاهش یافته می‌تواند به عنوان دهنده هیدروژن و یا یک فاکتور تنظیمی برای پروتئین‌های مختلفی مانند آنزیم‌های متابولیکی، پروتئین‌های ردوکس<sup>۳</sup>، فاکتورهای رونویسی و MAP کینازها نقش ایفا کند. با توجه به افزایش بیان تیوردوکسین می‌توان گفت که این گیاهان با افزایش بیان این پروتئین به عنوان عاملی برای مقاومت به شوری استفاده می‌کنند.

لکه شماره ۱۶ از زیر واحدهای کمپلکس پروتئینی گلیسین دکربوکسیلاز می‌باشد (جدول ۱) که افزایش ۱/۸ برابری در شرایط تنش شوری نشان می‌دهد. در اثر تنش شوری یکی از رخ داده‌های زود هنگام بسته شدن روزنه‌ها است. این عمل باعث می‌شود با وجود اینکه

پروتئین‌های مشابه جرمین در ریشه جو تحت تنش شوری و همچنین افزایش فعالیت اکسالات اکسیداز در ریشه جو تحت تاثیر آلومینیوم مشخص شده است (Hurkman et al., 1994; Tamás et al., 2004). برخی از پروتئین‌های شبه جرمین دارای فعالیت مشابه سوپراکسید دسموتاز (SOD) هستند (Gucciardo et al., 2006). افزایش بیان پروتئین شبه جرمین را می‌توان عاملی برای تولید پروکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) (با توجه به فعالیت شبه اکسالات اکسیدازی یا سوپراکسید دسموتازی) دانست که می‌تواند به عنوان مولکول سیگنالینگ نقش ایفا کند.

لکه شماره ۱۲ به عنوان پروکسی ردوکسین شناسایی شد (جدول ۱) و بیان آن به میزان ۲/۸ برابر تحت تنش افزایش داشته است. پروکسی ردوکسین‌ها در همه موجودات زنده شناسایی شده‌اند. این آنزیم یکی از آنزیم‌های دخیل در سم زدایی  $H_2O_2$  از سلول است (Chae et al., 1993). این آنزیم علاوه بر سم زدایی  $H_2O_2$  در خنثی کردن پروکسید نیتروژن فعال نیز نقش ایفا می‌کند (Bryk et al., 2000). Wang et al. (2008) افزایش بیان پروکسی ردوکسین را در *Physcomitrella patens* در تنش شوری بالا مشاهده کردند. افزایش در بیان این پروتئین‌ها جزوی از پاسخ عمومی گیاه به شرایط تنش است که برای حذف سوپراکسید، و سایر رادیکال‌های آزاد در گیاه به کار گرفته می‌شود.

لکه شماره ۱۳ به عنوان دهیدروآسکوربات ردوکتاز شناسایی شد (جدول ۱) و بیان آن به میزان ۲/۱ برابر تحت تنش افزایش داشته است. اسکوربیک اسید آنتی‌اکسیدان مهمی است که در گیاهان نقش ایفا می‌کند این ماده در سم زدایی گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> مانند  $O_2$  و  $H_2O_2$  که در چرخه‌های متابولیکی مانند فتوسنتز و تنفس هوازی تولید می‌شود نقش دارد. این آنزیم در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون نقش ایفا می‌کند. این چرخه در کلروپلاست گیاهان وجود دارد. در مرکز واکنش فتوسیستم ۱ در تلاکوئیدها این چرخه عامل اصلی حذف و تجزیه  $H_2O_2$  می‌باشد. پروکسیداسیون آسکوربات بوسیله آسکوربات پروکسیداز،

2. Glutathione-ascorbate cycle  
3. Redox proteins

1. ROS

به ترتیب  $Rfc_1$ ،  $Rfc_2$ ،  $Rfc_3$ ،  $Rfc_4$  و  $Rfc_5$  هستند (Fairman and Stillman, 1988). در حضور ATP، RFC انتهای  $3'$  پرایمیری که توسط آنزیم پرایماز آلفا سنتز شده است را شناسایی کرده و به آن متصل می شود. با تجزیه ATP، کمپلکس عمل اتصال PCNA را به DNA الگو تسهیل می کند در ادامه نیز DNA پلیمراز ۴ و یا ۵ عمل همانند سازی را شروع می کند (Stillman, 1996). این پروتئین زیرواحد شماره ۵ فاکتور همانند سازی C است که در عمل همانند سازی DNA قبل از ورود به تقسیم سلولی نقش ایفا می کند. با توجه به افزایش قابل توجه این آنزیم در شرایط تنش می توان گفت که گیاه تحت شرایط تنش اقدام به افزایش تقسیمات سلولی نموده است که این امر علت از بین رفتن سلولهای آسیب دیده در اثر تنش است.

