
Derleme / Review

Tuz Stresi Altındaki Bitkilerin Metabolik Yollarındaki Proteom Değişimleri

Mustafa YILDIZ^{*1}, Hakan TERZİ¹, Nermin AKÇALI¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 03200, Afyonkarahisar

Özet

Bitkilerde tuz stresine tolerans transkriptom, proteom ve metabolom kompozisyonundaki değişikliklere eşlik eden gen ekspresyonundaki önemli değişiklikleri kapsamaktadır. Proteinler direkt olarak stres cevaplarında fonksiyon görmektedir. Bu nedenle, proteomik çalışmalar tuz stresine tolerans ve fonksiyonel proteinler arasındaki muhtemel ilişkileri açıklayabilmektedir. Tuz stresine cevapta fonksiyon gören proteinlerin teşhisi tuza toleranslı transgenik bitkilerin geliştirilmesinde önemlidir. Bu derlemede, bitkilerin tuz stresine cevaplarını analiz etmek için yapılan son proteomik çalışmalar, tuz stresine cevapta muhtemel mekanizmalar ve metabolik yollarda fonksiyon gören proteinlerin seviyesindeki değişimler tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bitki, Tuz toleransı, Proteomik.

Proteom Changes in Metabolic Pathways of Plants under Salt Stress

Abstract

Tolerance against salt stress in plants includes substantial changes in gene expression which is accompanied with changes in composition of transcriptome, metabolome and proteome. Proteins are directly involved in plant stress response. Therefore, proteomics studies can explain the possible relationships between salinity tolerance and functional proteins. The identification of the proteins that are involved in responses to salinity stress could lead to the development of transgenic plants that have an enhanced tolerance to salinity. In this review, the recent proteomics studies to the analysis of the responses of plants to salinity stress, the possible mechanisms in response to salinity stress and the changes in the level of proteins involved in metabolic pathways are discussed.

Keywords: Plants, Salinity tolerance, Proteomics

1. Giriş

Toprak tuzluluğu dünyada bitki verimliliğini oldukça sınırlayan önemli abiyotik strestir. Dünyadaki karasal alanların %6'dan fazlasının ve sulanan alanların yaklaşık %20'sinin tuzluluktan etkilendiği tahmin edilmektedir [1]. Tuz stresi giderek artan ciddi bir problem olup; bitkilerin tuza toleransını geliştirmede genetik mühendisliği teknolojileri gibi stratejilerin kullanımı önemlidir. Fizyolojik, moleküler genetik ve fonksiyonel genomik çalışmalarla tuz toleransı hakkında önemli bilgiler sağlanmıştır. Bitkinin tuza cevabı ve adaptasyonunda fonksiyonları olan ozmolit sentezi, iyon kanalları, sinyal faktörleri ve tuza cevap enzimlerine ait proteinleri kodlayan bazı önemli genler klonlanmış ve karakterize edilmiştir [2]. İlaveten, büyük ölçekli transkriptomik çalışmalar, mRNA seviyesinde gen ekspresyonu ile ilgili veriler sağlamıştır [3-5]. Bu veriler, farklı bitkilerde tuza cevap genlerinin evrensel bir görüşünü sunmuştur. Bununla birlikte, post-transkripsiyonal olaylar ve post-translasyonel modifikasyonlar (fosforilasyon ve glikosilasyon gibi), mRNA seviyelerinin genellikle proteinlerin ekspresyon seviyeleri ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Proteinler bitkilerin stres cevabını direkt olarak yansıttığından dolayı bu durum bitki proteomunun önemini ortaya koymaktadır. Enzimlere ilaveten proteinler, transkripsiyon ve translasyon mekanizmalarının bileşenlerini kapsadığından transkript ve protein seviyesinde bitki stres cevabını düzenleyebilir [6]. Böylece, stres

* Sorumlu yazar: mustafa_yildizus@yahoo.com

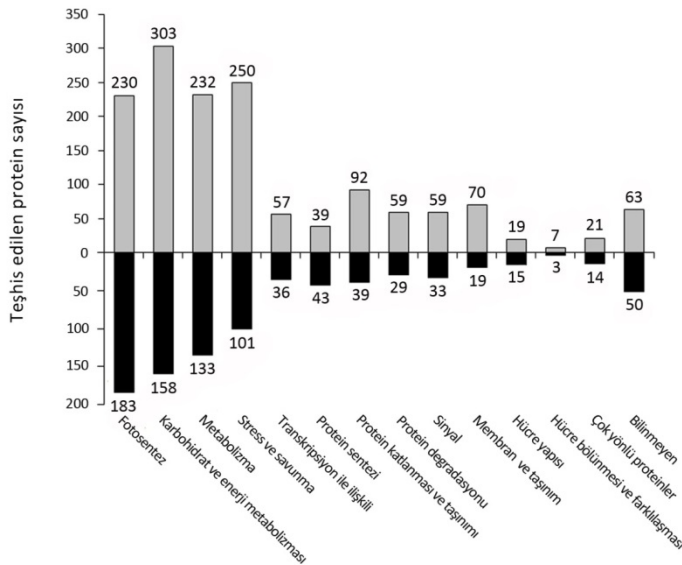
koşullarına bitki cevabının protein seviyesinde incelenmesi, bitki stres toleransının altında yatan fizyolojik mekanizmaları ortaya çıkarmak için oldukça kuvvetli bir araçtır.

Proteomik ve özellikle kantitatif proteomik, tarımsal bitkilerin abiyotik stres toleransını araştırmada güçlü bir tekniktir. Proteomik, stres ve toleransla ilişkili yeni proteinlerin kantitasyonu ve hızlı kimliklendirilmesi potansiyelini sağlamaktadır [7]. Büyük ölçekli kantitatif proteomik teknolojileri, proteomların ekspresyon çalışmalarını kolaylaştırmaktadır. İki-yönlü elektroforez (2-DE) ve DIGE (difference gel electrophoresis) yaklaşımları tuza cevap proteinlerini belirlemek için kullanılmıştır. 2-DE, yüksek çözünürlüklü protein ayırma, özellikle protein izoform analizi için güçlü bir teknolojidir. DIGE ise 2-DE'nin bazı sınırlamalarını (örneğin; verimlilik, tekrar edilebilirlik ve duyarlılık) ortadan kaldırmaktadır. Bazı kütle spektrometresi cihazları (MALDI-TOF/TOF MS ve LC-MS/MS gibi) protein kimliklendirmesi için kullanılmaktadır. Bu teknolojiler temelinde, mevcut proteomik çalışmalar ile bazı proteinlerin tuza tepki olarak sentezlendiği belirlenmiştir [8-10]. Ozmotin [11], reaktif oksijen türleri ile savaşılan enzimler [12] ve patojen ilişkili [13] proteinler gibi stres proteinleri tuza tolerans geliştirmede önemli moleküler markörler olarak kullanılmıştır.

Bu derleme makalede, tuz stresine maruz kalan bitkilerde farklı metabolik olaylarda fonksiyon gören proteinlerde meydana gelen değişimlerin proteomik çalışmalardan elde edilen veriler ışığında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. Bitkilerde Tuz Stresi ve Proteom Değişimleri

Proteomik, farklı proteomların kompozisyonlarının karşılaştırılması temelindedir. Bitki abiyotik stres araştırma alanında, en yaygın durum kontrol ve stres koşulları altındaki uygulama gruplarından izole edilen proteomların karşılaştırılmasıdır [6]. Tuz stresi ile teşvik edilmiş değişimlerle ilgili proteomik çalışmalar çok sayıda olup; esas olarak kontrol ve stres uygulanmış bitkiler arasında protein bolluğundaki kantitatif değişiklikler üzerinde yoğunlaşmıştır [9, 10, 14]. Spesifik olarak karbonhidrat, azot ve özellikle glikolitik ve trikloroasetik asit enzimleri olmak üzere enerji metabolizmasını kapsayan proteinlerin genel bir regülasyonu olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca tuz stresi reaktif oksijen türlerinin (ROT'lar) oluşumu ve birikimini teşvik eden metabolik dengesizliklere neden olabilir [15]; bu nedenle oksidatif zararı azaltmak için fonksiyon gören süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktazı (GR) kapsayan, yani ROT'larla savaşılan proteinlerin yaygın olarak kimliklendirilmesinin şartı olmalıdır bildirilmiştir [16]. Birçok çalışmada, hücre iskeleti kararlılığını sağlayan proteinlerin yanı sıra protein sentezi, işlenmesi, etkinliği ve parçalanmasını kapsayan diğer proteinler kimliklendirilmiştir. Fotosentetik işlevlerle ilgili olarak klorofil biyosentezi ile ilişkili proteinlerin seviyesinde genel bir azalma belirlenirken ışık-bağımlı reaksiyonlarda görev alan proteinlerde bir artma gözlenmiştir. Kimliklendirilmiş bazı proteinler bitkilerde genel strese cevap yolunun belirleyicisidir. Sinyal, trafikleme, transport ve hücre yapısı kategorilerinde tanımlanmış proteinler daha az yaygındır (Şekil 1) [7].



