



**MISIR (*Zea mays* L.) FİDELERİNDE  
TİYOÜRE TEŞVİKLİ TUZ TOLERANSININ  
TRANSKRİPTOMİK VE PROTEOMİK ANALİZLERİ**

**DOKTORA TEZİ**  
**Emre PEHLİVAN**

**Danışman**  
**Prof. Dr. Mustafa YILDIZ**

**İkinci Danışman**  
**Doç. Dr. Hakan TERZİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**  
**Mayıs 2025**

Bu tez çalışması 22.FEN.BİL.39 ve 21.FENED.04 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**MISIR (*Zea mays* L.) FİDELERİNDE TİYOÜRE TEŞVİKLİ  
TUZ TOLERANSININ TRANSKRİPTOMİK VE PROTEOMİK  
ANALİZİ**

**Emre PEHLİVAN**

**(“Biyoinformatik” tematik alanında 100/2000 YÖK Doktora  
Bursiyeri)**

**Danışman**

**Prof. Dr. Mustafa YILDIZ**

**İkinci Danışman**

**Doç. Dr. Hakan TERZİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**Mayıs 2025**

## TEZ ONAY SAYFASI

Emre PEHLİVAN tarafından hazırlanan “**Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerinde Tiyoüre Teşvikli Tuz Toleransının Transkriptomik ve Proteomik Analizleri**” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilişkili maddeleri uyarınca 02/05/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

**İkinci Danışman** : Doç. Dr. Hakan TERZİ

**Başkan** : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi

**Üye** : Prof. Dr. Mehmet Oğuz ÖZTÜRK  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi

**Üye** : Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN  
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi

**Üye** : Doç. Dr. Barış UZILDAY  
Ege Üniversitesi,  
Fen Fakültesi

**Üye** : Doç. Dr. Hakan TERZİ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun

...../...../..... tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Bekir YALÇIN

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

### Afyon Kocatepe Üniversitesi

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilişkili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**02 / 05 / 2025**

**Emre PEHLİVAN**

## ÖZET

Doktora Tezi

### MISIR (*Zea mays* L.) FİDELERİNDE TİYOÜRE TEŞVİKLİ TUZ TOLERANSININ TRANSKRİPTOMİK VE PROTEOMİK ANALİZİ

Emre PEHLİVAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Mustafa YILDIZ

**İkinci Danışman:** Doç. Dr. Hakan TERZİ

Tuz stresi, bitkisel üretimin önündeki en büyük kısıtlamaların başında gelmektedir. Bu araştırmada, mısırdaki (*Zea mays* L.) tuz stresine tolerans kazandırmak için tiyoüre (TÜ) kullanımının etki mekanizmasını ortaya koymak amacıyla fizyolojik, biyokimyasal, transkriptomik ve proteomik analizler gerçekleştirilmiştir. Mevcut araştırmada, mısır fideleri kontrol, TÜ (35 µM), NaCl (100 mM) ve TÜ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Tuz stresi mısır fidelerinin gövde taze ve kuru ağırlığında önemli bir azalmaya neden olmuş, ortama TÜ ilavesi gövde taze ve kuru ağırlığını önemli ölçüde artırmıştır. Tuz stresi mısır fidelerinin yapraklarında MDA içeriğini artırmış ve antioksidan enzimlerin ifade seviyelerini değiştirmiştir. TÜ+NaCl uygulamasında MDA içeriğinde azalmaya neden olmuş ve antioksidan enzim aktivitesini teşvik etmiştir. Tuz stresi yaprak prolin içeriğinde önemli bir artışa neden olmuş, ortama TÜ ilavesi ile yaprak prolin birikimini önemli düzeyde azaltmıştır. Transkriptomik ve proteomik analizler, bitki gelişim evrelerine veya farklı çevresel faktörlere bağlı olarak ifadesinde değişiklik gösteren genlerin ve proteinlerin belirlenmesini sağlamaktadır. NaCl'ün tek başına ve TÜ ile birlikte uygulandığı durumlarda, mısır yaprak dokusunda ifadesi artan ya da azalan yönde değişen çok sayıda gen ve protein saptanmıştır. RNA-seq analizi ile NaCl'e göre TÜ+NaCl uygulamalarına maruz kalan mısır fidelerinin yapraklarında çoğu strese yanıtın belirteçleri olan 49 genin ifade profillerinde değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. NaCl'e göre TÜ+NaCl uygulamasında, gen ontolojisi (GO) analizlerine göre DEG'lerin strese yanıt, sekonder metabolit biyosentezi, karbohidrat metabolizması,

hücre duvarı sentezi ve hormon biyosentezi ile ilgili genler olduğu tespit edilmiştir. nLC–MS/MS analizi ile kontrole göre NaCl ve NaCl’e göre TÛ+NaCl uygulamalarında 145 proteinin ifade seviyelerinde değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. GO analizlerine göre DEP’lerin fotosentez, taşıma sistemi, antioksidan sistem, protein metabolizması ve trikarboksilik asit döngüsü ve elektron taşıma sistemi ile ilgili proteinler olduğu tespit edilmiştir. İfadesinde değişiklik gösteren dokuz genin qPCR ile yapılan validasyon sonuçları, RNA–seq verileri ile korelasyon göstermiştir. TÛ uygulamasının tuz stresini hafifletmek için farklı sinyal ve efektör mekanizmalarını, mısırın erken fide gelişimi evresinde düzenlediği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, bitkilerde TÛ’nün tuza tolerans kazanılması bakımından etkili bir biyodüzenleyici olarak kullanılma potansiyelinin olabileceğini göstermektedir.

**2025, xv + 232 sayfa**

**Anahtar kelimeler:** *Zea mays* L., NaCl, Tiyoüre, RNA–seq, nLC–MS/MS, Transkriptomik, Proteomik.

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### TRANSCRIPTOMIC AND PROTEOMIC ANALYSIS OF THIOUREA-INDUCED SALT TOLERANCE IN MAIZE (*Zea mays* L.) SEEDLINGS

Emre PEHLİVAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

**Supervisor:** Prof. Mustafa YILDIZ

**Co-Supervisor:** Assoc. Prof. Hakan TERZİ

Salt stress is one of the major constraints to crop production. In this study, physiological, biochemical, transcriptomic and proteomic analyses were carried out to reveal the mechanism of action of thiourea (TU) to induce salt stress tolerance in maize (*Zea mays* L.). In the present study, maize seedlings were exposed to control, TU (35  $\mu$ M), NaCl (100 mM), and TU+NaCl treatments. Salt stress caused a significant decrease in stem fresh and dry weight of maize seedlings, while the addition of TU to the medium significantly increased stem fresh and dry weight. Salt stress increased MDA content and altered the expression levels of antioxidant enzymes in the leaves of maize seedlings. TU+NaCl treatment caused a decrease in MDA content and promoted antioxidant enzyme activity. Salt stress caused a significant increase in leaf proline content, and the addition of TU to the medium significantly reduced leaf proline accumulation. Transcriptomic and proteomic analyses allow the identification of genes and proteins whose expression changes depending on plant developmental stages or different environmental factors. Numerous genes and proteins whose expressions increased or decreased in maize leaf tissue when NaCl was applied alone or in combination with TU were identified. RNA-seq analysis revealed changes in the expression profiles of 49 genes, most of which are markers of stress response, in the leaves of maize seedlings exposed to TU+NaCl treatments compared to NaCl. According to gene ontology (GO) analysis, DEGs were found to be genes related to

stress response, secondary metabolite biosynthesis, carbohydrate metabolism, cell wall synthesis and hormone biosynthesis in TU+NaCl treatment compared to NaCl. nLC–MS/MS analysis revealed that 145 proteins showed changes in their expression levels in NaCl and TU+NaCl treatments compared to control. According to GO analysis, DEPs were identified as proteins related to photosynthesis, transport system, antioxidant system, protein metabolism and tricarboxylic acid cycle and electron transport system. The results of qPCR validation of nine genes with altered expression correlated with RNA–seq data. TU application was found to regulate different signaling and effector mechanisms to alleviate salt stress at the early seedling development stage of maize. These results suggest that TU may have the potential to be used as an effective bioregulator for the acquisition of salt tolerance in plants.

**2025, xv + 232 pages**

**Key words:** *Zea mays* L., NaCl, Thiourea, RNA–seq, nLC–MS/MS, Transcriptomics, Proteomics.

## TEŞEKKÜR

Mevcut doktora tez araştırma konusunun belirlenmesi, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a ve ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Hakan TERZİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarım sürecinde yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans öğrencisi Nurgül SÖNMEZ'e teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 22.FEN.BİL.39 ve 22.FENED.04 nolu projeler ile destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı annem Vecibe PEHLİVAN'a, eşim Ayşen PEHLİVAN'a ve canım kızım Nare Yaz PEHLİVAN'a çok teşekkür ederim.

Emre PEHLİVAN  
Afyonkarahisar 2025

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

|                                                                                              | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET .....                                                                                   | i     |
| ABSTRACT .....                                                                               | iii   |
| TEŞEKKÜR .....                                                                               | v     |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....                                                                      | vi    |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                         | ix    |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                        | xi    |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                                                       | xiv   |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                | 1     |
| 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....                                                                 | 4     |
| 2.1 Mısır ( <i>Zea mays</i> L.) Bitkisi .....                                                | 4     |
| 2.2. Tuz Stresi ve Tuz Toleransı .....                                                       | 4     |
| 2.3 Tuz Stresine Yanıt Genleri .....                                                         | 12    |
| 2.3 Biyodüzenleyici Uygulamaları ile Tuz Toleransının Artırılması.....                       | 22    |
| 2.3.1 Tiyoüre–Teşvikli Artırılmış Stres Toleransının Mekanizmaları .....                     | 28    |
| 2.3.2 Tuz Stresi Koşullarında Gen İfade Profili Üzerine Biyodüzenleyicilerin Etkisi .....    | 34    |
| 2.4 Tuz Stresine Yanıtta Rol Alan Proteinler.....                                            | 41    |
| 2.5 Tuz Stresi Koşullarında Proteom Değişimleri Üzerine Biyodüzenleyicilerin Etkisi .....    | 48    |
| 3. MATERYAL ve METOT .....                                                                   | 54    |
| 3.1 Bitki Materyali ve Bitki Yetiştirme Koşulları.....                                       | 54    |
| 3.2 Fidelerin Taze ve Kuru Ağırlıklarının Belirlenmesi .....                                 | 54    |
| 3.3 Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi .....                                               | 55    |
| 3.4 Antioksidan Enzim Aktiviteleri .....                                                     | 55    |
| 3.5 Sodyum (Na <sup>+</sup> ) ve Potasyum (K <sup>+</sup> ) İçeriklerinin Belirlenmesi ..... | 56    |
| 3.6 Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi .....                                                   | 56    |
| 3.7 Prolin İçeriğinin Belirlenmesi .....                                                     | 57    |
| 3.8 RNA–Seq Analizleri .....                                                                 | 57    |
| 3.8.1 RNA Ekstraksiyonu .....                                                                | 57    |
| 3.8.2 RNA–Seq Analizleri.....                                                                | 60    |

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.8.3 RNA–Seq Verilerinin Gerçek Zamanlı Kantitatif PCR (qRT–PCR) ile Doğrulanması.....                                             | 61 |
| 3.9 Proteomik Analizler .....                                                                                                       | 62 |
| 3.9.1 Protein Ekstraksiyonu .....                                                                                                   | 62 |
| 3.9.2 Tripsin ile Proteinlerin Kesimi ve Peptit Örneklerinin Hazırlanması.....                                                      | 63 |
| 3.9.3 Nano–Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometrisi (nLC–MS/MS) Analizleri                                                          | 63 |
| 3.10 İstatistik Analizler .....                                                                                                     | 64 |
| 3.10.1 Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Veri Analizi.....                                                                  | 64 |
| 3.10.2 RNA–Seq Veri Analizi.....                                                                                                    | 65 |
| 3.10.3 nLC–MS/MS Veri Analizi.....                                                                                                  | 66 |
| 4. BULGULAR .....                                                                                                                   | 68 |
| 4.1 Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizler.....                                                                                       | 68 |
| 4.1.1 NaCl ve Tü Uygulamalarının Büyüme Üzerine Etkisi .....                                                                        | 68 |
| 4.1.2 Element İçeriklerinin Belirlenmesi.....                                                                                       | 69 |
| 4.1.3 Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi.....                                                                                         | 70 |
| 4.1.4 Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi...                                                     | 70 |
| 4.1.5 Prolin İçeriğinin Belirlenmesi.....                                                                                           | 71 |
| 4.2 Transkriptomik Analizler .....                                                                                                  | 72 |
| 4.2.1 Mısır Yapraklarında Diferansiyel Olarak İfade Edilen Genlerin İfade Profilleri Üzerine NaCl ve Tü Uygulamalarının Etkisi..... | 72 |
| 4.2.2 Diferansiyel Olarak İfade Edilen Genlerin Belirlenmesi.....                                                                   | 72 |
| 4.2.3 Moleküler Fonksiyon ve Yolak Analizleri .....                                                                                 | 73 |
| 4.2.4 RNA–Seq Verilerinin Biyoinformatik Programlar ile Görselleştirilmesi .....                                                    | 77 |
| 4.2.4.1 Kontrole Göre NaCl Uygulamasında İfadesi Değişen Genler ve Yolakları .....                                                  | 77 |
| 4.2.3.2 Kontrole Göre Tü+NaCl Uygulamasında İfadesi Değişen Genler ve Yolakları .....                                               | 80 |
| 4.2.3.3 NaCl'e Göre Tü+NaCl Uygulamasında İfadesi Değişen Genler ve Yolakları .....                                                 | 83 |
| 4.2.5 RNA–Seq Verilerinin qPCR ile Doğrulanması .....                                                                               | 90 |
| 4.3 Proteomik Analizler .....                                                                                                       | 91 |
| 4.3.1 Mısır Yapraklarında Diferansiyel Olarak İfade Edilen Proteinlerin İfade                                                       |    |

|                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Profilleri Üzerine NaCl ve Tü Uygulamalarının Etkisi .....                                                           | 91  |
| 4.3.2 Mısır Yapraklarında Diferansiyel Olarak İfade Edilen Proteinlerin Zenginleştirme Analizi .....                 | 93  |
| 4.3.3 DEP'lerin Fonksiyonel Açıklamaları.....                                                                        | 96  |
| 4.3.3.1 Fotosentez ile İlişkili DEP'ler .....                                                                        | 96  |
| 4.3.3.2 Taşıma Sistemi ile İlişkili DEP'ler.....                                                                     | 99  |
| 4.3.3.3 Antioksidant Sistem ve Tuz Stresi ile İlişkili DEP'ler.....                                                  | 101 |
| 4.3.3.4 Protein Metabolizması ile İlişkili DEP'ler .....                                                             | 103 |
| 4.3.3.5 Trikarboksilik Asit ve Elektron Taşıma Zinciri ile İlişkili DEP'ler.....                                     | 105 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....                                                                                           | 107 |
| 5.1 Tuz Stresi Altındaki Mısır Fidelerinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Tiyoürenin Etkileri ..... | 107 |
| 5.2 Tuz Stresi Altındaki Mısır Fidelerinde Tiyoürenin Transkriptomik Değişimler Üzerine Etkileri .....               | 110 |
| 5.3 Tuz Stresi Altındaki Mısır Fidelerinde Tiyoürenin Proteomik Değişimler Üzerine Etkileri.....                     | 124 |
| 6. KAYNAKLAR.....                                                                                                    | 142 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                                        | 230 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

|                               |                   |
|-------------------------------|-------------------|
| NH <sub>4</sub>               | Amonyum           |
| NO <sub>3</sub>               | Nitrat            |
| Cu                            | Bakır             |
| Zn                            | Çinko             |
| N                             | Azot              |
| H <sub>2</sub> S              | Hidrojen sülfür   |
| Ca                            | Kalsiyum          |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Hidrojen peroksit |
| Cl                            | Klor              |
| S                             | Kükürt            |
| Mg                            | Magnezyum         |
| Mn                            | Mangan            |
| µL                            | Mikrolitre        |
| µM                            | Mikromolar        |
| mL                            | Mililitre         |
| mM                            | Milimolar         |
| K                             | Potasyum          |
| Si                            | Silikon           |
| Na                            | Sodyum            |
| NaCl                          | Sodyum klorür     |

### Kısaltmalar

|           |                                                      |
|-----------|------------------------------------------------------|
| ABC       | ATP bağımlı kaset                                    |
| APX       | Askorbat peroksidaz                                  |
| AsA       | Askorbik asit                                        |
| BS        | Biyolojik süreç                                      |
| CAT       | Katalaz                                              |
| CPK       | Kalsiyum bağımlı protein kinaz                       |
| DEP       | Diferansiyel olarak ifade olan protein               |
| DEG       | Diferansiyel olarak ifade olan gen                   |
| ETS       | Elektron taşıma sistemi                              |
| GO        | Gen Ontolojisi                                       |
| GR        | Glutatyan redüktaz                                   |
| GSH       | Glutatyon                                            |
| GST       | Glutatyon S-transferaz                               |
| HB        | Hücre sel bileşen                                    |
| HKT       | Yüksek affiniteli potasyum taşıyıcıları              |
| HSP       | Isı şoku proteini                                    |
| KEGG      | Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi               |
| LEA       | Geç embriyogenez bol proteinleri                     |
| LHC       | Işık hasat kompleksi                                 |
| nLC-MS/MS | Nano-Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometrisi |
| MAPK      | Mitojenle aktive olan protein kinaz                  |
| MDA       | Malondialdehit                                       |

|         |                                            |
|---------|--------------------------------------------|
| MF      | Moleküler fonksiyon                        |
| NRAMP   | Doğal dirençle ilişkili makrofaj protein   |
| NSCC    | Seçici olmayan katyon kanalı               |
| P5CS    | Delta-1-prolin-5-karboksilat sentetaz      |
| PEG     | Polietilen glikol                          |
| PDH     | Prolin dehidrojenaz                        |
| POD     | Peroksidaz                                 |
| PSI     | Fotosistem I                               |
| PSII    | Fotosistem II                              |
| ROT     | Reaktif oksijen türü                       |
| RuBisCO | Rubiloz 1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz |
| SOD     | Süperoksit dismutaz                        |
| SOS     | Tuza aşırı duyarlı                         |
| TCA     | Trikarboksilik asit                        |
| TF      | Transkripsiyon faktörü                     |
| TÜ      | Tiyoüre                                    |

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                             | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1 Bitkilerde tuz zararının mekanizması .....                                                                                                                                                        | 6     |
| Şekil 2.2 Bitkilerde farklı çevresel stresler altında Tü'nün etki şeklinin şematik gösterimi.....                                                                                                           | 29    |
| Şekil 2.3 Bitkilerde abiyotik stres ve biyodüzenleyicilerin etkisi a) Abiyotik stresin bitkiler üzerinde etkisinin gösterimi, .....                                                                         | 35    |
| Şekil 4.1 Mısır fidelerinde kontrol, Tü (35 µM), NaCl (100 mM) ve Tü+NaCl uygulamalarının büyüme üzerine etkisi. ....                                                                                       | 68    |
| Şekil 4.2 Kontrol, NaCl (100 mM) ve Tü+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen DEG'lerin sayısı.....                                                          | 77    |
| Şekil 4.3 DEG'lerin kontrole göre NaCl uygulamasında gerçekleştirilen GO sınıflandırmasının histogram gösterimi. ....                                                                                       | 78    |
| Şekil 4.4 Kontrole göre NaCl uygulamasında DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizinde gen sayısına göre sıralamada ilk 20 terim içerisinde yer alan DEG'lerin kat zenginleştirme grafiği. ....    | 79    |
| Şekil 4.5 Kontrole göre NaCl uygulamasında tespit edilen ve biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği. ....                                 | 79    |
| Şekil 4.6 Mısır fidelerinin yaprak dokularında kontrole göre NaCl uygulamalarının karşılaştırılması ile elde edilen DEG'lerin a) ısı haritası ve b) volcano plot ile gösterimi.....                         | 80    |
| Şekil 4.7 DEG'lerin kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında gerçekleştirilen GO sınıflandırmasının histogram gösterimi. ....                                                                                    | 81    |
| Şekil 4.8 Kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizinde gen sayısına göre sıralamada ilk 20 terim içerisinde yer alan DEG'lerin kat zenginleştirme grafiği. .... | 82    |
| Şekil 4.9 Kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında tespit edilen ve biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği. ....                              | 82    |
| Şekil 4.10 Mısır fidelerinin yaprak dokularında kontrole göre Tü+NaCl uygulamalarının karşılaştırılması ile elde edilen DEG'lerin a) ısı haritası ve                                                        |       |

|                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| b) volcano plot ile gösterimi. ....                                                                                                                                                                               | 83 |
| <b>Şekil 4.11</b> DEG'lerin NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında gerçekleştirilen GO sınıflandırmasının histogram gösterimi. ....                                                                                    | 84 |
| <b>Şekil 4.12</b> NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizinde gen sayısına göre sıralamada ilk 20 terim içerisinde yer alan DEG'lerin kat zenginleştirme grafiği. .... | 85 |
| <b>Şekil 4.13</b> NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında tespit edilen ve biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği. ....                              | 85 |
| <b>Şekil 4.14</b> Mısır fidelerinin yaprak dokularında NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamalarının karşılaştırılması ile elde edilen DEG'lerin a) ısı haritası ve b) volcano plot ile gösterimi. ....                     | 86 |
| <b>Şekil 4.15</b> GO zenginleştirilmesi sonucunda farklı biyolojik süreç terimlerinde zenginleştirilen genlerin dairesel ısı haritaları. ....                                                                     | 89 |
| <b>Şekil 4.16</b> Farklı şekilde ifade edilen dokuz genin ifade profilleri. ....                                                                                                                                  | 90 |
| <b>Şekil 4.17</b> qRT-PCR ile doğrulama için seçilen genlerin RNA-seq analiz sonucuna göre ifadelerinin ısı haritası ile gösterimi. ....                                                                          | 91 |
| <b>Şekil 4.18</b> NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarına yanıt olarak nLC-MS/MS analizi ile tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ....                                                                                     | 92 |
| <b>Şekil 4.19</b> DEP'lerin kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında karşılaştırmalı Venn diyagram analizi. ....                                                                                             | 93 |
| <b>Şekil 4.20</b> Kontrol'e göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarının GO: BS zenginleştirme analizi ile ilk 10 terim içerisinde yer alan DEP'lerin kat zenginleştirme ile görselleştirilmesi. ....                     | 94 |
| <b>Şekil 4.21</b> Kontrol'e göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarının GO: HB zenginleştirme analizi ile ilk 10 terim içerisinde yer alan DEP'lerin kat zenginleştirme ile görselleştirilmesi. ....                     | 95 |
| <b>Şekil 4.22</b> Kontrol'e göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarının GO: MF zenginleştirme analizi ile ilk 10 terim içerisinde yer alan DEP'lerin kat zenginleştirme ile görselleştirilmesi. ....                     | 96 |
| <b>Şekil 4.23</b> Fotosentezde kontrol'e göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi. ....                                                                   | 97 |

|                                                                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 4.24</b> Taşıma sisteminde kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilme .....          | 100 |
| <b>Şekil 4.25</b> Antioksidan sistemde kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi. ....     | 102 |
| <b>Şekil 4.26</b> Protein metabolizmasında kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi. .... | 104 |
| <b>Şekil 4.27</b> TCA döğüsü ve ETS'de kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi. ....     | 105 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                        | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>Çizelge 2.1</b> Tuz stresine yanıtta rol alan bazı anahtar genler. ....                                                                                             | 13    |
| <b>Çizelge 3.1</b> qPCR analizi için kullanılan primerlerin listesi .....                                                                                              | 62    |
| <b>Çizelge 4.1</b> Mısır fidelerinde gövde ve kökün taze ve kuru ağırlığı üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi.....                              | 69    |
| <b>Çizelge 4.2</b> Mısır fidelerinde gövde ve kökte Na ve K içerikleri üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi.....                                 | 69    |
| <b>Çizelge 4.3</b> Mısır fidelerinin yaprak dokularında klorofil içeriği üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi.....                               | 70    |
| <b>Çizelge 4.4</b> Mısır fidelerinin yaprak dokularında MDA içeriği ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi. .... | 71    |
| <b>Çizelge 4.5</b> Mısır fidelerinin yaprak dokularında prolin içeriği üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi.....                                 | 71    |
| <b>Çizelge 4.6</b> RNA–seq analizlerine ait istatistikler. ....                                                                                                        | 72    |
| <b>Çizelge 4.7</b> Uygulamalar arası karşılaştırmalar sonucunda elde edilen gen sayıları. ....                                                                         | 73    |
| <b>Çizelge 4.8</b> GO ve KEGG yolaklarında kontrol, NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarının karşılaştırılmasıyla elde edilen zenginleştirilmiş terim sayıları ( $p < 0,05$ ).. | 74    |
| <b>Çizelge 4.9</b> NaCl'e göre TÛ+ NaCl uygulamasında ifadesi değişen genler. ....                                                                                     | 87    |
| <b>Çizelge 4.10</b> Fotosentezde yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde artış gösteren DEP'ler.....                             | 98    |
| <b>Çizelge 4.11</b> Fotosentezde yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde azalış gösteren DEP'ler. ....                           | 99    |
| <b>Çizelge 4.12</b> Taşıma sisteminde yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde artış gösteren DEP'ler.....                        | 100   |
| <b>Çizelge 4.13</b> Taşıma sisteminde yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde azalma gösteren DEP'ler. ....                      | 101   |
| <b>Çizelge 4.14</b> Stres savunmada yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler.....                      | 103   |
| <b>Çizelge 4.15</b> Protein metabolizmasında yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler.....             | 104   |

**Çizelge 4.16** TCA dögüsü ve ETS’ de yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde farklılıklar gösteren DEP’ler. .... 106



## 1. GİRİŞ

Duyarlı tarımsal bitkilerinin yüksek tuzluluk, kuraklık, ağır metal toksisitesi, aşırı sıcaklık gibi çevresel stres faktörlerine maruz kalması, üretimin miktar ve kalitesini büyük ölçüde azaltmakta, ciddi ekonomik kayıplara neden olmakta ve küresel gıda güvenliğini tehdit etmektedir (Roychoudhury vd. 2009). Bu nedenle, çevresel stres toleransını iyileştirmeye yönelik genetik yaklaşımlar, özelliklerin poligenik doğası nedeniyle sınırlı başarı sağlamıştır (Roychoudhury ve Chakraborty 2013).

Dünya çapında ekilebilir arazi alanının %6'sı tuzdan etkilenmektedir. Yirmi beş yıl içinde ekilebilir arazinin %30'unun ve 21. yüzyılın ortalarına kadar ise %50'sinin kaybedilmesi beklenmektedir (Ludwig vd. 2018). Toprak tuzluluğu dünya çapında bir sorun haline gelmesi nedeniyle ürün bitkilerinin verimini tehdit etmektedir. Bu temelde, ürün verimini artırmak, toleranslı çeşitler geliştirmek ve tuzlu topraklardan maksimum düzeyde yararlanmak amacıyla bitkilerde tuza tolerans mekanizmalarının incelenmesi teorik ve pratik açıdan son derece önemlidir (Hao vd. 2021).

Bir sülfhidril bileşiği ( $\text{NH}_2\text{-CS-NH}_2$ ) olan tiyoüre (TÜ), Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği'ne (IUPAC) göre tiyokarbamid olarak da bilinmektedir (Wahid vd. 2017). TÜ'deki iki fonksiyonel grup tiyol ( $\text{-SH}$ ) ve amino ( $\text{-NH}_2$ ) iken ürede tiyol grubu yoktur. Üredeki oksijenin yerini TÜ'de kükürt aldığından üre ve TÜ farklı özelliklere sahiptir. TÜ hem azot ve kükürt içeren bir gübre hem de bir bitki büyüme biyodüzenleyicisidir. Bu nedenle, bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz etkileyen çevresel streslerin hafifletilmesi amacıyla stres koşulları altında TÜ uygulaması ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır (Wahid vd. 2017).

Transkriptomik, genom yapısının ve işlevinin açıklanmasında, hücresel, fizyolojik, biyokimyasal ve biyolojik sistemlerin altında yatan genetik ağların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca bitkilerde hastalıklara, patojenlere ve abiyotik streslere karşı yanıt veren moleküler biyobelirteçlerin oluşturulmasında önemli bir rol oynamaktadır (Jiang vd. 2015). Bu nedenle özellikle abiyotik streslere karşı bitki moleküler yanıtının anlaşılabilmesi için sıklıkla transkriptomik yöntemler kullanılmaktadır (Wang vd.

2020). Tuz stresine maruz kalan bazı bitkilerde transkriptom analizleri gerçekleştirilmiş ve farklı tuz konsantrasyonlarında bazı genlerin ifadesinin değiştiği belirlenmiştir (Gu vd. 2023, Li vd. 2023, Mei vd. 2023, Sun vd. 2023). Bu genler, bitki tuz stresini tahmin etmek ve doğrulamak için moleküler göstergeler olarak kullanılabilir. Birçok morfolojik ve fizyolojik parametre ile tuz stresinin neden olduğu zarar tespit edilebilirken, moleküler göstergeler kullanılarak tuz stresinin neden olduğu hasarın derecesini daha erken ve daha doğru bir şekilde tahmin etmek mümkündür (Hao vd. 2021).

Proteomik, proteinlerdeki post-translasyonel modifikasyonların işlevi ve protein-protein etkileşimleri ile transkriptomik analizlerle belirlenen genlerin işleyişi arasındaki ilişki hakkında önemli ayrıntıları ortaya çıkararak, moleküler temel ve geniş fenotipik karakterizasyon için giderek umut verici bir bileşen haline gelmektedir (Lin vd. 2019). Bitkilerin abiyotik streslere karşı yanıt ve tolerans mekanizmalarının anlaşılabilmesi için diferansiyel olarak ifade edilen proteinlerin (DEP'ler) kapsamlı şekilde belirlenebilmesi adına Biyoinformatik analizlerle birleştirilmiş yüksek verimlilikli proteomik analizler (nLC-MS/MS) kullanılmaktadır (Sharma vd. 2019, Sehrawat ve Deswal 2022). Bitki tuz yanıtının değerlendirilmesi ve protein mekanizmalarının anlaşılabilmesi için nLC-MS/MS analizi ile birçok proteomik çalışma gerçekleştirilmiştir (Marriboina vd. 2022, Yadav vd. 2024). Biyoinformatik tabanlı proteomik analizleri ile tespit edilen DEP'ler, bitkilerin tuz stresine yanıt ve tolerans mekanizmalarına dair kapsamlı bilgiler sunmaktadır. Dışsal biyodüzenleyici uygulamalarının tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifletici mekanizmalarını açıklamaya yönelik proteomik çalışmalar gerçekleştirilmiş olsa da (Liu vd. 2019, Muneer ve Jeong 2015) tuz stresine yanıt olarak biyodüzenleyici bir bileşik olan tiyoürenin dışsal uygulamasının tuz toleransı kazanılmasındaki etki mekanizmalarının anlaşılmasına dair proteomik çalışma mevcut değildir.