لکه شماره ۱۹ به عنوان پروتئین پروتئین تومور کنترل شده در مرحله ترجمه شناسایی شد (جدول ۱) و بیان آن به میزان ۴ برابر تحت تنش افزایش داشته است. این پروتئین در کلیه یوکاریوتها موجود بوده و تاکنون در بیش از ۵۰۰ نوع بافت و سلول شناسایی شده است و میزان بیان آن بستگی به نوع بافت و سلول و مرحله رشد دارد. در بسیاری از تحقیقات مشخص شده که میزان آن در پاسخ به بسیاری از سیگنالهای خارج سلولی و تنشهای مختلف مانند گرما و فلزات سنگین افزایش می یابد (Thiele et al., 2000). این پروتئین یکی از پروتئین های متصل شونده به کلسیم است اما به هیچ یک از خانواده پروتئین های متصل شونده به کلسیم تعلق ندارد. افزایش بیان این پروتئین تحت تنش شوری در گیاهان برنج و آرابیدوپسیس گزارش شده است. این پروتئین در انتقال سیگنال در تنش شوری از طریق اتصال به کلسیم نقش دارد اما چگونگی عمل آن هنوز مشخص نیست (Gong et al., 2001).

لکه شماره ۲۰ در هوردوم بولبوزوم به عنوان ساکارز سنتتاز شناسایی شد (جدول ۱) و بیان آن به میزان ۵/۳ برابر تحت تنش افزایش داشته است. این آنزیم از خانواده گلیکو ترنسفرازها است. آنزیمهای مربوط به متابولیسم ساکارز (مانند ساکارز سنتتاز، ساکارز فسفات سنتتاز و ساکارز فسفاتاز) در گیاهان، سیانوباکتریها و پروتوباکتریها وجود دارند. ساخته شدن ساکارز بعنوان

واکنش های وابسته به نور فتوسنتز انجام می شود، ولی واکنش های تثبیت کربن به دلیل عدم حضور دی اکسید کربن انجام نگیرد. در چرخه انتقال الکترون در کلروپلاست NADPH تولید می شود که می بایستی در چرخه کلونین مصرف گردد تا کمبود ناقل  $NADP^+$  رخ ندهد. در غیر این حالت، اکسیژن به جای  $NADP^+$  به عنوان گیرنده الکترون عمل کرده و باعث تولید آنیون سوپراکسید ( $O_2^-$ ) می گردد. پس در واقع گیاه با به کار انداختن چرخه گلی اکسالات مسیری برای مصرف NADPH به وجود می آورد تا از تولید سوپر اکسید جلوگیری شود. افزایش بیان آنزیم گلاسیسین دکربوکسیلاز نشانه فعال شدن چرخه گلی اکسالات می باشد که چنین نتایجی توسط Kim et al. (2005) بر روی برگ برنج و مراحل اولیه اعمال تنش شوری گزارش شده است.

لکه شماره ۱۷ به عنوان نوکلئوزید دی فسفات کیناز شناسایی شد و بیان آن به میزان ۲ برابر تحت تنش افزایش داشته است (جدول ۱). نقش اصلی آن سنتز نوکلئوزید تری فسفات های GTP، UTP، CTP و TTP با استفاده از ATP است. افزایش بیان این پروتئین در پاسخ به تنش های مختلف مانند خشکی (Hajheidari et al., 2002; Salekdeh et al., 2005; et al., 2002) و شوری (Kim et al., 2006; Parker et al., 2005; et al., 2006) گزارش شده است. Dadashi Dooki et al. (2006) افزایش بیان این پروتئین را تحت تنش شوری در پانیکول برنج گزارش کردند. افزایش بیان این پروتئین در آرابیدوپسیس منجر به کاهش گونه های فعال اکسیژن (ROS) و بهبود مقاومت گیاه به انواعی از تنش های غیر زنده شده است (Moon et al., 2003). افزایش بیان این پروتئین بیانگر استفاده از آن برای نگهداری میزان نوکلئوزید تری فسفات ها در سلول در شرایط تنش است که این نتایج با نتایج Kim et al. (2006) Dadashi Dooki et al. (2006) و Parker et al. (2005) مطابقت دارد.