Şekil 1. Farklı fonksiyonel kategorideki tuz-teşvikli ve tuz stresi ile azalmış proteinlerin ekspresyon profilleri. x ekseninin üzerindeki ve altındaki sütunlar sırasıyla tuz-teşvikli ve tuz stresi ile azalmış proteinlerin sayısını gösterir Zhang ve ark. [19]'dan değiştirilerek.

2.1. Fotosentez ve Solunum Metabolizması

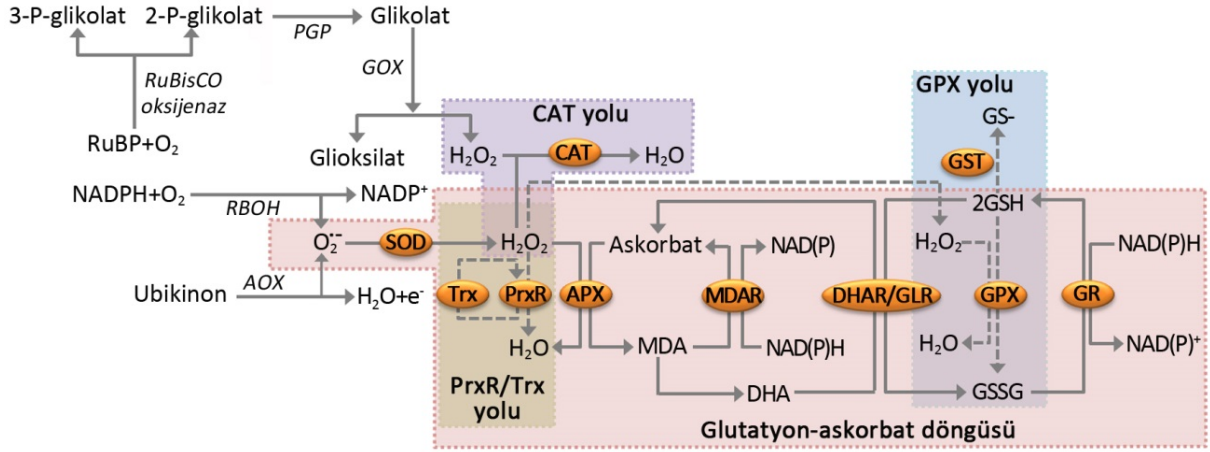
Tuz stresine maruz kalan birçok bitkide sıklıkla fotosentetik kapasitelerindeki azalma ile ilişkili olarak büyümede azalma genel bir olaydır. Tuz stresinde fotosentezdeki azalma esas olarak CO₂ özümlemesinin karbon indirgeme işlevlerini kapsayan kısmi stoma kapanması ve/veya stomatal olmayan sınırlama ile ilişkilidir [17, 18]. Proteomik sonuçlar, tuz stresine cevap ve tuza toleransın altında yatan fotosentetik işlevlerin anlaşılmasını önemli düzeyde arttırmıştır. Bu tuza-cevap proteinleri ışık reaksiyonu, CO₂ özümlemesi ve diğer fotosentezle ilişkili işlevlerin regülasyonunu kapsar [19].

Fotosentezin anahtar bir bileşeni olan fotosistem II (PSII)'nin merkez ünitesi, suyun ışık tarafından moleküler oksijene ayrıştığı, plastokinonun indirgendiği ve bir transmembran proton gradientinin oluştuğu öz kompleksidir [20]. PSII'nin proteinlerindeki artma ya da azalma; fotosentez [21], ışık-zararı [22] ve fotoinhibisyonu [23] etkilemektedir. PSII'nin lümen kenarına bağlı oksijen çıkış kompleksi, PSII'nin verici bölge fotoinhibisyonunda reaksiyon merkez-bağlama proteini D1'in çapraz bağlı ürünlerinin oluşumunu düzenler [24]. Işık toplayıcı kompleks klorofil a/b-bağlama proteini ve oksijen çıkışını arttıran protein tuzluluğa cevap olup; tuz stresinin üstesinden gelmede PSII'nin aktivitesine neden olmaktadır [25-27]. Üstelik PSII'den serbest kalan elektronlar, sitokrom b₆f kompleksi aracılığı ile PSI'e transfer edilmektedir. Proteomik sonuçlar, sitokrom b₆f kompleksi kadar PS I reaksiyon merkezi proteininin miktarının da tuz stresinden etkilendiğini göstermiştir [25, 28, 29]. Miktarındaki değişiklikler elektron transfer etkinliği ve transmembran elektrokimyasal proton gradientlerini değiştirebilir, dolayısıyla ATP sentezi ve NADPH oluşumu etkilenir. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde, kloroplast ATP sentazlar ve ferredoksin NADP(H) oksidoredüktazların çoklu izoformlarının tuzluluk tarafından regüle olduğu bulunmuştur [30-32]. Bu sonuçlar, tuz stresi altındaki bitkilerde ATP sentezinin ayarlandığını ve termal dağılımında bu enzimlerin çoklu izoformlarının yer aldığını göstermektedir [19]. Işık reaksiyon değişikliklerine ilaveten, karbonik anhidraz, ribuloz-1,5-bifosfat sentetaz (RuBisCO), RuBisCO aktivaz, RuBisCO bağlayan protein, fruktoz bifosfataz, sedoheptulaz-1,7-bifosfataz ve fosforibulokinaz gibi Calvin döngüsü enzimlerinin ekspresyonu tuzluluk tarafından etkilenmektedir [25, 31, 33]. Bu CO₂ özümlemesi ile ilişkili enzimlerin çoğu tuz stresi altında farklı bitki türlerinde çeşitli değişiklikler göstermektedir [19].

NaCl stresi altında, bitkiler enerjiyi korumak için enerji metabolizma hızlarını azaltır ve ROT oluşumunu sınırlar [34]. Glikoliz, TCA siklusu, mitokondriyal solunum ve pentoz fosfat yollarının bileşenlerinin transkript bolluğu NaCl uygulanmış bitkilerde genellikle değişmiştir [35, 36]. Fruktoz bifosfat aldolaz, triozofosfat izomeraz, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, fosfogliserat kinaz, fosfogliserat mutaz, enolaz, pirüvat dekarboksilaz ve alkol dehidrogenazı içeren glikolize ilişkin çoğu proteinler tuz stresi altında artmıştır [37-40]. Benzer etkiler pirüvat dehidrogenaz, dihidrolipoamid dehidrogenaz, akonitat dehidratat, izositrat dehidrogenaz, süksinil-CoA ligaz ve malat dehidrogenazı içeren TCA siklusundaki tuza cevap enzimleri için de gözlenmiştir [38, 41, 42]. Üç proton-taşıyan ATPaz'lar, iki vakuolar ATP sentetaz ve bir mitokondriyal ATP sentaz delta zincirini içeren diğer enerji ile ilişkili proteinler NaCl teşvikine cevap olarak saptanmıştır [36, 43]. Mitokondriyal ATP sentaz, solunum zincirinin elektron transport kompleksleri tarafından oluşturulan proton gradientinin varlığında ADP'den ATP oluşturur [44].