Mısır, ürün bitkileri arasında geniş ekim alanına sahip olup, küresel gıda güvenliğinde önemli rol oynayan bir bitkidir. Tuzluluk stresine duyarlı bir ürün olarak mısır (Farooq vd. 2015), tuza toleransta önemli intraspesifik genetik varyasyonlar göstermektedir (Zhang vd. 2018, Luo vd. 2019). Mısırın küresel gıda güvenliği için önemi ve birçok

toprakta zaman içinde tuzlulukta beklenen artış göz önüne alındığında, mısırdaki tuza toleransı sağlayan mekanizmaları anlamak, tuzluluğun verim üzerindeki etkilerini azaltmaya yönelik hayati bir adım olarak son derece önemlidir. Bitkilerde tuz stresi ve tuz stresinin olumsuz etkilerinin çeşitli kimyasal ajanlar kullanılarak iyileştirilmesini içeren tolerans mekanizmalarını ortaya koyan çok az sayıda transkriptomik ve proteomik çalışmalara rastlanmaktadır. Tuz stresine maruz bırakılan farklı bitkilerde dışsal olarak uygulanan glisin–betain (Chen vd. 2020), hidrojen sülfür (Jiang vd. 2020), nitrik oksit (Chen vd. 2019) ve brassinosteroid (Chen vd. 2023) gibi iyileştiricilerin transkriptomik analizleri yapılarak diferansiyel olarak ifade edilen genler (DEG’ler) değerlendirilmiş ve tuz toleransının düzenlenmesindeki rolleri belirlenmiştir. Tuz stresine maruz bırakılan farklı bitkilerde dışsal olarak uygulanan silisyum (Si) (Muneer vd. 2014), hidrojen sülfür (Liu vd. 2019) ve nitrik oksit (Shen vd. 2018) gibi iyileştiricilerin proteomik analizleri yapılarak DEP’ler değerlendirilmiş ve tuz toleransının artırılmasındaki rolleri belirlenmiştir. Bu bağlamda, tuz stresi ve tuz stresi koşullarında bazı iyileştiricilerin etkileri ile ilgili transkriptomik ve proteomik çalışmalar bulunmasına rağmen tuz stresinin iyileştirilmesinde TÜ etkisini transkriptomik ve proteomik analizlerle birlikte araştırılmasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle mevcut araştırmada, 100 mM NaCl stresi ve/veya 35 µM TÜ uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinde fizyolojik, biyokimyasal, DEG’leri taramak için Illumina RNA dizilimi ve DEP’ler için nLC–MS/MS analizleri kullanılmıştır. Tuz stresi ve/veya iyileştirici TÜ uygulamalarında yer alan genlerin ve proteinlerin ifade seviyeleri tespit edilmiştir. Biyoinformatik araçlar kullanılarak tuz toleransında rol oynayan olası yollar belirlenmiştir.

## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisi

Poaceae (Buğdaygiller) familyasından olan mısır (*Zea mays* L.) tek yıllık otsu bir bitkidir. Mısır (*Zea mays* L.) gıda, hayvan yemi ve biyoyakıt kaynağı olarak dünya genelinde en çok yetiştirilen ürünlerin başında gelmektedir (Molla vd. 2019, Choudhary vd. 2020). Mısır bitkisi ülkemizde geniş ekim alanlarına sahiptir. Mısır silaj, yeşil ve kesif yem olarak Türkiye’de hayvansal üretimdeki yem açığının kapatılması açısından önemli bir bitki türüdür (Korkmaz vd. 2019). Mısır tanesinin yemeklik yağ, biyoyakıt, mısır şurubu ve alkol üretimindeki kullanımının yanı sıra insan beslenmesinde de geniş bir kullanım alanına sahiptir (Özcan 2009). Türkiye’de mısır üretimi 8,1 milyon ton ile buğdaydan sonra 2. sırada yer almaktadır (TÜİK 2024).

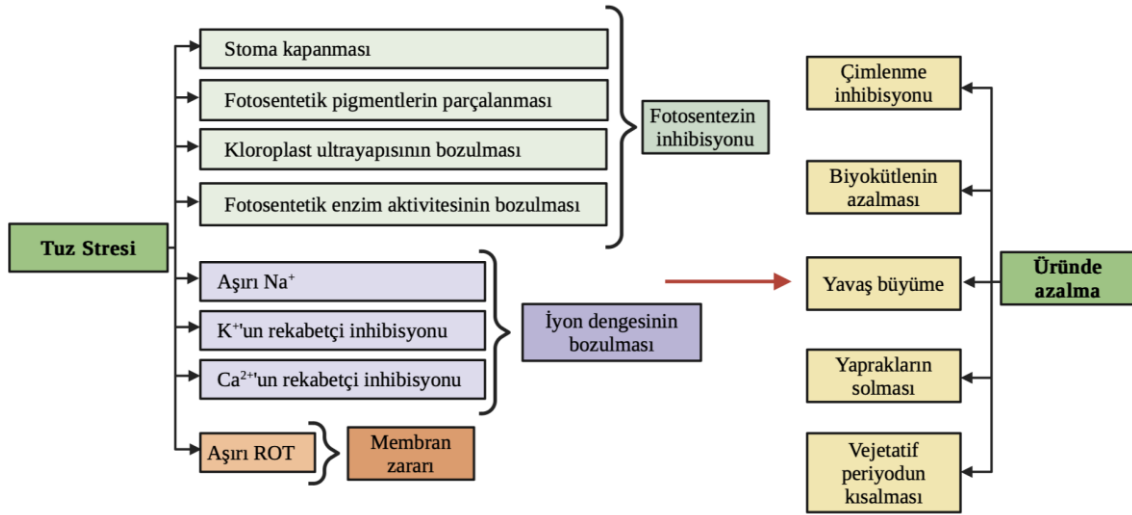
Mısır, yüksek verim ve fotosentetik etkinliğe sahip tipik bir C<sub>4</sub> bitkisidir. Mısır verimi büyük ölçüde iklim ve toprak koşullarına bağlı olmakla beraber kuraklık, tuzluluk, yüksek sıcaklık ve düşük sıcaklık gibi abiyotik stresler, verimi etkileyen önemli çevresel faktörlerdir (Wani vd. 2016). Bununla birlikte, mısır bitkisinin tuza toleranslı olmadığı bildirilmiştir (Cui vd. 2015). Tuz stresinin mısır fidelerinin fotosentetik aygıtlarına zarar vererek fide gelişimini ve verimi olumsuz etkilediği belirtilmiştir (Katerji vd. 2003, Munns vd. 2008).

### 2.2 Tuz Stresi ve Tuz Toleransı

Bitkilerde stres terimi, bitkilerin büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyen morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal işlevlerinin engellenmesine yol açan çevresel faktörler olarak tanımlanmaktadır (Akram vd. 2019, Gull vd. 2019). Stresler biyotik (zararlılar, hastalıklar, yabancı otlar vb.) veya abiyotik (toprak tuzluluğu, radyasyon, su taşkını, kuraklık, aşırı sıcaklık, organik ve inorganik kirleticiler vb.) olabilmektedir (Khan vd. 2017, Akram vd. 2019, Katiyar vd. 2022) ve tek başlarına veya kombinasyon halinde etki ederek dünya çapında tarımsal bitkilerin verimliliğini ve gıda güvenliğini etkilemektedir. Toprak tuzluluğu bitki verimliliğini olumsuz etkileyen önemli çevresel

streslerin başında gelmektedir (Talbi Zribi vd. 2018) ve dünya genelinde ekili alanların %20'sinden fazlası tuzdan etkilenmektedir (Etesami ve Noori 2019). Dünya genelinde ekilebilir alanların büyük bir kısmında yağışların çözünebilir tuzları kök bölgesinden süzmek için yetersiz olduğu ve bu durumun, antropojenik ve şiddeti iklim değişiklikleri ile giderek artabileceği düşünülmektedir (Lachhab vd. 2013). Toprak çözeltisinde tuz konsantrasyonunun 100 mM'ı aştığı birçok bölgede verimin ciddi bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (Shahbaz ve Ashraf 2013). Bitkilerde tuz stresi çimlenme, fotosentez, fide büyümesi, vejetatif büyüme, çiçeklenme ve meyve üretimini olumsuz etkileyerek verimin ve üretim kalitesinin düşmesine neden olduğu gösterilmiştir (Bybordi 2010, Sakuraba vd. 2017, Mahlooji vd. 2018, Massaretto vd. 2018).

Tüm bitkiler tuzluluğa aynı ölçüde ve/veya zamanda tepki vermezler ve farklı bitkiler tuz stresine yanıtta geniş bir tepki spektrumu sergilemektedir. Tuz stresi, glikofit ve halofit bitkilerin yanı sıra aynı familya ve cinsin farklı türleri ve çeşitleri arasında farklı etkilere sahiptir (Parihar vd. 2015). Örneğin tuz stresinin mısır, çeltik ve domates gibi birçok bitki türünde toprak üstü kısımların kütlelerini, yaprak sayısını, bitki boyunu ve bitki kök alanını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Ologundudu vd. 2014, Shtereva vd. 2015, Tanveer vd. 2020). Bunun aksine, zorunlu halofit bitkilerde ortamın tuzluluğunun büyümede artışa neden olduğu ve bu durumun konsantrasyona bağlı olarak değişkenlik gösterebileceği de bildirilmiştir (Panta vd. 2014). Bu bitkiler, maksimum büyüme potansiyellerini ifade etmek için belirli bir tuz konsantrasyonuna ihtiyaç duymaktadırlar. Tuzluluğun etkileri türler arasında değişiklik gösterse de tuzluluk ozmotik stres ve iyon toksisitesini takiben, fotosentez mekanizmasının, su ve mineral besin dengesinin bozulması sonucunda büyüme inhibisyonuna, ürün veriminde düşüşe ve hatta bitkinin ölümüne neden olmaktadır (Şekil 2.1) (Zhao vd. 2021).



**Şekil 2.1** Bitkilerde tuz zararının mekanizması (Hao vd. 2021'den değiştirilerek).

Tuzlu koşullar altında bitkiler, ortaya çıkan stresle başa çıkabilmek ve yaşamlarını sürdürebilmek için farklı fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları harekete geçirmek zorundadır. Bu mekanizmalar morfoloji, anatomi, su ilişkileri, fotosentez, toksik iyon dağılımı ve biyokimyasal adaptasyondaki (antioksidatif metabolizma tepkisi gibi) değişiklikleri içermektedir (Balasubramaniam vd. 2023).

Tuzluluğun yaprak anatomisi üzerindeki etkilerine bakıldığında, *Atriplex*, *Faba* ve *Gossypium* yapraklarının epidermis, palizat ve sünger parankiması ile mezofil kalınlığının, hücre uzunluğunun ve hücre çapının artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Zhang vd. 2014, Mata–González vd. 2017, Afzal vd. 2022). Bunun aksine mangrovlarda (*Bruguiera sexangula*), epidermis, mezofil kalınlığının ve yapraklardaki hücreler arası boşluğun azaldığı gösterilmiştir (Basyuni ve Manalu 2021). Buğdayda, tuz stresi koşullarında bayrak yaprağın alanı önemli ölçüde azaldığı ve verimin önemli ölçüde sınırlandığı rapor edilmiştir (Seleiman vd. 2022). Tuz stresinin patates yapraklarında vakuolasyonun artmasına, endoplazmik retikulum ve mitokondri gelişiminde inhibisyona, tonoplastın parçalanmasına, sitoplazma ve vakuol matrislerini karıştırarak sitoplazmik bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir (Kolomeichuk vd. 2020).

Tuz stresine bağlı olarak fotosentetik mekanizmasındaki bozulmanın enzimatik aktivitelerdeki değişiklikler (Delatorre–Herrera vd. 2021, Al–Hinai vd. 2022), klorofil

biyosentezinin inhibisyonu (Qin vd. 2020), fotosentetik aparatın hasar görmesi (Tokarz vd. 2021), PSII'den PSI'e elektron akışının kısıtlanması (He vd. 2021), ısı enerjisinin fotokimyasal olmayan dağılımı (Killi ve Haworth 2017), gen ifadesinde gerçekleşen değişiklikler (Seo vd. 2020) ve hidrostatik stoma kapanması nedeniyle CO<sub>2</sub> özümlemesinin azalması (Bose vd. 2017, Farooq vd. 2017) gibi çeşitli faktörlerle yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Pan vd. 2024). Stomaların tuz stresine bağlı olarak kapanması, fiksasyon için gereken mevcut CO<sub>2</sub> miktarını ve CO<sub>2</sub> özümleyici enzimlerin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Tabatabaei ve Ehsanzadeh 2016, Martin–StPaul vd. 2017, Zahedi vd. 2022). Elektron taşıma zincirinin tuz stresi kaynaklı inhibisyonunun, psödosiklik elektron taşınımına yol açarak ROT'ların aşırı birikimine neden olduğu bildirilmiştir (Al–Farsi vd. 2020, Yan vd. 2021, Zahra vd. 2021). Tuz stresi altında ROT'ların aşırı birikimi birincil kinon alıcısından (Q<sub>A</sub>) ikincil kinon alıcısına (Q<sub>B</sub>) elektron transferini engelleyerek; (1) oksidatif patlama üretme eğiliminde olan yük rekombinasyonu için mevcut elektronların birikmesine neden olur (Ahanger ve Agarwal 2017), (2) fotosentetik proteinlere ve PSII reaksiyon merkezine zarar verir (Zhang vd. 2013, Huihui vd. 2020) ve (3) PSII onarım mekanizmasını inhibe eder (Allakhverdiev vd. 2002). Bununla birlikte, tuz stresinin PSII işlevi üzerindeki etkisi tuz konsantrasyonu, strese maruz kalma süresi ve bitki türleriyle ilişkilidir. Buna ek olarak, tuz stresi PSI ve sitokrom b<sub>6</sub>f etrafındaki döngüsel elektron taşınımını engelleyerek fotokorumayı da bozduğu bildirilmiştir (Yue vd. 2019). Bununla birlikte, tuz stresi ribuloz–1,5–bisfosfat izomeraz, aldolaz, transketolaz, sedoheptuloz 1,7–bisfosfat, fruktoz 1,6–bisfosfat, ribuloz–1,5–bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCO), ribuloz–5–fosfat izomeraz, ribuloz–5–fosfat, fosfoenolpiruvat karboksilaz, ortofosfat dikinaz, gliseraldehit–3–fosfat dehidrogenaz, fosfogliserat kinaz ve fosfofruktokinaz gibi fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında fonksiyon gören enzimlerin aktivitesini düşürdüğü bildirilmiştir (Lin vd. 2018, Pompelli vd. 2021, Sharma vd. 2020, Sivakumar vd. 2000, Wanichthanarak vd. 2020). Tuz stresi kaynaklı enzim inhibisyonları direkt ya da dolaylı olarak fotosentez verimini düşürdüğü ve bu durumun da karbon ve enerji metabolizmasını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Pan vd. 2024).

Tuz stresi altında bitkilerdeki mikro ve makro besin konsantrasyonu, bitki türüne, bitkilerin tuzluluğa toleransına, topraktaki makro ve mikro besin konsantrasyonlarına,

toprak çözeltisinin pH'sına, mineral ve organik partiküllerin yüzey komplekslerindeki adsorpsiyon olaylarına ve farklı çevresel koşullara bağlı olarak artabilir, azalabilir veya etkilenmeyebilir (Dhaliwal vd. 2022). Tuz toleransı ile ilgili sayısız hücresel bileşenin ana hatlarının, yukarı yönlü sinyalizasyon ve hormon düzenlemesinden, hücresel koruma ve tuzluluğa karşı iyon homeostazına kadar kompleks bir süreç olduğu belirlenmiştir. Bu bileşenler, ozmotik düzenleme, antioksidatif düzenleme ve iyon homeostazı olmak üzere üç mekanizma aracılığıyla tuzluluk stresi altında hücresel faaliyetleri sürdürmek için etkileşimli olarak çalışmaktadır (Bahmani vd. 2015). Toprak çözeltisinde NaCl seviyesinin artması, ozmotik stres nedeniyle bitkinin su alımını etkilediği gösterilmiştir (Munns vd. 2020, Shabala vd. 2020). Tuz kaynaklı oluşan bu ozmotik stres büyüyen dokularda hücre genişleme oranının ve stoma açıklığının azalmasının yanı sıra yapraklarda besin alım miktarında bir azalmaya neden olmaktadır. Ayrıca, tuzlu koşullar altında stoma kapanması tetiklendiğinde veya sitozolde aşırı  $\text{Na}^+$  biriktiğinde bitkilerin fotosentetik pigmentler tarafından absorbe edilen ışıktan tam olarak faydalanma olasılığının da azaldığı bildirilmiştir (Shabala vd. 1998, Tavakkoli vd. 2011).

Tuz stresi altında büyümenin engellenmesinin ozmotik strese ek olarak N, P,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$  gibi mineral besin maddelerinin alımındaki bozukluklar ve  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  gibi spesifik iyon toksisitesinden kaynaklandığı gösterilmiştir (Amin vd. 2020). Tuz stresine bağlı olarak  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  alımındaki artış, bu iyonların amonyum ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) ve fosfat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) ile antagonistik etkileşimlerinden kaynaklı olarak N ve P konsantrasyonlarında azalmaya neden olmaktadır (Sahin vd. 2025). Tuz stresinin, azot metabolizmasının asimilasyon, amino asit ve protein sentezi gibi çeşitli aşamalarını engelleyerek bitki büyümesini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (Dluzniewska vd. 2007, Liu vd. 2020). Kök bölgesinde yüksek  $\text{Na}^+$  iyonu konsantrasyonlarının  $\text{K}^+$  alımı üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Iqra vd. 2020).  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  iyonlarının benzer kimyasal yapısı nedeniyle  $\text{Na}^+$ , özellikle yüksek afiniteli potasyum taşıyıcıları (HKT'ler) ve seçici olmayan katyon kanalları (NSCC'ler) için  $\text{K}^+$  iyonları ile rekabet ederek  $\text{K}^+$  alımını inhibe ettiği kanıtlanmıştır (Shabala vd. 2016). Potasyuma benzer şekilde,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$ 'un alımı ve taşınması da tuzlu topraklarda yaygın olarak bulunan yüksek  $\text{Na}^+$  konsantrasyonlarından olumsuz etkilenebileceği ve bu durumun da

bitkilerde  $\text{Ca}^{2+}:\text{Na}^+$  ve  $\text{Mg}^{2+}:\text{Na}^+$  oranlarının düşmesine neden olacağı bildirilmiştir (Roy ve Chowdhury 2020). Köklerin besin maddelerini ve suyu sürgünlere taşıma kapasitesinin tuz stresi nedeniyle kısıtlandığı ve bu durumun sürgün:kök oranının düşmesine neden olduğu bildirilmiştir (Silva vd. 2021). Bitkilerin en hassas organları olan yapraklar tuz stresinden büyük ölçüde etkilenirken, köklerin yüksek tuzluluğa maruz kaldığında yapraklara göre daha az etkilendiği gösterilmiştir (Fageria ve Moreira 2011). Bitkiler tarafından alınan tuzların büyümeyi doğrudan etkilemediği, ancak turgor, fotosentez ve/veya önemli enzimlerin aktivitesini etkileyerek büyüme inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Munns 1992).

Çeşitli abiyotik ve biyotik faktörler, ROT üretiminde kontrolsüz ve aşırı artışa neden olmaktadır. Normal koşullar altında, tüm biyolojik sistemlerde ROT bazal seviyede üretilmektedir (Mittler 2017). Buna karşın, stres koşullarında ROT birikim hızı birkaç kat artarak oksidatif strese neden olmaktadır (Gupta vd. 2015). ROT oluşumunun esas merkezi, süperoksit radikali ve ardından diğer ROT oluşumuna neden olan elektronların oksijen molekülüne yanlış yönlendirildiği mitokondriyal ve fotosentetik elektron taşıma zincirleridir (Foyer ve Noctor 2012). Tuz stresi, ozmotik stres ve iyon toksisitesinin yanı sıra oksidatif strese neden olmakta ve bu nedenle bitkilerde tuzluluğun zararlı etkileri artmaktadır (Acosta-Motos vd. 2015, 2017). ROT üretiminin, tuz stresi sırasında mahsul verimliliğindeki düşüşün ana nedeni olduğu gösterilmiştir (Kataria ve Verma 2018). Tuz stresinin fotosentetik ve mitokondriyal elektron taşınımı, ksantin oksidaz, glikoz oksidaz ve NADPH oksidaz gibi ROT üretici enzimlerin üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Hossain ve Dietz 2016). Bununla birlikte, sitozoldeki  $\text{K}^+$  miktarının kabul edilebilir düzeyde azalmasının, hücrelerin stresle başa çıkmasına yardımcı olacak çeşitli tepkileri tetikleyen düşük seviyelerde ROT ürettiği bildirilmiştir (Isayenkov ve Maathuis 2019). Yüksek tuzluluk ROT'ların oluşumuna neden olmasına rağmen,  $\text{K}^+$  çıkış kanallarını aktive etmekte ve hücrel  $\text{K}^+$  sızıntısını hızlandırmaktadır. Bu nedenle, hızlı ve önemli miktarda  $\text{K}^+$  kaybının muhtemelen akut ROT toksisitesine neden olarak programlanmış hücre ölümüne yol açabileceği bildirilmiştir (Isayenkov ve Maathuis 2019). Diğer taraftan, ROT'ların bitkilerde sinyal iletimi ve stres toleransı için gerekli sekonder haberciler olduğu belirtilmiştir (Marcec vd. 2019). Bu bağlamda, tuz stresine maruziyet ile birlikte erken evrede stres sinyalinin başlaması için ROT

birikiminin teşvik edildiği bildirilmiştir (Yang ve Guo 2018b). ROT'ların temizlenmesinin, büyümenin düzenlenmesi, stres hormonlarının veya proteinlerinin birikimi, iyon homeostazı gibi çeşitli fizyolojik gelişmelerle ilişkili dolgu ve strese uyumda hayati bir rol oynadığı belirtilmiştir (Huang vd. 2019). Tuza toleransı transgenik bitkilerin ROT'ları temizleme yeteneğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Nagamiya vd. 2007). Düşük konsantrasyonlardaki tuz uygulamaları altında ROT seviyelerindeki artışın, yüksek tuz konsantrasyonları ile yapılan çalışmalara kıyasla negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Hasanuzzaman vd. 2021). Bu durumun antioksidan enzim sistemi ile doğrudan bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür (Ahmad vd. 2019). Bu bağlamda, antioksidan enzim ifadelerindeki değişikliklerin, bitkilerin tuz stresine yanıtta ve tuz toleransı kazanmasında anahtar rol oynayadığı bildirilmiştir (Hasanuzzaman vd. 2021). Bu nedenle bitkilerin, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), guaiakol peroksidaz (POX), glutatyon peroksidaz (GPX), askorbat–glutatyon (AsA–GSH) döngüsünün enzimleri, monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbateredüktaz (DHAR), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidatif enzimlerin ifade seviyelerini düzenleyerek tuz stresi tarafından üretilen ROT'u detoksifiye ettiği gösterilmiştir (Ahmad vd. 2016, Zhang ve Dai 2019, Yong vd. 2020).

Stres faktörlerine karşı önemli bir yanıt olarak bitkiler, ozmotik ayarlama gibi spesifik adaptif fizyo–moleküler yanıtlara sahiptir (Linh vd. 2021). Tuzluluk stresi, iyon homeostazını kesintiye uğratarak bitkilerde zararlı iyonların birikmesine neden olmaktadır (Isayenkov vd. 2019). Ayrıca,  $K^+$  alımının artırılması iyon homeostazının korunmasına ve ozmotik dengenin düzenlenmesine, turgorun korunmasına ve membran potansiyelinin, sitoplazmik homeostazın, protein sentezinin ve enzim aktivasyonunun düzenlenmesine yardımcı olmaktadır (Joshi vd. 2022). Bununla birlikte, bitki dokularındaki  $K^+$  içeriği artan tuzlulukla birlikte kademeli olarak azaldığı bildirilmiştir (Hurtado vd. 2020). Bu nedenle, tuz stresi altındaki bitkilerin hayatta kalması için yeterli  $K^+$  seviyesinin korunması esastır. Tuzlu koşullara iyi uyum sağlamış bitkiler, hücre iyon homeostazının stabilizasyonu için tuza aşırı duyarlı (SOS) yolak aracılığıyla  $Na^+$  çıkışını artırmaya ve sitoplazmada yeterli  $K^+$  konsantrasyonunu koruma yeteneğindedir (Bose vd. 2014, Wang vd. 2022). Bununla birlikte, bu tür bir

düzenlemenin birkaç bitki tarafından gerçekleştirilebildiği göz önüne alındığında, çoğu tahıl bitkisi tuz stresine karşı hassastır veya sadece orta derecede toleranslı olduğu bildirilmiştir (Quamruzzaman vd. 2021).

Toprak çözeltisinin düşük ozmotik potansiyeline karşı koymak için bitkiler, hücre içindeki ozmotik potansiyeli azaltmak üzere organik ve inorganik çözünen maddeleri biriktirirler (Zrig vd. 2015). Ozmotik toleransı artırmak için toksik iyonların ve/veya uyumlu çözünenlerin biriktirilmesi tuz toleransında yer alan mekanizmalar arasındadır (Türkan ve Demiral 2009). Stoma açılmasının ozmotik düzenleme süreci, hücreler arasındaki su hareketini etkileyen ozmotik düzenleyiciler adı verilen bileşiklerin hareketi yoluyla gerçekleşmektedir (Rhodes ve Samaras 2020). Bitkilerin ozmotik düzenlemesinde çalışan birkaç bileşik iyi bilinmektedir.  $K^+$  ve  $Cl^-$  gibi iyonların veya çözünen şekerler (fruktoz, glukoz, trehaloz, rafinoz, fruktanlar) ve bazı amino asitler (prolin, glisin betain ve  $\beta$ -alaninbetain) gibi organik bileşikler olabilen ozmotik düzenleyicilerin birikimi, ozmotik potansiyelin azalmasına yol açarak turgor potansiyelinin korunmasına yardımcı olmaktadır (Zivcak vd. 2016). Tuz veya kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin ozmotik düzenlemede artış, hücre çeperi esnekliğinde değişiklikler ve yaprak turgiditesini koruyarak stresin etkilerini en aza indirmeyi amaçlayacak şekilde yanıt verdiği bildirilmiştir (Abobatta 2020). Ozmotik ve/veya hücre çeperinin esneyebilirliğinin ayarlamasının turgor kaybında, daha düşük yaprak su potansiyelinde ve daha düşük bağıl su içeriğinde gerçekleştiği gösterilmiştir (Navarro vd. 2008, Zheng vd. 2010, Suárez 2011). Ozmotik ayarlamamanın derecesi bitki türleri arasında farklılık göstermektedir. Ayrıca, ozmotik ayarlamamanın derecesinin diğer faktörlerin yanı sıra stresin süresi ve bitkinin yaşına da bağlı olduğu bildirilmiştir (Koyro 2006, Stepien ve Johnson 2009). Tuz stresine maruz kalan bitkilerde çözünen madde (serbest amino asitler, prolin ve toplam çözünen şekerler) birikimindeki artışların, birçok fizyolojik fonksiyonun (fotosentez, terleme, büyüme vb.) sürdürülmesini sağladığı ve bitki gelişimini düzenlediği bildirilmiştir (Mansour ve Ali 2017). Özellikle prolinin, sitozol-vakuoldeki ozmotik basıncın korunmasında ve pH düzenlemesinde rol oynadığı ve enzimatik sistemlerin korunmasını sağladığı belirtilmiştir (Wijayasinghe vd. 2017). Prolin farklı bitki büyüme aşamalarında etkili olan çok işlevli bir amino asittir (Szabados ve Saviouré 2010). Prolin tuzluluk da dahil

olmak üzere çeşitli abiyotik stresler altında biriken en yaygın ozmolittir (Slama vd. 2015). Prolinin ozmotik koruyucu olarak fonksiyon görmesinin yanı sıra antioksidan özelliklere de sahip olduğu ve dehidrasyon sırasında biyolojik makromoleküllerin yapısını korumak için moleküler bir şaperon olarak rol oynayabileceği ve böylece abiyotik streslere karşı bitki toleransında önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (Ashraf ve Fooland 2007, Tang vd. 2015). Buna ek olarak, prolinin enzimatik olmayan antioksidan aktivitelerde de rol oynadığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Matysik vd. 2002, Signorelli vd. 2015).

Ozmotik stres altında transpirasyon yoluyla su kaybını önlemek için stomalar kapatıldığında, CO<sub>2</sub> asimilasyonunun sınırlandığı gösterilmiştir (Yang vd. 2006). Bu durum, Calvin döngüsü tarafından karbon fiksasyonunu ve NAD(P)H tüketimini azaltır ve elektrolit sızıntısı ile ROS birikimine yol açmaktadır. Bununla birlikte, prolin biyosentezi iki NAD(P)H<sup>+</sup> molekülünün NADP<sup>+</sup>ye oksidasyonunu gerektirir, bu da NAD(P)H'nin azaltılmasına ve NAD(P)<sup>+</sup>'nin geri dönüştürülmesine yardımcı olmaktadır. Prolin biyosentezi sırasında NAD(P)H'nin NADP<sup>+</sup>ye oksidasyonu, pentoz fosfat yolunda NAD(P)H<sup>+</sup>ye indirgenecek olan NADP<sup>+</sup>'yi artırarak bir molekül CO<sub>2</sub> üretmektedir. Böylece, üretilen CO<sub>2</sub> stresli koşullar altında karbon azaltımının devam etmesini sağlarken, NAD(P)H'nin ROT üretimini önlemek için prolin biyosentezinde kullanıldığı bildirilmiştir (Zhu vd. 2021). Prolinin ayrıca RuBisCO aktivitesini ve mitokondriyal elektron taşıma zincirinde Kompleks II'yi koruyarak toleransa katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Cabassa–Hourton vd. 2016). Ayrıca, prolin anabolizması bitkilerin ozmotik homeostazlarını ayarlamalarına izin vererek özellikle ozmotik stres altında bitki su içeriğinin geri kazanılmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (Per vd. 2017).

### **2.3 Tuz Stresine Yanıt Genleri**

Bitkilerin tuz stresine karşı fizyolojik tepki mekanizmasını bilmek, bitkilerin tuz toleransını iyileştirmek ya da etkilerini en aza indirmek için önemlidir (Hao vd. 2021). Tuzluluğun karmaşık mekanizmalarını anlamak ve bitki üretimlerini artırmak için araştırmaların odak noktası omik çağına girmektedir. Çoklu–omiklerin ve gelişmiş ıslah

stratejilerinin uygulanması, bitkilerde tuz toleransına yönelik dinamik bir adımdır. Tuza cevapta rol oynayan genlerin, proteinlerin, metabolitlerin ve miRNA'ların tanımlanması genomik, transkriptomik, metabolomik, proteomik, mikromik ve fenomik çalışmalarla mümkün hale gelmiştir. Bitki verimi ve kalitesinin iyileştirilmesi için birçok omik yöntem, araç ve kaynak geliştirilmiştir (Chaudhary vd. 2019). Bununla birlikte, tuz toleransında rol oynayan sayısız yolağı keşfetmek için omik teknolojiler kullanılarak daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Yüksek verimlikli dizileme teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte transkriptomik ve proteomik analizler postgenomik süreçlerin karakterizasyonu için önemli bir araç sağlamaktadır (Yuan vd. 2024). Transkriptomik ve proteomik çalışmalar çeşitli bitkilerde abiyotik strese karşı bitki yanıt mekanizmalarını incelemek için kullanılmaktadır (Chen vd. 2020, Shu vd. 2022, Gu vd. 2025).