لکه شماره ۱۸ به عنوان فاکتور همانند سازی C شناسایی شد و بیان آن به میزان ۳/۹ برابر تحت تنش افزایش داشته است (جدول ۱). فاکتور همانند سازی C یک کمپلکس متشکل از ۵ زیر واحد است که به DNA پلیمراز ۴ و ۵ کمک می کند. زیرواحدهای این کمپلکس



اسمزی قرار می گیرد سلول می تواند قندهای بزرگتری همانند نشاسته را شکسته و قند کوچکتر یعنی گلوکز را بوجود آورد. از طرفی تجمع گلوکز می تواند مانع شکسته شدن نشاسته شود سپس تبدیل آن به مولکول دیگر، یعنی دی ساکارید ساکارز، می تواند از انباشتگی آن جلوگیری کند به این ترتیب این آنزیم در حفظ تعادل اسمزی به سلول کمک می کند.

یک پاسخ گیاهی در برابر تنشهای غیرزنده مانند تنش شوری، و اسمزی مشاهده می شود. سنتز این ماده به حفظ ساختار و عملکرد غشاهای زیستی کمک می کند (Reed et al., 1986). تجمع ساکارز در واکنش به دمای پایین و خشکی گزارش شده است (Strand et al., 2003; Yang et al., 2001). یکی از نقشهای این آنزیم کمک به حفظ تعادل اسمزی در سلول تحت شرایط تنش است در واقع هنگامی که تحت شرایط تنش

جدول ۱- پروتئین های شناسایی شده بوسیله MALDI-TOF-TOF در H.balbosom

Spot ID	The pI/MW(kDa)	Exp pI/MW(kDa)	MS Score	% Coverage	Identity	gi   Number
1	5.8/13.3	5.9/10	163	24	Ribulose biphosphate carboxylase small chain	gi 132107
2	8.92/17.3	5.7/14	361	56	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subuni	gi 4038699
3	6.5/44.5	6.2/30	155	21	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subuni	gi 114448992
4	4.8/18.9	4.7/20	276	44	oxygen-evolving enhancer protein 1 [Oryza sativa (indica cul	gi 149392661
5	10.3/19.8	4.9/11	108	10	photosystem II reaction center W protein [Zea mays]	gi 195611266
6	4.52/11.2	4.4/16	80	10	ribosomal protein P1 [Triticum aestivum]	gi 57471718
7	5.36/16.3	4.9/17	324	44	ribosomal protein L12 homolog [Oryza sativa]	gi 2331135
8	5.4/16.3	4.7/19	392	31	ribosomal protein L12 homolog [Oryza sativa]	gi 2331135
9	5.0/23.2	4.6/46	244	33	30S ribosomal protein S1 [Oryza sativa (indica cultivar-grou	gi 149391139
10	5.0/14.5	4.9/12	216	24	Profilin-1	gi 1709779
11	6.01/22.0	5.6/22	94	27	germin-like protein 1 [Oryza sativa]	gi 4239821
12	5.5/23.4	4.9/25	74	14	2-Cys peroxiredoxin BAS1, chloroplastic; AltNa	gi 2499477
13	5.9/23.5	6.1/26	512	49	dehydroascorbate reductase [Triticum aestivum]	gi 28192421
14	5.1/12.9	5.0/12	216	44	Chain A, Crystal Structure Of Barley Thioredoxin H Isoform 1	gi 186972814
15	5.1/13.3	5.0/10	89	16	Chain A, Crystal Structure Of Barley Thioredoxin H Isoform 2	gi 186972808
16	4.99/21.2	4.5/13	257	28	putative glycine decarboxylase subunit [Triticum aestivum]	gi 22204118
17	6.3/14.5	6.5/14	281	35	nucleoside diphosphate kinase [Lolium perenne]	gi 9652119
18	8.9/38.9	4.5/23	61	35	rfc5 replication factor C subunit 5 (36kDa), probable (IC) [	gi 119358795
19	4.53/18.9	4.7/25	120	27	Translationally-controlled tumor protein homolog	gi 20140865
20	6.2/93.1	4.5/22	57	15	sucrose synthase type 2 [Triticum aestivum]	gi 3393044