2.2. ROT'lara Karşı Savunma Sistemleri

Tuz stresi, mitokondri ve kloroplastlardaki elektron transport zinciri, fotorespirasyon, yağ asidi oksidasyonu ve çeşitli detoksifikasyon reaksiyonlarının aşırı indirgenmesine neden olmaktadır [45]. Bu işlevlere, birçok hücrel bileşen ve yapılarda oksidatif zarara neden olan ve hücrel redoks dengesini bozan ROT'ların hızlı artışları eşlik eder [46]. Bugüne kadar, süperoksit dismutaz (SOD) yolu, katalaz (CAT) yolu, askorbat (AsA)-glutatyon (GSH) siklusu, glutatyon peroksidaz (GPX)/GST yolu, peroksidaz (POD) yolu ve peroksiredoksin (PrxR)/tiyoredoksin (Trx) yolu gibi ROT seviyesini regüle etmek için farklı antioksidatif mekanizmalar tanımlanmıştır (Şekil 2) [1].



Şekil 2. Bitkilerde ROT savunma sisteminde tuza cevapta proteinler/enzimlerin şematik gösterimi. 2-P-glikolat, 2-fosfoglikolat; 3-P-glikolat, 3-fosfoglikolat; AOX, alternatif oksidaz; APX, askorbat peroksidaz; CAT, katalaz; DHA, dehidroaskorbat; DHAR, dehidroaskorbat redüktaz; GLR, glutaredoksin; GOX, glikolat oksidaz; GPX, glutatyonperoksidaz; GR, glutatyon redüktaz; GSH, indirgenmiş glutatyon; GSSG, okside glutatyon; GST, glutatyon S-transferaz; MDA, monodehidroaskorbat; MDAR, monodehidroaskorbat redüktaz; NAD⁺/NADH, nikotinamid adenin dinükleotid; NADP⁺/NADPH, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat; PGP, fosfoglikolat fosfat; PrxR, peroksiredoksin; RBOH, solunum oksidaz homologu (NADPH oksidaz); RuBisCO, ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz; RuBP, ribuloz-1,5-bifosfat; SOD, superoksit dismutaz; Trx, tiyoredoksin (Zhang et al. [19]'dan değiştirilerek).

SOD'lar, süperoksidin oksijen ve H₂O₂'ye dismutasyonunu katalizler ve bir hücre içinde ROT'a karşı savunmanın ilk basamağını oluşturur [47]. İlginç olarak, üç tip SOD geni transkriptlerinin NaCl uygulamasına cevap olarak azaldığı mikroarray analizleriyle belirlenmiştir [35]. Proteomik çalışmalarda, SOD'un miktarındaki artış, tuz stresi altındaki türlerin birçoğunda bulunmuştur [37, 38, 41]. SOD'un aktivite ve miktarındaki değişiklikler, tuz stresinin üstesinden gelmek için anahtar bir ROT savaşçısı olarak iş gördüğünü göstermektedir [48].

Katalaz (CAT) sitozol, mitokondri, kloroplast ve peroksizomlarda oluşan H₂O₂'yi uzaklaştırmak için önemli bir antioksidant koruma sistemlerinden biridir [45]. Katalazlar esas olarak peroksizomlarda lokalize olmuştur ve hüresel indirgeyici eşdeğerleri tüketilmeksizin H₂O₂'yi parçalar [49]. Bitkiler katalazların izozimlerine sahiptir: CAT-1 ve CAT-2 peroksizomlarla, CAT-3 ise mitokondri ile ilişkilidir. Proteomik çalışmalar, tuz stresi koşullarında *Oryza sativa*'da CAT seviyelerinin arttığını [39, 50]; fakat *Citrus aurantium*, *Hordeum vulgare* ve *Cucumis sativus*'da azaldığını göstermiştir [38, 51, 52].

ROT savunmasında önemli rolü olan peroksidazların (POD'lar) tuz stresi altındaki bitkilerde seviyelerinin arttığı gösterilmiştir [38, 53]. GPX/GST yolu genellikle oksidatif membran zararına karşı önemli enzimatik savunma sistemi olarak değerlendirilmiştir [54]. GPX, GSH ve/veya diğer indirgeyici eşdeğerleri kullanılarak hidroksil bileşiklere karşılık gelen H₂O₂'yi indirgeyebilir. Glutatyon S-transferazlar, GPX aktivitesine sahiptir ve yağ asitleri ve nükleik asitlerin organik hidroperoksitlere indirgenmesi için GSH'ı kullanabilir [55]. Proteomik literatürlerinde, GST'lerin çoğu tuz stresi altındaki bitkilerde artmıştır [25, 56, 57]. Bununla birlikte, AsA-GSH döngüsü ile H₂O₂ yok edilebilir. Bu işlevde, monodehidroaskorbat (MDAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) tarafından katalizlenen redoks reaksiyonlarında APX AsA'yı kullanarak H₂O₂'yu H₂O'ya indirger [45]. APX, MDAR, DHAR ve GR'yi içeren AsA-GSH döngüsü enzimleri tuz stresi proteomik çalışmalarında bulunmuştur ve bu enzimler farklı ekspresyon profilleri göstermiştir [28, 39, 51]. Peroksiredoksin/Tiyoredoksin (PrxR/Trx) yolu bitkilerde merkezi antioksidant savunma sistemidir. PrxR'ler, ROT metabolizmasını kapsayan multigenik bir familyayı oluşturur [58]. PrxR'ler, H₂O₂'yu indirgemek için tiyol-temelli katalitik mekanizmayı kullanır ve elektron vericileri olarak Trx'leri kullanarak yeniden oluşur [59]. PrxR'ler ve Trx'de bir artış tuz stresi koşullarında bazı türlerde gözlenmiştir [27, 60, 61].

2.3. Tuz Stresine Cevapta Sinyal Yolları

Tuz stresi sinyali; iyonik, ozmotik, detoksifikasyon, hücre bölünmesi ve genişlemesini düzenlemek için sinyallerini içerir [62]. Plazma membranı veya sitoplazmada lokalize olan geçici tuz sinyal reseptörleri tuz stresi altındaki bitkilerde yapılan proteomik çalışmalarda kimliklendirilmiştir [63, 64]. Tuz toleransının sinyal iletimi önemli bir konudur ve tuza aşırı duyarlı sinyal yolu, ABA sinyal yolu, Ca^{+2} sinyal iletim yolu, protein kinaz yolu, fosfolipit yolu, etilen sinyal yolu ve jasmonik asit teşvikli sinyal yolu gibi birçok tuza cevap sinyal yolu belirlenmiştir [62, 65, 66].

Abiyotik stres koşullarına cevapta heterotrimerik G-proteini kompleksi ve ilgili G-protein eşleşme reseptörleri önemli bir rol oynamaktadır [67]. Heterotrimerik GTP-bağlama proteinleri (G protein), bir sinyalin spesifik bir hücrel cevaba dönüştürmek için spesifik bir sinyal kaskad düzenleyicisi olarak bilinmekte [68] ve bu heterotrimerik proteinin alt ünitesi bitkilerde tuza toleransta görev almaktadır [2]. Proteomik çalışmalar ile bazı bitki türlerinde tuzla teşvik edilmiş G proteini ve birkaç küçük G proteini belirlenmiştir [43, 64]. İlâveten, G proteininin iki alt ünitesini kodlayan genler NaCl uygulamasıyla artan yönde regüle olmuş [43,62] ve bir G proteinini transkripti tuz stresi altındaki *Mesembryanthemum crystallinum*'da da artmıştır [69]. Proteomik sonuçlar, tuza cevapta G proteinlerindeki miktar değişimleri üzerine yeni bilgiler sağlamaktadır. G protein mutantları ve protein-protein ilişkilerinin proteomik analizleri, tuzluluk cevabında sinyal ağları ve G protein fonksiyonu hakkında bilgiyi arttırmıştır [48].