Bitkilerde tuzluluk toleransı, çoklu genler ve ilişkili mekanizmalar tarafından düzenlenen multigenik bir özelliktir. Bitkilerde tuz toleransının moleküler mekanizması, fizyolojik mekanizmasının temelidir. Yüksek bitkilerdeki tuza duyarlı genlerle ilgili araştırmalar esas olarak ozmotik düzenleme, antioksidan savunma sistemi, iyon taşınımı, sinyal iletimi ve düzenleyici genler üzerine odaklanmaktadır (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1** Tuz stresine yanıtta rol alan bazı anahtar genler.

| Genin ismi      | Genin kökeni                  | Genin rolü                                                                                     | Kaynaklar          |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| <i>P5CS1</i>    | <i>Phaseolus vulgaris</i>     | Prolin biyosentezinde hız sınırlayıcı enzim                                                    | Chen vd. 2013      |
| <i>P5CS2</i>    | <i>Phaseolus vulgaris</i>     | Prolin biyosentezinde hız sınırlayıcı enzim                                                    | Chen vd. 2013      |
| <i>LrAMADH1</i> | <i>Lycium ruthenicum Murr</i> | Betain aldehiti betaine katalize eder                                                          | Liu vd. 2016       |
| <i>SIBADH</i>   | <i>Suaeda liaodongensis</i>   | Betain aldehiti betaine katalize eder                                                          | Wang vd. 2016      |
| <i>AtTPPD</i>   | <i>Arabidopsis thaliana</i>   | Trehaloz oluşturmak için trehaloz-6-fosfatın defosforilasyonunu katalize eder                  | Krasensky vd. 2014 |
| <i>HvHKT1;1</i> | <i>Hordeum vulgare</i>        | Dışsal K <sup>+</sup> eksik olduğunda Na <sup>+</sup> un alınımına ve taşınımına aracılık eder | Han vd. 2018       |
| <i>HvHKT1;5</i> | <i>Hordeum vulgare</i>        | Arpada Na <sup>+</sup> un negatif taşınması                                                    | Huang vd. 2020     |
| <i>OsHKT1</i>   | <i>Oryza sativa</i>           | Na <sup>+</sup> taşınması                                                                      | Kader vd. 2006     |
| <i>OsHKT2</i>   | <i>Oryza sativa</i>           | Na <sup>+</sup> taşınması                                                                      | Kader vd. 2006     |

Çizelge 2.1 Devamı

| Genin ismi       | Genin kökeni                    | Genin rolü                                                                              | Kaynaklar                     |
|------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <i>OsVHA</i>     | <i>Oryza sativa</i>             | Na <sup>+</sup> taşınması                                                               | Kader vd. 2006                |
| <i>AtNHX1</i>    | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Vakuolar Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportırı                                    | Gaxiola vd. 1999              |
| <i>LfNHX1</i>    | <i>Leptochloa fusca</i>         | Vakuolar Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportırı                                    | Adabnejad vd. 2015            |
| <i>IhNHX1</i>    | <i>Iris halophila</i>           | Vakuolar Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportırı                                    | Yang vd. 2018                 |
| <i>HcNHX1</i>    | <i>Halostachys caspica</i>      | Vakuolar Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportırı                                    | Guan vd. 2011                 |
| <i>PgNHX1</i>    | <i>Pennisetum alopecuroides</i> | Vakuolar Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportırı                                    | Verma vd. 2007                |
| <i>VrNHX1</i>    | <i>Vigna radiata</i>            | Vakuolar Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportırı                                    | Mishra vd. 2014               |
| <i>PtVP1.1</i>   | <i>Populus trichocarpa</i>      | Vakuolar H <sup>+</sup> fosforilaz                                                      | Yang vd. 2015                 |
| <i>TaTVP1</i>    | <i>Triticum aestivum</i>        | Vakuolar H <sup>+</sup> fosforilaz                                                      | Brini vd. 2007                |
| <i>AVP1</i>      | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Vakuolar H <sup>+</sup> fosforilaz                                                      | Bhaskaran ve Savithramma 2011 |
| <i>ChVDE</i>     | <i>Cerasus humilis</i>          | Farklı karotenoidlerin dönüşümünü katalize eden violaksantin deepoksidaz                | Sun vd. 2019                  |
| <i>OsNAC45</i>   | <i>Oryza sativa</i>             | Transkripsiyon faktörü farklı stres tepkileri ve ABA sinyal tepkisine katılır           | Zhang vd. 2020                |
| <i>OsMADS25</i>  | <i>Oryza sativa</i>             | Transkripsiyon faktörü ABA–aracılı düzenleyici yollarda ve ROT temizlenmesinde yer alır | Xu vd. 2018                   |
| <i>AtCDPK27</i>  | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | CDPK sinyallemede membranda lokalize protein kinaz                                      | Zhao vd. 2015                 |
| <i>AtCPK12</i>   | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | CDPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Zhang vd. 2018                |
| <i>PtMAPKK4</i>  | <i>Populus trichocarpa</i>      | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Yang vd. 2017                 |
| <i>VvMKK2</i>    | <i>Vitis vinifera</i>           | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Wang vd. 2020                 |
| <i>VvMKK4</i>    | <i>Vitis vinifera</i>           | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Wang vd. 2020                 |
| <i>ZmMKK4</i>    | <i>Zea mays</i>                 | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Kong vd. 2011                 |
| <i>ZmMPK5</i>    | <i>Zea mays</i>                 | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Zhang vd. 2014                |
| <i>GhMAP3K40</i> | <i>Gossypium herbaceum</i>      | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Chen vd. 2015                 |
| <i>GhMPK2</i>    | <i>Gossypium herbaceum</i>      | MAPK sinyallemede protein kinaz                                                         | Zhang vd. 2011                |
| <i>GmbZIP2</i>   | <i>Glycine max</i>              | Tuz stresi cevabında yer alan transkripsiyon faktörü                                    | Yang vd. 2020                 |
| <i>AtbHLH122</i> | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Tuza duyarlı gen <i>AtKUP2</i> 'yi düzenleyerek artan tuz toleransı                     | Rajappa vd. 2020              |
| <i>AtWRKY33</i>  | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Tuza duyarlı gen <i>AtKUP2</i> 'yi düzenleyerek artan tuz toleransı                     | Rajappa vd. 2020              |
| <i>AtMYB20</i>   | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Tip 2C serin/treonin protein fosfatazları negatif olarak düzenler                       | Cui vd. 2013                  |
| <i>ThDREB</i>    | <i>Tamarix hispida</i>          | Stres cevaplarında yer alan transkripsiyon faktörü                                      | Yang vd. 2017                 |
| <i>SlMYB102</i>  | <i>Solanum lycopersicum</i>     | Stres cevaplarında yer alan transkripsiyon faktörü                                      | Zhang vd. 2020                |
| <i>AtGSTF8</i>   | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Kökte redoks dengesini hassas bir şekilde ayarlar                                       | Zhao vd. 2015                 |
| <i>AtGSTU19</i>  | <i>Arabidopsis thaliana</i>     | Kökte redoks dengesini hassas bir şekilde ayarlar                                       | Zhao vd. 2015                 |
| <i>PpSARK</i>    | <i>Physcomitrella patens</i>    | ABA–bağımlı senesensle ilişkili reseptör benzeri kinaz                                  | Li vd. 2018                   |

Tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde ozmotik ayarlama ile ilgili genlerin ifadeleri oldukça önemlidir. Bu bağlamda, ozmotik düzenleyicileri sentezleyen genlerinin aktarılması transgenik bitkilerde daha fazla prolin, glisin betain, trehaloz, mannitol, fruktan, glikojen gibi ozmotik düzenleyicilerin sentezlenmesi sağlayabilmektedir. Bitkilerde prolin sentezi glutamat ve ornitin yolları üzerinden gerçekleşmektedir. Bu yollarda hız sınırlayıcı anahtar enzimler glutamat yolunda  $\Delta 1$  prolin-5-karboksilik asit sentetaz ve glutamat dehidrogenaz iken, ornitin yolunda ornitin aminotransferaz ve arjinazdır. Ayrıca, prolin dehidrogenaz prolin bozunmasının anahtar enzimidir (Yang vd. 2015). Transgenik *A. thaliana*'da prolin sentezi ile ilgili *P5CS1* ve *P5CS2* cDNA'ların aktarılmasının aşırı prolin üretimine yol açtığı ve tuz toleransını geliştirdiği gösterilmiştir (Chen vd. 2013). Bitkilerde glisin betain sentezi kolin monooksijenaz ile kolinin betain aldehit ve betain aldehit dehidrogenaz ile betain aldehitin betaine oksidasyonunu katalizleyen iki enzimatik reaksiyonla gerçekleşmektedir (Hanson ve Wyse 1982). *Suaeda liaodongensis*'ten klonlanan betain aldehit dehidrogenaz genini aşırı ifade eden transgenik domates (*Solanum lycopersicum*) bitkilerinin daha yüksek tuza tolerans gösterdiği bildirilmiştir (Wang vd. 2013).

Farklı bitki türlerinde tuz toleransı ile ilişkilendirilmiş birçok iyon taşıyıcısını kodlayan gen tanımlanmıştır. Bunlar arasında, yüksek afiniteli  $K^+$  taşıyıcısı (*HKT*) ve  $Na^+/H^+$  antiportırı (vakuol membranı üzerinde *NHX*),  $Na^+$  ve  $K^+$ 'un alınımı, uzun mesafeli taşınımı ve yeniden dağılımında kilit rol oynamaktadır. Buna ek olarak,  $K^+$  taşıyıcı (*KT*) ailesi, Arabidopsis  $K^+$  taşıyıcı (*AKT*) ailesi, stelar  $K^+$  dışı yöneltici (*SKOR*) ve koruyucu hücre dışına yöneltici  $K^+$  kanal (*GORK*) aileleri,  $Ca^{2+}$ -ATPaz (*ACA*, hem plazma membranı hem de vakuolar membran üzerinde), seçici olmayan katyon kanalları (*NSCC*),  $Ca^{2+}/H^+$  antiportırı (*CAX*), vakuolar  $H^+$  fosforilaz (*VP*),  $H^+$ -PPaz ve plazma membranı  $H^+$ -ATPaz pompası, tuz stresi altında  $Na^+/K^+/Ca^{2+}$  dengesinin korunmasında rol oynamaktadır (Deinlein vd. 2014). *HKT*, bitkilerde tuz toleransı ile yakından ilişkili bir  $Na^+$  veya  $Na^+-K^+$  taşıyıcısıdır. Aşırı  $Na^+$ 'u ksilemden çevredeki parankima hücrelerine boşaltmakta, sürgündeki  $Na^+$  içeriğini azaltmakta ve *in vivo* olarak  $K^+$  dengesini korumaktadır (Deinlein vd. 2014). Arpa bitkilerinde *HvHKT1;1* geninin susturulmasının köklerde ve yapraklarda  $Na^+$  birikimine neden olduğu gösterilmiştir (Han vd. 2018). Tuza duyarlı Arabidopsis *hkt1-4* ve *sos1-12* mutantlarında

*HvHKT1;1;1* geninin aşırı ifade edilmesinin kök ve gövdede  $\text{Na}^+$  içeriğini önemli ölçüde azalttığı ve *HvHKT1;1*'in köklerde  $\text{Na}^+$ 'un taşınmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Han vd. 2018). Tuz stresine maruz bırakılan çeltik bitkilerinde *OsHKT1*, *OsHKT2* ve *OsVHA* taşıyıcılarının  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  oranını düzenleyerek  $\text{Na}^+$  konsantrasyonunu azalttığı bulunmuştur (Kader vd. 2006). Vakuol membranındaki  $\text{H}^+$ -ATPaz ve  $\text{H}^+$ -pirofosfataz tarafından oluşturulan bir proton gradiyenti tarafından teşvik edilen NHX'ler, vakuolde  $\text{Na}^+$ 'un birikmesini sağlayarak  $\text{Na}^+$ 'un taşınmasına katılmaktadır (Wang vd. 2007). Tuz stresine maruz bırakılan domates fidelerinde artan yönde düzenlen *LeNHX2* ve *SISOS2* genlerinin bitki büyümesi, su alınımlı ve verimi iyileştirmede rol oynadığı bildirilmiştir (Baghour et al. 2019). Farklı bitki türlerinde *NHX* genlerinin aşırı ifade edilmesinin tuz stresine toleransı artırdığı bildirilmiştir (Verma vd. 2007, Shi vd. 2008, Asif vd. 2011, Mishra vd. 2014). *NHX* proteini tarafından  $\text{Na}^+$ 'un kompartımanlaşması için gerekli enerji  $\text{H}^+$ -ATPaz ve  $\text{H}^+$ -PPaz tarafından üretilen proton gradiyenti tarafından sağlandığından, vakuolar  $\text{H}^+$ -fosforilaz (VP) ile birlikte *NHX*'in veya sadece VP'nin aşırı ifadesinin, *NHX*'in vakuole daha fazla  $\text{Na}^+$ 'u alması için güçlü bir itici güç sağladığı tahmin edilmektedir. *Populus trichocarpa*  $\text{H}^+$ -pirofosfataz geni *PtVP1.1*'yi aşırı ifade eden transgenik kavakta artan tuz toleransı bu hipotezi desteklemektedir (Yang vd. 2015).

Tuz stresine bağlı olarak üretilen ROT'ların bertaraf edilmesi için antioksidan genlerinin ifadesi önemlidir. Antioksidan enzimlere (*SOD*, *CAT*, *POD* ve *APX* gibi) ait genlerin aşırı ifadesi ile ROT'lar hızla elimine edilmektedir. Son yıllarda birçok bitkide antioksidan enzim gen ailesi tanımlanmış ve abiyotik stres altında farklı ifade seviyeleri belirlenmiştir. *Brassica juncea* ve *B. rapa*'da abiyotik strese duyarlı *SOD* gen ailesinin (Verma vd. 2019), *Gossypium hirsutum*'da *CAT* (Wang vd. 2019) ve *APX* gen ailesinin (Tao vd. 2018) genom çapında tanımlaması, karakterizasyonu ve biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. Antioksidan enzimlerin yanı sıra askorbik asit (AsA) ve glutatyon (GSH) da bitkilerde önemli antioksidanlardır. Bitkilerde önemli bir antioksidan savunma sistemi olan AsA-GSH döngüsünün anahtar enzimlerinin aşırı ifade edilmesiyle yüksek seviyede AsA ve GSH üretilmekte ve böylece bitkilerin oksidatif strese toleransı artırılabilir (Noctor vd. 2012). Arabidopsis'in tuz

toleransında *AtGSTF8* ve *AtGSTU19* genlerinin kökte redoks dengesini sağlayarak stres toleransına katkı sağladığı bildirilmiştir (Horváth vd. 2019).

Tuz stresiyile başa çıkmak için bitkiler çeşitli sinyal yollarlarını aktive etmektedir (Qiu vd. 2002, Quintero vd. 2002, Guan vd. 2013, Yang ve Guo 2018b, Liu vd. 2020, Van Zelm vd. 2020). Bunlar arasında, bir kalsiyum bağlayıcı protein olan SOS3, bir serin/treonin protein kinaz olan SOS2 ve plazma membranında lokalize  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter olan SOS1 proteinlerinin birleşik faaliyetlerini gerektiren SOS yolu bulunmaktadır (Quintero vd. 2011, Ji vd. 2013). Sitosolik serbest  $\text{Ca}^{2+}$  seviyesinde tuz stresinin neden olduğu değişiklikler SOS2 kinaza bağlanan ve onu aktive eden SOS3 tarafından algılanmaktadır (Qiu vd. 2002, Quintero vd. 2002). SOS2–SOS3 kinaz kompleksi daha sonra  $\text{Na}^+$ 'u hücre dışına atmak,  $\text{Na}^+$  birikimini önlemek ve tuz toleransını teşvik etmek için SOS1 ile etkileşime girerek aktive etmektedir. Arabidopsis'te SOS1, SOS ailesindeki bitki tuz toleransı ile doğrudan ilişkili bir gen olarak tanımlanmıştır (Guo vd. 2009). SOS4, SOS1 ve diğer iyon taşıyıcılarının aktivitesini ve tuz stresi altında kök tüylerinin gelişimini düzenleyerek tuz toleransını artırdığı gösterilmiştir (Shi ve Zhu 2002). Plazma zarının dışında bulunan SOS5 proteininin, hücre çeperi gelişimini teşvik ederek ve hücreler arasındaki bağlantıları artırarak tuz stresine yanıtta önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır (Shi vd. 2003). SOS6, hücre ozmotik stresi ve oksidatif stresi düzenlemede önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Zhu vd. 2010). Diğer bitki türlerinde de SOS gen aileleri tanımlanmıştır. Örneğin, yumru hardalında (*Brassica juncea* var. *tumida*) SOS ailesi genlerinin genom çapında tanımlaması ve gen ifade analizi tamamlanmıştır (Cheng vd. 2019). Ispanakta (*Spinacia oleracea*) SOS ailesi genlerinin izolasyonu ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir (Zhao vd. 2021). Temel SOS bileşenlerinin yanı sıra, SOS yolağında ince ayar yapan ve tuz toleransını teşvik eden bir dizi yeni anahtar düzenleyici gen rapor edilmiştir. Bunlar arasında en öne çıkanlar brassinosteroid Insensitive 2 (*BIN2*), GIGANTEA (*GI*), endosomal Sorting Complex'in (*ESCRT*) bir bileşeni olan *VPS23A* ve bir kalsiyum kanalı olan *AtNN4*'tür (Kim vd. 2013, Ma vd. 2019, Lou vd. 2020). Son zamanlarda, *VPS23A*'nın SOS1 aktivasyonu için gerekli olan SOS2–SOS3 etkileşimini güçlendirerek SOS modülünün işlevsel düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Lou vd. 2020). *VPS23A*'ya ek olarak, *AtNN4* geninin de SOS yolunun

aktivasyonu yoluyla tuz stresi tepkilerini düzenlediği gösterilmiştir (Ma vd. 2019). Özellikle, *AtANN4* tuz stresi kaynaklı  $Ca^{2+}$  geçişlerine aracılık ederek sitozolik  $Ca^{2+}$  seviyelerinde hızlı bir artışa ve SOS yolunun tetiklenmesine neden olmaktadır. Kalsiyum Bağlayıcı Protein8'i (*SCaBP8*) bu mekanizma içerisinde yer almaktadır. *SCaBP8*, *AtANN4*'ün SOS2 aracılı fosforilasyonunu teşvik ederek *AtANN4* ile kendi etkileşimini artırmaktadır. Hem *AtANN4* fosforilasyonu hem de *AtANN4*–*SCaBP8* etkileşimi, *AtANN4* aracılı  $Ca^{2+}$  geçişlerini baskılayarak tuza özgü  $Ca^{2+}$  sinyali meydana getirmektedir (Ma vd. 2019). Bununla birlikte, brassinosteroid (BR) sinyalinin önemli bir bileşeni olan *BIN2* geninin de SOS2 kinaz aktivitesine dahil olarak SOS yolunu düzenlediği bildirilmiştir. Tuz stresinin, SOS2 kinazın inhibisyonu yoluyla SOS yolunu negatif olarak düzenleyen 14–3–3 ve PKS5 kompleksinin oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir (Yang vd. 2009). SOS2'nin PKS5 tarafından Ser294'ten fosforilasyonu SOS2 kinazın inhibisyonu için gereklidir (Yang vd. 2009). Ayrıca, fotoperiyot aracılı bir çiçeklenme bileşeni olan *GI*, SOS2 kinazı baskılayarak tuz stresi tepkilerini olumsuz yönde düzenlediği bildirilmiştir (Kim vd. 2013). *SOS1* geninin bir nükleer  $Ca^{2+}$  algılama yolu olan RSA1–RITF modülü tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (Guan vd. 2013). *SOS1*'e ek olarak SOS2, SOS3 ve *SCaBP8*'in de transkript düzeyinde düzenlendiği bildirilmiştir. Transkripsiyon faktörü bitki–AT–zengin dizisi ve çinko bağlayıcı protein 2 (*PLATZ2*) doğrudan SOS3 ve *SCaBP8* genlerinin ifadesini (Liu vd. 2020) ve *MAPK4* ile aktive olan *MYB42*'nin tuz stresi altında SOS2 ve SOS3'ün transkripsiyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir (Sun vd. 2020).

Protein kinazlar, özellikle siklin bağımlı protein kinazlar (CDPK'ler) ve mitojenle aktive olmuş protein kinazlar (MAPK'ler), reseptör–benzeri protein kinazlar (RPK'ler) ve  $Ca^{2+}$  bağımlı protein kinazlar (CDK'lar) önemli sinyal iletim elemanları olarak abiyotik streslere bitki cevaplarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Birçok bitki türünde *CDPK* gen aileleri tanımlanmış ve analiz edilmiştir. Bunlar arasında, çoğu stres sinyali ile ilgili olan *Arabidopsis thaliana*'da 34 *CDPK* üyesi bulunmuştur (Shi vd. 2018). Uzun süreli tuz uygulamasından sonra yabancı tip bitkilere göre tuz stresine daha duyarlı olan *cpk27–1* mutantlarında yapılan iyon akışı analizinde,  $Na^+$  atılımı ve  $H^+$  alınımı bakımından daha düşük kapasitelere sahip olduğu ve bu durumun

Arabidopsis'te *AtCDPK27* geninin tuz stresine adaptasyonda rol oynadığını göstermiştir (Zhao vd. 2015). NaCl uygulamasına maruz kalan yabancı tip bitkilere göre *cpk12*–RNAi bitkilerinin köklerinde Na<sup>+</sup> seviyesinin daha yüksek bulunduğu ve bu durumun tuz stresine uyum sağlamada *AtCPK12*'nin gerekli olduğunu göstermiştir (Zhang vd. 2018). *AtCPK6*, tuz ve kuraklık stresi altındaki koruyucu hücrelerde metil jasmonat sinyalinin pozitif düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Xu vd. 2010). *AtCPK8*, *CAT3* ile etkileşime girmekte ve *CAT3*'ün 261. serin kalıntısını fosforile ederek aktivitesini düzenlemektedir. Bu düzenleme bitkilerin ROT'ları temizleme yeteneğini sağlamaktadır (Zou vd. 2015). Arabidopsis'te *AtMEKK1*'in, tuz stresine yanıt olarak *AtMKK2* ve *AtMEK1*'i fosforile ederek aşağı akış kinazları olan *AtMPK4* ve *AtMPK6*'yı aktive ettiği bildirilmiştir (Teige vd. 2004). *Populus trichocarpa* *PtMAPKK4*'ün aşırı ifadesinin bütün bitkilerinde tuz toleransını artırdığı belirtilmiştir (Yang vd. 2017). Tuz ve kuraklık stresi altındaki transgenik *A. thaliana*'da üzüm *VvMKK2* ve *VvMKK4* genlerinin aşırı ifade edilmesinin fide büyümesini olumlu etkilediği gösterilmiştir. Arabidopsis'de *VvMKK2*'nin aşırı ifadesi hem tuz hem kuraklık stresine karşı toleransı artırırken, *VvMKK4*'ün aşırı ifadesi sadece tuz stresine toleransı artırmıştır (Wang vd. 2020). Mısırdaki *ZmMKK4* (Kong vd. 2011), *ZmMPK5* (Zhang vd. 2014), pamukta *GhMAP3K40* (Chen vd. 2015), *GhMPK2* (Zhang vd. 2011) ve diğer genlerin transgenik bitkilerde aşırı ifadesinin yüksek tuz ve alkali konsantrasyonlara karşı toleransı artırdığı bildirilmiştir. Tuz stresine yanıtta yer alan çok sayıda bitki reseptör benzeri kinaz (*RLK*) genleri, ilgili mekanizmaları belirlemek için incelenmiştir. Birçok çalışma, abiyotik stres toleransında, özellikle tuzluluk için lektin reseptör benzeri kinazların (*LecRLK*'ler) karakterizasyonu ve işlevi üzerine odaklanmıştır. *Pisum sativum* *LecRLK* (*PsLecRLK*) plazma membran sistemlerinde lokalize olan bir kinazdır. *PsLecRLK* transkriptlerinin tuz stresi altında artan yönde düzenlendiği tespit edilmiştir (Vaid vd. 2015). *PsLecRLK* aşırı ifade eden bitkilerin, ROT–süpürücü enzim ifadelerinin artması nedeniyle tuz stresine karşı daha fazla toleransa sahip olduğu gösterilmiştir (Shumayla ve Upadhyay 2019). *PsLecRLK* aşırı ekspresyonu ayrıca su kanallarının veya Na<sup>+</sup> taşıyıcılarının aktivasyonu nedeniyle bitkide su alımını artırdığı gösterilmiştir. Li ve Sun (2014), esas olarak çeltek kök epidermal hücrelerinde ifade edilen ve tuz duyarlılığına aracılık eden bir *LecRLK* geni olan *SIT1*'i bulmuştur (Li ve Sun 2014). *SIT1*'in NaCl tarafından hızla aktive edilmesi, Na'un *SIT1* aktivasyonuna

doğrudan neden olduğunu veya hücre çeperinden Na tarafından salınan bir sinyali algıladığını düşündürmüştür. SIT1'in *MPK3/6*'yı fosforile ettiği, etilen üretimine ve tuz kaynaklı etilen sinyalizasyonuna aracılık ederek bitkilerde ROT üretimine ve birikimine neden olduğu bildirilmiştir (Zhang vd. 2016). *Catharanthus roseus* *RLK* gen alt ailesinden (*CrRLK*) biri olan *FERONIA*'nın (*FER*), ABA ve tuz stresi gibi stres tepkilerinde önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir (Yu vd. 2012, Chen vd. 2016). *FER*, ABA yanıtının birincil sinyal yolunda bulunan bir PP2C üyesi olan *ABI2*'nin aktivasyonu yoluyla ABA sinyalini bastırdığı gösterilmiştir (Yu vd. 2012). *FER* fonksiyon kaybı mutantının hem ABA'ya hem de tuza aşırı duyarlı olması, *FER*'in *ABI2* aracılı ABA sinyal yolu aracılığıyla tuz stresi tepkisini kontrol edebileceğini göstermiştir (Chen vd. 2016). *PnRLK-1*, Antarktika yosunu *Pohlia nutans*'taki sitoplazmik tip RLK'lerin bir homoloğu olarak tespit edilmiştir (Zhang vd. 2014). Tuz stresi altında, *PnRLK-1* ABA'ya duyarlılığı artırmış ve ROS birikimini baskılayan ve nihayetinde tuz stresinin etkilerini azaltan *AtAPX1*, *AtZAT10* ve *AtCAT1* gibi bir dizi ROT–temizleyici genin ifadesini artan yönde düzenlemiştir (Zhang vd. 2014).

Tuzluluk da dahil olmak üzere çeşitli abiyotik stres koşulları, ABA'nın artan yönde düzenlenmesine neden olarak bitkilerde çeşitli adaptif tepkilerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Ryu ve Cho 2015). Osmotik strese bağlı olarak ABA birikimi, büyük ölçüde ABA biyosentezinin artmasına ve yıkım yollarının inhibisyonuna bağlı olduğu ileri sürülmüştür (Zhu 2002). *ABF*'ler/*AREB*'ler (ABRE bağlanma faktörleri), ABA cevap elementleri ile bağlanma yoluyla ilgili genlerin ifadesini düzenleyen ABA–bağımlı gen ifadesinde yer alan düzenleyici faktörlerin bir sınıfıdır (Shinozaki ve Yamaguchi–Shinozaki 1997). ABA doğrudan değil, *AREB*'leri teşvik ederek etki göstermektedir. Bu nedenle, *AREB*'lerin aşırı ifade edilmesi bitkilerin abiyotik strese karşı toleransını artırmaktadır.  $Ca^{2+}$  bağımlı protein kinazlar (CPK'lar), *AREB/ABF*'lerin fosforilasyonu dahil olmak üzere tuz stresi yanıt genlerinin ifadesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Arabidopsis *CPK32* ( $Ca^{2+}$  Bağımlı Protein Kinaz 32) ABA sinyalizasyonuna katılmak için *ABF4*'ü (ABRE Bağlayıcı Faktör 4) fosforillediği gösterilmiştir (Choi vd. 2009). *CPK4* ve *CPK11*, ABA sinyal yollarına aracılık eden önemli pozitif düzenleyici oldukları tespit edilirken (Zhu vd. 2007), buna karşın homologları *CPK12*, bu sinyalde negatif bir rol oynadığı gösterilmiştir (Zhao vd. 2011).

*CPK10*, ABA ve  $Ca^{2+}$  aracılığıyla sinyal düzenleyicisi olarak bitki kuraklık yanıtlarında anahtar rol oynayan *HSP1* ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (Zou vd. 2010). *CPK23*'ün kuraklık ve tuz stresine yanıt vererek *CPK21* ile ABA sinyalinde bekçi hücresi anyon kanalı *SLAC1*'in (Slow Anion Channel-Associated 1) düzenlenmesi için  $Ca^{2+}$  bağımlı düzenleyiciyi oluşturduğu kanıtlanmıştır (Ma vd. 2007, Geiger vd. 2010, Franz vd. 2011). *CPK3* ve *CPK6*'nın, stoma hareketinde ABA sinyalini pozitif olarak düzenlediği bildirilmiştir (Mori vd. 2006, Mehlmer vd. 2010, Xu vd. 2010). Ayrıca *CPK6*'nın bekçi hücrelerinde metil jasmonat sinyalinin pozitif bir düzenleyicisi olarak da işlev gördüğü belirlenmiştir (Ye vd. 2013). *CPK13* ise bekçi hücresi tarafından ifade edilen *KAT2* ( $K^+$  taşıyıcı 2) ve *KAT1* ( $K^+$  taşıyıcı 1) kanallarını inhibe ederek stomaların açılmasını engellediği gösterilmiştir (Ronzier vd. 2014). Bununla birlikte, *cpk27-1* mutantlarının tohum çimlenmesi ve çimlenme sonrası fide büyümesi açısından yabancı tip bitkilere göre tuz stresine karşı çok daha hassas olduğu bulunmuştur (Zhao vd. 2015). *CPK*'lar dışında bazı sinyal düzenleyiciler de tespit edilmiştir. *Physcomitrella patens*'te *PpSARK*'ın (senesens ile ilişkili reseptör benzeri kinaz) ABA ilişkili bir yol aracılığıyla tuz stresine cevapta pozitif bir düzenleyici olarak işlev gördüğü bildirilmiştir (Li vd. 2018). Çeltikte *OsNAC45*'in ABA sinyal yanıtları ve tuz toleransında kilit bir rol oynadığı belirlenmiştir (Zhang vd. 2020). Çeltikte *OsmADS25*'in ABA aracılı düzenleyici yollar ve ROT temizleme yoluyla kök büyümesi ve tuz toleransını düzenleyen önemli bir transkripsiyon faktörü olabileceği bildirilmiştir (Xu vd. 2018).

Tuz toleransı, çoklu genler tarafından kontrol edilen nicel bir genetik özelliktir. Tuz stresi altında, transkripsiyon faktörleri (TF'ler) tarafından çeşitli genlerin ifade seviyeleri düzenlenmektedir. Tanımlanan nukleus transkripsiyon faktörlerinin birkaç ailesi arasında *bZIP*, *WRKY*, *AP2/ERF*, *MYB*, *DREB*, *bHLH*, *CBF* ve *NAC* gibi TF'ler bulunmaktadır. Soya fasulyesinin kök tüylerinde *GmbZIP2*'nin aşırı ifadesi, strese cevap genlerinin (*GmMYB48*, *GmWD40*, *GmDHN15*, *GmGST1* ve *GmLEA*) ifadesini artırmıştır (Yang vd. 2020). Transkripsiyon faktörleri *bHLH* ve *WRKY*, tuza duyarlı gen *AtKUP2* ifadesini düzenleyerek *A. thaliana*'nın tuz toleransını artırmıştır (Rajappa vd. 2020). *A. thaliana*'daki *AtMYB20*, ABA sinyal yollarını düzenleyerek tuz stresine karşı toleransını etkilemektedir. *AtMYB20* geninin ifadesi, tuz ve ABA stresi ile teşvik edilmektedir. *AtMYB20* geninin aşırı ifadesi, transgenik Arabidopsis'in tuz stresine karşı

toleransını artırmış ve tuz stresi altında *ABI1*, *ABI2* ve *AtPP2CA* (ABA sinyalinin negatif düzenleyicisi) genlerinin ifade seviyelerini azaltmıştır (Cui vd. 2013). *Tamarix hispida*'daki *ThDREB* transkripsiyon faktörünün, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak tuz toleransını artırdığı bildirilmiştir (Yang vd. 2017). Tuz stresine maruz bırakılan domates fidelerinde *SIMYB102*'nin aşırı ifadesinin, ROT temizleme enzimlerinin daha yüksek aktivitesine ve daha iyi bir  $K^+/Na^+$  oranına neden olduğu gösterilmiştir (Zhang vd. 2020). Tuz stresi ile ilgili birçok genin (*SISOS1*, *SISOS2*, *SINHX3*, *SINHX4*, *SIHAK5*, *SICPK1* ve *SICPK3*) transkript bolluğunun artan yönde düzenlenmesi qRT-PCR analizi ile doğrulanmıştır (Zhang vd. 2020). *A. thaliana*'da *VvNAC17*'nin aşırı ifadesinin, *ABI5*, *AREB1*, *COR15A*, *COR47* ve *P5CS*'yi içeren ABA ve stresle ilişkili genlerin artan yönde düzenlenmesine neden olarak kuraklık ve tuzluluğa karşı bitki toleransını artırdığı gösterilmiştir (Ju vd. 2020).