نشان می دهد. نتایج ما حاکی از آن است که فرایندهای مختلفی از تنش شوری متاثر می شوند. همه پروتئین های شناسایی شده تحت تنش شوری افزایش بیان نشان می دهند، که بیانگر تلاش گیاه برای حفظ حالت تعادل فرایند های زیستی که از تنش متاثر می شوند است. ۲۰ پروتئین پاسخ دهنده به تنش شوری شناسایی شد که در طیف وسیعی از فرایندهای زیستی نقش دارند. پاسخ به تنش شوری تعدادی از این پروتئین ها از قبل مشخص شده بود. تعدادی نیز پروتئین های پاسخ دهنده به شوری جدید بودند. پروتئین های بررسی شده در این تحقیق بخش کوچکی از کل پروتئوم گیاه را تشکیل می دهند بنابراین شناسایی کل پروتئین های

## نتیجه گیری

حجم داده های حاصل از مطالعات الگوی پروتئوم با استفاده از ژل الکتروفورز دوبعدی به شدت در حال افزایش است. از این رو تلاش زیادی برای تفسیر و بکارگیری این داده ها در بهبود شناخت ما از فرایندهای زیستی و پاسخ گیاهان به تنش های زیستی و غیر زیستی ضروری است. به منظور درک مکانیسم مقاومت گیاه به تنش شوری و شناسایی پروتئین های پاسخ دهنده به تنش شوری در این مطالعه پروتئوم برگگی گیاهان تنش دیده و کنترل مورد مقایسه قرار گرفت. بررسی الگوی پروتئوم تحت تنش شوری نشان می دهد بیان دسته خاصی از پروتئین ها در پاسخ به تنش تغییر

پاسخ دهنده به تنش شوری مستلزم مطالعات بیشتر است.