Tuz stresi teşvikli Ca^{+2} bağımlı sinyal ağı, Na^{+} homeostazisi ve tuz direncine aracılık etmektedir [66, 67]. Bitki hücrelerinde Ca^{+2} , çok sayıda sinyal yolunda özgün bir sekonder mesajcıdır. Kalmodulin (CaM), kalretikulin gibi farklı Ca^{+2} bağlayan proteinler ve sitozolik Ca^{+2} homeostazisinin regülasyonuna katılan gelişimsel olarak regüle olan plazma membranı polipeptidleri (DREPP)-benzeri proteinlerin (Ca^{+2} bağlama için glutamatça zengin bölge) tuz stresine girmiş bitkilerde teşvik edildiği proteomik çalışmalarla ortaya konmuştur [36, 39, 61, 63].

14-3-3 proteinleri ökaryotlarda özgündür ve kalsiyum bağımlı protein kinaz ve mitojenlektive olmuş protein kinaz (MAPK) kaskadları gibi birçok hücrel sinyal yollarını kapsar [70]. Bitkilerde 14-3-3 proteinleri, iyon transportu ve sitoplazmik pH'ın kontrolü için gerekli olan plazma membranında elektrokimyasal gradienti kontrol eden plazma membranı H^{+} -ATPaz'ın pozitif düzenleyicileri olarak etki eder [71]. 14-3-3 proteinlerinin düşük sıcaklık, kuraklık ve tuz streslerine cevapta fonksiyon gördüğü bilinmektedir [72]. MAPK'lar ilk olarak serin/treonin kinazlar olarak tanımlanmıştır. MAPK'lar çeşitli ikincil mesajcılar tarafından iletilmiş çoklu hücre içi sinyallerin birleştirilmesinde önemli rol oynamaktadır [73]. Proteomik çalışmalarda, 14-3-3 grup proteinlerinin birçok üyesinin tuz stresi altındaki *Triticum aestivum*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* ve *Zea mays* gibi bitki türlerinde artan yönde regüle olduğu belirtilmiştir [43, 61, 63, 74]. Bununla birlikte, *A. thaliana* ve *Lathyrus sativus* bitkilerinde yapılan proteomik çalışmalar MAPK'ların tuz stresine cevap olarak artan yönde regüle olduğunu ortaya koymuştur [25, 75]. Ayrıca MAPK'ların, patojen ve diğer streslere karşı uygun cevapların sağlanması için salisilik asit ve jasmonik asit bağımlı sinyallerin birleştirilmesinde fonksiyon gördüğü belirtilmiştir [19].

Tuza aşırı duyarlı (SOS) stres sinyal yolu, bitki iyon homeostazisi ve tuz toleransının esas düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır [76, 77]. SOS sinyal iletim yolunda, miristoyillenmiş kalsiyum-bağlayan protein SOS3, tuz stresinin neden olduğu sitozolik kalsiyum değişikliklerine duyarlıdır. SOS3 fiziksel olarak SOS2 (serin/treonin kinaz) ile ilişkilidir ve onu aktive eder. SOS3/SOS2 kinaz kompleksi, *sos1* geni tarafından kodlanan plazma membranı Na^{+}/H^{+} antiportörünü fosforile ve teşvik eder. SOS1 (plazma membranı Na^{+}/H^{+} antiportörü)"in transport fonksiyonunun yanı sıra düzenleyici bir role sahip olabileceği ve hatta Na^{+} için yeni bir sensör olabileceği ileri sürülmüştür [78]. Karşılaştırmalı proteomik çalışmaları protein kinaz kaskadlarında daha fazla NaCl'ye cevap veren proteinleri ortaya çıkarmıştır [37, 41, 79]. Bununla birlikte, fosfoproteomik bir çalışma ile de fosfoproteinler ve tuz stres sinyal iletimindeki fosfoproteinlerde meydana gelen dinamik değişiklikler saptanmıştır [48].

2.4. İyon Homeostazisi

Tuzlu koşullar altında, Na^{+} and Cl^{-} 'un yüksek apoplastik seviyeleri sulu ve iyonik termodinamik dengesini değiştirir. Bu hiperozmotik stres, iyonik dengesizlik ve toksisite ile sonuçlanır. Stresin üstesinden gelmek için, bitki kökleri iyon homeostazisini modüle etmek için artan Na^{+} çıkışı ve kompartımanlaşması ve azalan Na^{+} girişi mekanizmalarını geliştirmiştir [19]. İyon (K^{+} and Na^{+})

homeostazisinin sürdürülmesi oldukça hassas bir işlemdir ve esas olarak H⁺-ATPaz'lar, farklı iyon kanalları ve transportörlerinin aksiyonu tarafından oluşturulan proton-itici güce dayanır [80].

Vakuolar H⁺-ATPaz, tonoplast Na⁺/H⁺ antiportörü tarafından kullanılan sürdürücü güç olan bir proton elektrokimyasal gradienti oluşturarak vakuole Na⁺ kompartımanlaşmasını sağlar [81]. V-ATPaz, bitkilerde hücre Na⁺/K⁺ homeostazisini sürdürmek için vakuolar sodyum ayrıştırmasına aracılık eden tonoplastta Na⁺/H⁺ antiportörünü harekete geçirmek için proton itici güç sağladığı bilinmektedir [82]. Bu durum, V-ATPaz'ın iyon zararından hücreleri korumada kritik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir. V-ATPaz'ın sentezindeki artış, tuz stresine girmiş bazı bitkilerde bulunmuştur [9, 38, 43]. Vakuolar H⁺-ATPaz'ların artan seviyeleri ve/veya aktiviteleri, tuz stresi altında Na⁺ ayrıştırması ve ozmotik ayarlama için oldukça etkili strateji olarak değerlendirilmiştir [25].

ABC transportörleri; alkaloidler, terpenoidler, polifenoller ve kinonlar gibi stres ilişkili sekonder metabolitlerinin taşınmasından sorumludur [83]. İlâveten, ABC transportörleri bitkilerde tuz stres cevabı ve K⁺ homeostazisine katılmaktadır. *Arabidopsis* atmrp5-2 mutanı tuzlu koşullarda yabani tip bitkilerden daha fazla Na⁺ ve daha az K⁺ biriktirir [84]. Diğer ABC transportör geni *Ospdr9* tuz stresi altında çeltik köklerinde teşvik edilmiştir [85]. Tuza toleranslı ve duyarlı buğday çeşitlerinde ABC transportörlerindeki artış, bu transportörlerin tuza cevaptaki önemini göstermektedir [37, 43]. Üstelik voltaj-geçitli potasyum kanalı (VGPC), voltaj-bağımlı anyon kanalı (VDAC) ve siklik nükleotid-geçitli kanal (CNGC) proteinlerini içeren önemli iyon kanal proteinleri tuz stresine cevap olarak kök proteomlarında belirlenmiştir [86]. VGPC, tuz stresinin üstesinden gelmek için köklerde anormal K⁺/Na⁺ korumak için sitozolde K⁺ konsantrasyonunu düzenler ve K⁺ taşır [86]. Toleranslı ve duyarlı buğday çeşitlerinin köklerinde VGPC'nin miktarındaki artış, tuzluluk altında iyon homeostazisinin sürdürülmesinde VGPC'nin rolünü göstermektedir [37]. VDAC proteini, *Zea mays* ve *Beta vulgaris*'de tuz stresi tarafından teşvik edilmiştir [61, 87]. VDAC, membranlararası boşluğa küçük moleküllerin (<1000 Da) geçişinden sorumludur. Bununla birlikte, proteomik çalışmalar temelinde birçok anneksin izoformları *Triticum aestivum*, *Arabidopsis thaliana*, *Glycine max*, *Oryza sativa* ve *Solanum lycopersicum*'da tuzlulukla teşvik edilmiştir [25, 37, 40]. Anneksinin ROT-teşvikli pasif Ca⁺² transport yolunun oluşumu için endomembran ve plazma membranında Ca⁺²-geçirebilir kanal olarak fonksiyon gördüğü bilinmektedir [88].