### 2.3 Biyodüzenleyici Uygulamaları ile Tuz Toleransının Artırılması

Aşırı tuzun bitkilerde iyon, ozmotik ve oksidatif strese yol açarak normal metabolik fonksiyonların engellenmesine, hücre içi iyonların dengesizleşmesine, fotosentetik pigment sentezinin engellenmesine, protein miktarının azalmasına, lipid üretiminin zayıflamasına, antioksidan enzim aktivitesinin azalmasına ve antioksidan içeriğinin düşmesine neden olduğu bildirilmiştir (Feng vd. 2023). Bitkilerin aşırı tuzluluğa daha iyi uyum sağlamasını kolaylaştırmak amacıyla dışsal olarak uygulanan maddelerin (biyodüzenleyici) etki mekanizmaları üzerine çalışmalar yürütülmektedir. Biyodüzenleyici bileşiklere örnek olarak enzimatik olmayan antioksidanlar (fenolik bileşikler, glutatyon, vb.), bitki büyüme düzenleyicileri (salisilik asit, jasmonik asit vb.), sinyal molekülleri (kalsiyum iyonu, nitrik oksit ve hidrojen peroksit), ozmorgületör bileşikler (prolin, glisin-betain vb.), kükürt içeren bileşikler (tiyoüre, sistein vb.) verilebilir. Bu bileşiklerin iyon dengesinin düzenleyerek, ozmotik düzenlemede görev alan maddelerinin sentezini teşvik ederek, hormonal mekanizmayı düzenleyerek, antioksidan enzim savunma sistemini teşvik ederek, strese yanıtta yer alan gen ve proteinlerin ifade seviyelerini düzenleyerek tuz stresinin olumsuz etkilerinin hafifletilmesinde önemli roller oynadığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (Al-Mushhin vd. 2021, Ghani vd. 2021, Meng vd. 2020, Mulaudzi vd. 2020, Tahjib-Ul-Arif vd.

2019).

Başlıca düşük moleküler ağırlıklı serbest tiyol tripeptit olan indirgenmiş glutatyon (g-Glu-Cys-Gly, GSH) bitki hücrelerinde her yerde bulunur ve serbest radikallerin uzaklaştırılması gibi çeşitli yaşam süreçleri için çok önemlidir (Mendoza-Cózatl vd. 2005, Nahar vd. 2015). GSH benzersiz redoks ve nükleofilik özelliklere sahiptir ve ksenobiyotiklerin, oksiradikallerin, tuzluluğun ve metal iyonlarının toksik etkilerine karşı hücresel savunmada yer almaktadır. GSH'un, askorbat-glutatyon döngüsü, tiyoredoksin (Trx) ve glutaredoksin (Grx) sistemleri, hücresel homeostazın düzenlenmesi ve sinyal iletimi yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak ROT'ları temizleyebileceği gösterilmiştir (Riccillo vd. 2000, Mittler vd. 2004, Romero-Puertas vd. 2004, Anjum vd. 2012). Bu nedenle, GSH başlıca hücre içi redoks tamponu olarak kabul edilmektedir (Foyer ve Noctor 2011). Tuz stresine maruz bırakılan (200 mM) mısır fidelerinde dışsal GSH uygulaması sonucunda, bitkilerde önemli ölçüde daha yüksek çimlenme yüzdesi, hayatta kalma oranı, bitki biyokütlesi ve bitki başına tane veriminde artış elde edilmiştir (Pei vd. 2019). GSH uygulamasının tuz stresi altındaki domates bitkilerinin büyümesini teşvik ettiğini ve tuz toleransını artırdığını (Zhou vd. 2016) ve ayrıca PSII'yi aşırı enerjinin neden olduğu hasardan koruyarak net fotosentetik hızı artırdığını, böylece PSII'nin fotokimyasal verimliliğini artırdığı bildirilmiştir (Liu vd. 2014a, Liu vd. 2014b). Ayrıca, Tuz stresine maruz bırakılan domates fidelerinde dışsal GSH uygulamasının hücresel redoks homeostazını korumak için GSH sentezini ve metabolizmasını düzenleyerek antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği ve böylece tuz kaynaklı oksidatif strese karşı direnci artırdığı gösterilmiştir (Zhou vd. 2017).

Fitohormonlar olarak da bilinen bitki büyüme düzenleyicileri, bitki büyümesi ve gelişiminde çok önemli bir rol oynayan küçük kimyasallardır. İyi karakterize edilmiş dokuz bitki hormonu arasında absisik asit (ABA), etilen, salisilik asit (SA) ve jasmonik asit (JA) strese tepki hormonları olarak kabul edilirken oksin, gibberellin (GA), sitokininler (CK'ler), brassinosteroidler (BR'ler) ve strigolaktonlar (SL'ler) ise büyümeyi teşvik eden hormonlar olarak sınıflandırılmıştır (Verma vd. 2016). Çok sayıda çalışma, her bir bitki hormonunun farklı doku veya çevresel koşullar altında

karmaşık ve etkili roller oynadığını göstermiştir (Ku vd. 2018, Cortleven vd. 2019, Yu vd. 2019).

SA'nın tuzluluk ve ozmotik stres de dahil olmak üzere farklı abiyotik streslere karşı savunma tepkilerinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Borsani vd. 2001). Çok sayıda çalışma, SA'nın dışsal olarak uygulanmasının birçok bitki türünde tuzluluk stresinin neden olduğu toksisite etkilerinin iyileştirebileceğini göstermiştir (Jini ve Joseph 2017, Wani vd. 2017, Mir ve Somasundaram 2021). Ayrıca, SA sentezi ve birikimi değiştirilmiş çeşitli *Arabidopsis* mutantlarında tuz toleransındaki farklılıklar gösterilmiştir (Cao vd. 2009, Asensi ve Munné 2011, Miura vd. 2011, Hao vd. 2012). Tuz stresine maruz bırakılan *Capsicum annuum* L. fidelerine dışsal SA uygulamasının, tuz stresinin gaz değişimi, büyüme, ortalama meyve ağırlığı ve bitki başına toplam üretim üzerindeki olumsuz etkilerini hafiflettiği bildirilmiştir (Silva vd. 2022). Dışsal SA uygulaması tuz stresi uygulanmış *Sorghum bicolor* L. fidelerinin yapraklarında elektrolit sızıntı yüzdesini azaltmış, ozmolit konsantrasyonunu, gaz değişim oranlarını ve antioksidan enzimatik aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir. Çalışma özellikle antioksidatif enzimlerin artan aktivitesinin tuz stresinin etkilerini azalttığını ve bitkilerde verimi artırdığını ortaya koymuştur (Jangra vd. 2022).

Jasmonik asit, bitkilerde bitki büyümesinin düzenleyicisi olarak görev yapan endojen bir biyomoleküldür ve strese yanıtla ilişkili bir hormon olarak karakterize edilmiştir (Wasternack 2014, Shekhawat vd. 2023). Tuz stresinin domates yapraklarında endojen JA üretimini arttığı gösterilmiştir (Abouelsaad ve Renault 2018). Dışsal olarak uygulanan JA'nın bitkilerde tuz stresinin toksik etkisini azalttığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Çeltikte JA uygulamasının su veya toprakta bulunan tuzun bitki tarafından alımını veya translokasyonunu engelleyerek bitkide biyokütle üretimini artırdığı gösterilmiştir (Cohen vd. 2009, Wasternack vd. 2019, Zhao vd. 2019). *Pisum sativum*'da, JA uygulamasının tuz stresi koşullarında protein sentezinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Guo vd. 2007, Schaller vd. 2009). Dışsal JA'nın soya fasulyesi fidelerinin tuz stresi altında krofil içeriğini, bitki biyokütlesini, bağıl su içeriğini ve tane verimini artırarak fiziksel ve fizyolojik performanslarında iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir (Sheteiwy vd. 2021). Diğer araştırmalarda, dışsal JA uygulamasının

antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı, lipid peroksidasyonunu azalttığı ve  $K^+$  içeriğini artırdığı gösterilmiştir (Jiang vd. 2020, Karamian vd. 2020). Diğer taraftan, iyon homeostazını korumak için JA'lar çok önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle,  $Na_2CO_3$  stresi altındaki mısır fidelerine JA uygulanmasının hem köklerde hem de yapraklarda  $K^+/Na^+$  oranlarını artırdığı gözlemlenmiştir. Bu azalmanın da iyon toksisitesini hafifleterek tuz stresinin zararlı etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Mir vd. 2018). Dışsal metil jasmonat (MeJA) uygulamasının tuz sresi altındaki fidelerde iyon homeostazını korumada önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (Wang vd. 2023). Buna ek olarak MeJA'nın sürgünlerde  $K^+$  birikimi, fotosentez, metabolizma ve ozmotik basınç gibi hayati süreçlerin düzenlenmesinde ve aynı zamanda iyon toksisitesinin hafifletmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Hussain vd. 2022). Bu bağlamda, JA'nın  $Na^+$  birikimini azaltma ve kökler ile sürgünler arasındaki  $K^+$  dağılımını düzenleme kapasitesi gösterilmiştir (Noor vd. 2022).

Kalsiyum bitkilerde hem sekonder haberci hem de iyon dengesinde önemli bir mineral besin olarak, tuzluluğun neden olduğu olumsuz etkilerin hafifletilmesinde kritik rol oynamaktadır (Vafadar vd. 2020). Tuz stresi altındaki bitkilerde  $Ca^{2+}$  uygulamasının hücre çeperi stabilitesini ve membran bütünlüğünü güçlendirebileceği bildirilmiştir (Kaya vd. 2003). Bu durumun da bitkilerin iyon sızıntısını ve tuz stresinin neden olduğu membran hasarını önlemesinde yardımcı olabileceği ileri sürülmüştür (Tuna vd. 2007). Bununla birlikte, bitkilere  $Ca^{2+}$  uygulanmasının tuz stresinden kurtulma veya etkilerini azaltma kabiliyetlerini artırabileceğini gösteren birçok çalışma mevcuttur. Soya fasulyesi fidelerinin büyüme ortamına  $Ca^{2+}$  ilavesinin enzim aktivitelerinin artmasına neden olduğunu ve bunun da tuz birikiminde ve oksidatif hasarda bir azalmaya yol açtığını gözlemlemiştir (Elkelish vd. 2019). Artan antioksidan kapasitenin ROT seviyelerini düşürerek tuz dışlama ve tutma mekanizmalarını geliştirdiği bildirilmiştir. Bu etkinin  $Ca^{2+}$  uygulamasının  $Na^+$  alımı, çıkışı veya bölümlendirilmesinde temel rol oynayan çeşitli iyon taşıyıcılarının ve kanallarının ifadesini ve aktivitesini düzenleyerek gerçekleştiği bildirilmiştir (Elkelish vd. 2019). Tuz stresine maruz bırakılan domateste dışsal olarak 10 mM ve 15 mM  $Ca^{2+}$  uygulanmasının oksidatif stresi azaltarak, ozmoprotektanları ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak bitki peroformansını ve meyve kalitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (Islam vd. 2023). Kabakta tuz stresinin

olumsuz etkilerini hafifletmek amacıyla 3 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  uygulanmış ve iyon dengesinin korunduğu, iyon homeostazının yeniden sağlandığı ve antioksidan savunma sistemlerinin güçlendirildiği gösterilmiştir (Behtash vd. 2023). Biber bitkilerinde spreyleme yoluyla yapraktan  $\text{Ca}^{2+}$  uygulamasının iyon dengesini yeniden düzenlendiği, antioksidan sistemi güçlendiği ve kükürt içeren proteinlerin sentezini artırarak tuz stresinin etkilerini hafiflettiği bildirilmiştir (Mukhtar vd. 2016).

Prolin, tuzluluk da dahil olmak üzere çeşitli abiyotik stresler altında biriken en yaygın endojen ozmolittir (Szabados ve Savouré 2010, Slama vd. 2015). Bununla birlikte, dışsal prolin uygulamasının tuz toleransını artırabileceği gösterilmiştir (Heuer 2010). Tuz stresi altındaki mısır bitkilerinin yapraklarına prolin uygulamasının bitki büyümesi ve verimliliğini artırdığı gösterilmiştir (Alam vd. 2016). Dışsal prolin uygulamasının yaprak su potansiyeli ve su içeriğini artırarak ve su kullanım verimliliğini geri kazandırarak tuz stresini nasıl önemli ölçüde hafiflettiği belgelenmiştir. *Brassica juncea*'da, tuz stresi altında yaprak su potansiyelinin azaldığını, ancak dışsal uygulanan 20 mM prolinin su potansiyelindeki kaybı tamamen tersine çevirdiğini gösterilmiştir (Wani vd. 2016). Benzer şekilde, tuzlu koşullar altında dışsal prolinin tuza duyarlı *Cucumis sativus*'un büyüme inhibisyonunu hafifletebileceğini ve yaprak su içeriğini artırabileceği bildirilmiştir (Huang vd. 2009). Dışsal prolin uygulamasının tuzluluk altında bitki su içeriğini korumadaki rolü *Onobrychis viciifolia*'da gösterilmiştir (Wu vd. 2017). Tuz stresi altında dışsal proline yanıt olarak yaprakların su içeriği ve su potansiyelindeki artışın, prolinin bitkilerin hücrel osmotik potansiyellerini ayarlamalarına ve dolayısıyla daha yüksek su içeriğini korumalarına yardımcı olan içsel prolin, glisin betain, çözünür şekerler ve  $\text{K}^+$  gibi bazı organik ve inorganik bileşiklerin birikimini tetiklemesinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Ben Ahmed vd. 2011, Nounjan vd. 2012, Khan vd. 2014, Zheng vd. 2015). Birçok çalışma, tuz stresinin prolin biyosentezinde yer alan genlerin ifadesinin tetiklediğini ve bunun da prolin birikimine yol açtığını göstermiştir (Armengaud vd. 2004, Kim ve Nam 2013, Nguyen vd. 2013). *A. thaliana*'da P5CS enziminin çalışmadığı tuza aşırı duyarlı *p5cs1* mutantlarında bu enzimin bitki tuz toleransında kilit bir rol oynadığını gösterilmiştir (Székely vd. 2008). Dışsal prolin uygulamasının, prolin biyosentezi ile ilgili spesifik genlerin ifadesini düzenleyerek bitkilerin tuz stresine toleransını etkili bir şekilde artırdığı bildirilmiştir.

de Freitas vd. (2018), tuz stresi altındaki mısır yapraklarına prolin uygulamasının P5CS aktivitesinde bir azalmaya ve prolin dehidrojenaz (PDH) enzim ifadesinde bir artışa neden olduğunu göstermiştir. Tuz stresine maruz bırakılan *Sorghum bicolor*'da da benzer sonuçlar rapor edilmiştir (de Freitas vd. 2019). Eksojen prolin uygulamasının hem stresli hem de kontrol *Eurya emarginata* fidelerinde P5CS aktivitesinde bir azalmaya yol açarken, kontrol uygulamalarında PDH aktivitesinde bir artışa neden olmuştur (Zheng vd. 2015). Tuz stresi altında, buğday tohumlarının prolin ile muamele edilmesinin, P5CS aktivitesinde bir azalmaya eden olarak prolin ve P5C içeriğini önemli ölçüde azalttığı buna karşın PDH aktivitesini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir (Rady vd. 2019). *Arabidopsis thaliana*'da eksojen prolinin PDH ekspresyonu üzerindeki benzer etkisi farklı çalışmalarda da rapor edilmiştir (Kiyosue vd. 1996, Nakashima vd. 1998). Deuschle vd. (2001), dışsal prolin uygulamasının PDH'ye ek olarak, P5CDH transkript seviyelerini artırdığını bildirmiş ve bu yanıtın bitkileri prolin toksisitesine karşı koruyabileceğini öne sürmüştür. Buna ek olarak, dışsal prolin uygulamasının tuz stresi altındaki *Oryza sativa*'da P5CS ve P5CR ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığını gösterilmiştir (Nounjan vd. 2012).

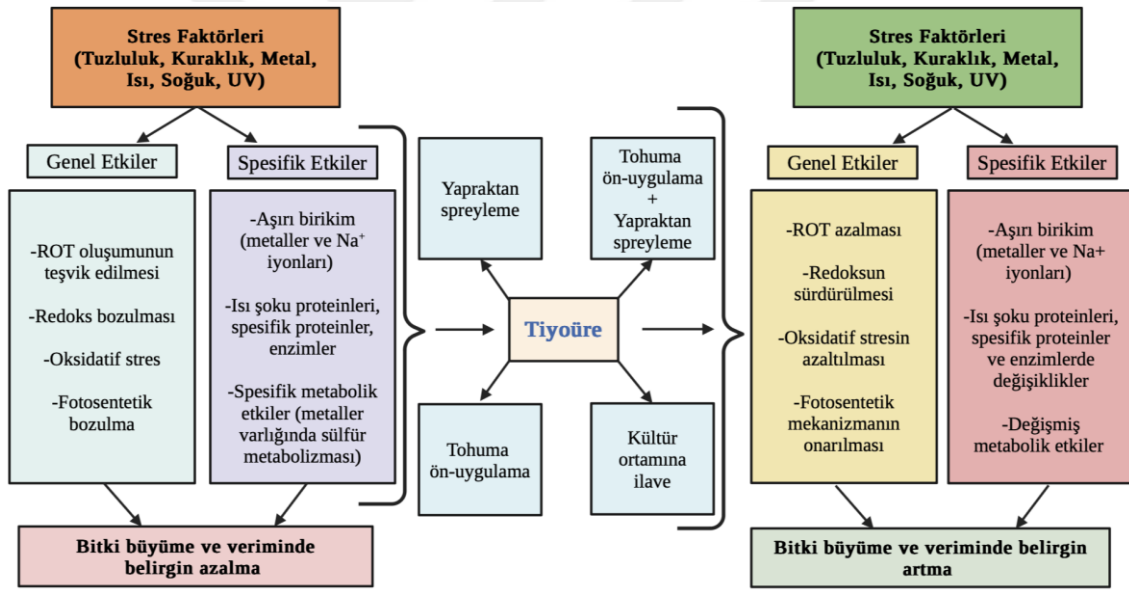
Silisyum (Si), bitki metabolizmasına doğrudan katılımını gösteren çalışmaların eksikliği nedeniyle esansiyel olmayan bir mineral besin maddesi olarak sınıflandırılmıştır (Datnoff vd. 1997). Ancak, özellikle abiyotik stres koşulları altında bitkiler üzerinde faydalı etkileri olduğunu gösteren birçok çalışma nedeniyle faydalı veya “yarı-esansiyel” bir element olarak tanımlanmıştır (Mandlik vd. 2020). Birçok çalışma, Si yoksunluğunun büyüme anormalliklerine neden olduğunu, dolayısıyla birçok bitki için faydalı olduğunu ortaya koymuştur (Frew vd. 2018, Zargar vd. 2019, Tripathi vd. 2021). Si'un tuzluluk, kuraklık, sıcaklık ve ağır metal stresi dahil olmak üzere bir dizi abiyotik stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Soundararajan vd. 2014, Ali vd. 2016, Deshmukh vd. 2020, Vaculík vd. 2020). Dışsal Si uygulamasının optimum  $K^+/Na^+$  oranını, iyonik konsantrasyonu ve besin dengesini koruyan ve ROT üretimini sınırlayan çevre dostu bir yaklaşım olduğu kanıtlanmıştır (Almeida vd. 2017). Si uygulamasının plazma membranında ve tonoplastta  $H^+$ -ATPaz aktivitesini artırarak  $Na^+$ 'un hücre dışına atılmasını kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Liang vd. 2006). Si uygulaması buğday (Javaid vd. 2019),

arpa (Alayat vd. 2022), mısır (Gou vd. 2023), sorgum (Bounaouara vd. 2024), salatalık (Hu vd. 2022), çeltik (Flam–Shepherd vd. 2018) ve kanola (Ahmad vd. 2023) fidelerinde tuz stresinin neden olduğu hasarı hafiflettiği bildirilmiştir. Bitkilerde Si aracılı tuz toleransının, akuaporinler, fitohormon biyosentezi, poliamin biyosentezi ve iyon taşıyıcıları ile ilgili genlerin düzenlenmesi ile gerçekleştiği gösterilmiştir (Kim vd. 2014, Bosnic vd. 2018). Salatalıkta, RNA–seq transkriptomik çalışması, yüksek tuzluluk altında Si uygulanan bitkilerin, sadece NaCl uygulamasına göre kontrol uygulamalarına benzer ekspresyon profili gösterdiği bildirilmiştir (Zhu vd. 2019). Tuz stresine maruz bırakılan çeltik fidelerine Si uygulaması, bir transkripsiyon faktörü, kinaz/fosfataz, fotosentetik genler, savunma veya stres için kodlanan 29 genin ifadesini önemli ölçüde değiştirdiği rapor edilmiştir (Kim vd. 2014). Soya fasulyesi fidelerinde Si uygulaması sonucunda hormon biyosentez yolunda yer alan genlerin diferansiyel olarak ifadesinin değiştiği bildirilmiştir (Rasoolizadeh vd. 2018). Mısırdaki Si uygulamasının *ZmSOS1* ve *ZmSOS2* taşıyıcılarının ifadesini artan yönde düzenlediği ve bunun sonucunda kökte  $\text{Na}^+$  birikimini azalttığı ve böylece meristem dokusunda tuz birikimini önlediği gösterilmiştir (Bosnic vd. 2018). Bu iki genin Si aracılı artan yönde düzenlenmesi ve kök stelinde *ZmHKT1*'in azalan yönde düzenlenmesi yapraklara daha fazla  $\text{Na}^+$  taşınmasına neden olmuştur. Ayrıca Si, *ZmNHX*'in artan yönde düzenlenmesi yoluyla mezofil hücrelerindeki vakuollerde  $\text{Na}^+$ 'un alıkonulmasını artırdığı ve dolayısıyla kloroplastlardaki  $\text{Na}^+$  yükünü azalttığı rapor edilmiştir. Tuz stresi altındaki çeltikte dışsal Si uygulamasının nitrik oksit metabolizması, oksin biyosentezi (*OsYUCCA1* ve *OsTAA1*) ve Si alımında (*OsLsi1* ve *OsLsi2*) yer alan genleri artan yönde düzenlediği bildirilmiştir (Tripathi vd. 2021).

### 2.3.1 Tiyoüre–Teşvikli Artırılmış Stres Toleransının Mekanizmaları

Bir sülfhidril bileşiği ( $\text{NH}_2\text{--CS--NH}_2$ ) olan tiyoüre (TÜ), Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği'ne (IUPAC) göre tiyokarbamid olarak da bilinen sentetik bir bileşiktir. Tiyol ( $\text{--SH}$ ) ve amino ( $\text{--NH}_2$ ) TÜ'deki iki fonksiyonel gruptur. Üredeki oksijen, TÜ'de kükürt ile yer değiştirmesi nedeniyle özellikleri önemli ölçüde farklılık göstermektedir. TÜ, azot ve kükürt içeren bir gübre olmasının yanı sıra, aynı zamanda bir bitki büyüme biyodüzenleyicisidir ve bu nedenle bitki biyolojisinde tohum

çimlenmesinin uyarılması, büyümenin teşvik edilmesi ve stresin iyileştirilmesi için kullanılmaktadır (Wahid vd. 2017). TÜ'nün sahip olduğu iki fonksiyonel grup; 'tiyol' oksidatif stres tepkisi için önemliyken amino grubu kısmen azot ihtiyacını karşılamaktadır (Ratnakumar vd. 2016). Bitki türlerinin farklı büyüme evrelerinde, büyüme teşvik edici ve stresi iyileştirici etkileri için dışsal TÜ uygulamalarına ilişkin farklı çalışmalar bulunmaktadır. Bu amaçla tohum uygulaması, kültür ortamına ilave ve yaprağa spreyleme gibi dışsal TÜ uygulamaları yapılmaktadır. TÜ uygulaması, bitkinin türüne, büyüme evresine, TÜ konsantrasyonuna ve uygulama zamanına göre değişmektedir (Patade vd. 2020). TÜ teşvikli stres iyileştirilmesinin göstergesi olarak stresin neden olduğu oksidatif hasara karşı korumanın artması, erken olgunlaşmanın başlaması ve ürün veriminin artması olaylarının eşlik ettiği bildirilmiştir (Şekil 2.2) (Patade vd. 2020).



**Şekil 2.2** Bitkilerde farklı çevresel stresler altında TÜ'nün etki şeklinin şematik gösterimi (Patade vd. 2020'den değiştirilerek).

Tiyöürenin tohum uygulamasının hem genetik hem de çevresel olarak teşvik edilen dormansinin kırılması ve tohum çimlenmesinin iyileştirilmesi açısından önemli olduğu kanıtlanmıştır (El-Keblawy ve Gairola 2017). TÜ ile ön-uygulamanın patates yumrularında tomurcuk filizlenmesini teşvik ettiği gösterilmiştir (Mani vd. 2012). Stresli koşullar altında TÜ, çeşitli tarımsal bitkilerde çimlenme oranını arttırmak için etkili bir madde olarak kullanılmaktadır (Patade vd. 2020). Geç ekilen buğdayda TÜ ile

tohum ön-uygulamasının maksimum yaprak alanına ve ürün artışına neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca T  n n verimle ilgili özellikleri (verimli kardeşlenme, 1000 dane ağırlığı, başak başına dane sayısı, dane ve biyolojik verim ile hasat indeksi) artırdığı gösterilmiştir (Chattha vd. 2017). T   ön-uygulamasının sıcaklık stresi altındaki *Camelina sativa* L. bitkilerinde kök ve sürgün uzunluğunu ve biyokütle üretimini iyileştirdiğı ve tohum verimini %15 oranında artırdığı bildirilmiştir (Waraich vd. 2021). Sıcaklık stresi altındaki *Brassica napus* tohumlarına T    n-uygulamasının gaz değışim özelliklerini ve su ilişkilerini koruyarak ve antioksidan enzim aktivitelerini yükselterek verim özelliklerini iyileştirdiğı gösterilmiştir (Ahmad vd. 2021). Tuz stresine maruz bırakılan susam bitkilerinde T    n-uygulamasının fotosentetik pigment içeriklerini, sekonder metabolit üretimini, antioksidan mekanizmayı ve besin alımını teşvik ederek büyüme ve gelişmeyi arttırdığı bildirilmiştir (Irfan vd. 2024).

T  n n kültür ortamına ilavesinin, su ve iyon homeostazisini iyileştirdiğı ve dolayısıyla *in vitro* veya *in vivo* koşullar altında tuz ve ağır metal streslerine karşı bitki toleransını artırdığı belirlenmiştir. Tuz stresine maruz kalan hint hardalında (*Brassica juncea*) T  n n (6.5 mM) kültür ortamına ilavesi kökte su dengesini iyileştirmiştir (Srivastava vd. 2010a). *B. juncea*'da T  n n (75  M) kültür ortamına ilavesiyle tuz stresinin (150 mM NaCl) iyileştirilmesi, transkripsiyon sonrası gen ifadesinin modülasyonu, miRNA ve hormon sentezinin koordineli olarak düzenlenmesi ile ilişkilendirilmiştir (Srivastava vd. 2017). Mısırd  T  n n besin ortamına eklenmesinin tuz stresinin neden olduğı büyüme inhibisyonunu iyileştirmede çok etkili olduğı bulunmuştur (Sanaullah vd. 2016). Bu bitkilerde T  n n antioksidan enzim aktiviteleri artırdığı ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile MDA içerikleri azaltığı gösterilmiştir. T   uygulamasının tuz stresinin mısır üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletmek için büyük bir potansiyele sahip olduğı ve düşük ila orta derecede tuzlu topraklarda büyümeyi iyileştirmek için kullanılması önerilmiştir (Sanaullah vd. 2016). Sıcaklık stresi altındaki mısır fidelerinin büyüme ortamına T   ilavesinin sürgün ve kök kuru ağırlığındaki azalmayı hafiflettiğı bildirilmiştir (Arshad vd. 2019). Bu bitkilerin klorofil a ve b, karotenoidler ve klorofil/karotenoid oranında sıcaklık stresine bağılı olarak azalma görülürken, T   takviyesi klorofil/karotenoid oranını tersine çevirmiştir. Sürgün ve kök kuru ağırlığı ile ilgili metabolitler arasında kurulan korelasyonlar, T   takviyesi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA'nın negatif, serbest prolin,

antosiyeninler ve askorbik asidin ise pozitif korelasyon göstermiştir. Sonuç olarak T  ilavesinin sürgün fizyolojik özelliklerini iyileştirdiği ve oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (Arshad vd. 2019). Kadmium stresi altındaki iki farklı mısır çeşidine ait fidelerin büyüme ortamına T  ilavesinin büyüme, net fotosentetik oran, transpirasyon oranı, stoma iletkenliği, klorofil b ve karotenoit içeriğini artırarak Cd toksisitesinin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmıştır (Perveen vd. 2015).

Bitkilerin ileri büyüme evrelerinde T 'n n yaprağa spreyleme yoluyla uygulanması (şekil 2.2) tercih edilen bir yöntem olmuştur.   eklenme öncesi 5 ve 10 günlük su stresi altında büyütülen salkım fasulyesine (*Cyamopsis tetragonoloba* cv. RGC–936) yapraktan T  uygulamasının kontrol ile karşılaştırıldığında hem kuraklık öncesi hem de kuraklık sonrası tohum verimini artırdığı bildirilmiştir (Burman vd. 2008). Mısırdaki   eklenme  ncesi T 'n n hem tohuma hem de yaprağa uygulanmasının tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığı ve fotosentetik verimliliği artırdığı bildirilmiştir (Kaya vd. 2015). Kuraklık stresi koşullarında buğdayda kardeşlenme ve %50 başaklanma evresinde dışsal T  uygulamasını bitki içi su dengesi, klorofil içeriği ve verimi iyileştirdiği belirlenmiştir (Rana vd. 2018). Farklı tuz stresi uygulamaları (0, 60 ve 120 mM) altında iki domates  eşidinin (Naqeeb ve Nadir) morfolojik, fizyolojik ve verim özellikleri üzerinde dışsal T  uygulamasının (100 mg/L) rolü araştırılmıştır. Yapraktan spreyleme yoluyla T  uygulanmasının her iki çeşitte de büyüme parametrelerini, yaprak alanını, klorofil a ve b içeriğini ve verimi artırmıştır (Majeed 2024). Buğdayda yapraktan T  uygulamasının beş buğday çeşidinin fide, antez öncesi ve tane dolumu aşamalarında tuzluluk tolerans eşiğini (ECe) ve yüksek sıcaklık toleransını geliştirmedeki olası rolü araştırılmıştır. Yapraktan uygulanan T , bu çeşitlerde farklı aşamalarda ECe'yi (%6–11) ve yüksek sıcaklık toleransını (%4–10) geliştirmiştir. Büyüme ve verim özelliklerinin korelasyonları, T 'n n yapraktan püskürtülmesinin fide ve antez öncesi aşamalarda kök büyümesini ve olgunlukta tane dolumu ve hasat indeksini teşvik etmedeki etkinliğini kanıtlamıştır (Anjum vd. 2011). Yapraktan T  uygulamasının tuz stresine maruz bırakılan iki maş fasulyesi (*Vigna radiata* L.)  eşitleri (NM–2006 ve NM–2011)  zerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Sonuçlar yapraktan T  uygulamasının sürgün ve kök taze ve kuru ağırlıklarını, sürgün ve kök uzunluklarını, bitki başına tohum verimini, bakla taze ve kuru ağırlıklarını, bitki başına

tohum sayısını, tohum ağırlığını, toplam çözünür şekerleri, toplam çözünür proteinleri, POD aktivitesini ve toplam fenolik içeriklerini önemli ölçüde artırırken, toplam serbest amino asitler ve glisin–betain içeriklerini azaltarak tuz stresinin toksik etkisini hafifletilmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Perveen vd. 2016).