## REFERENCES

1. Abbasi, F. M., Komatsu, S. (2004). A proteomic approach to analyze salt-responsive proteins in rice leaf sheath. *Proteomics*. 4(7),2072-81.
2. Ahmad, P., John R., Sarwat, M., and Umar, S. (2008). Responses of proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two varieties of *Pisum sativum* L. under salt stress. *International Journal of Plant Production*. 2(4), 353-366.
3. Allakhverdiev, S.I., and Murata, N. (2004). Environmental stress inhibits the synthesis de novo of D1 protein in the photodamage-repair cycle of photosystem II in *Synechocystis sp.* PCC 6803, *Biochim. Biophys. Acta* 1657, 23–32.
4. Askari, H., Edqvist, J., Hajheidari, M., Kafi, M., Hosseini Salekdeh, G. (2006). Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves. *Proteomics*. 6, 2542–2554.
5. Baum, M., Grando, S. & Ceccarelli, S. (2004). Localiz ation of quantitative trait loci for dryland characters in barley by linkage mapping. *Challenges and Strategies for Dryland Agriculture*, vol. 3 2. CSSA Special Publication, pp. 191–202.
6. Bloom, H., Beier, H. & Gross, H. S. (1987). Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis* 8, 93-99.
7. Bode, A. M., Cunningham, L.& Rose, R. C. (1990). Spontaneous decay of oxidized ascorbic acid (dehydro-L-ascorbic acid) evaluated by high-pressure liquid chromatography. *Clin Chem*. 36:1807–9.
8. Bradford, M. M. (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.
9. Bryk, R., Griffin, P., Nathan, C. (2000). Peroxynitrite reductase activity of bacterial peroxiredoxins. *Nature*. 14;407(6801),211–215.
10. Buchanan, B. B., Schürmann, P., Wolosiuk, R. A, Jacquot, J. P. (2002). The ferredoxin/thioredoxin system: from discovery to molecular structures and beyond. *Photosynth Res* 73, 215-222
11. Chae, H. Z., Kim, I. H., Kim, K.& Rhee, S. G. (1993). Cloning, sequencing, and mutation of thiol-specific antioxidant gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*. 5,16815–16821.
12. Dadashi Dooki, A., Mayer-Posner, F. J., Askari, A., Zaiee, A. A., & Hosseini Salekdeh. G. (2006). Proteomic responses of rice young panicles to salinity. *Proteomics* 6, 6498–6507.
13. Damerval, C., de Vienne, D., Zivy, M & Thiellement, H. (1986). Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*,7, 52–54.
14. Dani, V., William J. S., Duranti, M., & Croy, R. D. (2005). Changes in the tobacco leaf apoplast proteome in response to salt stress. *Proteomics*, 5, 737–745.
15. Das, S., Bose, A., & Ghosh, B. (1995). Effect of salt stress on polyamine metabolism in *Brassica campestris*. *Phytochemistry* 39, 283–285.
16. Eivazi, A., Abdolahi, Sh., Hoseini Salekdeh, Gh., Majidi, A., Mohammadi, S. A., & Piraieshfar, B. (2005). Effect of drought and salinity stresses on quality related traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Iranian Journal of Agricultural science*, 7(3), 252-267. (In farsi)
17. Fairman, M. P., & Stillman, B., (1988). Cellular factors required for multiple stages of SV40 DNA replication in vitro. *EMBO J*. 7(4),1211–1218.
18. Gong, Z., Koiwa, H., Cushman, M. A., Ray, A., Bufford, D., Kore-eda, S., Matsumoto, T. K., Zhu, J., Cushman, J. C., Bressan, R. A., & Hasegawa, P. M. (2001). Genes that are uniquely stress regulated in salt overly sensitive (sos) mutants. *Plant Physiol.*. 126(1),363-75.
19. Gucciardo, S., Wisniewski, J., Brewin, N., & Bornemann, S. (2006). A germin-like protein with superoxide dismutase activity in pea nodules with high protein sequence identity to a putative rhicadhesin receptor. *Journal of Experimental Botany*. 1-11
20. Hajheidari, M., Abdollahian-Noghabi, M., Askari, H., Heidari, M., Sadeghian, S. Y., Ober, E. S., & Salekdeh, G. H. (2005). Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics*, 5(4),950-60.
21. Hurkman, W. J., Lane, B. G., & Tanaka, C. K. (1994). Nucleotide sequence of a transcript encoding a germin-like protein that is present in salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. *Plant Physiology* 104, 803–804.
22. Jiang, Y., Yang, B., Harris, N., Deyholos, S., & Michael, K. (2007). Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots. *J. Exp. Bot.* 58, 3591–3607.
23. Kawasaki, S., Borchert, C., Deyholos, M., & wang, H. (2001). Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell*, 13, 889–905.