2.5. Transkripsiyon ve Protein Sentezi

Bitkilerde farklı stres koşullarına cevap olarak tuza cevap genlerinin transkripsiyonel regülasyonu önemli bir stratejidir [36]. Tuz stresine cevapta ve tuzluluk toleransında, transkripsiyon faktörleri ve transkripsiyon ilişkili proteinlerin seviyelerinin önemli bir rol oynadığı proteomik çalışmalarla gösterilmiştir [19]. Bazı genlerin transkripsiyonu, tuz-teşvikli transkripsiyon faktörleri, çinko parmak proteini, temel/heliks-ilmek-heliks ve reverse transkriptazdan dolayı tuz stresi altında köklerde teşvik edilmiştir [37, 40, 41, 79]. RNA işleme enzimleri/faktörleri, farklı stres koşulları altında farklı ekspresyon profilleri göstermiştir. Bunlara birer örnek olarak tuz teşvikli RNA splicing ile ilişkili proteinler olan tRNA splicing proteini ve AAR2 proteini (splicing pre-mRNA için bir protein) ile RNA parçalanması için ribonükleaz verilebilir [43, 61]. İlâveten, helikazlar kadar artan DNA polimerazlar ve DNA topoizomerazların tuz stresinde DNA replikasyonunu, sarmal açılması ve transkripsiyonu arttırdığı ileri sürülmüştür [25, 28, 30].

Protein sentezi abiyotik stres adaptasyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Proteomik çalışmalar, farklı ribozomal proteinler, translasyon başlama faktörleri, poli(A)-bağlama proteinleri, translasyon uzama faktörleri, translasyonel olarak kontrol edilen tümör proteinleri, RNA tanıma motifi içeren proteinler ve t-RNA sentezleri içeren protein sentez mekanizmasının birçok bileşeninin tuz stresi koşullarında ekspresyonunda değişiklikler olduğunu ortaya çıkarmıştır [25, 36, 37]. Uygun protein katlanma ve işlenmesi tuz stresi altında kök fonksiyonu için gereklidir. Moleküler şaperonlar [sıcaklık şok proteinleri (HSP'ler), T-kompleks protein 1 (TCP1)], protein disülfid izomerazlar, siklofilinler ve FK506-bağlama proteini gibi proteinler tuza cevap proteinleri olarak belirlenmiştir [9, 29, 42]. Bu proteinler, stresle zarar görmüş proteinlerin onarılması ve renatürasyonu, normal protein katlanmasını sürdürmek için fonksiyon göstermektedir. Tuz stresi altında, ubikuitin/poliubikuitin/tetraubikuitin, SKP1 protein, proteozom bileşenleri, farklı proteazlar ve peptidazlar, proteaz inhibitörleri ve geri dönüşebilen protein-metiyonin-S-oksit redüktazlar gibi proteozom yollarının bazı üyeleri miktarlarında değişiklikler göstermektedir [25, 29, 43]. Bununla birlikte, proteinlerin ubikuitin aracılığı ile degradasyonunun sinyal transdüksiyonu ve transkripsiyonu

gibi diğer hücrel işlevlerin regülasyonunda fonksiyon gördüğü kesin değildir. Sonuç olarak, tuza cevap proteinleri tuz toleransında önemli rol oynamaktadır [19].

2.6. Hücre İskeleti ve Hücre Çeperi Bileşenleri

Tuzluluk koşullarında, hücre iskeleti hücre turgorunun sürdürülmesi için hücre boyutunun ayarlanmasını sağlamak için hızlıca yeniden modellenmektedir [32]. Tuz stresi koşullarında, temel hücre iskeleti bileşenleri (aktin ve tübülün), ksiloglukan endotransglikosilaz (XET) hidrolazlar, miyozin, kinezin motor ve diğer hücre iskeleti ile ilişkili proteinlerin (bazı aktin-bağlayan proteinler) miktar değişimlerinin ölçülmesiyle hücre iskeletinin dinamikleri proteomik çalışmalarla belirlenmiştir [28, 36, 61, 89]. Aktin filamentleri ve mikrotübülleri, tuza cevapta birçok hücrel işlevleri için son derece dinamik ağa hizmet eder. Tuzluluk, *Arabidopsis*'de aktin filamentlerinin düzenlenmesini ve demet oluşumunu teşvik eder; uzun süreli yüksek tuz uygulaması aktin filamentlerinin depolarizasyonuna neden olabilir [28]. Birçok aktin bağlama proteini, aktin filamentlerinin fonksiyonel özellikleri ve dinamiklerini düzenlemektedir. Profilin aktine bağlanan özgün bir proteindir ve aktin filamentlerinin polimerizasyonu veya depolimerizasyonu ile hücre iskeletinin yapısını etkiler ve internal ve eksternal sinyallere hücrelerin cevabını sağlar [90]. Profilinin artan yönde regülasyonu, tuzun önemli miktarlarında hücrel davranışı ayarlamak ve tuzun toksisitesini minimuma indirmek için görev yaptığı belirtilmiştir [27]. Tuz stresi koşullarında, hücre iskeleti dinamikleri diğer fizyolojik değişiklikler ile ilişkilidir. Örneğin, aktin organizasyonunun ozmotik stresle regülasyonu bekçi hücrelerinde K⁺ kanal aktivitesiyle ilişkilidir [91]. İlaveten, tübülünler P-tipi ATPaz'lar ile birlikte göç eder [92] veya hücre genişlemesi ve morfolojisini kontrol etmek için plazma membranı ile ilişkilidir [93].

Streslere cevap olarak, selüloz, hemiselüloz, pektin, yapısal proteinler ve lignin polimerlerini kapsayan hücre çeperindeki kompleks makromoleküller, farklı hücre çeperi enzimlerinin koordinasyonu aracılığı ile dinamik değişiklikleri sağlar [94]. Mevcut proteomik çalışmalar ile köklerde hücre çeperi polisakkarit sentezi/hidrolizi ve lignin biyosentezini kapsayan tuza cevap enzimleri tanımlanmıştır [38, 40]. Hücre çeperinde lignin oluşumu ve depozisyonu kök yapısının mekanik direncini etkiler [95]. Tuz uygulamasının kök lignifikasyonunu teşvik ettiği [96] ve ligninleşmiş boruların sayısının arttığı [97] bildirilmiştir. Fenilpropanoid sentezi için de gerekli olan fenilalanin amonyak liyaz (PAL), lignin biyosentezinin ilk basamağında fenilalaninin sinnamilata dönüşümünü katalizler [98]. Buğday ve çeltik köklerinde PAL'ların azaldığı proteomik çalışmalarla tespit edilmiştir [37, 39]. Bunlar arasında kafeik asit 3-O-metiltransferaz (CCOMT) ve kafeoil CoA 3-O-metiltransferaz hücre çeperinin lignin biyosentezinde önemli rol oynar [99]. Lignin monomer oluşumuna paralel yolda CCOMT'ın katıldığı bildirilmiştir [100]. Tuz stresinden dolayı tilkikuyruğu darı fidelerinde kafeoil-CoA O-metil transferaz ve kafeik aist 3-O-metiltransferazın artan yönde regülasyonu proteomik çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalar ile bu O-metil transferazların tuz stresine toleransta önemli rol oynadığı ile sürülmüştür [101]. CCOMT'ın suberin ve lignin biyosentezini sağladığı ve artan lignifikasyonun apoplastik bir yol aracılığı ile köklere girişine Na⁺ iyonlarına izin veren su akışını sağlamada yardımcı olduğu ileri sürülmüştür [102].