Sera koşullarında, tuz stresine (100 mM NaCl) maruz bırakılan mısırdaki biyokütle ve yaprak su potansiyelinin azalması, membran hasarı ve lipid peroksidasyonunun artması gibi tuz stresiyile ilişkili olumsuz etkilerin dışsal Tü uygulamasıyla iyileştirildiği bildirilmiştir (Kaya vd. 2015). Tuz stresine maruz bırakılan buğdayda yapraktan kombine Tü ve arjinin uygulamasının antioksidan enzimlerin aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı buna karşın ROT, MDA ve bağıl elektrolit sızıntısı (REL) seviyelerini azalttığını gösterilmiştir (Li vd. 2024). Ayrıca, bu uygulamaların  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonlarını ve  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  oranını önemli ölçüde azalttığı,  $\text{K}^+$  seviyesini ise önemli ölçüde artırarak iyonik ve ozmotik dengeyi koruduğu gösterilmiştir. Bunlara ek olarak klorofil içeriğini, net fotosentetik hızı ve gaz değişim oranını belirgin şekilde artırmıştır. Tü ve arjinin kombine uygulamasının tuzlu koşullar altında buğday verimliliğini artırmak için potansiyel bir uygulama olabileceği önerilmiştir (Li vd. 2024). Tuz ve sıcaklık stresi koşullarında yetiştirilen tuza toleranslı (S-24) ve duyarlı (MH-97) buğday çeşitlerinde yapraktan uygulanan Tü'nün iyileştirici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Freeha vd. 2008). Bu araştırmada, stres koşullarına bağlı olarak net fotosentez ve RuBisCO'nun karbon asimilasyonunun azaldığı, bunun da tane verimini düşürdüğü belirlenirken, bu durumun Tü uygulaması ile iyileştirildiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, tuz stresi koşullarında (120 mM) büyütülen iki mısır hibridinde (DK6789 ve 33M15) Tü (400  $\mu\text{M}$ ) uygulamasıyla tuz toleransının teşvik edildiği bildirilmiştir (Sanaullah vd. 2016). Tuz stresi altında Tü uygulamasının ROT birikiminin azalmasına ve daha iyi iyonik denge kurulmasına neden olarak fidelerin canlılığını sürdürmesini ve büyümenin geliştirilmesini sağladığı rapor edilmiştir (Srivastava vd. 2017). Tuz stresi koşullarında Tü ilavesi sonrası ROT detoksifikasyonunda görev alan enzimatik (katalaz, süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, guaiakol peroksidaz vb.) ve enzimatik olmayan (askorbat, glutatyon, fenolikler, prolin, karotenoidler vb.) antioksidan metabolitler arasında iyi bir dengenin olduğu bildirilmiştir (Srivastava vd. 2011, Kaya vd. 2015). GSH/GSSG oranının tuz

stresine göre T +NaCl uygulanan *B. juncea* fidelerinde daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Srivastava vd. 2011).

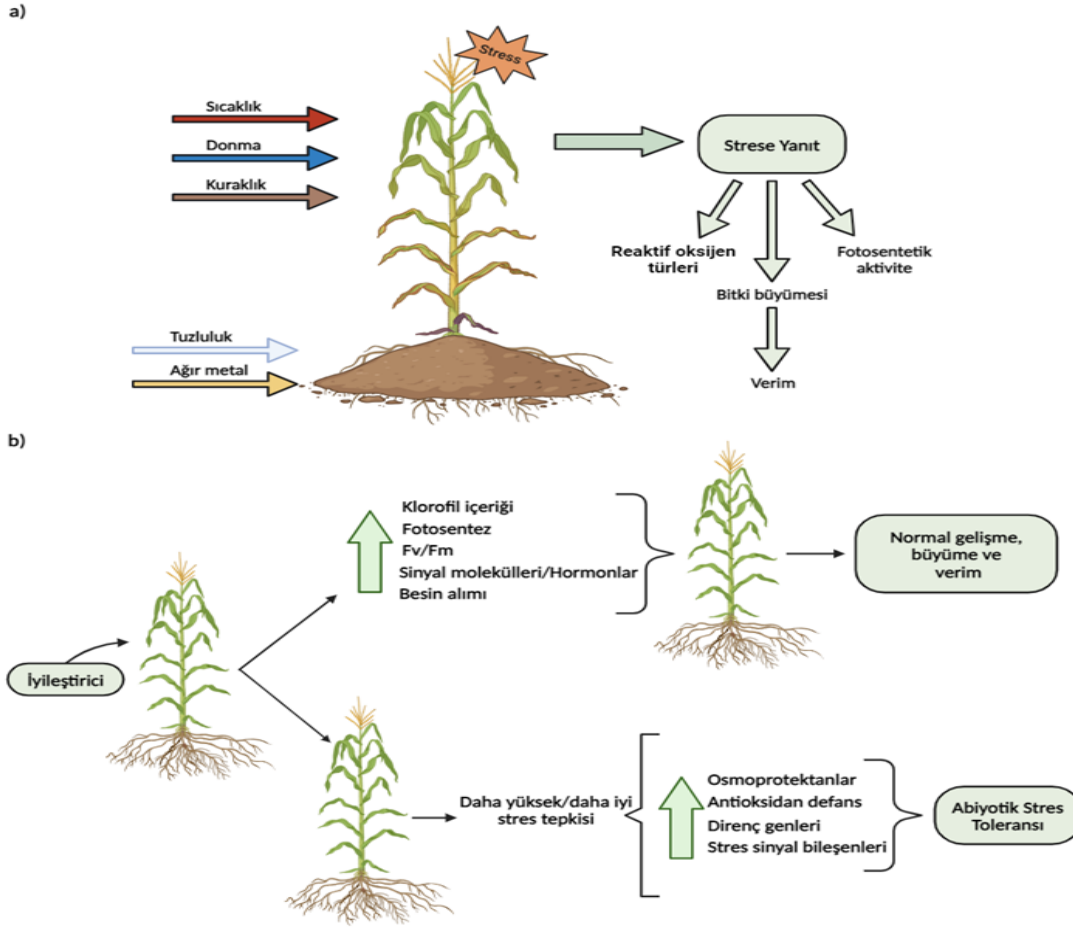
Metabolik reaksiyonlarda elektronların uygun akışı, indirgeyici eşdeğerlerin tüketime, üretimi ve hücrelerin redoks durumu dengesi, uygun metabolik işleyişi belirleyen çok önemli faktörlerdir. Stresler doğrudan veya dolaylı olarak bu redoks dengesini bozmakta ve oksidatif strese neden olmaktadır (Das ve Roychoudhury 2014). Tuz stresi bitkilerin su içeriğini azaltmakta ve gaz alışverişi, fotosentetik verimlilik ve solunum aktivitelerini etkilemektedir. Bu değişiklikler, adenin ve piridin nükleotidlerinin dengesinde değişikliklere, artan ROT üretimine ve oksidatif strese yol açmaktadır. T , fizyolojik olmayan bir ti ol gibi davranan ve iyi bilinen bir ROT temizleyicisi olan bir molekülüdür (Kelner vd. 1990). T 'n n stres koşulları altında bitkilerin redoks durumunu hassas bir şekilde düzenlediği ileri sürülmüştür (Wahid vd. 2017). T 'n n redoks dengeleme davranışı, stres iyileştirme potansiyelinin ana faktörüdür. Bu durum, ROT üretiminin azalması veya bazı ROT türlerinin yok edilmesine yol açmaktadır. Yüksek tuz stresine maruz bırakılan Hint hardalı tohumlarında T  ilavesinin, mitokondriyal fonksiyonları ve mitokondriyal ATPaz aktivitesini koruduğu bulunmuştur. Bu durum, ROT'ların T  uygulanmış tohumlarda daha az üretilmesi ile açıklanmıştır (Srivastava vd. 2010a, b). T  uygulanmış Hint hardalı fidelerine göre sadece tuz stresi uygulanmış fidelerle karşılaştırıldığında, tuz stresi koşullarında Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> oranını koruduğu bulunmuştur. Böylece, T  uygulanmış fidelerde daha az Na<sup>+</sup> iyonu yükü olumsuz etkileri önlemiş ve fidelerin büyümesi artmıştır (Srivastava vd. 2011). NaCl stresine maruz kalan *B. juncea* fidelerinde, NADP/NADPH ve NAD/NADH oranlarında bir azalma ile belirlenmiş aşır  indirgenmiş elektron transport zinciri gözlenmiştir. Bu olumsuz etki, T  ilavesiyle iyileştirilmiş ve NADP/NADPH ve NAD/NADH'de bir miktar artış belirlenmiştir. Ayrıca T  ilavesi, su durumu ve hücresel pH'ı koruyarak stomatal hareketin düzgün bir şekilde gerçekleşmesine ve olumsuz stres etkilerinin önlenmesini sağlamıştır (Srivastava vd. 2011). Tuz stresine maruz bırakılan *B. juncea* fidelerine uygulanan T  ilavesi ile ATP/ADP oranının iyileşmesi, bitki büyümesi için uygun miktarda ATP'nin varlığını göstermektedir (Srivastava vd. 2011). Aynı zamanda araştırıcılar, T +NaCl uygulamasında ATP t ketimeinin daha az olduğunu da vurgulamışlardır.

### 2.3.2 Tuz Stresi Koşullarında Gen İfade Profili Üzerine Biyodüzenleyicilerin Etkisi

Bitkiler, yaşam döngüleri boyunca abiyotik (kuraklık, tuzluluk, aşırı sıcaklıklar ve ağır metaller gibi) ve biyotik stres faktörlerini (bakteriyel, fungal, viral ve herbivor) içeren çeşitli zorlu ve stresli çevresel koşullarla karşılaşmaktadır. Bitkiler bu koşullara bir dizi farklı moleküler, hücresel ve fizyolojik değişikliği tetikleyerek yanıt vermektedir (Yadav vd. 2020). Bu yanıtlar, düşük konsantrasyonlarda sekonder habercileri, enzim aktiviteleri ve anahtar genlerin ifadesini düzenleyen sinyal molekülleri olarak fonksiyon gören reaktif kimyasal türlerin üretilmesi ile gerçekleşmektedir (Farnese vd. 2016).

Biyodüzenleyicilerin çevrenin olumsuz etkilerini azaltarak bitki büyümesini teşvik ettiği ve ürün verimliliğini artırdığı bilinmektedir (Şekil 2.3) (Singh vd. 2018, Xu ve Geelen 2018). Biyodüzenleyiciler, iklim değişikliği, sanayileşme, yanlış gübre kullanımı ya da yanlış sulama gibi sebeplerden kaynaklanan farklı bitki streslerinin neden olduğu verim kayıplarıyla başa çıkmak için en umut verici alternatiflerden biridir. Biyodüzenleyiciler, pestisitler ve kimyasal gübreler hariç olmak üzere, bitkiler üzerinde olumlu etkileri olan birçok farklı bileşikten oluşmaktadır (García–García vd. 2020). Biyodüzenleyicilerin yalnızca bitkinin doğal savunmasını tetikleyici birer ajan olarak hareket ettiği ve çeşitli streslere karşı toleransı artırmak için yalnızca düşük konsantrasyonlarda uygulanması gerektiği bildirilmiştir (Roy ve Chowdhury 2020, Rasool vd. 2022). Bitkilerde tuz stresinin neden olduğu toksik etkilerin hafifletilmesinde kullanılan farklı biyodüzenleyiciler ve bunların bitkilerdeki transkriptom değişimleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Hidrojen sülfür ( $H_2S$ ), bitki hücrelerinde anahtar sinyal moleküllerinden biridir.  $H_2S$ 'ün hedef proteinlerin sistein kalıntılarındaki tiyol grubunun ( $-SH$ ) bir persülfid grubuna ( $-SSH$ ) dönüştürülmesi etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Aroca vd. 2017). Bitkiler endojen olarak sülfat, sülfid, bisülfid veya L–sisteine maruz kaldıklarında  $H_2S$  üretiminde gözlemlenen artış,  $H_2S$  emisyonunun bitkilerin doğal koşullar altında oluşan fazla inorganik kükürdü uzaklaştırmasına yardımcı olduğunu göstermiştir (Zhang vd. 2021).



**Şekil 2.3** Bitkilerde abiyotik stres ve biyodüzenleyicilerin etkisi **a)** Abiyotik stresin bitkiler üzerinde etkisinin gösterimi, **b)** Biyoregülatör uygulamasının abiyotik stres üzerine etkisinin gösterimi (García–García vd. 2020 ve Godoy vd 2021’den değiştirilerek).

H<sub>2</sub>S’ün bitki büyümesi, gelişimi ve yaşlanma gibi tüm hayatsal faaliyetlerin sürdürülmesinde aktif bir rol oynadığı ve çeşitli bitkilerde abiyotik streslere karşı toleransı artıran bir sinyal molekülü olarak hareket ettiği doğrulanmıştır (Antoniou vd. 2020, Corpas ve Palma, 2020). H<sub>2</sub>S’ün, kontrolsüz ROT üretimini ve lipid peroksidasyonunu azaltarak stres koşulları altında bitki verimliliğini artıran antioksidan savunma enzimlerinin gen ifadesi ve aktivitesini artırabileceği gösterilmiştir (Aghdam vd. 2018, Chen vd. 2018). Ayrıca H<sub>2</sub>S’ün, çeşitli biyokimyasal mekanizmaları ve stres toleransını/adaptasyonunu düzenlemek için fitohormonlar, Ca<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve NO gibi diğer moleküllerle etkileşime girdiği rapor edilmiştir (Arif vd. 2020, Bhuyan vd. 2020, Huang vd. 2021). H<sub>2</sub>S’ün bitkilerin stres ile başa çıkabilmelerinde görev alan enzimlerle ilişkili genleri düzenleyerek tuz stresine yanıtta rol oynadığı bildirilmiştir (Fang vd. 2016).

H<sub>2</sub>S'ün prolin-5-karboksilat redüktaz (*P5CR*) ve prolin dehidrogenaz (*PDH*) genlerinin aktivitesini ve transkripsiyonunu artan yönde düzenleyerek prolin içeriğini artırdığı gösterilmiştir (Tian vd. 2016). Tuz stresi koşullarında plazma membranı bileşenleri olan H<sup>+</sup>-ATPaz ve Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiportör taşıyıcıları hücresel K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> homeostazının korunmasında kilit rol oynamaktadır. Bu H<sup>+</sup>-ATPaz ve Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiportörlerinin ifade ve aktivitelerinin düzenlenmesinin bitkilerde tuz toleransı için önemli bir düzenleyici mekanizma olabileceği düşünülmektedir (Mansour 2013). Li vd. (2014), Tuz stresine maruz bırakılan *A. thaliana* köklerinde dışsal H<sub>2</sub>S uygulamasının H<sup>+</sup>-ATPaz'ı kodlayan *AHA3* ve *AHA4* genlerinin ifade seviyelerini artırdığını bulmuştur. Li vd. (2022), alkali tuz stresine maruz bırakılan *Malus hupehensis* köklerinde H<sub>2</sub>S uygulamasının 4314 genin ifadesinde değişime neden olduğunu göstermiştir. GO ve KEGG analizleri ile zenginleştirilen genlerin özellikle enerji koruma kapasitesi, hücre duvarı bütünlüğü ve ROT metabolizması kapasitesini artırarak tuz stresini hafifletebileceğini gösterilmiştir (Li vd. 2022). Bitkilerde JA ve ABA, tuz stresine yanıtın düzenlenmesinde rol alan önemli fitohormonlardır (Wang vd. 2020). Yastreb vd. (2020), tuz stresine maruz bırakılan *A. thaliana* fidelerinde H<sub>2</sub>S uygulamasının JA ve ABA sinyallerinin iletiminden sorumlu olan *JIN1/MYC2* geninin ifadesinde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bir transkripsiyon faktörü olan *JIN1/MYC2* geninin ifade seviyesinin artması ile tuz stresine karşı bitki yanıtının düzenlenmesinde H<sub>2</sub>S'ün önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Yastreb vd. 2020).

Nitrik oksit (NO), bitkilerde kök oluşumu, tohum çimlenmesi, fide büyümesi, stoma kapanması, çiçeklenme, yaşlanma, programlanmış hücre ölümü, biyotik ve abiyotik strese yanıt gibi fizyolojik süreçlerde kilit rol oynayan önemli bir sinyal molekülüdür (Wendehenne vd. 2004, Wilson vd. 2008, Fancy vd. 2016). Bitkilerde NO sinyal yollarının bitki gelişim süreçleri ve stres savunma mekanizmalarına ait yollar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Baudouin ve Hancock 2014, Domingos vd. 2015, Kumar ve Pathak 2018). Bitkilerin tuz stresi toleransında NO'nun iyileştirici etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Ahmad vd. 2016, Kong vd. 2016, Zhao vd. 2018). Tuz stresine maruz bırakılan *Phragmites australis* fidelerine NO uygulamasının, plazma membranı H<sup>+</sup>-ATPaz, vakuolar H<sup>+</sup>-ATPaz ve Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiportörünün sentezinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (Zhao vd. 2004). Chen vd. (2015), tuz stresi koşullarındaki arpa

köklerinde NO'nun  $K^+/Na^+$  taşıyıcılarının ifadesini düzenlediğini bildirmiştir. Plazma membranı  $H^+$ -ATPaz (*HvHAI1*) ve  $Na^+/H^+$  antiportur (*HvSOS1*) genlerinin transkripsiyon seviyelerindeki artışın hücrel  $Na^+$  seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir. Bununla birlikte, vakuolar  $Na^+/H^+$  antiportur (*HvVNHX2*) ve  $H^+$ -ATPaz alt birimi  $\beta$  (*HvVHA- $\beta$* ) genlerinin transkripsiyon seviyeleri ve vakuolar  $Na^+/H^+$  antiportur (*NHE1*) ifadesinde artışın olduğu da saptanmıştır. Bu genlerin ifadesindeki artışın,  $Na^+$ 'un vakuolar kompartımanlaşmasını artırarak sitoplazmik  $Na^+$  seviyelerinin azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (Chen vd. 2015). Kong vd. (2016), tuz stresine maruz bırakılan pamuk bitkilerinde dışsal SNP (sodyum nitroprussid, NO donörü) uygulamasının fotosentetik *LHCB* geninin ifadesindeki artışın yanı sıra klorofil içeriği ve fotosentez oranında artışa neden olduğunu ifade etmiştir. SNP ilavesi ile *SOS1* ve *NHX1* genlerinin ifadesindeki artışın, yapraklardaki  $K^+$  seviyelerini artırdığı ancak  $Na^+$  seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. ABA biyosentez genleri *NCED2* ve *NCED9*'un ifadesinin azalması ile ABA içeriğinin azalan yönde düzenlendiği ve yaprak yaşlanmasının geciktiği de bildirilmiştir. Ayrıca sitokinin biyosentez genleri *IPT1* ve *ZR*'nin genlerinin ifade seviyelerinin dışsal SNP uygulaması ile teşvik edildiği gösterilmiştir (Kong vd. 2016). Wang vd. (2014), dışsal NO'nun *IPT1* ifadesini artırdığı ve buna bağlı olarak sitokinin içeriğindeki artışın da tuz stresi koşullarında gecikmiş yaprak yaşlanmasının önemli bir nedeni olabileceğini göstermiştir. Tuz stresine maruz bırakılan nohut fidelerine S-nitroso-N-asetilpenisilamin (NO donörü) uygulanmış ve *SOD*, *CAT* ve *APX* genlerinin aşırı ifadesi belirlenmiştir (Ahmad vd. 2016). Sonuç olarak, NO'nun tuz stresine yanıtta önemli bir sinyal molekülü olarak rol aldığı bildirilmiştir (Jahan vd. 2021).

Salisilik asit (SA), bitkilerde hem biyotik ve abiyotik streslere yanıtta hem de sistemik kazanılmış dirençte rolü olan bir savunma hormonudur (Song vd. 2023). SA'nın tuzluluk ve ozmotik stres de dahil olmak üzere farklı abiyotik streslere karşı savunma tepkilerinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Wani vd. 2017). Çok sayıda çalışma, SA'nın dışsal uygulanmasının birçok bitki türünde tuz stresinin neden olduğu toksisiteyi iyileştirebileceğini göstermiştir (Noreen vd. 2017, El-Taher vd. 2021, Linić vd. 2021). SA'nın tuz stresi üzerindeki etkilerinin kanıtlanması amacıyla *A. thaliana* mutantları kullanılmıştır. Tuz stresine maruz bırakılan farklı yabancı tip bitkilere göre mutant

bitkilerde SA sentezi ve birikimi değişiklik göstermiştir (Cao vd. 2009, Asensi–Fabado ve Munne–Bosch 2011, Miura vd. 2011, Hao vd. 2012). SA, izokorizmat sentaz (ICS) ve izokorizmat piruvat liyaz (IPL) içeren iki aşamalı bir süreçte ara ürün olarak izokorizmat aracılığıyla korizmattan sentezlenmektedir (Lefeverre vd. 2020). *Arabidopsis* genomunda, *ICS1* (SA–INDUCTION DEFICIENT2 olarak da bilinir) ve *ICS2* (At1g18870) olmak üzere iki gen ICS enzimini kodlamaktadır. Tuz stresine maruz bırakılan *H. vulgare* fidelerinde *ICS* geninin aşırı ifade olduğu gösterilmiştir (Wang vd. 2021). SA biyosentezi hem transkripsiyonel hem de post–transkripsiyonel seviyelerde kontrol edilmektedir. Transkripsiyonel düzeyde, *MYB*'ler (*MYELOBLAST*, *MYB96* ve *MYB30*), *WRKY*'ler (*WRKY28* ve *WRKY46*) ve *WIPK* (Wound–Induced Mitogen–Activated Protein Kinase) ile aktive edilen transkripsiyon faktörlerinin *ICS* genini pozitif olarak düzenlediği ve böylece bitkilerde SA üretimini artırdığı gösterilmiştir (Vidhyasekaran ve Vidhyasekaran 2015). Rao vd. (2019), tuz tsresi altındaki *Populus euphratica*'da SA uygulamasının etkilerini transkriptomik olarak analiz etmiştir. NaCl'e göre SA+NaCl uygulamasında özellikle 269 artan yönde ve 119 azalan yönde düzenlenmiş DEG'in "sinyal iletimi" yolaklarında, 339 artan yönde ve 129 azalan yönde düzenlenmiş DEG'in ise "çevresel adaptasyon" mekanizmalarında fonksiyon gördüğü bildirilmiştir. Bununla birlikte, araştırmacılar *MYB* ve *WRKY* genlerinin ifadelerinde artış tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, *P. euphratica*'da tuz stresinin hafifletilmesinde SA'nın önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (Rao vd. 2019). Yan vd. (2023), tuz stresine maruz bırakılan *Cucumis melo* tohumlarına dışsal SA uygulamış ve transkriptomik analiz gerçekleştirmiştir. Transkriptom veri analizleri ile 2958 artan yönde ve 2157 azalan yönde düzenlenen DEG tanımlanmıştır. Bu genlerin temel olarak MAPK sinyal yolu ve bitki hormonu sinyal iletimi, lipid metabolizması (linoleik ve linolenik yağ asidi metabolizması), sekonder metabolitlerin biyosentezi (fenilpropanoid yolu ve flavonoid biyosentezi; *MELO3C008187.2*, *MELO3C002391.2*, *MELO3C019612.2*, *MELO3C008188.2*, *MELO3C023613.2*, *MELO3C021914.2*, *MELO3C018804.2* ve *MELO3C020841.2*) ile ilgili yolaklarda yer aldığı bildirilmiştir. Ayrıca SA'nın hücre çeperi stabilitesini artırmak için lignin biyosentezi ve lipoksigenaz (LOX; *MELO3C014627.2*, *MELO3C000684.2*, *MELO3C014634.2*, *MELO3C004250.2*, *MELO3C014637.2*, *MELO3C031048.2* ve *MELO3C000770.2*) genlerini pozitif olarak düzenlediği ve tuz stresini hafifletebileceği ortaya konmuştur (Yan vd. 2023). Biberde

SA uygulaması ile tuz stresinin hafifletilmesine katkıda bulunan DEG'lerin belirlenmesi için transkriptomik çalışma gerçekleştirilmiştir (Ma vd. 2023). SA'nın tuz stresini hafifletme mekanizmasını anlamak için yapılan GO ve KEGG analizleri sonucunda, DEG'lerin fotosentezle ilgili genlerin yanı sıra diziye özgü DNA bağlanması, transkripsiyon düzenleyici aktivitesi ve DNA bağlayıcı transkripsiyon faktörü aktivitesi terimlerinde zenginleştiği tespit edilmiştir. İleri analizler sonucunda ise *MYB*, *bZIP*, *BBX*, *AP2/ERF*, *NAC* gen ifadelerinde değişiklikler belirlenmiştir. Bu verilere dayanarak tuz stresinin hafifletilmesinde SA'nın önemli katkılar sağladığı ifade edilmiştir (Ma vd. 2023).

Silisyum (Si) bitki büyümesi için faydalı ancak gerekli olmayan bir element olarak görülmesine rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucunda bitkiler için "yarı gerekli" bir element olarak kabul görmeye başlamıştır (Manivannan vd. 2023). Dışsal Si uygulamasının, bitkilerde verim artışı (Artyszak vd. 2018), gelişmiş hastalık direnci ve abiyotik streslere karşı yanıt başta olmak üzere çok çeşitli faydalar gösterdiği bildirilmiştir (Debona vd. 2017, Ranjan vd. 2021). Si takviyesinin tuzluluk (Yassen vd. 2017, Dhiman vd. 2021), kuraklık (Bhardwaj vd. 2021), yüksek sıcaklık (Hussain vd. 2019) ve patojenler (Islam vd. 2020) gibi çeşitli streslere karşı etkili olduğu da kanıtlanmıştır (Soundararajan vd. 2017). Tuz stresine maruz bırakılan salatalık fidelerine Si uygulanmış ve transkriptomik analizlerle gen ifadelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Tuz stresi altında artan veya azalan yönde düzenlenen 708 ve 774 genden sırasıyla 609 ve 595 tanesinin Si uygulaması ile kontrol uygulamasındaki normal ifade seviyelerine döndüğü bildirilmiştir. Tespit edilen DEG'ler arasında *ERF*, *bHLH*, *WRKY*, *MYB*, *bZIP*, *GAGA*, *HSP*, *TCP* ve *NAC* genlerinin tuz stresine yanıt olarak önemli ifade değişiklikleri gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Si'un salatalık bitkilerinde tuz toleransını teşvik etmek için bir iyileştirici olarak fonksiyon görebileceğini göstermiştir (Zhu vd. 2019).

N-asetil-5-metoksitriptamin olarak da bilinen melatonin (MT), bitkilerde korunmuş önemli bir hormondur (Nawaz vd. 2016). Melatoninin bitkilerde tohum, kök, gövde, yaprak ve meyvelerde bulunduğu gösterilmiştir (Erland vd. 2018). Melatoninin bitki büyümesi ve gelişiminin yanı sıra fizyoloji üzerinde pleiotropik etkileri olan bir molekül

olarak kuraklık, tuzluluk, donma, toksik kimyasallar, patojen saldırısı gibi streslere karşı bir anti-stres ajanı olarak görev aldığı gösterilmiştir (Jamil vd. 2011, Zhang vd. 2012, Arnao ve Hernandez-Ruiz 2019). Melatoninin strese yanıt sırasında bir dizi antioksidatif enzimi aktive ettiği ve reaktif oksijen/azot türlerini (ROT/RNT) temizleyerek bitkilerin antioksidan yeteneklerini artırdığı bildirilmiştir (Zhang vd. 2015). Tuz stresi *Malus hupehensis*'in yapraklarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini artırırken, dışsal MT uygulaması ile tuz stresi kaynaklı meydana gelen oksidatif hasarı önemli ölçüde hafiflettiği bildirilmiştir (Li vd. 2012). Huangfu vd. (2021), Tuz stresine maruz bırakılan çeltik tohumlarına dışsal MT uygulamış ve transkriptom dizileme analizi ile çimlenme sırasında oluşan potansiyel moleküler mekanizmayı araştırmıştır. Transkriptom analizleri ile tespit edilen birçok DEG'in antioksidatif aktivite, fitohormon biyosentezi ve sinyal iletimi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. NaCl'e göre NaCl+MT uygulamasında POD sentezinde görevli PRX genlerinin ifade seviyelerinin önemli ölçüde artış gösterdiği belirtilmiştir. Fitohormon sentez yollarında görev yaptığı bilinen PAL ve GA2 genlerinin ifadesinin NaCl'e göre NaCl+MT'de artış gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, strese yanıtta yer alan MYB, WRKY ve NAC genlerinin ifade seviyelerinin değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir (Huangfu vd. 2021). Tan vd. (2019), tuz stresine maruz bırakılan kolza (*Brassica napus* L.) yaprak ve köklerinde dışsal MT uygulamasının transkriptomik profilleri üzerine çalışma gerçekleştirmiştir. NaCl'e göre NaCl+MT uygulamasında yapraklarda 192, köklerde 380 ve her iki dokuda ortak 21 DEG tespit edilmiştir. GO ve KEGG analizleri ile DEG'ler yoğun olarak bitki hormon sentezi ve sinyal iletimi, lignin ve yağ asidi metabolizması terimlerinde zenginleşmiştir. Bitki hormon sentezinde görev alan ERF, WRKY ve GATA gen ailelerinin ifade seviyelerinde artış belirlenmiştir. Bununla birlikte, brassinosteroid biyosentezinde rol alan BRI1, SQE, SMT, STE1 ve JA biyosentezinde görev yapan HPL1, AOC ve JAZ genlerinin ifade seviyelerinin artan yönde düzenlendiği tespit edilmiştir. Oksin biyosentezinde yer alan Aux/IAA ve SAUR gen ifadeleri artış göstermiştir. Sitokinin yanıt genleri olan ARR4 (A-ARR), ARR7 (A-ARR) ve ARR12 (B-ARR) homolog genlerin ifadesinin, MT uygulaması ile azalan yönde ifade düzenlendiği tespit edilmiştir. MT uygulaması ile hormon sentezinde ya da yanıtlarında yer alan genlerin ifadelerinde tespit edilen değişikliklerin sonucu olarak tuz stresi altındaki kolza fidelerinin büyümesinde MT'nin etkili olabileceği belirtilmiştir (Huangfu vd. 2021).

Tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde T  uygulamasının moleküler seviyede etkilerini araştıran çok az sayıda transkriptomik çalışma bulunmaktadır. Pandey vd. (2021), tuz stresi altındaki  eltik bitkilerinde T  ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamalarının etkilerini değerlendirilmiştir. Zıt redoks kimyalarına rağmen, T  veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> takviyesinin (NaCl+T  veya NaCl+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) indirgeyici bir redoks ortamı oluşturarak tek başına NaCl uygulamasına kıyasla bitki büyümesini iyileştirdiği bildirilmiştir. Bu durumun hem T  hem de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan fidelerde daha iyi K<sup>+</sup> içeriğinin sağlanması ve *HAK21*, *LEA1*, *TSPO* ve *EN20* gibi NaCl savunmasıyla ilgili genlerin ifadesinin artan yönde düzenlenmesi ile gerçekleştiği gösterilmiştir (Pandey vd. 2021). Ek olarak, *B. juncea* bitkilerinde T 'n n NaCl stresini iyileştirici etkisi mikroarray yöntemi kullanılarak araştırılmıştır (Srivastava vd. 2017). T 'n n NaCl stresine karşı iyileştirici potansiyelinin köklerde ROS birikimini azaltma ve sürgünlerde Na birikimini artırma kabiliyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Küçük RNA dizilimi, T +NaCl ile muamele edilen köklerde transkripsiyonel aktivasyona işaret eden azalan yönde düzenlenen miRNA'ların zenginleştiğini ortaya koymuştur. Dizileme analizi sonucunda *BRX4*, *CBL10* ve *PHO1* dahil olmak üzere, T  aracılı stres azaltımından sorumlu olan ilgili miRNA ifadesi ile ters ilişki gösteren üç anahtar gen tanımlamıştır (Srivastava vd. 2017).

## 2.4 Tuz Stresine Yanıtta Rol Alan Proteinler

Bitkilerde tuz stresine yanıtta birçok proteomik çalışma gerçekleştirilmiş ve bunun sonucunda  eltik, buğday, arpa, mısır ve domates dahil olmak üzere birçok bitki türünde en az 900 tuza duyarlı protein tanımlanmıştır (Zhao vd. 2013). nLC–MS/MS gibi güncel analiz yöntemlerinin kullanılmasıyla birlikte bu sayının çok daha fazla olduğu düşünülmektedir (Mansour ve Hassan 2022). Tuz stresine maruz bırakılan bitkilerin proteomik analizi, bitkilerin tuzluluk stresinin üstesinden gelmek için çeşitli stratejiler ve proteomik değişiklikler geliştirebileceğini göstermektedir. Fotosentez, enerji metabolizması, ozmotik düzenleme, sinyal iletimi ve taşıma sistemi gibi çeşitli işlevlerle ilgili proteinler, bitkilerde tuz stresine yanıtta rol oynamaktadır. Bitkilerde tuz stresine yanıtta yer alan bu proteinlerin, tuz sinyali ve sinyal iletiminde (G proteinleri,

kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ) sinyal proteinleri vb.), membran ve taşıyıcılarla ilgili proteinler (SOS1 ve HKT'ler vb.), redoks homeostazında yer alan proteinler (SOD, CAT, POD vb.) karbonhidrat ve enerji metabolizması proteinleri (RuBisCO, karbonik anhidraz vb.), hücre iskeleti proteinleri (aktin bağlayıcı protein, tubulin, kinesin vb.), hücre çeperi proteinleri (polisakkaritler ve lignin sentez proteinleri vb.), protein ve nükleik asit sentezi ve yıkımı ile ilişkili enzimler (DNA sentezi ve RNA işleme enzimleri, translasyon makineleri, HSP ve siklofilin gibi protein katlama enzimleri, ubiquitin/26S proteazomal yıkım proteinleri) gibi çok farklı metabolik süreçlerde ve anahtar rollerde yer aldıkları gösterilmiştir (Passamani vd. 2017, Kosova vd. 2018, Krishnamurthy vd. 2018, Hao vd. 2021, Dhiman vd. 2021).