24. Kim, D. W., Rakwal, R., Agrawal, G. K., Jung, Y. H., Shibato, J., Jwa, N. S., Iwahashi, Y., Iwahashi, H., Kim, D. H., Shim, I. S., & Usui, K. (2005). A hydroponic rice seedling culture model system for investigating proteome of salt stress in rice leaf. *Electrophoresis*. 26(23),4521-39.
25. Lane, B. G. (1994). Oxalate, germin, and the extracellular matrix of higher plants. *FASEB J*, 8, 294-301.
26. Lu, C., Jiang, G., Wang, B., & Kuang, T. (2003). Photosystem II photochemistry and photosynthetic pigment composition in salt-adapted halophyte *Artimisia anethifolia* grown under outdoor conditions. *J. Plant Physiol.* 160, 403–408
27. Mager, W. H. (1988). Control of ribosomal protein gene expression, *Biochim. Biophys. Acta* 949, 1–15.
28. Moon, H., Lee, B., Choi, G., Shin, D., Prasad, D. T., Lee, O., Kwak, S. S., Kim, D. H., Nam, J., Bahk, J., Hong, J. C., Lee, S. Y., Cho, M. J., Lim, C. O., & Yun, D. J. (2003). NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *Proceedings of the Academy of National Sciences of the United States of America* 100,358-363.
29. Motoaki Seki, M., Narusaka, M., & Junko Ishida, J., (2002). Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal* 31(3), 279-292.
30. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plants Cell Environ.* 25, 239–250.
31. Murota, K. I., Ohshita, Y., Watanabe, A., Aso, S., Sato, F. & Yamada, Y. (1994). Changes related to salt tolerance in thylakoid membranes of photoautotrophically cultured green tobacco cells. *Plant Cell Physiol.* 35, 107–113.
32. Nevo, E. & Chen G. 2010. Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement. *Plant Cell and Environment*, 33, 670–685.
33. Nevo, E., Krugman, T., & Beiles, A. (1993). Genetic resources for salt tolerance in the wild progenitors of wheat (*Triticum dicoccoides*) and barley (*Hordeum spontaneum*) in Israel. *Plant Breed* 110, 338–341.
34. Parker, R., Flowers, T. J., Moore, A. L., & Harpham, N. V. (2006). An accurate and reproducible method for proteome profiling of the effects of salt stress in the rice leaf lamina. *J Exp Bot.* 57(5),1109-18.
35. Ramachandran, S., Christensen, H. E., Ishimaru, Y., Dong, C. H., Ming. W., Cleary A & Chua N. (2000). Profilin plays a role in cell elongation, cell shape maintenance, and flowering in arabidopsis. *Plant Physiol.* 124, 1637–1647.
36. Reed, R. H., Borowitzka, L. J., Mackay, M. A., Chudek, J. A., & Foster, R., (1986) Organic solute accumulation in osmotically stressed cyanobacteria. *FEMS Microbiol Rev* 39: 51-56.
37. Salekdeh, G. H., Siopongco, J., Wade, L. J., Ghareyazie, B., & Bennett, J. (2002). Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery. *Proteomics*. 2(9),1131-45.
38. Shavrukov, Y., Gupta, N., Miyazaki, J., Baho, M., Chalmers, K., Tester, M., Langridge, P., & Collins, N. (2010). HvNax3—a locus controlling shoot sodium exclusion derived from wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*). *Funct Integr Genomics*10,277-291.
39. Stillman, B. (1996). In DePamphilis, M. L. (ed), *DNA Replication in Eukaryotic cells*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. Pp. 435-460.
40. Strand, A., Foyer, C. H., Gustaffson, P., Garderstrom, P., Hurry, V. (2003). Altering flux through the sucrose biosynthesis pathway in transgenic *Arabidopsis thaliana* modifies photosynthetic acclimation at lower temperatures and the development of freezing tolerance. *Plant Cell Environ* 26, 523-535.
41. Tamás, L., Šimonovičová, M., Huttová, J., & Mistrík, I. (2004). Elevated oxalate oxidase activity is correlated with Al-induced plasma membrane injury and root growth inhibition in young barley roots. *Acta Physiol. Plant*, 26, 85–93.
42. Thiele, H., Berger, M., Skalweit, A., & Thiele, B. J. (2000). Expression of the gene and processed pseudogenes encoding the human and rabbit translationally controlled tumour protein (TCTP). *European Journal of Biochemistry*, 267, 5473–5481.
43. Urano, J., Nakagawa, T., Maki, Y., Masumura, T., Tanaka, K., & Murata, N., (2000). Molecular cloning and characterization of a rice dehydroascorbate reductase. *FEBS Lett.* 466,107–11.
44. Wang, X., Yang, P., Gao, Q., Liu, X., Kuang, T., Shen, S., & He, Y. (2008). Proteomic analysis of the response to high-salinity stress in *Physcomitrella patens*. *Planta*. 228,167–177
45. Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., & Zhu, Q. (2001). Activities of starch hydrolytic enzymes and sucrose phosphate synthase in the stems of rice subjected to water stress during grain filling. *J Exp Bot* 52, 2169-2179.
46. Zeng, M. T., & Vonshak, A. (1998). Adaptation of spirulina platensis to salinity-stress. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 120, 113–118.

47. Zorb, C., Schmitt, S., Neeb, A., Karl, S., Linder, M., & Schubert, S. (2004). The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. *Plant Sci* 167,91–100