3. Sonuç

Proteomik yaklaşım tuz stresine karşı geliştirilen bitki cevaplarının belirlenmesinde önemli yollardan biridir. Proteomik çalışmalar tuz stresine tolerans ile ilişkili biyomarkörlerin tespiti ve teşhisine önemli katkılarda bulunabilmektedir. Tuza tolerans ile ilişkili anahtar proteinlerin teşhisi tuz stresine toleranslı tarımsal bitkiler elde etmede genetik mühendisliği uygulamaları için önemli bilgiler sağlayabilmektedir. Bununla birlikte, proteomik, transkriptomik ve metabolomik çalışmalardan elde edilen verilerin birlikte değerlendirilmesi tuz stresine karşı geliştirilen bitki cevaplarının daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance, Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.
2. Tuteja N. 2007. How Pea Phospholipase C Functions in Salinity Stress Tolerance. ISB News Report, 2007: 4-7.
3. Puranik S., Jha S., Srivastava P. S., Sreenivasulu N., Prasad M. 2011. Comparative Transcriptome Analysis of Contrasting Foxtail Millet Cultivars in Response to Short-Term Salinity Stress, Journal of Plant Physiology, 168: 280-287.
4. Xu P., Liu Z., Fan X., Gao J., Zhang X., Zhang X., Shen X. 2013. De novo Transcriptome Sequencing and Comparative Analysis of Differentially Expressed Genes in *Gossypium aridum* under Salt Stress, Gene, 525: 26-34.
5. Podda A., Simili M., Del Carratore R., Mouhaya W., Morillon R., Maserti B. E. 2014. Expression Profiling of Two Stress-Inducible Genes Encoding for Miraculin-Like Proteins in Citrus Plants under Insect Infestation or Salinity Stress, Journal of Plant Physiology, 171: 45-54.
6. Kosová K., Vítámvás P., Prášíl I. T., Renaut J. 2011. Plant Proteome Changes under Abiotic Stress-Contribution of Proteomics Studies to Understanding Plant Stress Response, Journal of Proteomics, 74: 1301-1322.
7. Barkla B., Vera-Estrella R., Pantoja, O. 2013. Progress and Challenges for Abiotic Stress Proteomics of Crop Plants, Proteomics, 13: 1801-1815.
8. Gao L., Yan X., Li X., Guo G., Hu Y., Ma W., Yan Y. 2011. Proteome Analysis of Wheat Leaf under Salt Stress by Two-Dimensional Difference Gel Electrophoresis (2D-DIGE), Phytochemistry, 72: 1180-1191.
9. Yang L., Ma C., Wang L., Chen S., Li H. 2012. Salt Stress Induced Proteome and Transcriptome Changes in Sugar Beet Monosomic Addition Line M14, Journal of Plant Physiology, 169: 839-850.
10. Li B., He L., Guo S., Li J., Yang Y., Yan B. 2013. Proteomics Reveal Cucumber Spd-Responses under Normal Condition and Salt Stress, Plant Physiology and Biochemistry, 67: 7-14.
11. Qureshi M. I., Qadir S., Zolla L. 2007. Proteomics-Based Dissection of Stress-Responsive Pathways in Plants, Journal of Plant Physiology, 164: 1239-1260.
12. Abbasi F. M., Komatsu S. 2004. A Proteomic Approach to Analyze Salt- Responsive Proteins in Rice Leaf Sheath, Proteomics, 4: 2072-2081.
13. Dani V., Simon W., Duranti M., Croy, R. 2005. Changes in the Tobacco Leaf Apoplast Proteome in Response to Salt Stress, Proteomics, 5: 737-745.
14. Liu Y., Du H., He X., Huang B., Wang Z. 2012. Identification of Differentially Expressed Salt-Responsive Proteins in Roots of Two Perennial Grass Species Contrasting in Salinity Tolerance, Journal of Plant Physiology, 169: 117-126
15. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. 2012. ROS and Redox Signalling in the Response of Plants to Abiotic Stress, Plant Cell and Environment, 35: 259-270.
16. Gill S. S., Tuteja N. 2010. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909-930.
17. Brugnoli E., Bjorkman O. 1992. Growth of Cotton under Continuous Salinity Stress: Influence on Allocation Pattern, Stomatal and Non-Stomatal Components of Photosynthesis and Dissipation of Excess Light Energy, Planta, 187: 335-347.
18. Qiu N., Lu C. 2003. Enhanced Tolerance for Photosynthesis against High Temperature Damage in Salt Adapted Halophyte *Atriplex centralasiatica*, Plant Cell and Environment, 26: 1137-1145.

19. Zhang H., Han B., Wang T., Chen S. 2012. Mechanisms of Plant Salt Response: Insights from Proteomics, *Journal of Proteome Research*, 11: 49-67.
20. Zouni A. 2001. Crystal Structure of Photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8Å Resolution, *Nature*, 409: 739-743.
21. Ruban A.V., Wentworth M., Yakushevska A. E., Andersson J., Lee P. J., Keegstra W., Dekker J. P., Boekema E. J., Jansson S., Horton P. 2003. Plants Lacking the Main Light-Harvesting Complex Retain Photosystem II Macro-Organization, *Nature*, 421: 648-652.
22. Wykoff D. D., Davies J. P., Melis A., Grossman A. R. 1998. The Regulation of Photosynthetic Electron Transport during Nutrient Deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Physiology*, 117: 129-139.
23. Silva P., Thompson E., Bailey S., Kruse O., Mullineaux C. W., Robinson C., Mann N. H., Nixon P. J. 2003. FtsH is Involved in the Early Stages of Repair of Photosystem II In *Synechocystis* Sp PCC 6803, *The Plant Cell*, 15: 2152-2164.
24. Yamamoto Y. 2001. Quality Control of Photosystem II, *Plant and Cell Physiology*, 42: 121-128.
25. Pang Q. Y., Chen S. X., Dai S. J., Chen Y. Z., Wang Y., Yan X. 2010. Comparative Proteomics of Salt Tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila*, *Journal of Proteome Research*, 9: 2584-2599.
26. Bandehagh A., Salekdeh G. H., Toorchi M., Mohammadi A., Komatsu S. 2011. Comparative Proteomic Analysis of Canola Leaves under Salinity Stress, *Proteomics*, 11: 1965-75.
27. Fatehi F., Hosseinzadeh A., Alizadeh H., Brimavandi B., Struik P.C. 2012. The Proteome Response of Salt-Resistant and Salt-Sensitive Barley Genotypes to Long-Term Salinity Stress, *Molecular Biology Reports*, 39: 6387-6397.
28. Wang X. C, Fan P. X., Song H. M., Chen X. Y., Li X. F., Li Y. X. 2009. Comparative Proteomic Analysis of Differentially Expressed Proteins in Shoots of *Salicornia europaea* under Different Salinity, *Journal of Proteome Research*, 8: 3331-3345.
29. Xu C., Sibicky T., Huang B. 2010. Protein Profile Analysis of Salt-Responsive Proteins in Leaves and Roots in Two Cultivars of Creeping Bentgrass Differing in Salinity Tolerance, *Plant Cell Reports*, 29: 595-615.
30. Zörb 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 Science*, 167: 91-100.
31. Yu J. J., Chen S. X., Zhao Q., Wang T., Yang C. P., Diaz C., Sun G. R., Dai S. J. 2011. Physiological and Proteomic Analysis of Salinity Tolerance in *Puccinellia tenuiflora*, *Journal of Proteome Research*, 10: 3852-3870.
32. Li W., Zhang C. Y., Lu Q. T., Wen X. G., Lu C. M. 2011. The Combined Effect of Salt Stress and Heat Shock on Proteome Profiling in *Suaeda salsa*, *Journal of Plant Physiology*, 168: 1743-1752.
33. Caruso G., Cavaliere C., Guarino C., Gubbiotti R., Foglia P., Lagana A. 2008. Identification of Changes in *Triticum durum* L. Leaf Proteome in Response to Salt Stress by Two-Dimensional Electrophoresis and MALDI-TOF Mass Spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391: 381-390.
34. Moller I. M. 2001. Plant Mitochondria and Oxidative Stress: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 561-591.
35. Jiang Y., Deyholos M. 2006. Comprehensive Transcriptional Profiling of NaCl-Stressed *Arabidopsis* Roots Reveals Novel Classes of Responsive Genes, *BMC Plant Biology*, 6: 25.