Karşılaştırmalı proteomik analizler (kontrol ve stresli) stres tepkilerini daha iyi anlayabilmek adına sıklıkla kullanılmaktadır (Farooq vd. 2021, Gan vd. 2021, He vd. 2021). Bu alandaki birçok araştırma, bitkilerin strese verdikleri protein düzeyindeki yanıtların tam olarak anlaşılabilmesi için karşılaştırmalı proteomik analizlere başvurmaktadır. Bu nedenle, karşılaştırmalı proteomik analizler, gen ifadesi, hücresel metabolizma ve bitkilerin strese uyum sağlama tepkileri arasındaki ilişkinin anlaşılmasında önemli bir yer almaktadır (Acharjee vd. 2018). Tuz stresi altındaki birçok tarımsal bitkinin karşılaştırmalı proteomik analizleri, bir dizi biyolojik süreçte işlevsel olarak yer alan çok sayıda tuza duyarlı proteinin tanımlanmasına yol açmıştır. Xu vd. (2017), çeltikte 150 mM NaCl ön-uygulamasına maruz bırakılmış tohumlar ve kontrol tohumları arasında karşılaştırmalı proteomik analiz gerçekleştirmiş ve NaCl uygulamasının çimlenen tohumlarda enerji metabolizmasında görev alan proteinlerinin ifadesinin önemli düzeyde artırdığını bildirilmiştir (Xu vd. 2017). Tuz stresine maruz bırakılan mısırda genotipe özgü proteom değişikliklerini incelenmiştir.

Mısırın tuza toleranslı (Jing724) ve tuza duyarlı (D9H) çeşitlerinin köklerinde NaCl stresinin (100 mM) etkileri karşılaştırmalı proteomik analizlerle değerlendirilmiştir (Luo vd. 2017). Toleranslı genotipte karbonhidrat ve enerji metabolizması ile ilişkili proteinlerin artan yönde düzenlenmesinin amonyak seviyesini düşürmesine yardımcı olarak ozmotik strese karşı bir yanıt mekanizması oluşturdukları öne sürülmüştür. Ayrıca, tuza toleranslı çeşitte tolerans ilişkili olduğu belirlenen protein miktarı ve çeşidi

tuza duyarlı çeşide kıyasla daha fazla bulunmuştur (Luo vd. 2017). Tuz stresi uygulanmış soya fasülyesinde iTRAQ ve tandem kütle spektrometresi kullanarak yapraklarda ve köklerde ifadesi değişiklik gösteren DEP'ler belirlenmiştir (Ji vd. 2016). Tanımlanan DEP'ler biyoinformatik analizler ile 13 farklı biyolojik süreçte zenginleştirilmiştir. Ve sinyalizasyon, membran bütünlüğü ve taşıma, stres savunması ve metabolizma ile ilgili düzenleyici proteinlerin ifadesinin, soya fasulyesi fidelerinin kısa süreli tuz tepkisinde önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (Ji vd. 2016). Çeltikte tuz stresi uygulamasından sonra fotosentez, karbon ve besin maddeleri özümlemesi, oksidatif fosforilasyon, transkripsiyon faktörleri, sinyal iletimi, protein sentezi ve yıkımı, nükleozom, aktin regülasyonu ve antioksidan aktivite gibi farklı süreçlerde yer alan 56 farklı DEP tanımlanmış ve tuz stresinin protein ifadelerinde birçok metabolik süreci etkilediği bildirilmiştir (Xu vd. 2015).

Bitkilerin fotosentetik süreçlerinde yer alan anahtar enzimler ışık reaksiyonları ve CO<sub>2</sub> fiksasyonunu düzenlemektedir (Al–Obaidi vd. 2017). Çeşitli çalışmalarda, RuBisCO aktivaz, ATPaz, SBPaz, malik enzim (ME), fosfoglisarat kinaz ve triozefosfat izomeraz gibi fotosentetik proteinlerin tuz stresi altında farklı şekilde ifade edildiği gösterilmiştir. Bu proteinler fotosentezde önemli bir rol oynamakta ve bitkide tuz stresine karşı tolerans sağlamaktadır (Rodziewicz vd. 2014, Meng vd. 2016, Hýsková vd. 2017, Shen vd. 2017). Karbon veya karbonhidrat metabolizması bitki hücrelerinde Calvin döngüsü, pentoz fosfat yolu, glikoliz ve Krebs döngüsü yoluyla gerçekleşmektedir (Barkla vd. 2013, Taiz vd. 2015). Bu nedenle, tuz stresinin çeltik (Nam vd. 2012, Liu vd. 2014), sorgum (Ngara vd. 2012), yonca (Xiong vd. 2017), kanola (Iqbal vd. 2019), nohut (Arefian vd. 2019) ve *Eutrema salsugineum*'da (Goussi vd. 2021) gözlemlendiği gibi, bu metabolik yollarla ilişkili çeşitli proteinleri azalan veya artan yönde düzenlediği bildirilmiştir. Birçok çalışma ile tuz stresinin klorofil biyosentezi ile ilgili proteinlerin ifadesini azalttığını, ancak ışık reaksiyonu ile ilgili tilakoidal proteinleri artırdığı gösterilmiştir (Najar vd. 2019, Vetoshkina vd. 2023). Benzer şekilde, tuz stresine maruz bırakılan *Carex rigescens* yapraklarında tilakoidal proteinlerin (Psb27, PsaO, PetC ve LHC'ler) ifadesinin arttığını ve bunun tuz toleransına katkıda bulunduğunu bildirmiştir (Li vd. 2017). Tuz stresine maruz bırakılan nohutta klorofil a/b bağlayıcı proteinlerin ve oksijen geliştirici proteinlerinin (OEE) artan yönde düzenlendiği bildirilmiştir (Arefian

vd. 2019). Tuz stresine maruz bırakılan *Spica prunellae*'de fotosistem II'nin D2 proteininin ve klorofil a/b bağlayıcı proteinin aşırı ekspresyonunu bildirilmiştir (Liu ve Li 2019). NaCl uygulanmış muz bitkilerinde (*Musa paradisiaca*) fotosentezle ilgili 13 DEP içerisinde üç klorofil a/b bağlayıcı proteinin aşırı ifade edildiğini bulunmuştur (Ji vd. 2019). Buna karşılık, yine NaCl uygulamasının yoncada klorofil a/b proteinleri, sitokrom b6-f kompleksi ve OEE proteinleri gibi ışık reaksiyonlarını gerçekleştiren tilakoidal proteinlerin azalan yönde düzenlendiği rapor edilmiştir (Xiong vd. 2017). *Eutrema salsugineum*'da tuz stresinin tilakoidal reaksiyonlarla ilgili 58 proteinin ifadelerinde değişiklikler tespit edilmiştir. En büyük değişiklikler PSII'nin çekirdek proteininde (D1, D2, CP43, CP47, PsbE ve PsbH) meydana gelmiştir. Fotosistem II'nin ışık toplama kompleksinin bir parçası olarak klorofil biyosentez proteinlerinin azalan yönde düzenlenmesi ve klorofil a/b bağlayıcı proteinlerin artan yönde düzenlenmesi, ROT oluşumunu önlemek için PSII'nin anten boyutunu ve ışık absorpsiyonunu ayarlamaya yardımcı olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak sitokrom b6-f kompleksi ve fotosistem I gibi proteinlerin azalan yönde ifadesi, oksijene elektron transferini azaltmak için elektron taşınmasını düzenlediği ve böylece ROT oluşumunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca, PSII onarım döngüsünün bir parçası olarak PSII'nin D2 proteininin aşırı ifadesi, bitkilerin tuz stresi altında PSII işlevselliğini korumasına yardımcı olmuştur (Goussi vd. 2021).

CO<sub>2</sub> fiksasyonu, Calvin döngüsündeki RuBisCO enzimi aracılığıyla gerçekleşmektedir. Tuz stresi, RuBisCO ve Calvin döngüsündeki diğer enzimler tarafından CO<sub>2</sub> fiksasyon oranını ve miktarını etkileyerek bitki büyümesini azaltmaktadır. Wang vd. (2015), tuz stresinin halofit *Halogeton glomeratus*'ta RuBisCO küçük alt birimi, RuBisCO büyük alt birimi ve beta-karbonik anhidraz proteinlerinin ifadesini artırdığını, ancak fosfo-ribulokinaz, transketolaz, sedo-heptuloz-1,7 bifosfataz ve RuBisCO aktivaz gibi Calvin döngüsü ile ilgili enzimlerin ifadesini azalttığını bildirmiştir. Buna karşın, tuz stresinin buğdayda RuBisCO'nun ifadesini engellediğini bildirmiştir (Kamal vd. 2012). Karşılaştırmalı proteom analizinde, RuBisCO, RuBisCO aktivaz ve diğer Calvin döngüsü enzimlerinin glükofit *A. thaliana*'da azalan yönde düzenlendiğini, ancak tuz stresi altında halofit *Thellungiella halophylla*'da artan yönde düzenlendiği bildirilmiş ve bu farklılıkların esas olarak RuBisCO aktivaz tarafından RuBisCO aktivitesinin

sürdürülmesinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Pang vd. 2010). Tuz stresine maruz bırakılan hint fasulyesi (*Ricinus communis*) yapraklarında CO<sub>2</sub> fiksasyonunda rol oynayan toplam 15 tuza duyarlı protein tespit edilmiştir (Wang vd. 2021). Tuz stresinin glikofitik ve halofitik bitkilerin fotosentetik aktivitesi üzerindeki etkileri arasındaki farkın, esas olarak ışık reaksiyonu yoluyla indirgeyici güç üretimini ve bunun Calvin döngüsü yoluyla CO<sub>2</sub> fiksasyonunda kullanımını dengeleme yeteneklerine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (Li vd. 2022). Glikoliz ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsünde yer alan birçok protein ve enzim tuz stresıyla birlikte artan yönde düzenlendiği bildirilmiştir (Dhal vd Pal 2022). Glikolizle ilgili 6–fosfofruktokinaz 3 (PFK), piruvat kinaz izozim A (PK) ve piruvat dekarboksilaz 2 (PDC) gibi enzimler ve TCA döngüsüyle ilgili PDC, malat dehidrojenaz (MDH), süksinat dehidrojenaz (SDH), izositrat dehidrojenaz (IDH), akonitat hidrataz 2, karbonik anhidraz ve ATP–sitrat sentaz gibi enzimlerin ifadelerinin tuz stresi altında önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Kosova vd. 2018). Buna göre, bu enzimlerin artan yönde düzenlenmesi normal glikoliz ve Krebs döngüsünü oluşturarak bitkinin tuz stresine yanıtta çeşitli metabolik süreçleri geliştirmesi için yeterli enerji sağladığı öne sürülmüştür (Krishnamurthy vd. 2018, Xing vd. 2019).

Biyolojik membranlar, bitki hücrelerinde su ve iyon taşınmasının önündeki engellerdir. Sürdürülebilir bitki büyümesi, özellikle tuz stresi altında Na<sup>+</sup> alımı, farklı organlar arasında yeniden dağılımı ve hücre vakuollerinde birikimi gibi iyonların sıkı kontrolünü gerektirmektedir (Munns ve Tester 2008). Sürgünlerden veya yapraklardan Na<sup>+</sup> dışlanması ve K<sup>+</sup> homeostazının korunmasının çeşitli bitki türlerinde tuz toleransının önemli özellikleri olduğu iyi bilinmekle birlikte (Naeem vd. 2020, Yu vd. 2023), Cl<sup>-</sup> atılmasının da fotosentetik dokuları korumak için bir başka önemli mekanizma olabileceği bildirilmiştir (Wu ve Li 2019). Bazı proteinler köklerden sürgünlere ve hücreler içinde (sitozolden vakuollere) Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> taşınmasında anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (Silva vd. 2015, Ketehouli vd. 2019). Na<sup>+</sup> taşınımının düzenlenmesine, parankima hücrelerinin ksileminde Na<sup>+</sup> yüklenmesi ve boşaltılması, köklerden toprağa Na<sup>+</sup> atılması ve vakuollerde sodyum kompartımanlaşmasının aracılık ettiği gösterilmiştir (Ismail ve Horie 2017, Theerawitaya vd. 2020). Köklerden Na<sup>+</sup> atılması esas olarak plazma membranı Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter (SOS1) tarafından gerçekleştirilir.

*SOS1* geninin susturulması veya mutasyonu, çeltik (Martinez–Atienza vd. 2007), domates (Huang vd. 2024), buğday (Sathee vd. 2015), krizantem (Gao vd. 2016) ve *Arabidopsis* (Yin vd. 2020) olmak üzere farklı bitki türlerinde tuza duyarlılığı artırdığı ve  $\text{Na}^+$  atılmasındaki önemli rolünü ortaya koymuştur. *SOS1* fosforilasyonu, iki protein kinaz kompleksi olan CIPK24 (*SOS2*) ve CBL4 (*SOS3*) tarafından düzenlenmektedir (Gámez–Arjona vd. 2024). *SOS2*, SnRK3 ailesine ait serin–treonin kinaz tipinde bir kinazdır (Chen vd. 2021), *SOS3* ise hiper–sitozolik  $\text{Ca}^{2+}$ ’u algılayan kalsiyum bağlayıcı proteinlerin bir üyesidir (Ma vd. 2019, Zhou vd. 2024). Her iki gendeki mutasyonlar tuz stresine karşı aşırı duyarlılığa neden olarak  $\text{Na}^+$  atımında ve buna bağlı olarak tuz toleransındaki potansiyel rolleri gösterilmiştir (Ismail ve Horie 2017). Bununla birlikte,  $\text{Na}^+$  atımı,  $\text{H}^+$ –ATPaz aktivitesi ile bağlantılı enerji tüketen bir süreçtir. Örneğin, tuza toleranslı buğday çeşitlerinin (Kharchia–65 ve S–24) epidermal kök hücrelerinde tuza duyarlı çeşitten (Potohar) daha fazla  $\text{H}^+$ –ATPaz ifadesi ve aktivitesi tespit edilmiş ve bu da  $\text{Na}^+$  atımı ile ilişkilendirilmiştir (Sathee vd. 2022).  $\text{Na}^+$ ’un vakuol membranında lokalize olan  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporterleri tarafından vakuolde kompartımanlaşması, sitozolde düşük  $\text{Na}^+$ ’un korunmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (El Mahi vd. 2019). Vakuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporterlerinin aşırı ekspresyonu domates (Kumari vd. 2017), çeltik (Yasmin vd. 2015), *Nitraria sibirica* (Geng vd. 2020) ve *Pyrus betulaefolia*’da (Dong vd. 2019) tuz toleransını artırdığı gösterilmiştir. Çeşitli çalışmalar vakuolar pompanın  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  aktivitesine ek olarak  $\text{K}^+/\text{H}^+$  değişim aktivitesi sergilediği (Zhang vd. 2017), vakuolar  $\text{H}^+$ –ATPazlar ve pirofosfatazlar tarafından desteklendiği ve tuz toleransı için önemli olduğu gösterilmiştir (Shen vd. 2015, Yang vd. 2017). Tonoplasttaki plazma membranı  $\text{H}^+$ –ATPaz pompalarının,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporterleri için yeterli proton sağlayarak tuza toleransı artırdığı bildirilmiştir (Assaha vd. 2017).

Yüksek afiniteli potasyum taşıyıcı (*HKT*) gen ailesi ve tuza aşırı duyarlı proteinler,  $\text{Na}^+$  taşınması ve  $\text{K}^+$  homeostazının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Hussain vd. 2022). *HKT*’lerin iki alt ailesinden *HKT1* üyelerinin tuz toleransını geliştirmek için büyük bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Ali vd. 2019, Zhang vd. 2023). *HKT1* ailesinin üyeleri, kök ksilem parankima hücrelerinin plazma membranında bulunan  $\text{Na}^+$  taşıyıcılarıdır. Sürgünlere sodyum taşınmasını azaltmak için  $\text{Na}^+$  iyonlarını ksilem akımından aldıkları gösterilmiştir (Venkataraman vd. 2021). Tuz stresine maruz

bırakılan bitkilerde su dengesi, su homeostazının korunması ve sürdürülmesiyle ilişkili proteinlerin önemli ölçüde düzenlendiği adaptif bir mekanizmadır (McGaughey vd. 2018). HKT2 taşıyıcılarının da tahıl bitkilerinin tuz stresi altında  $K^+$  almasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (Gholizadeh vd. 2024).  $Na^+/H^+$  antiporterleri gibi HKT proteinlerinin de  $Na^+$  dışlanmasında rol alması  $Na^+$  alımının tek bir taşıma proteini tarafından değil, birkaç taşıma proteini tarafından kontrol edildiğini göstermektedir. Su alımı esas olarak seçici olmayan katyon kanalları (NSCC'ler), yani su taşıma proteinleri veya akuaporinler (PIP1 ve PIP2) tarafından düzenlenmektedir (Kourghi vd. 2017, Qiu vd. 2020). Akuaporinler su,  $CO_2$ , salisilik asit, bor, üre, silikon,  $H_2O_2$  ve  $Na^+$  iyonları dahil olmak üzere küçük moleküllerin pasif ve çift yönlü seçici taşınmasında önemli bir rol oynamaktadır (Sun vd. 2024). Akuaporinlerin bitkilerde su homeostazının korunmasında yer alarak abiyotik stres toleransı, stres sinyali, besin alımı, transpirasyon, fotosentez ve bitki gelişiminde önemli roller oynadığı gösterilmiştir (Tyerman vd. 2017, Gautam ve Pandey 2021). Tuz stresi (150 mM NaCl) altındaki domatestede kök hidrolik iletkenliğinin ( $L_p$ ) azaldığı gösterilmiştir (Jia vd. 2020). Tuz stresinden sonra kontrole kıyasla PIP ifadelerinin hem köklerde hem de yapraklarda azaldığı bildirilmiştir.  $L_p$ 'deki azalmanın PIP ifadesindeki azalmaya bağlı olabileceği düşünülmüştür. PIP izoformlarının ifadeleri hem köklerde hem de yapraklarda stres süresi boyunca büyük ölçüde değişmiştir. PIP1;1, PIP1;3, PIP1;7, PIP2;10 ve PIP2;12'nin tuz stresi altında hem köklerde hem de yapraklarda su taşınımının düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu gösterilmiştir. Sonuçlar, PIP'lerin domatestede su taşınmasına aracılık ettiğini ve düzenlemelerinin stres süresi ve doku tipi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Jia vd. 2020). Tuz stresi altında akuaporinlerin düzenlenmesi fosforilasyon, glikozilasyon, metilasyon, ubiquitinasyon ve deaminasyon yoluyla translasyon sonrası düzeyde gerçekleşerek akuaporinlerin açılıp kapanmasını etkilediği bildirilmiştir (Madeira vd. 2016). Ayrıca, birçok çalışma pH,  $Ca^{2+}$  ve  $H_2O_2$  sinyalleri gibi sinyal moleküllerinin ve sekonder habercilerin tuz stresine yanıt olarak akuaporinlerin açılıp kapanmasını düzenlediğini göstermiştir (Saxena vd. 2016, Iqbal vd. 2020, Dong vd. 2022, Zhang vd. 2022). Bu bağlamda, akuaporinler tuz stresine maruz bırakılan bitkilerde kök hidrolik iletkenliğini ve su taşınımını iki ila üç katmanlı translasyonel ve post-translasyonel düzenleyici faktörler aracılığıyla düzenleyerek strese yanıtta çok önemli bir rol oynamaktadır (Kaplan vd. 2018).

Bitkilerin sesil doğaları gereği çevresel değişiklikleri algılaması ve bu değişikliklere yanıt vermesi için sensör proteinleri ve yanıt düzenleyici proteinler önemli roller almaktadır (Paik ve Huq 2019). İkincil haberciler sinyal molekülleri olarak, sinyal amplifikasyonlarında ve tuz stresi altında bitki performansını optimize etmek için geniş bir dizi fizyolojik değişiklikte rol oynamaktadır (Park vd. 2016, Jain vd. 2018). Tuz stresi sensör proteinleri arasında plazma membranında lokalize iyon taşıyıcı proteinler,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  kanalları, mekanosensör proteinler,  $\text{H}^+$ -ATPazlar ve sitozolik  $\text{Ca}^{2+}$  bağlayıcı proteinler (örn. kalmodulin, kalmodulin benzeri, kalsinörin B benzeri ve  $\text{Ca}^{2+}$  bağımlı protein kinazlar) yer almaktadır (Yang ve Guo 2018a). Bu proteinlerin bitkilerde tuz toleransında önemli roller oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Yuenyong vd. 2018, Ketehouli vd. 2019, Hunpatin vd. 2023, Cheng vd. 2024). Tuz stresi için iyi bilinen SOS sinyal yoluna ek olarak kalmodulin ve kalmodulin benzeri proteinler gibi kalsiyum sensör proteinleri tuz stresi altında sitozolik  $\text{Ca}^{2+}$ 'daki değişikliklerin tespit edilmesinde anahtar rol oynarlar (Manishankar vd. 2018, Yang ve Guo 2018a, Bachani vd. 2022). Bu  $\text{Ca}^{2+}$  bağlayıcı proteinler ya da  $\text{Ca}^{2+}$  bağımlı protein kinazlar kalsiyuma yalnızca yüksek kalsiyum konsantrasyonlarında bağlanarak (Zhao vd. 2015) bitkilerin tuz stresine yanıtında yer alan fizyolojik ya da gelişimsel değişikliklerin gerçekleştirilmesinde işlev görürler (Evans vd. 2016, Manishankar vd. 2018).

## **2.5 Tuz Stresi Koşullarında Proteom Değişimleri Üzerine Biyodüzenleyicilerin Etkisi**

Tuz stresinin olumsuz etkilerinin hafifletilmesinin altında yatan mekanizmalar proteomik yaklaşımlarla belirlenebilir. Bu yaklaşım kullanarak, özellikle tuz stresi altında biyodüzenleyici uygulamaları ile ifadeleri değişen DEP'ler tanımlanabilmektedir. Birçok transkriptin post-transkripsiyonel ve post-translasyonel modifikasyonlara uğrayabilmesi nedeniyle son ürün olan proteinlerin ifade seviyesindeki değişikliklerin araştırılması çok önemli hale gelmektedir (Zhao vd. 2013).

Domates fidelerinde Si uygulaması ile tuz stresinin olumsuz etkilerinin hafifletilmesinin altında yatan mekanizmalar fizyolojik ve proteomik analizlerle araştırılmıştır (Muneer vd. 2014). Proteomik analizler, PSI ve PSII gibi çok proteinli komplekslerin tuz

stresiyle birlikte azalan yönde düzenlendiğini buna karşın Si uygulamasının bu proteinleri artan yönde düzenlediğini göstermiştir. Ayrıca sitokrom b6/f ve ATP-sentaz komplekslerindeki NaCl teşvikli azalmanın Si tarafından hafifletildiği ve LHC altbirimlerinin yönde düzenlendiği tespit edilmiştir (Muneer vd. 2014). Benzer olarak, tuz stresi altındaki domates fidelerinde Si uygulaması ile artan yönde düzenlenen proteinlerin çoğu stres tepkileri, bitki hormonları ve transkripsiyonel düzenlemeler ile ilişkilendirilmiştir (Muneer ve Jeong 2015). Tuz stresine maruz bırakılan (50 mM) *Capsicum annuum*'da Si uygulamasının özellikle nükleotid bağlama ve transferaz aktivitesi ile ilişkili olmak üzere çeşitli metabolik süreçlerde yer alan proteinlerin ifadesini artırdığı ortaya konmuştur (Manivannan vd. 2016). Ek olarak, Si uygulamasının ubiquitin aracılı nükleozom yolu ve karbonhidrat metabolizmasında yer alan önemli proteinlerin ifadesini düzenlediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, Tuz stresine maruz bırakılan *Rosa hybrida* bitkilerinin yapraklarında Si uygulamasının fotosentez, karbonhidrat ve enerji metabolizması, transkripsiyon ve translasyon, stres/redoks homeostazı, iyon bağlama ve ubiquitinasyon yollarında fonksiyon gören proteinlerin ifade seviyelerini artırarak stres kaynaklı hasarın hafifletileceği öne sürülmüştür (Soundararajan vd. 2017). Benzer olarak, *R. hybrida* köklerinde Si uygulamasının redoks dengesi ve savunma, transkripsiyon ve translasyon, lipid metabolizması, sinyalizasyon, enerji ve karbonhidrat metabolizması, taşıma ve metal iyon bağlama, terpen sentezi ve hücre çeperi modifikasyonu süreçlerinde işlev gören proteinleri artan yönde düzenlediği bildirilmiştir (Soundararajan vd. 2018).

Sodyum hidrosülfür (NaHS, H<sub>2</sub>S donörü) uygulamasının bir mangrov türü *Kandelia obovata* fidelerinde tuz stresinin (400 mM) etkileri üzerindeki düzenleyici mekanizmasını araştırmak için proteomik analiz gerçekleştirilmiştir (Liu vd. 2019). Fizyolojik ve proteomik sonuçlar, eksojen H<sub>2</sub>S'nin *K. obovata*'nın yüksek tuzlulukla başa çıkmasına yardımcı olmak için fotosentezi ve enerji metabolizmasını artan yönde düzenlediğini göstermiştir. Ayrıca, antioksidan (APX ve Cu-Zn SOD ve PDX1), protein metabolizması (HSP ve Cpn20), azot metabolizması (GS2 ve GS1), glikoliz [fosfogliserat kinaz (PGK) ve triozefosfat izomeraz (TPI)] ve AsA-GSH döngüsü proteinlerinin ifadelerinin H<sub>2</sub>S uygulaması ile arttığı gösterilmiştir (Liu vd. 2019). Diğer bir çalışmada, NaHS uygulanan çeltik fidelerinin tuz stresine vermiş olduğu moleküler

cevaplar proteomik analiz yöntemleriyle araştırılmıştır (Wei vd. 2021). Işık reaksiyon sistemi (PsbQ domain proteini, plastosiyanin oksidoredüktaz demir-sülfür proteini), Calvin döngüsü (fosfoglisarat kinaz, sedoheptuloz-1,7-bisfosfataz öncüsü, ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz) ve klorofil biyosentezi (glutamat-1-semialdehit 2,1-aminomutaz, koproporfirinojen III oksidaz) ile ilgili DEP'ler H<sub>2</sub>S uygulamasında artan yönde düzenlenmiştir. Protein metabolizması ve hücre yapısı ile ilgili proteinlerin de H<sub>2</sub>S uygulaması ile artan yönde düzenlendiği belirlenmiştir. Sonuç olarak, H<sub>2</sub>S'ün oksidatif stresi azaltarak, fotosentetik kapasiteyi artırarak, birincil ve enerji metabolizmasını iyileştirerek, protein metabolizmasını güçlendirerek ve hücre yapısını koruyarak çeltik fidelerinin tuz toleransında koruyucu roller üstlendiğini gösterilmiştir (Wei vd. 2021).

Bir mangrov türü olan *Avicennia marina*'da tuz stresi (400 mM) ve NO uygulamasının (SNP, 100 µM) fotosentez, enerji metabolizması, birincil metabolizma, RNA transkripsiyonu, protein translasyonu ve strese yanıt proteinleri gibi çeşitli biyolojik süreçlerde yer alan proteinlerin farklı şekilde ifade edilmesine neden olmuştur (Shen vd. 2018). Yüksek tuzluluk uygulaması altında, ribuloz-fosfat 3-epimeraz (RPE), RuBisCO büyük alt birimi, RuBisCO aktivaz A (RCA) ve kinin oksidoredüktaz benzeri protein izoformu 1 (QOR1) gibi fotosentezle ilgili proteinlerin ifadeleri önemli ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte, RBCL ve QOR1 proteinlerinin ifadesi SNP ilavesiyle artmıştır. Sonuç olarak, NO'nun fotosentez, enerji metabolizması, birincil metabolizma ve stres tepkisinde yer alan protein ifadelerini düzenleyerek *A. marina*'da tuz toleransını artırmada olumlu bir etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür (Shen vd. 2018).

Tuz tsresi altındaki çeltik tohumlarına absisik asit (ABA) ön-uygulamasının fizyolojik ve proteom değişimleri analiz edilmiştir (Li vd. 2010). ABA ön-uygulamasının çeltik fidelerinde tuz toleransını arttığı gösterilmiştir. ABA+NaCl uygulamasına maruz bırakılan çeltik köklerinden elde edilen toplam proteinler 2-DE proteomik yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar, ABA ön-uygulamasının tuz stresi altında 40 protein ifadesinin artan yönde, sadece tuz uygulamasında ise sadece 16 protein ifadesinin artan yönde düzenlendiğini göstermiştir. Tespit edilen 40 DEP'in yaklaşık %78'inin (31 DEP) yalnızca tuz stresi varlığında düzenlenmesi, bitkilerin tuz stresi

altında enerji kaybını önlemek için tolerans mekanizmasının teşvik edildiğini göstermiştir. Ayrıca, ABA uygulamasının enerji metabolizması (glükoliz, trikarboksilik asit döngüsü, solunum zinciri, ATP sentezi, enerji salınımı ve mitokondriyal protein işleme), savunma (glutasyon redüktaz, aneksinler, endo-1, 3-β-glukanaz ve HSP90), birincil metabolizma (glutamin sentetaz, transketolazlar, 2-izopropilmalat sentaz, UMP sentaz ve aspartataminotransferaz) ile ilgili daha fazla enzimin benzersiz bir şekilde artan yönde düzenlendiğini göstermiştir (Li vd. 2010). Diğer bir çalışmada, dışsal lipoik asidin (LA) NaCl toksisitesi üzerindeki hafifletici etkilerini değerlendirmek için kanola (*Brassica napus* L.) fidelerinin yapraklarında proteomik analizler gerçekleştirilmiştir (Yıldız vd. 2015). Proteomik analizler, LA'nın fotosentez (fotosistem II reaksiyon merkezi PSB28 proteini, ATP sentaz epsilon zinciri, sitokrom b6f kompleksi demir-kükürt alt birimi, karbonik anhidraz, sedoheptuloz-1,7-bisfosfataz, magnezyum-şelataz alt birimi chli, RuBisCO aktivaz ve fosfoglisarat kinaz), stres savunması (süperoksit dismutaz [Cu-Zn], peroksiredoksin-2E, tiyoredoksin M-tip 4, 2-Cys peroksiredoksin BAS1 ve tiyazol biyosentetik enzim) ve sinyal iletimi (annexin D1) ile ilgili proteinlerin düzenlenmesi yoluyla tuz stresine toleransta önemli roller oynayabileceğini göstermiştir (Yıldız vd. 2015).

Salisilik asidin (SA, 0,5 mM) buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerinde tuz stresi (250 mM) üzerindeki iyileştirici etkisi proteomik analiz kullanılarak araştırılmıştır (Kang vd. 2012). Proteomik analizler, sinyal iletimi (14-3-3 protein), stres savunma (peroksidaz, 2-Cys peroksiredoksin ve tuz stresine indüklenen protein RS1 benzeri), metabolizma (gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazlar, glutamin sentetazlar, ferredoksin-NADP(H) oksidoredüktazlar, transketolaz, fosfoglikolat fosfataz benzeri, izositrat dehidrogenaz, triozefosfat izomeraz, serin tipi peptidaz, adenosin difosfat glukoz pirofosfataz ve izopentenil pirofosfat izomeraz) ve fotosentez (RuBisCO, oksijen geliştirici arttırıcı proteinler, kloroplast iç zarf proteinleri, klorofil a-b bağlayıcı protein, bir adet tilakoid lümenal 19 kDa protein ve fotosistem II stabilite/montaj faktörü HCF136) ile ilgili proteinlerin tuz stresi altında SA tarafından önemli ölçüde artan yönde düzenlendiğini göstermiştir (Kang vd. 2012).