36. Jiang Y., Yang B., Harris N. S., Deyholos M. K. 2007. Comparative Proteomic Analysis of NaCl Stress-Responsive Proteins in *Arabidopsis* Roots, *Journal of Experimental Botany*, 58: 3591-3607.
37. Peng Z. Y., Wang M. C., Li F., Lu H. J., Li C. L., Xia G. M. A. 2009. Proteomic Study of the Response to Salinity and Drought Stress in an Introgression Strain of Bread Wheat, *Molecular Cell Proteomics*, 8: 2676-2686.
38. Du C. X., Fan H. F., Guo S. R., Tezuka T., Li J. 2010. Proteomic Analysis of Cucumber Seedling Roots Subjected to Salt Stress, *Phytochemistry*, 71: 1450-1459.
39. Li X. J., Yang M. F., Chen H., Qu L. Q., Chen F., Shen S. H. 2010. Abscisic Acid Pretreatment Enhances Salt Tolerance of Rice Seedlings: Proteomic Evidence, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804: 929-940.
40. Manaa A., Ben Ahmed H., Valot B., Bouchet J. P., Aschi-Smiti S., Causse M., Faurobert M. 2011. Salt and Genotype Impact on Plant Physiology and Root Proteome Variations in Tomato, *Journal of Experimental Botany*, 62: 2797-2813.
41. Zhou S. P., Sauvé R. J., Liu Z., Reddy S., Bhatti S., Hucko S. D., Fish T., Thannhauser T. W. 2011. Identification of Salt-Induced Changes in Leaf and Root Proteomes of the Wild Tomato, *Solanum chilense*, *Journal of American Society of Horticultural Science*, 136: 288-302.
42. Nam M., Huh S., Kim K., Park W. 2012. Comparative Proteomic Analysis of Early Salt Stress-Responsive Proteins in Roots of Snrk2 Transgenic Rice, *Proteome Science*, 10: 25.
43. Wang M. C., Peng Z. Y., Li C. L., Li F., Liu C., Xia G. M. 2008. Proteomic Analysis on a High Salt Tolerance Introgression Strain of *Triticum aestivum*/*Thinopyrum toiticum*, *Proteomics*, 8: 1470-1489.
44. Das A. M. 2003. Regulation of the Mitochondrial ATP-Synthase in Health and Disease, *Molecular Genetics and Metabolism*, 79: 71-82.
45. Miller G., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Mittler R. 2010. Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signalling during Drought and Salinity Stresses, *Plant Cell and Environment*, 33: 453-467.
46. Parida A. K. Das A. B. 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: A Review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
47. Alscher R. G., Erturk N., Heath L. S. 2002. Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 53: 1331-1341.
48. Zhao Q., Zhang H., Wang T., Chen S., Dai S. 2013. Proteomics-Based Investigation of Salt-Responsive Mechanisms in Plant Roots, *Journal of Proteomics*, 82: 230-253.
49. Del Rio L. A., Corpas F. J., Sandalio L. M., Palma J. M., Gomez M. 2002. Reactive Oxygen Species, Antioxidant Systems and Nitric Oxide in Peroxisomes, *Journal of Experimental Botany*, 53: 1255-1572.
50. Kim D.-W., Rakwal R., Agarwal G.-K., Jung Y.-H., Shibato J., Jwa N.-S., Iwahashi Y., Iwahashi H., Kim D. H., Shim IeS., Usui K. 2005. A Hydroponic Rice Seedling Culture Model System for Investigating Proteome of Salt Stress in Rice Leaf, *Electrophoresis*, 26: 4521-4539.
51. Tanou G., Job C., Rajjou L., Arc E., Belghazi M., Diamantidis G., Molassiotis A., Job D. 2009. Proteomics Reveals the Overlapping Roles of Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide in the Acclimation of Citrus Plants to Salinity, *Plant Journal*, 60: 795-804.
52. Witzel K., Weidner A., Surabhi G.-K., Börner A., Mock H.-P. 2009. Salt Stress-Induced Alterations in the Root Proteome of Barley Genotypes with Contrasting Response towards Salinity, *Journal of Experimental Botany*, 60: 3545-3557.
53. Sugimoto M., Takeda K. 2009. Proteomic Analysis of Specific Proteins in the Root of Salt-Tolerant Barley, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 73: 2762-2765.

54. Yoshimura K., Miyao K., Gaber A., Takeda T., Kanaboshi H., Miyasaka H., Shigeoka S. 2004. Enhancement of Stress Tolerance in Transgenic Tobacco Plants Overexpressing *Chlamydomonas* Glutathione Peroxidase in Chloroplasts or Cytosol, *Plant Journal*, 37: 21-33.
55. Cummins I., Cole D. J., Edwards R. A. 1999. Role for Glutathione Transferases Functioning as Glutathione Peroxidases in Resistance to Multiple Herbicides in Black-Grass, *Plant Journal*, 18: 285-292.
56. Ruan S. L., Ma H. S., Wang S. H., Fu Y. P., Xin Y., Liu W. Z., Wang F., Tong J. X., Wang S. Z., Chen H. Z. 2011. Proteomic Identification of Oscyp2, a Rice Cyclophilin that Confers Salt Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) Seedlings When Overexpressed, *BMC Plant Biology*, 11: 34.
57. Swami A. K., Alam S., Sengupta N., Sarin R. 2011. Differential Proteomic Analysis of Salt Stress Response in *Sorghum bicolor* Leaves, *Environmental and Experimental Botany*, 71: 321-328.
58. Horling F., Lamkemeyer P., König J., Finkemeier I., Kandlbinder A., Baier M., Dietz K.J. 2003. Divergent Light-, Ascorbate-, and Oxidative Stress-Dependent Regulation of Expression of the Peroxiredoxin Gene Family in *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 131: 317-325.
59. Dietz K. J. 2011. Peroxiredoxins in Plants and Cyanobacteria, *Antioxidant and Redox Signaling*, 15: 1129-1159.
60. Kim Y. O., Pan S., Jung C. H., Kang H. A. 2007. Zinc Finger-Containing Glycine-Rich RNA-Binding Protein, Atrz-1a, has A Negative Impact on Seed Germination and Seedling Growth of *Arabidopsis thaliana* under Salt or Drought Stress Conditions, *Plant Cell Physiology*, 48: 1170-1181.
61. Zörb C., Schmitt S., Muhling K. H. 2010. Proteomic Changes in Maize Roots after Short-Term Adjustment to Saline Growth Conditions, *Proteomics*, 10: 4441-4449.
62. Zhu J. K. 2002. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants, *Annual Reviews of Plant Biology*, 53: 247-273.
63. Cheng Y. W., Qi Y. C., Zhu Q., Chen X., Wang N., Zhao X., Chen H. Y., Cui X. J., Xu L. L., Zhang W. 2009. New Changes in the Plasma-Membrane-Associated Proteome of Rice Roots under Salt Stress, *Proteomics*, 9: 3100-3114.
64. Zhang L., Tian L. H., Zhao J. F., Song Y., Zhang C. J., Guo Y. 2009. Identification of an Apoplasmic Protein Involved in the Initial Phase of Salt Stress Response in Rice Root by Two-Dimensional Electrophoresis, *Plant Physiology*, 149: 916-928.
65. Cao Y. R., Chen S. Y., Zhang J. S. 2008. Ethylene Signaling Regulates Salt Stress Response: An Overview, *Plant Signaling and Behavior*, 3: 761-763.
66. Mahajan S., Pandey G. K., Tuteja N. 2008. Calcium- and Salt-Stress Signaling in Plants: Shedding Light on SOS Pathway, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 471: 146-158.
67. Misra S., Wu Y., Venkataraman G., Sopory S. K., Tuteja N. 2007. Heterotrimeric G-Protein Complex and G-Protein-Coupled Receptor from a Legume (*Pisum sativum*): Role in Salinity and Heat Stress and Cross-Talk with Phospholipase C, *Plant Journal*, 51: 656-669.
68. Perfus-Barbeoch L., Jones A.M., Assmann S. M. 2004. Plant Heterotrimeric G Protein Function: Insights from *Arabidopsis* and *Rice* Mutants, *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 719-731.
69. Bolte S., Schiene K., Dietz K.-J. 2000. Characterization of a Small GTP-Binding Protein of the Rab 5 Family in *Mesembryanthemum crystallinum* with Increased Level of Expression during Early Salt Stress, *Plant Molecular Biology*, 42: 923-935.
70. Wu K., Rooney M. F., Ferl R. J. 1997. The *Arabidopsis* 14-3-3 Multigene Family, *Plant Physiology*, 114: 1421-1431.
71. Palmgren M. G. 1998. Proton Gradients and Plant Growth: Role of The Plasma Membrane H⁺-ATPase, *Advanced in Botanical Research*, 28: 1-70.

72. Malakshah S. N., Rezaei M. H., Heidari M., Salekdeh G. H. 2007. Proteomics Reveals New Salt Responsive Proteins Associated with Rice Plasma Membrane, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 71: 2144-2154.
73. Wrzaczek M., Hirt H. 2001. Plant MAP Kinase Pathways: How Many and What For? *Biology of The Cell*, 93: 81-87.
74. Ndimba B. K., Chivasa S., Simon W. J., Slabas A. R. 2005. Identification of *Arabidopsis* Salt and Osmotic Stress Responsive Proteins using Two-Dimensional Difference Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry, *Proteomics*, 5: 4185-4196.
75. Chattopadhyay A., Subba P., Pandey A., Bhushan D., Kumar R., Datta A., Chakraborty S., Chakraborty N. 2011. Analysis of the Grasspea Proteome and Identification of Stress-Responsive Proteins upon Exposure to High Salinity, Low Temperature, and Abscisic Acid Treatment, *Phytochemistry*, 72: 1293-1307.
76. Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J.-K., Bohnert H. J. 2000. Plant Cellular and Molecular Responses to High Salinity, *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 463-499.
77. Sanders D., Pelloux J., Brownlee C., Harper J. F. 2002. Calcium at the Crosse Roads of Signaling, *Plant Cell*, 1: 401-417.
78. Shi H. Z., Ishitani M., Kim C. S., Zhu J. K. 2000. The *Arabidopsis thaliana* Salt Tolerance Gene SOS1 Encodes a Putative Na⁺/H⁺ Antiporter, *Proceedings of The National Academy of Sciences, USA*, 97: 6896-6901.
79. Chitteti B. R., Peng Z. H. 2007. Proteome and Phosphoproteome Differential Expression under Salinity Stress in Rice (*Oryza sativa*) Roots, *Journal of Proteome Research*, 6: 1718-1727.
80. Gong Z. Z., Koiwa H., Cushman M. A., Ray A., Bufford D., Kore-Eda S., Matsumoto T. K., Zhu J. H., Cushman J. C., Bressan R. A., Hasegawa P. M. 2001. Genes that are Uniquely Stress Regulated in Salt Overly Sensitive (SOS) Mutants, *Plant Physiology*, 126: 363-375.
81. Chinnusamy V., Jagendorf A., Zhu J. K. 2005. Understanding and Improving Salt Tolerance in Plants: Genetic and Metabolic Engineering for Value-Added Traits, *Crop Science Society of America*, 45: 437-448.
82. Barkla B. J., Vera-Estrella R., Camacho-Emitterio J., Pantoja O. 2002. Na⁺/H⁺ Exchange in the Halophyte *Mesembryanthemum crystallinum* is Associated with Cellular Sites of Na⁺ Storage, *Functional Plant Biology*, 29: 1017-1024.
83. Yazaki K. 2006. ABC Transporters Involved in the Transport of Plant Secondary Metabolites, *FEBS Letters*, 580: 1183-1191.
84. Lee E. K., Kwon M., Ko J.-H., Yi H., Hwang M. G., Chang S., Cho M. H. 2004. Binding of Sulfonylurea by AtMRP5, an *Arabidopsis* Multidrug Resistance-Related Protein That Functions in Salt Tolerance, *Plant Physiology*, 134: 528-538.
85. Moons A. 2003. *Ospdr9*, which Encodes a PDR-Type ABC Transporter, is Induced by Heavy Metals, Hypoxic Stress and Redox Perturbations in Rice Roots, *FEBS Letters*, 553: 370-376.
86. Dreyer I., Uozumi N. 2011. Potassium Channels in Plant Cells, *FEBS Journal*, 278: 4293-4303.
87. Kawasaki S., Borchert C., Deyholos M., Wang H., Brazille S., Kawai K., Galbraith D., Bohnert H. J. 2001. Gene Expression Profiles during the Initial Phase of Salt Stress in Rice, *Plant Cell*, 13: 889-905.
88. Laohavisit A., Brown A. T., Cicuta P., Davies J. M. 2010. Annexins: Components of the Calcium and Reactive Oxygen Signaling Network, *Plant Physiology*, 152: 1824-1829.
89. Yan S., Tang Z., Su W., Sun W. 2005. Proteomic Analysis of Salt Stress-Responsive Proteins in Rice Root, *Proteomics*, 5: 235-244.

90. 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*), *Functional and Integrative Genomics*, 10: 277-291.
91. Luan S. 2002. Signaling Drought in Guard Cells, *Plant Cell and Environment*, 25: 229-237.
92. Campetelli A. N., Previtali G., Arce C. A., Barra H. S., Casale C. H. 2005. Activation of the Plasma Membrane H⁺-Atpase of *Saccharomyces cerevisiae* by Glucose is Mediated by Dissociation of the H⁺-Atpase-Acetylated Tubulin Complex, *FEBS Journal*, 272: 5742-5752.
93. Drykova D., Cenklova V., Sulimenko V., Volc J., Draber P., Binarova P. 2003. Plant Gamma-Tubulin Interacts With Alpha Beta-Tubulin Dimers and Forms Membrane-Associated Complexes, *Plant Cell*, 15: 465-480.
94. Liepman A. H., Wightman R., Geshi N., Turner S. R., Scheller H. V. 2010. *Arabidopsis*-A Powerful Model System for Plant Cell Wall Research, *Plant Journal*, 61: 1107-1121.
95. Degenhardt B., Gimmler H. 2000. Cell Wall Adaptations to Multiple Environmental Stresses in Maize Roots, *Journal of Experimental Botany*, 51: 595-603.
96. Neves G. Y. S., Marchiosi R., Ferrarese M. L. L., Siqueira-Soares R. C., Ferrarese-Filho O. 2010. Root Growth Inhibition and Lignification Induced By Salt Stress in Soybean, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 196: 467-473.
97. Sánchez-Aguayo I., Rodríguez-Galán J. M., García R., Torreblanca J., Pardo J. M. 2004. Salt Stress Enhances Xylem Development and Expression of S-Adenosyl-L-Methionine Synthase in Lignifying Tissues of Tomato Plants, *Planta*, 220: 278-285.
98. Bonawitz N. D., Chapple C. 2010. The Genetics of Lignin Biosynthesis: Connecting Genotype to Phenotype, *Annual Reviews of Genetics*, 44: 337-363.
99. Pakusch A. E., Kneusel R. E., Matern U. 1989. S-Adenosyl-L Methionine:Transcaffeoyl-Coenzyme A 3-O-Methyltransferase from Elicitor-Treated Parsley Cell Suspension Cultures, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 271: 488-494.
100. Zhong R., Morrison III W. H., Negrel J., Ye Z. H. 1998. Dual Methylation Pathways in Lignin Biosynthesis, *Plant Cell*, 10: 2033-2046.
101. Veeranagamallaiah G., Jyothsnakumari G., HIPPESWAMY M., Reddy P. C. O., Surabhi G.-K., Sriranganaykulu G., Manesh Y., Rajasekhar B., Madhurarekha C.H., Sudhakar C. 2008. Proteomic analysis of Salt Stress Responses in Foxtail Millet (*Setaria italica* L. Cv. Prasad) Seedlings, *Plant Science*, 175: 631-641.
102. Yeo A. R., Flowers S. A., Rao G., Welfare K., Senanayake N., Flower T. J. 1999. Silicon Reduces Sodium Uptake in Rice (*Oryza sativa* L.) in Saline Conditions and This is Accounted for by a Reduction in the Transpirational Bypass Flow, *Plant Cell and Environment*, 22: 559-565.