Tuz stresine maruz bırakılan *Agrostis stolonifera* bitkilerinde γ-aminobütirik asit

(GABA) uygulamasının, iyonik, su ve metabolik homeostazın düzenlenmesindeki etkileri proteomik ve metabolomik analizlerle araştırılmıştır (Li vd. 2020). Dışsal GABA uygulamasının dört akuaporin (TIP1-1, TIP2-2, PIP1-1 ve PIP1-2) proteinin birikimini azalttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, tuz stresinin hem GABA uygulanmış hem de uygulanmamış bitkilerde katyonik peroksidaz SPC4, peroksidaz 12, LEA grup 1, HSP83 ve HSP90-5, küçük HSP proteinleri birikimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Ayrıca  $\beta$ -glukozidaz 30, glutamin bağımlı  $NAD^+$  sentetaz, gama-glutamilsiklotransferaz 2-3 ve glutatyon S-transferaz 1'in (GST1) ifadesi GABA+NaCl uygulamasında artış göstermiştir. Moleküler, metabolik ve fizyolojik değişikliklerin bütünleştirici analizleri, tuz stresi altındaki halofitik olmayan *Agrostis stolonifera* bitkisinde iyonik, su ve metabolik dengenin düzenlenmesinde GABA'nın iyileştirici etkileri ortaya konmuştur (Li vd. 2020).

Tuz stresine maruz bırakılan iki arpada genotiplerinde  $\beta$ -aminobütirik asidin (BABA) tohumlara ön-uygulamasının özellikle antioksidan enzimlerin (katalaz izoenzim 2, peroksidaz ve sitozolik Cu/Zn, süperoksit dismutaz), patogenez ile ilgili proteinlerin (kitinaz, endo-1,3-b-glukozidaz) ve şaperonların (mitokondriyal işleme peptidaz alt birimi a, proteazom alt birimi, siklofilin A ve ısı şoku kognat 70 kDa protein 2) ifade seviyelerini artıran yönde düzenlendiği belirlenmiştir (Mostek vd. 2015). Buna ek olarak, karbonhidrat ve enerji metabolizması (gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, akonitaz, enolaz ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz) ve amino asit metabolizması (aminometiltransferaz, mitokondriyal metiyonin sentaz ve S-adenosil-L-homosistein hidrolaz) ile ilgili DEP'ler tespit edilmiştir. Sonuçlar BABA'nın tuz stresine daha hızlı ve daha etkili yanıtlar verilmesini sağlayabilecek savunma ve detoksifikasyon süreçlerini tetiklediğini ve bitkilerin olumsuz çevresel koşullar altında hayatta kalma şansını artırabileceğini göstermektedir (Mostek vd. 2015).

Tuz stresine maruz bırakılan (150 mM) *Hibiscus cannabinus* (kenaf) bitkisinde DNA metiltransferaz inhibitörü 5-azasitidin (5-azaC, (0, 50, 100, 150 ve 200  $\mu$ M)) tuz stresini hafifletme üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Luo vd. 2024). Transkriptomik ve proteomik analizler sonucunda toplam 14.348 DEG ve 313 DEP tanımlanmıştır. Kombine proteomik ve transkriptomik analiz ile THI1, BGLU11 ve CBL1 dahil olmak

üzere artan yönde düzenlenen ve GAPDH, SS ve PP2C52 dahil olmak üzere azalan yönde düzenlenen toplam ortak 27 DEG/DEP tespit edilmiştir. Proteomik analizde tespit edilen DEP'ler en fazla glikoliz/glukoneogenez, nişasta ve süktroz metabolizması, fotosentez, bitki hormonu sinyal iletimi ve karbon metabolizması yollarında zenginleştiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda 5-azaC'ın tuz stresine yanıtta bitkilerin tuz toleransını iyileştirebileceği öne sürülmüştür (Luo vd. 2024).

Tuz stresine maruz bırakılan (50 mM) soya fasulyesine dışsal safranal (3  $\mu$ M, serbest radikal temizleyici ve antioksidan bir molekül) uygulamasının iyileştirici etkileri proteomik analizlerle araştırılmıştır (Kausar vd. 2024). Proteomik analizler tuz stresi altında soya fasulyesi kökünde ve hipokotilinde sırasıyla aktin ve kalsiyum bağımlı protein kinaz ifadelerinin azaldığını ve safranal uygulaması ile ifade seviyelerinin arttığını göstermiştir. Ksiloglukan endotransglukozilaz/hidrolaz tuz stresi altında soya fasulyesi kökünde artmış ancak safranal uygulaması ile ifadesi azalmıştır. Peroksidaz, aktin, RuvB benzeri helikaz ve protein kinaz proteinlerinin ifadesi tuz stresi altında artarken safranal uygulaması ile daha da artış göstermiştir. Glutasyon peroksidaz ve PfkB alanı içeren protein, soya fasulyesi kökünde tuz stresi altında safranal uygulaması ile artan yönde düzenlenmiştir. Bu sonuçlar, safranalın ROT temizleme sistemi ile hücre çeperi ve nükleer proteinlerin düzenlenmesi yoluyla soya fasulyesi büyümesini geliştirdiğini göstermiştir. Ayrıca, endositoz ve post-golgi trafiğinde yer alan membran proteinlerinin düzenlenmesi yoluyla tuz stresi toleransını teşvik edebileceği düşünülmüştür (Kausar vd. 2024).

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1 Bitki Materyali ve Bitki Yetiştirme Koşulları

Bu araştırmada, mısır (*Zea mays* L.) çeşidine (Capuzi) ait tohumlar ticari firmadan elde edilmiştir. Tohumlar, kapaklarında havalandırma delikleri bulunan plastik kutular içindeki ıslatılmış 2 kat filtre kağıdı üzerine yerleştirilmiş ve kontrollü koşullarda (25°C sabit sıcaklık ve karanlıkta) 48 saat çimlendirilmiştir. Yaklaşık aynı kök uzunluğuna sahip fideler, 0.5 L Hoagland besin çözeltisi (pH'sı 0.05 M KOH kullanılarak  $6.0 \pm 0.1$ 'e ayarlanmış) içeren hidroponik kültür ortamına transfer edilmiştir. Hidroponik kültürde kullanılan 1 L'lik plastik kapların kapağında altı kesilmiş ve plastik fileden örgü ile kapatılmış 5 adet falkon tüpündeki filenin üzerine fideler yerleştirilmiştir. Fidler, kontrollü iklim kabininde ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $260 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foton akış yoğunluğu, 12:12 saat fotoperiyot ve %60 nem) 5 gün boyunca büyütülmüştür. Kaplardaki besin çözeltileri gün aşırı değiştirilmiştir.

Beş günlük mısır fideleri, 100 mM NaCl stresi ve/veya 35  $\mu\text{M}$  tiyoüre uygulamalarına 10 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Uygulama grupları şunlardır:

- 1) Kontrol: Sadece besin çözeltisi
- 2) TÜ: 35  $\mu\text{M}$  TÜ içeren besin çözeltisi
- 3) NaCl: 100 mM NaCl içeren besin çözeltisi
- 4) TÜ + NaCl: 35  $\mu\text{M}$  TÜ + 100 mM NaCl içeren besin çözeltisi

Uygulamalardan sonra fidelerin taze ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi, biyokimyasal, RNA-seq ve proteomik analizler için fideler hasat edilmiştir. Transkriptomik ve proteomik analizler için mısır fidelerinin tam gelişmiş 2. yaprak dokuları örneklenmiş ve kullanılıncaya kadar  $-80^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

#### 3.2 Fidelerin Taze ve Kuru Ağırlıklarının Belirlenmesi

Kontrol, TÜ, NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin

gövde ve kök taze ağırlıkları (TA, mg fide<sup>-1</sup>) belirlendikten sonra 80°C'lik etüvde 48 saat kurutulmuş ve bu süre sonunda gövde ve kök kuru ağırlıkları (KA, mg fide<sup>-1</sup>) belirlenmiştir.

### 3.3 Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Yaprak dokularında lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi Heath ve Packer (1968)'in bildirdiği metoda göre gerçekleştirilmiştir. Yaprak dokularının MDA içeriği molar ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak  $\mu\text{mol g}^{-1}$  KA olarak belirlenmiştir.

### 3.4 Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve guaiakol peroksidaz (POD) aktiviteleri için 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.0) yaprak özütleri hazırlanmıştır. Enzim ekstraktlarının hazırlanması için 0.5 g taze yaprak dokuları ilgili tamponlarının 5 mL'sinde homojenize edilerek 20 dakika boyunca 4°C'de 13,000×g'de santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar enzim analizleri için kullanılmıştır. Süpernatantlardaki protein miktarı Bradford (1976)'a göre belirlenmiştir.

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) aktivitesi, NBT'nin fotoindirgenmesinin 560 nm'de ölçülmesi ile belirlenmiştir (Beauchamp ve Fridovich, 1971). Örneklerin absorbans değerleri belirlendikten sonra, bir ünite SOD, NBT indirgenmesinde %50 inhibisyona neden olan enzim miktarı olarak ifade edilmiştir. Toplam SOD aktivitesi EU mg<sup>-1</sup> protein olarak hesaplanmıştır.

Toplam katalaz aktivitesi (CAT; EC 1.11.1.6) Aebi (1984)'ye göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 10.6 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstraktından oluşmuştur. CAT aktivitesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in 3 dakika için 240 nm'de ( $\epsilon = 39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) bozunması ile EU dk<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein olarak belirlenmiştir.

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesi Nakano ve Asada (1987)'ya göre

belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 50 mM fosfat tamponu (pH 7.0), 0.1 mM EDTA, 0.25 mM askorbat, 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstraktından oluşmuştur. Askorbik asidin oksidasyon oranı, spektrofotometre kullanılarak 3 dakika için 290 nm'de absorbanstaki azalmayı takiben belirlenmiştir. Toplam APX aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon = 2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak EU dk<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein olarak hesaplanmıştır.

POD aktivitesi Mika ve Lüthje (2003)'ye göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 25 mM sodyum-asetat-HCl (pH 5.0), 51.3 mM guaiakol, 12.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstraktı olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon enzim ekstraktının ilavesiyle başlatılarak reaksiyon karışımının absorbanstaki değişimi 470 nm'de 3 dakika süre boyunca takip edilmiştir. Toplam POD aktivitesi, guaiakolun ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak belirlenmiştir.

### **3.5 Sodyum (Na<sup>+</sup>) ve Potasyum (K<sup>+</sup>) İçeriklerinin Belirlenmesi**

Kontrol ve stres gruplarından elde edilen kanola fidelerinin kök dokularında Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> içerikleri NMKL (1998)'ye göre belirlenmiştir. Kuru bitki örnekleri (0.5 g), 10 mL %65'lik HNO<sub>3</sub> kullanılarak mikrodalga fırında (Berghof Products + Instruments, Germany) yakılmıştır. Yakma işlemi sonucunda örnekler filtre edilerek hacimleri bidistile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Stok Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> çözeltisinden (10.000 ppm; Inorganic Ventures, Christiansburg, Virginia, USA) hazırlanan farklı konsantrasyondaki çözeltilerle kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı ( $r^2 = 0.999$  ve üzeri) ve örneklerin Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> konsantrasyonları, Winlab32 paket programı kullanan ICP/OES (Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry, Perkin Elmer 2100 DV) cihazı ile hesaplanmıştır. Kök dokularında Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> içerikleri mg/g<sup>-1</sup> KA olarak hesaplanmıştır.

### **3.6 Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi**

Mısır fidelerinin yaprak dokularından toplam klorofil (Klo a + b) içeriği Wellburn (1994)'e göre belirlenmiştir. Uygulamalara ait fidelerin yapraklarından yaklaşık 50 mg taze yaprak dokusu alınarak küçük parçalara ayrılmış ve 10 mL soğutulmuş metanol

içeren ağzı kapaklı cam test tüplerine alınmıştır. Pigmentlerin tamamen metanole geçmesi için tüpler 48 sa süresince +4°C ve karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra her uygulamaya ait çözeltinin Klorofil a ve Klorofil b absorbansları sırasıyla 666 ve 653 nm dalga boylarında, spektrofotometre ile belirlenerek aşağıdaki formüllere göre taze ağırlık (TA) temelinde mg/g<sup>-1</sup> TA olarak hesaplanmıştır (Wellburn 1994):

$$\text{Klorofil a (Klorofil a)} = 15.65A_{666} - 7.34A_{653} \times S^*$$

$$\text{Klorofil b (Klorofil b)} = 27.05A_{653} - 11.21A_{666} \times S$$

\* S: Seyreltme katsayısı

### 3.7 Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Mısır fidelerinin yaprak dokularından toplam prolin içeriği Bates (1973)'e göre belirlenmiştir. 0,5 g taze yaprak örneği %3'lük sülfosalisilik asit ile parçalanarak filtre edilmiş ve filtrattan 2 ml alınarak üzerine 2 ml asetik asit ve 2 ml ninhidrin reagent eklenmiştir. Ninhidrin reagent; ninhidrin, asetik asit ve ortofosforik asit kullanılarak hazırlanmıştır. Daha sonra tüplere konulan örnekler 1 saat 100°C'de su banyosunda tutularak reaksiyon buzda sonlandırılmıştır. Soğuyan örneklerin üzerine 4 ml tolüen eklenmiş ve vorteks yapıldıktan sonra 520 nm'de spektrofotometrede okunmuştur. Daha sonra prolin standartlarıyla karşılaştırılarak hesaplama yapılmıştır (Bates vd. 1973).

### 3.8 RNA–Seq Analizleri

#### 3.8.1 RNA Ekstraksiyonu

Kontrol, Tü, NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından toplam RNA izolasyonu ticari kit (Norgen Biotek Corp. Total RNA Purification Kit) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

- 1) Çalışmaya başlamadan önce tüm çözeltiler, steril odada ve oda sıcaklığında hazır hale getirilmiştir.
- 2) Tüm santrifüjleme işlemleri oda sıcaklığında ve aksi belirtilmedikçe 14.000 rpm'de mikrosantrifüj (Hettich Mikro 20, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

- 3) 2-Merkaptoetanol içeren lizis tamponu C (Lysis Buffer C) hazırlanmıştır. Her 1 mL lizis tamponu C için 10 µL 2-merkaptetanol eklenmiştir. Lizis tamponu C'ye 2-merkaptetanol eklenmesi opsiyonel olmasına karşın çoğu bitki dokusu için eklenmesi önerilmektedir.
- 4) Yıkama çözeltisi A (Wash Solution A), 38 mL konsantre yıkama çözeltisi A'ya 90 mL %96–100 etanol eklenerek hazırlanmıştır.
- 5) Yaprak dokularından lizat hazırlanması aşağıdaki gibidir:
  - a)  $-80^{\circ}\text{C}$ 'den alınan yaprak dokuları çözülmeden havan içerisinde sıvı azotla ince bir toz haline getirilmiştir. Yaprak dokuları (yaklaşık 50 mg), sıvı azotla soğutulmuş 1.5 mL'lik santrifüj tüpüne (RNaz içermeyen) yine sıvı azot ile soğutulmuş spatül ile aktarılmıştır.
  - b) Toz haline getirilen dokuların çözülmesine izin verilmeden sıvı azotun havandan buharlaşması sağlanmıştır.
  - c) Her bir tüpe 600 µL lizis tamponu C eklenmiş ve karışım vorteks ile homojenize edilmiştir.
  - d) Homojenize edilen dokular ısıtıcı bloğa yerleştirilerek  $55^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika inkübe edilmiş ve bu süre zarfında tüpler ara sıra vortekslenmiştir.
  - e) İnkübasyon sonrasında bir filtre kolonu (beyaz halkalı) temiz 1.5 mL'lik toplama tüpüne takılarak elde edilen lizat kolona yüklenmiş ve kolonun hücre kalıntısını tutması için 2 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
  - f) Filtre kolonu atılarak tüpte toplanan lizatın hacmine eşit hacimde (her 100 µL lizata 100 µL etanol) %96–100'lük etanol eklenmiş (toplam hacim 1.2 mL) ve tüp vortekslenerek bir sonraki basamağa (6a) geçilmiştir.
- 6) RNA'nın kolona bağlanması işlemleri aşağıdaki şekilde yapılmıştır:
  - a) Kit içerisinde çıkan toplama tüplerinden birine bir spin kolon (gri halkalı) yerleştirilmiştir.
  - b) Kolon üzerine 600 µL lizat eklenmiş ve 6.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bu aşamada, lizatın tamamının toplama tüpüne geçmesi sağlanmalı, aksi takdirde lizat içeren kolon 14.000 rpm'de bir dakika daha santrifüjlenmelidir.
  - c) Toplama tüpündeki süzüntü atılarak kalan 600 µL lizat mevcut spin kolona tekrar yüklenmiş ve 6.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bu aşamada,

lizatın tamamının toplama tüpüne geçmesi sağlanmalı, aksi taktirde lizat içeren kolon 14.000 rpm’de bir dakika daha santrifüjlenmelidir.

d) Lizat hacmine bağlı olarak, 6b ve 6c iki kez tekrarlanmıştır.

7) Spin kolonunun yıkama çözeltisi A (Wash solution A) ile yıkanması işlemleri aşağıdaki gibidir:

a) Spin kolona 400 µL yıkama çözeltisi A eklenerek 14.000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bu aşamada, lizatın tamamının toplama tüpüne geçmesi sağlanmalı, aksi taktirde lizat içeren kolon 14.000 rpm’de bir dakika daha santrifüjlenmelidir.

b) Toplama tüpündeki süzüntü atılır ve spin kolon, aynı toplama tüpüne yeniden yerleştirilmiştir.

c) Tekrar 400 µL yıkama çözeltisi A mevcut spin kolona eklenmiş ve 14.000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenerek spin kolon ikinci kez yıkanmıştır. Ardından toplama tüpündeki süzüntü atılarak spin kolon aynı toplama tüpüne yeniden yerleştirilmiştir.

d) Tekrar 400 µL yıkama çözeltisi A mevcut spin kolona eklenmiş ve 14.000 rpm’de 1 dakika daha santrifüjlenerek kolon üçüncü kez yıkanmıştır. Toplama tüpündeki süzüntü atılarak spin kolon aynı toplama tüpüne yeniden yerleştirilmiştir.

e) Kolonu tamamen kurutmak için kolon 14.000 rpm’de 2 dakika santrifüjlenmiş ve toplama tüpü atılmıştır.

8) Spin kolondaki RNA’nın elüsyon çözeltisi A (Elution Solution A) ile elüsyonu işlemleri aşağıdaki gibidir:

a) Spin kolon, RNaz içermeyen 1.7 mL’lik elüsyon tüpüne yerleştirilmiş ve kolona 75 µL elüsyon çözeltisi A eklenmiştir.

b) 2.000 rpm’de 2 dakika ve ardından 14.000 rpm’de 1 dakika daha santrifüjleme işlemi yapılmıştır. Eğer elüsyon tüpünde, spin kolona yüklenen 75 µL elüsyon çözeltisinin tamamı süzülmemiş ise toplama tüpündeki spin kolon tekrar 14.000 rpm’de 1 dakika daha santrifüjlenmiştir.

9) Elüe edilen RNA’nın depolanması aşağıdaki gibidir:

Elüsyon tüpünde toplanan ve –80°C’de muhafaza edilen saf RNA örnekleri

RNA–Seq analizlerde kullanılmıştır.

### 3.8.2 RNA–Seq Analizleri

- a) Elde edilen RNA'nın kalitesi, Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent RNA 6000 Nano Kit) kullanılarak tespit edilmiştir.
- b) RNA sekanslama için öncelikle hedef RNA'ya göre depleksiyon yapılmıştır. Böylece hedef RNA'dan rRNA ve miRNA'lar uzaklaştırılmıştır.
- c) Daha sonra poli-T oligoya bağlı manyetik boncuklar kullanılarak poli-A içeren mRNA molekülleri saflaştırılmıştır.
- d) RNA depleksiyonunun ardından, mRNA yüksek sıcaklık altında iki değerlikli katyonlar kullanılarak küçük parçalara ayrılmıştır.
- e) Bölünmüş RNA fragmanları, ters transkriptaz ve rastgele primerler kullanılarak tek zincirli cDNA'ya dönüştürülmüştür.
- f) Daha sonra DNA Polimeraz I ve RNaz H kullanılarak ikinci iplikçik olan cDNA sentezlenmiştir.
- g) Manyetik boncuklarla toplanan cDNA parçalarının uçları onarılmış (son onarım) ve 3' uçlarına adenin eklenmiştir.
- h) Bir sonraki adımda ligasyon temelli olarak fragmanlara adaptörler ve barkodlar eklenmiş ve PCR işlemi gerçekleştirilmiştir.
- i) Standart teknolojilerin aksine, ikinci PCR aşaması, DNA'yı "daireelleştirme" adı verilen bir aşama ile yuvarlak bir zincire dönüştürerek aynı zincir üzerinde DNA Nanoball (DNB) oluşturulmuş ve böylece PCR hataları en aza indirilmiştir.
- j) Oluşturulan her bir DNB, Illumina Novaseq 6000 dizileme platformunda akış hücresindeki (Pattern Array) noktalara yerleştirilmiştir.
- k) Akış hücresinde (Flow Cell) sekans işlemi gerçekleştirilmiştir. Farklı boyalarla işaretlenmiş modifiye dNTP'leri içeren reaksiyon çözeltisi akış hücresine yüklenmiştir.
- l) Illumina Novaseq 6000 cihazı ile cPAS teknolojisi kullanılarak her Nanoball'daki bazların okunması gerçekleştirilmiştir.

### 3.8.3 RNA–Seq Verilerinin Gerçek Zamanlı Kantitatif PCR (qRT–PCR) ile Doğrulanması

Kontrol, Tü, NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularında gerçekleştirilen RNA–seq analizleri sonucunda elde edilen veriler içerisinde, bitki savunma yanıtı [(A0A804LID0\_MAIZE, Mitogen–activated protein kinase (EC 2.7.11.24)], karbohidrat metabolizması [A0A1D6K2G2\_MAIZE, (Sucrose synthase (EC 2.4.1.13)], hormon metabolizması (A0A096SFC8\_MAIZE, Ethylene–responsive protein; A0A1D6MXK3\_MAIZE, Jasmonate–induced protein), strese yanıt [(B4FVJ9\_MAIZE, Glutathione S–transferase (GST) (EC 2.5.1.18); B4FNI0\_MAIZE, Peroxidase (EC 1.11.1.7)], fotosentez (C0P5X6\_MAIZE, Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase), ozmoregülasyon (A0A1D6M5N9\_MAIZE, Delta–1–pyrroline–5–carboxylate synthase) ve senesens (A0A1D6HDN0\_MAIZE, Senescence regulator) genleri seçilerek qPCR ile doğrulanmıştır.

Kontrol, Tü, NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından total RNA izolasyonu ticari kit (Norgen Biotek Corp. Total RNA Purification Kit) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen total RNA’lardan Xpert cDNA Synthesis Supermix kiti (GRiSP, Porto) kullanılarak cDNA’nın birinci ipliği sentezlenmiştir. Dokuz gen için Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>) aracılığıyla varsayılan parametreler kullanılarak primerler sentezlenmiş ve benzersizlikleri BLAST aracılığıyla NCBI nr (non redundant) veri tabanında, erime eğrisi analizine göre kontrol edilmiştir. Her bir genin bağıl ifade düzeyi  $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$  (Livak ve Schmittgen 2001) ile hesaplanmış ve tüm genlerin eşik döngüsü (Ct) değerleri housekeeping gen olan *ZmActin*'e (NCBI erişim No. NM\_001155179) normalize edilmiştir (Zhai vd. 2019).

**Çizelge 3.1** qPCR analizi için kullanılan primerlerin listesi

| Gen Adı<br>(Uniprot giriş adı) | İleri Primer (5' – 3') | Geri Primer (5' – 3')  |
|--------------------------------|------------------------|------------------------|
| <b>MAPK</b>                    | CATCGAGCTGAACCCCAGIT   | AACACCGTGCATTAACGAGG   |
| <b>SuSy</b>                    | TGTCAAAGCTCCCTGCTGAC   | TGGCGCCCTGAATGATGTCTA  |
| <b>EREBP</b>                   | GGCGGTCAGTAATACCAGT    | AAAGTTCGGAAGTGCAGGC    |
| <b>JIP</b>                     | CAAGGCCGGATACACTACCA   | GCGATACGATGTGGATGACG   |
| <b>GST</b>                     | AACCTGCTCAAGAGACCTACG  | GGAGTCCCGTTTAAACAACCG  |
| <b>RCA</b>                     | TGGGAATCAACCCCATCGTT   | CGCACATCITGCCCTTCTTG   |
| <b>POD</b>                     | CATCGGTGCATGGATTATCTGT | CAGAGATCACGAGGACAAAACG |
| <b>IDP8187</b>                 | TGGTGCAGGAAGTTGATGGG   | CACAGCAAAAGGGGTGGACT   |
| <b>PCS1</b>                    | AGGTAGAGGAGGAATGACAGCT | AGCCATCTCACATGCACTAACA |
| <b>ZmActin</b>                 | GGTAACATTGTGCTCGTGGTGG | CTCGGCCTTGAGATCCACATC  |

### 3.9 Proteomik Analizler

#### 3.9.1 Protein Ekstraksiyonu

Toplam protein ekstraksiyonu için polietilen glikol (PEG) fraksiyonlama ile kombine edilmiş fenol ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır (Alam vd. 2013). Yaprak dokuları (2 g), sıvı azot ile öğütülmüş ve 12 mL Mg/NP-40 ekstraksiyon tamponu (0.5 M Tris-HCl (pH 8.3), %2 (v/v) NP-40, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, %2 2-merkaptetanol ve 1 mM PMSF) ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar 1 dakika vortekslendikten sonra, her örnek 15 dakika boyunca 5000 ×g'de santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatant PEG fraksiyonlamasına maruz bırakılmıştır. Stok PEG solüsyonu (%50) kullanılarak, son hacim %15 olacak şekilde süpernatantlara PEG eklenmiş ve 30 dk buz üzerinde inkübe edilmiştir. Örnekler 5000 ×g'de ve 4°C'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant toplanmıştır. Her bir süpernatanta 10 mL Mg/NP-40 ekstraksiyon tamponu eklendikten sonra eşit hacimde (yaklaşık 20 mL) tris ile doyurulmuş fenol ilave edilmiştir. Örnekler vortekslendikten sonra son konsantrasyon 0.7 M olacak şekilde sükröz eklenmiş ve tüpler vortekslendikten sonra 15 dk 5000 ×g'de santrifüj edilmiştir. Fenolik faz temiz tüplere toplanmış ve tüplere 0.1 M amonyum asetat içeren dört hacim metanol eklenerek proteinler gece boyu -20°C'de çöktürülmüştür. Bu süre sonunda, örnekler 5000 ×g'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve protein peletleri 0.1 M amonyum asetat içeren metanol ile üç kez yıkanmıştır. Son yıkamadan sonra protein peletleri

vakum altında kurutulmuş ve kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

### **3.9.2 Tripsin ile Proteinlerin Kesimi ve Peptit Örneklerinin Hazırlanması**

Proteinlerden peptit havuzlarının oluşturulması ve nLC–MS/MS analizlerinin gerçekleştirilebilmesi için filtre yardımcı örnek hazırlama (FASP) (Abcam, USA) metodu kullanılmıştır. Kesim işlemi için üretici firmanın önerdiği protokol izlenmiştir (FASP Protein Digestion Kit, Abcam). FASP kesimi için 300 µg protein özütü (30 µL aşmayan hacim içerisinde) 200 µL 8 M üre tamponu içerisinde çözülerek protein denatürasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha örnekler 30 kDa'lık membran filtre üzerine aktarılmıştır. Filtreler kit içerisindeki özel 1.5 mL'lik tüplere yerleştirildikten sonra 10 dakika  $15.000 \times g$ 'de santrifüj edilmiştir. Üre ile yıkama işleminin tekrarı için filtrelerin üzerine üre tamponundan 100 µL eklenerek santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Ardından üre aracılığı ile bozulan disülfid bağlarının alkilasyonu ve tekrar oluşumunun engellenmesi için üre tamponu ile hazırlanan iyodoasetamid tamponu (10 mM) membran üzerine eklenerek kısa bir vorteksleme yapılmış ve karanlık ortamda 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından santrifüj işlemi tekrar edilmiştir. Örnekler iki kez 100 µL 50 mM amonyum bikarbonat solüsyonu eklenerek santrifüj işlemleri tekrarlanmıştır. Üre ve diğer kirleticilerin uzaklaştırılmasının ardından 50 mM amonyum bikarbonat içerisinde hazırlanan tripsin çözeltisinden (53 ng/µL tripsin) 50 µL filtre üzerine konularak proteinler gece boyu  $37^{\circ}\text{C}$ 'de triptik kesimi için inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin ardından filtreler yeni tüplere alınmış ve üzerindeki örnekler sırasıyla 40 µL amonyum bikarbonat (2 kez) ve 50 mM NaCl eklenip santrifüj edilmiş ve peptit örnekleri filtreden geçerek tüpün içerisinde toplanmıştır. Ardından örnekler SpeedVac santrifüj cihazı (Eppendorf, ABD) yardımıyla kurutulmuş ve peptitler örnekleri 30 µL %0,1'lik formik asit (FA) tamponu içerisinde süspanse edilmiştir. Peptit örneklerinin konsantrasyonları Qubit cihazı (Thermo Fisher) kullanılarak belirlenmiştir.

### **3.9.3 Nano–Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometrisi (nLC–MS/MS) Analizleri**

Hazırlanan peptit örnekleri Q–Exactive kütle spektrometresi (Thermo Scientific, ABD)

ile kombine edilmiş Ultimate 3000 RSLC nano (nLC–MS/MS) sistemi (Dionex, Thermo Scientific, CA, ABD) kullanılarak kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm analiz cihazları ve sistemleri Xcalibur 4.0 yazılımı (Thermo Fisher Scientific, CA, ABD) kullanılarak kontrol edilmiştir. Sistemde ayırım için iki farklı mobil faz kullanılmıştır: mobil faz A (0.1% formik asit) ve mobil faz B (80% asetonitril + 0.1% formik asit). İşlemden peptitler, C18 tabanlı tuzak kolonu üzerinden geçirilerek konsantre edilmiş ve temizlenmiştir (desalting). Kromatografik ayırma işlemi için 75 µm x 15 cm x 2 µm, 100 Å çapa sahip Acclaim PepMap RSLC C18 analitik kolonu (Thermo Scientific, CA, ABD) kullanılmıştır. Bu süreçte uygulanan ayırma gradyanı, ilk sekiz dakika için %6 B, 62 dakika için %6–20 B, 45 dakika için %20–35 B, 10 dakika için %35–90 B, 5 dakika için %90 B, 5 dakika için %90–6 B ve 5 dakika için %6 B olacak şekilde 140 dakikalık toplam çalışma süresinde 300 nL/dakika akış hızıyla gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında MS1 spektrumlarının elde edilmesinde aşağıdaki parametrelerle kullanılmıştır: çözünürlük 70.000, tarama aralığı 250–2000 m/z, hedef otomatik kazanç kontrolü (AGC) 3×E6, maksimum enjeksiyon süresi 60 ms, püskürtme voltajı 2.4 kV. Diğer taraftan, MS2 analizinde ilk on iyon analiz için seçilmiştir. Aşağıdaki parametrelerle çarpışma kaynaklı ayrışmadan [yüksek enerjili çarpışmalı ayrışma (higher–energy collisional dissociation–HCD)] oluşan MS2 analizi, çözünürlük 17.500, AGC 1E6; sistem maksimum enjeksiyon süresi 100 ms, izolasyon penceresi 2.0 m/z ve çarpışma enerjisi (NCE) 27 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Cihaz, her analizden önce standart bir pozitif kalibratör ile (LTQ Velos ESI Positive Ion Calibration Solution, Pierce, ABD) kalibre edilmiştir.

### **3.10 İstatistik Analizler**

#### **3.10.1 Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Veri Analizi**

Denemeler, rastgele deneme deseninde düzenlenmiştir. Denemelerden elde edilen veriler en az üç tekrarlı, iki bağımsız denemeden elde edilmiştir. Büyüme parametrelerine ilişkin veriler SPSS paket programı (SPSS ver. 26, Chicago, IL, USA) kullanılarak analiz edilmiştir. Ortalamalar arasındaki önemli düzeydeki ( $p < 0,05$ ) farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi (DMRT) ile belirlenmiştir.

### 3.10.2 RNA–Seq Veri Analizi

Verilerin değerdendirilmesi aşağıdaki gibidir:

- a) Örnek başı +30 milyon çift yönlü (paired–end) 2x100 bç’lik okuma elde edilmiştir.
- b) Okuma işlemleri sonrasında, elde edilen verilerin kalite kontrolü ve düzeltme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada verilerin kalite kontrolünün sağlanması amacıyla FASTQC programı kullanılmıştır ([www.bioinformatics.babraham.ac.uk](http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk)) (Andrews 2010).
- c) Dizileme sürecinde, fastq okuma verilerindeki düşük kalitedeki bazı okumaları, sonraki analiz basamaklarında sapmalara neden olmaması için okumalardan kırpılmıştır. Kalite filtreleri ve adaptör kırpma işlemleri için Trimmomatic uygulaması (sürüm 0.39) kullanılmıştır (<http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>). Buna göre Phred puanı 20’den az olan okumalar kırpılmış ve 20 bazdan daha kısa okumalar filtrelenmiştir (Bolger vd. 2014).
- d) Gen seviyesindeki ifade değerdeleri Kallisto aracı (sürüm 0.46.1) (Bray vd. 2016) ve tximport R paketi kullanılarak elde edilmiştir. *Zea mays* cDNA (komplementer DNA), ncRNA (kodlanmayan RNA) ve GTF (gen aktarım formatı) dosyaları Ensembl Plants veri tabanından (sürüm 56) yüklenmiştir. cDNA ve ncRNA, Kallisto aracı ile birleştirilmiş ve indekslenmiştir. Transkript düzeyindeki ham değerdeler kallisto quant fonksiyonu ile elde edilmiştir. Gen seviyesindeki ham değerdeler tximport aracı ile hesaplanmıştır.
- e) Elde edilen kısa transkript dizileri, HISAT2 (Hierarchical Indexing for Spliced Alignment of Transcripts) programı kullanılarak referans genomu hizalanmıştır.
- f) Karşılaştırılan tüm uygulamalarda diferansiyel olarak ifade edilen genler (DEG’ler), DESeq2 R paketi (sürüm 1.38.0) kullanılarak tespit edilmiştir (Love vd. 2014). İstatistiki analizlerden önce ham değerdeler DESeq2 ile normalleştirilmiştir. DESeq2 ile normalleştirmeden önce sıfır sayımlı genler hesaplamalardan çıkarılmıştır. Anormal değerdeler temel bileşen analizi (PCA) ile tespit edilmiştir. DESeq2 ile normalleştirilmiş gen sayıları, otomatik

ölçeklendirmeden (ortalama merkezleme ve ardından birim standart sapmaya ölçeklendirme) sonra PCA için kullanılmıştır.

- g) Veri setindeki her gen için  $p$ -değerleri ( $p$ -value), düzeltilmiş (Benjamini–Hochberg düzeltmeli)  $p$ -değerleri ( $p_{adj}$ ,  $p$ -adjusted) ve kat değişimleri (FC, fold changes) DESeq2 paketi ile hesaplanmıştır. Anlamlı DEG'ler, düzeltilmiş  $p$ -değerine ( $p < 0,05$ ) göre seçilmiştir. FC değeri 1'in altında olan DEG'ler azalan yönde düzenlenen (down-regulated) genler olarak kategorize edilirken, FC değeri 1'in üzerinde olan genler artan yönde düzenlenen (up-regulated) genler olarak sınıflandırılmıştır.
- h) Karşılaştırılan uygulamalar arasında DEG'lere ait ontoloji analizleri, Gen Ontolojisi (GO) veri bankası (<http://www.geneontology.org>) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.
- i) Gen Ontolojisi (GO) ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) yollarının fonksiyonel zenginleştirme analizleri g:Profiler2 R paketi (sürüm 0.2.1) ile gerçekleştirilmiştir (Kolberg vd. 2020). Anlamlı terimleri  $p$ -değeri ( $p < 0,05$ ) eşiğine göre filtrelemek için g:Profiler2 tarafından uygulanan çoklu test düzeltmesi kullanılmıştır. Tüm DEG'ler, artan yönde düzenlenen DEG'ler ve azalan yönde düzenlenen DEG'ler için zenginleştirme analizi ayrı ayrı uygulanmıştır.

### 3.10.3 nLC–MS/MS Veri Analizi

Ham veriler, protein tanımlaması için Proteom Discoverer 2.2 (Thermo Scientific, ABD) yazılımı ile analiz edilecek ve aşağıdaki parametreler kullanılacaktır: peptit kütle toleransı 10 ppm, MS/MS kütle toleransı 0.2 Da, kütle doğruluğu 2 ppm, toleranslı düşük 1, minimum peptit uzunluk 6 amino asit, sabit değişiklikler sistein karbamidometilasyonu, kararsız değişiklikler metionin oksidasyonu ve asparagin deaminasyonu. Her protein için tanımlanan minimum peptit sayısı 2 olarak kabul edilerek, elde edilen veriler Uniprot/Swissprot veri tabanında aranmıştır.

Analizi sonucu belirlenen proteinlerin karşılaştırmalı analizleri etiketsiz miktar ölçümü (label-free quantification) yöntemi kullanılarak Proteom Discoverer 2.2 yazılımı ile

gerçekleştirilmiştir. Analizlerde uniprot veri bankasından alınan mısır bitkisine ait protein veribankası (UP000007305) kullanılmıştır. Yapılan analizlerde normalizasyon için total peptit intensitesi kullanılmıştır. Proteinlere ait sonuçlar değerlendirilerek gruplar arasında diferansiyel olarak ifade olan proteinler (DEP'ler) belirlenmiştir. Protein-protein etkileşimlerinin belirlenmesi için STRING (<https://string-db.org>) kullanılmıştır. Yolak zenginleştirme analizi, Gen Ontolojisi (GO) (<http://www.geneontology.org>) ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) veri tabanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Proteinler GO açıklamasına göre biyolojik süreç (BS), hücresel bileşen (HB) ve moleküler fonksiyon (MF) olmak üzere üç kategoriye sınıflandırılmıştır. Her kategori için, farklı şekilde ifade edilen proteinin tüm tanımlanmış proteinlere karşı zenginleşmesini test etmek için two-tailed Fisher testi kullanılmıştır. Düzeltilmiş  $p$  değeri  $< 0,05$  olan GO anlamlı kabul edilmiştir. KEGG veri tabanı, zenginleştirilmiş yolakları tanımlamak için kullanılmıştır. Düzeltilmiş  $p$  değeri  $< 0,05$  olan yolak anlamlı kabul edilmiştir. Bu yolaklar KEGG web sitesine göre hiyerarşik kategorilere sınıflandırılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizler

#### 4.1.1 NaCl ve T  Uygulamalarının Büyüme  zerine Etkisi

Mevcut tez çalışmasında T  (35  $\mu$ M), NaCl (100 mM) ve T  (35  $\mu$ M)+NaCl (100 mM) uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinde kontrole göre NaCl uygulaması, gövde dokularının taze ve kuru ağırlıklarında önemli düzeyde azalmaya neden olmuştur ( ekil 4.1,  izelge 4.1). Kontrole göre NaCl uygulamasında, gövde taze ağırlığı ve kuru ağırlığı sırasıyla %55 ve %41 oranında azalmıştır. NaCl uygulamasına göre T +NaCl uygulamasında, gövde taze ağırlığı ve kuru ağırlığı sırasıyla %30,33 ve %23,2 oranında artmıştır ( izelge 4.1).



**Şekil 4.1** Mısır fidelerinde kontrol, T  (35  $\mu$ M), NaCl (100 mM) ve T +NaCl uygulamalarının büyüme üzerine etkisi.

**Çizelge 4.1** Mısır fidelerinde gövde ve kökün taze ve kuru ağırlığı üzerine NaCl (100 mM) ve Tü (35 µM) uygulamalarının etkisi.

| Uygulamalar    | Gövde<br>Taze ağırlık<br>(g.fide <sup>-1</sup> ) | Gövde<br>Kuru ağırlık<br>(g.fide <sup>-1</sup> ) | Kök<br>Taze ağırlık<br>(g.fide <sup>-1</sup> ) | Kök<br>Kuru ağırlık<br>(g.fide <sup>-1</sup> ) |
|----------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>Kontrol</b> | 3,57 ± 0,13 <sup>a*</sup>                        | 0,199 ± 0,009 <sup>a</sup>                       | 0,942 ± 0,06 <sup>a</sup>                      | 0,037 ± 0,001 <sup>a</sup>                     |
| <b>TÜ</b>      | 3,48 ± 0,02 <sup>a</sup>                         | 0,202 ± 0,003 <sup>a</sup>                       | 0,941 ± 0,07 <sup>a</sup>                      | 0,09 ± 0,001 <sup>a</sup>                      |
| <b>NaCl</b>    | 1,60 ± 0,06 <sup>c</sup>                         | 0,116 ± 0,17 <sup>c</sup>                        | 0,751 ± 0,12 <sup>b</sup>                      | 0,037 ± 0,001 <sup>a</sup>                     |
| <b>TÜ+NaCl</b> | 2,08 ± 0,08 <sup>b</sup>                         | 0,143 ± 0,008 <sup>b</sup>                       | 0,813 ± 0,04 <sup>ab</sup>                     | 0,039 ± 0,000 <sup>a</sup>                     |

\*Her bir parametre için farklı harfler (a–c), Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ortalamalar arasında önemli düzeydeki farkı gösterir ( $p < 0.05$ ). Tüm veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir ( $n = 3$ ).

#### 4.1.2 Element İçeriklerinin Belirlenmesi

Kontrol, TÜ, NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin gövde ve kök dokularında Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> içerikleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Gövde Na<sup>+</sup> içeriği kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde artmıştır. NaCl’e göre TÜ+NaCl uygulamasında Na<sup>+</sup> içeriğindeki değişim önemli bulunmamıştır. Gövde K<sup>+</sup> içeriği kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır. Kök Na<sup>+</sup> içeriği kontrole göre NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarında önemli düzeyde artmıştır. NaCl’e göre TÜ+NaCl uygulamasında kök Na<sup>+</sup> içeriği önemli düzeyde azalmıştır. Kontrole göre TÜ uygulamalarında kök K<sup>+</sup> içeriği önemli düzeyde artmıştır. Kök K<sup>+</sup> içeriği TÜ’ye göre NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarında önemli düzeyde azalmıştır.

**Çizelge 4.2** Mısır fidelerinde gövde ve kökte Na ve K içerikleri üzerine NaCl (100 mM) ve Tü (35 µM) uygulamalarının etkisi.

| Uygulamalar    | Element (mg/g KA)         |                            |                           |                             |
|----------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
|                | Gövde                     |                            | Kök                       |                             |
|                | Na <sup>+</sup>           | K <sup>+</sup>             | Na <sup>+</sup>           | K <sup>+</sup>              |
| <b>Kontrol</b> | 9,98 ± 0,49 <sup>a*</sup> | 85,29 ± 1,24 <sup>b</sup>  | 5,17 ± 1,12 <sup>a</sup>  | 27,31 ± 12,98 <sup>ab</sup> |
| <b>TÜ</b>      | 12,05 ± 1,03 <sup>a</sup> | 113,72 ± 1,14 <sup>a</sup> | 12,03 ± 0,47 <sup>a</sup> | 52,58 ± 13,86 <sup>a</sup>  |
| <b>NaCl</b>    | 34,60 ± 1,50 <sup>b</sup> | 41,26 ± 2,26 <sup>d</sup>  | 41,63 ± 2,44 <sup>c</sup> | 20,65 ± 4,78 <sup>b</sup>   |
| <b>TÜ+NaCl</b> | 33,22 ± 0,81 <sup>b</sup> | 55,94 ± 2,41 <sup>c</sup>  | 33,49 ± 1,71 <sup>b</sup> | 18,59 ± 8,46 <sup>b</sup>   |

\*Her bir parametre için farklı harfler (a-d) Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ortalamalar arasında önemli düzeydeki farkı gösterir ( $P < 0.05$ ). Tüm veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir ( $n = 3$ ).

#### 4.1.3 Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Kontrol, T $\ddot{U}$ , NaCl ve T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularında klorofil içerikleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında klorofil içeriği önemli düzeyde azalmıştır. NaCl uygulamasına göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında klorofil içeriği önemli düzeyde artış göstermiştir (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** Mısır fidelerinin yaprak dokularında klorofil içeriği üzerine NaCl (100 mM) ve T $\ddot{U}$  (35  $\mu$ M) uygulamalarının etkisi.

| Uygulamalar        | mg/g TA                        |
|--------------------|--------------------------------|
| Kontrol            | 47,63 $\pm$ 1,17 <sup>a*</sup> |
| T $\ddot{U}$       | 48,29 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>  |
| NaCl               | 28,92 $\pm$ 0,74 <sup>c</sup>  |
| T $\ddot{U}$ +NaCl | 39,54 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>  |

\*Her bir parametre için farklı harfler (a-c) Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ortalamalar arasında önemli düzeydeki farkı gösterir ( $p < 0,05$ ), Tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edilmiştir ( $n = 3$ ).

#### 4.1.4 Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Kontrol, T $\ddot{U}$ , NaCl ve T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularındaki lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri Çizelge 4.4'te verilmiştir. Mısır fidelerinde yaprak dokularının MDA içeriği kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde artmıştır. MDA içeriği, NaCl'e göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır. SOD aktivitesinde kontrole göre NaCl uygulamasında değişiklik belirlenmemiştir. Bununla birlikte, T $\ddot{U}$ 'ye göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında önemli düzeyde bir artış belirlenmiştir. CAT aktivitesi kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır. POD aktivitesi kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde artmıştır. POD aktivitesi NaCl'e göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır. APX aktivitesi kontrole göre tüm uygulamalarda önemli düzeyde artmıştır. APX aktivitesi NaCl'e göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında önemli düzeyde artmıştır (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4** Mısır fidelerinin yaprak dokularında MDA içeriği ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi.

| Parametreler                                                                   | Uygulamalar                 |                            |                            |                            |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                                                                | Kontrol                     | TÛ                         | NaCl                       | TÛ+NaCl                    |
| <b>MDA içeriği</b><br>$\text{nmol g}^{-1} \text{TA}$                           | 21,51 ± 2,04 <sup>ab*</sup> | 17,53 ± 1,96 <sup>a</sup>  | 28,60 ± 1,27 <sup>c</sup>  | 23,55 ± 1,22 <sup>b</sup>  |
| <b>SOD aktivitesi</b><br>$\text{Unit mg}^{-1} \text{protein}$                  | 30,76 ± 1,83 <sup>ab</sup>  | 23,41 ± 3,20 <sup>a</sup>  | 31,70 ± 0,97 <sup>ab</sup> | 34,83 ± 3,74 <sup>b</sup>  |
| <b>POD aktivitesi</b><br>$\mu\text{mol dk}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ | 35,56 ± 4,08 <sup>a</sup>   | 29,48 ± 4,33 <sup>a</sup>  | 65,69 ± 5,82 <sup>b</sup>  | 44,25 ± 4,01 <sup>a</sup>  |
| <b>CAT aktivitesi</b><br>$\mu\text{mol dk}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ | 0,108 ± 0,003 <sup>a</sup>  | 0,073 ± 0,001 <sup>b</sup> | 0,083 ± 0,007 <sup>b</sup> | 0,088 ± 0,006 <sup>b</sup> |
| <b>APX aktivitesi</b><br>$\mu\text{mol dk}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ | 1,44 ± 0,184 <sup>a</sup>   | 2,04 ± 0,14 <sup>b</sup>   | 2,62 ± 0,19 <sup>c</sup>   | 3,52 ± 0,23 <sup>d</sup>   |

\*Her bir parametre için farklı harfler (a-d) Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ortalamalar arasında önemli düzeydeki farkı gösterir ( $P < 0,05$ ), Tüm veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir ( $n = 3$ ).

#### 4.1.5 Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Kontrol, TÛ, NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularındaki prolin içeriği Çizelge 4.5'te verilmiştir. Kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında önemli düzeyde artmıştır. Prolin içeriği NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır.

**Çizelge 4.5** Mısır fidelerinin yaprak dokularında prolin içeriği üzerine NaCl (100 mM) ve TÛ (35 µM) uygulamalarının etkisi.

| Parametre                                               | Uygulamalar                |                           |                            |                           |
|---------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                                                         | Kontrol                    | TÛ                        | NaCl                       | TÛ+NaCl                   |
| <b>Prolin içeriği</b><br>$\text{nmol g}^{-1} \text{TA}$ | 58,16 ± 4,77 <sup>a*</sup> | 64,54 ± 2,33 <sup>a</sup> | 136,88 ± 4,18 <sup>c</sup> | 80,14 ± 6,45 <sup>b</sup> |

\*Her bir parametre için farklı harfler (a-c) Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ortalamalar arasında önemli düzeydeki farkı gösterir ( $P < 0,05$ ), Tüm veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir ( $n = 3$ ).

## 4.2 Transkriptomik Analizler

### 4.2.1 Mısır Yapraklarında Diferansiyel Olarak İfade Edilen Genlerin İfade Profilleri Üzerine NaCl ve Tü Uygulamalarının Etkisi

Illumina paired-end dizileme teknolojisi (Illumina Novaseq 6000) kullanılarak kontrol, NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarına ait verilerden oluşturulan dört farklı kütüphaneden toplam 561.188.624 (561 milyon) ham dizileme okuması elde edilmiştir. Ham verilerden kalite filtrasyonu ve adaptör kırpma işlemleri ile veri temizliği gerçekleştirildikten sonra toplam 391.201.369 (391 milyon) temiz okuma elde edilmiştir. FASTQC aracı ile gerçekleştirilen kalite kontrolü ile ilgili skorlar, tüm uygulama gruplarında >Q20 için %100 ve >Q30 için >%99 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 RNA-seq analizlerine ait istatistikler.

| Grup    | Toplam ham okuma (baz) | Hizalanmış okuma sayısı (baz) | Hizalama % | Hizalanmış benzersiz okuma sayısı (baz) | Benzersiz hizalama % | Q20* | Q30*  | % GC  |
|---------|------------------------|-------------------------------|------------|-----------------------------------------|----------------------|------|-------|-------|
| Kontrol | 51.122.790             | 34.669.383                    | 67,3       | 7.556.150                               | 14,6                 | 100  | 99,21 | 45,67 |
| NaCl    | 61.875.497             | 43.960.561                    | 71,4       | 8.530.334                               | 13,8                 | 100  | 99,19 | 45,33 |
| Tü+NaCl | 52.787.775             | 37.845.531                    | 72,1       | 7.022.985                               | 13,5                 | 100  | 99,23 | 45,00 |

\*Q20; Ortalama Phred kalite puanı  $\geq 20$  olan toplam okumaların yüzdesi, %99 baz doğruluğunu ifade eder.

\*Q30 Ortalama Phred kalite puanı  $\geq 30$  olan toplam okumaların yüzdesi, %99,9 baz doğruluğunu ifade eder.

### 4.2.2 Diferansiyel Olarak İfade Edilen Genlerin Belirlenmesi

Kontrol, NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen toplam RNA'ların RNA-seq analizlerine göre sınıflandırma ve karşılaştırma sonrası elde edilen DEG'lere ait veriler Çizelge 4.7'de verilmiştir. Kontrole göre Tü uygulamasında 39.236 gen analiz edilmiştir. Buna göre, artan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 11, azalan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 163 olarak belirlenmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında 40.402 gen analiz edilmiştir. Buna göre, artan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 436, azalan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 288 olarak belirlenmiştir. Kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında

39.835 gen analiz edilmiştir. Buna göre, artan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 439, azalan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 350 olarak belirlenmiştir. Son olarak, NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında 40.185 gen analiz edilmiştir. Buna göre, artan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 91, azalan yönde düzenlenen DEG'lerin sayısı 87 olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.7** Uygulamalar arası karşılaştırmalar sonucunda elde edilen gen sayıları.

| Karşılaştırılan uygulamalar | Analiz edilen toplam gen sayısı | Artan yönde düzenlenen genlerin sayısı (FC>1, padj<0,05) | Azalan yönde düzenlenen genlerin sayısı (FC<1, padj<0,05) |
|-----------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Kontrol–NaCl                | 40.402                          | 436                                                      | 288                                                       |
| Kontrol–TÛ+NaCl             | 39.835                          | 439                                                      | 350                                                       |
| NaCl–TÛ+NaCl                | 40.185                          | 91                                                       | 87                                                        |

#### 4.2.3 Moleküler Fonksiyon ve Yolak Analizleri

Kontrol, NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen toplam RNA'ların RNA–seq analizlerine göre tüm karşılaştırılan uygulamalarda (kontrol–NaCl, kontrol–TÛ+NaCl ve NaCl–TÛ+NaCl) tespit edilen DEG'lerin zenginleştirildikleri GO ve KEGG terimlerine ait sayısal veriler Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Kontrole göre NaCl uygulamasında DEG'ler, GO ve KEGG yolaklarında zenginleştirilmiş ve zenginleştirilen terimler aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.8). GO teriminde zenginleştirilen DEG'ler anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) 11 farklı biyolojik süreç (GO:0009064; glutamin ailesi amino asit metabolik süreci, GO:1901605; alfa–amino asit metabolik süreci, GO:0005975; karbohidrat metabolik süreci, GO:0043436; oksoasit metabolik süreci, GO:0006082; organik asit metabolik süreci, GO:0019752; karboksilik asit metabolik süreci, GO:0016311; defosforilasyon, GO:0044281; küçük moleküllü metabolik süreç, GO:0035970; peptidil–treonin defosforilasyonu, GO:0006520; amino asit metabolik süreci ve GO:0006650; gliserofosfolipid metabolik süreci), 3 farklı hücresel bileşen (GO:0009507; kloroplast, GO:0009536; plastit ve GO:0043036; nişasta tanesi) ve 10 farklı metabolik fonksiyon (GO:0016830; karbon–karbon liyaz aktivitesi, GO:0046872; metal iyonu bağlama, GO:0043169;

katyon bağlama, GO:0004349; glutamat 5-kinaz aktivitesi, GO:0004350; glutamat-5-semialdehit dehidrojenaz aktivitesi, GO:0015926; glukozidaz aktivitesi, GO:0008422; beta-glukozidaz aktivitesi, GO:0016702; oksidoredüktaz aktivitesi, GO:0033293; monokarboksilik asit bağlama ve GO:0031492; nükleozomal DNA bağlanması) terimlerine sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.8).

KEGG zenginleştirme analizi sonucunda DEG'ler anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) 8 farklı KEGG yolağında (KEGG:01100; metabolik yollar, KEGG:00250; alanin, aspartat ve glutamat metabolizması, KEGG:01230; amino asitlerin biyosentezi, KEGG:01110; sekonder metabolitlerin biyosentezi, KEGG:00591; linoleik asit metabolizması, KEGG:04016; MAPK sinyal yolu, KEGG:01200; karbon metabolizması ve KEGG:00710; fotosentetik organizmalarda karbon fiksasyonu) zenginleştirilmiştir (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8** GO ve KEGG yolaklarında kontrol, NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarının karşılaştırılmasıyla elde edilen zenginleştirilmiş terim sayıları ( $p < 0,05$ ).

| Karşılaştırılan uygulamalar | Kaynak | Zenginleştirilen tüm terimler | Zenginleştirilen artan terimler | Zenginleştirilen azalan terimler |
|-----------------------------|--------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| <b>Kontrol–NaCl</b>         | GO:BS* | 11                            | 12                              | 13                               |
|                             | GO:HB* | 3                             | TE*                             | 15                               |
|                             | GO:MF* | 10                            | 4                               | 2                                |
|                             | KEGG   | 8                             | 3                               | 4                                |
| <b>Kontrol–TÛ+NaCl</b>      | GO:BS  | 12                            | 21                              | 1                                |
|                             | GO:HB  | 4                             | TE                              | 4                                |
|                             | GO:MF  | 10                            | 9                               | 4                                |
|                             | KEGG   | 4                             | 5                               | 2                                |
| <b>NaCl–TÛ+NaCl</b>         | GO:BS  | 28                            | 33                              | 15                               |
|                             | GO:HB  | 3                             | 5                               | 2                                |
|                             | GO:MF  | 14                            | 11                              | 9                                |
|                             | KEGG   | 3                             | 4                               | 1                                |

\*BS: Biyolojik Süreç, HB: Hücresel Bileşen, MF: Metabolik Fonksiyon, TE: Tespit Edilemeyen

Kontrole göre TÛ+NaCl uygulamasında DEG'ler, GO ve KEGG yolaklarında zenginleştirilmiş ve zenginleştirilen terimler aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.8). GO teriminde zenginleştirilen DEG'ler anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) 12 farklı biyolojik süreç

(GO:0006082; organik asit metabolik süreci, GO:0043436; oksoasit metabolik süreci, GO:0019752; karboksilik asit metabolik süreci, GO:0005975; karbonhidrat metabolik süreci, GO:1901605; alfa-amino asit metabolik süreci, GO:0006650; gliserofosfolipid metabolik süreci, GO:0044281; küçük moleküllü metabolik süreç, GO:0046486; gliserolipid metabolik süreci, GO:0008652; amino asit biyosentetik süreci, GO:0006644; fosfolipid metabolik süreci, GO:0044283; küçük molekül biyosentetik süreci ve GO:0009067; aspartat ailesi amino asit biyosentetik süreci), 4 farklı hücresel bileşen ( GO:0009507; kloroplast, GO:0005773; vakuol, GO:0005576; hücre dışı bölge ve GO:0005886; plazma zarı), 10 farklı metabolik fonksiyon (GO:0003824; katalitik aktivite, GO:0043167; iyon bağlama, GO:0046872; metal iyonu bağlama, GO:0043169; kation bağlama, GO:0042085; 5-metiltetrahidropteroyltri-L-glutamata bağımlı metiltransferaz aktivitesi, GO:0003871; 5-metiltetrahidropteroiltri-L-glutamata-homosistein S-metiltransferaz aktivitesi, GO:0004349; glutamat 5-kinaz aktivitesi, GO:0004350; glutamat-5-semialdehit dehidrojenaz aktivitesi, GO:0005215; taşıyıcı aktivitesi ve GO:0022857; transmembran taşıyıcı aktivitesi) terimlerine sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.8).

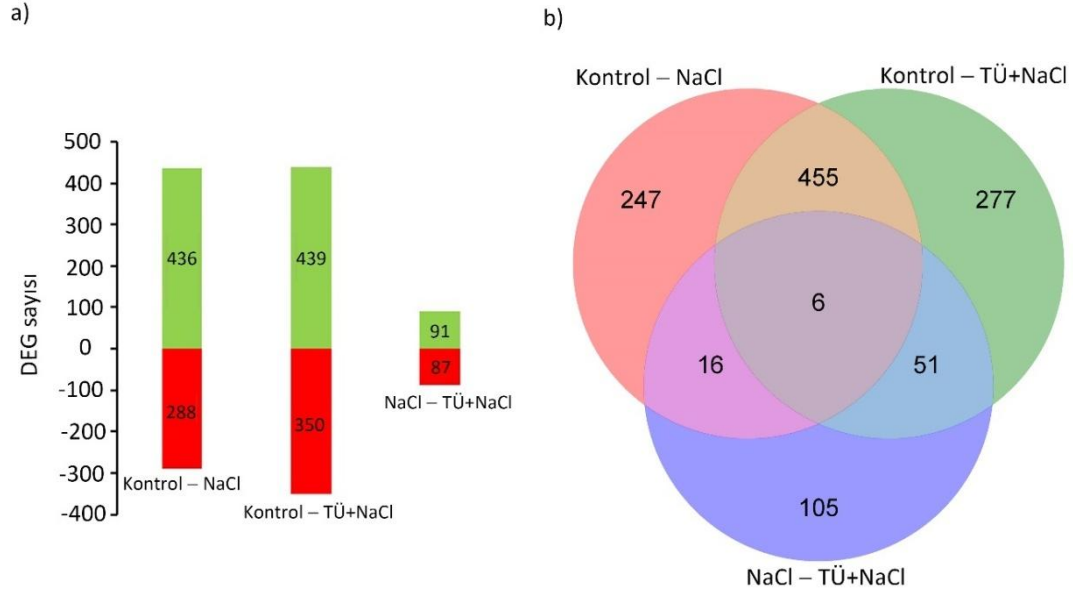
KEGG zenginleştirme analizi sonucunda DEG'ler anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) 4 farklı KEGG yolağında (KEGG:01100; metabolik yollar, KEGG:01230; amino asitlerin biyosentezi, KEGG:01110; sekonder metabolitlerin biyosentezi ve KEGG:00250; alanin, aspartat ve glutamat metabolizması) zenginleştirilmiştir (Çizelge 4.8).

NaCl uygulamasına göre Tü+NaCl uygulamasında DEG'ler, GO ve KEGG yolağlarında zenginleştirilmiş ve zenginleştirilen terimler aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.8). GO teriminde zenginleştirilen DEG'ler anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) 28 farklı biyolojik süreç (GO:0016102; diterpenoid biyosentez süreci, GO:0016101; diterpenoid metabolik süreci, GO:0009833; bitki tipi birincil hücre duvarı biyogenezi, GO:0000281; mitotik sitokinez, GO:0061640; hücre iskeletine bağlı sitokinez, GO:0030244; selüloz biyosentez süreci, GO:0009832; bitki tipi hücre duvarı biyogenezi, GO:0006952; savunma yanıtı, GO:0016114; terpenoid biyosentetik süreç, GO:0071669; bitki tipi hücre duvarı organizasyonu veya biyogenezi, GO:0006721; terpenoid metabolik süreci, GO:0030243; selüloz metabolik süreci, GO:0000910; sitokinez, GO:0051274;

beta-glukan biyosentetik süreci, GO:0008652; amino asit biyosentetik süreci, GO:0043650; dikarboksilik asit biyosentetik süreci, GO:0009620; mantara karşı tepki, GO:0006520; amino asit metabolik süreci, GO:0051273; beta-glukan metabolik süreci, GO:0016053; organik asit biyosentetik süreci, GO:0046394; karboksilik asit biyosentetik süreci, GO:0008299; izoprenoid biyosentetik süreç, GO:0042546; hücre duvarı biyogenezi, GO:0009250; glukan biyosentetik süreci, GO:0044283; küçük molekül biyosentetik süreci, GO:1901605; alfa-amino asit metabolik süreci, GO:0050832; mantara karşı savunma tepkisi ve GO:0006950; strese karşı tepki), 3 farklı hücresel bileşen (GO:0005576; hücre dışı bölge, eGO:0005788; endoplazmik retikulum lümeni ve GO:0071944; hücre çevresi), 14 farklı metabolik fonksiyon (GO:0010333; terpen sentaz aktivitesi, GO:0016838; fosfatlar üzerinde etkili karbon-oksijen liyaz aktivitesi, GO:0016759; selüloz sentaz aktivitesi, GO:0016760; selüloz sentaz (UDP oluşturan) aktivitesi, GO:0000287; magnezyum iyonu bağlama, GO:0016835; karbon-oksijen liyaz aktivitesi, GO:0016829; liyaz aktivitesi, GO:0003824; katalitik aktivite, GO:0003871; 5-metiltetrahidropteroiltri-glutamat-homosistein S-metiltransferaz aktivitesi, GO:0042085; 5-metiltetrahidropteroyltri-L-glutamata bağımlı metiltransferaz aktivitesi, GO:0050552; (4S)-limonen sentaz aktivitesi, GO:0050551; mirsen sentaz aktivitesi, GO:0034007; S-linalol sentaz aktivitesi ve GO:0051082; katlanmamış protein bağlanması) terimlerine sınıflandırılmıştır (Çizelge 4.8).

KEGG zenginleştirme analizi sonucunda DEG'ler anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) 3 farklı KEGG yolağında (KEGG:01230; amino asitlerin biyosentezi, KEGG:00909; seskiterpenoid ve triterpenoid biyosentezi, KEGG:00400; fenilalanin, tirozin ve triptofan biyosentezi) zenginleştirilmiştir (Çizelge 4.8).

Kontrolle göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında, RNA-seq analizi ile artan ya da azalan yönde düzenlendiği tespit edilen DEG'lere ait sayısal veriler Şekil 4.2a'da gösterilmiştir. DEG'lerin gruplar arasındaki sayısal dağılımları ve ortak DEG'lere ait sayısal veriler Şekil 4.2b'de verilmiştir.

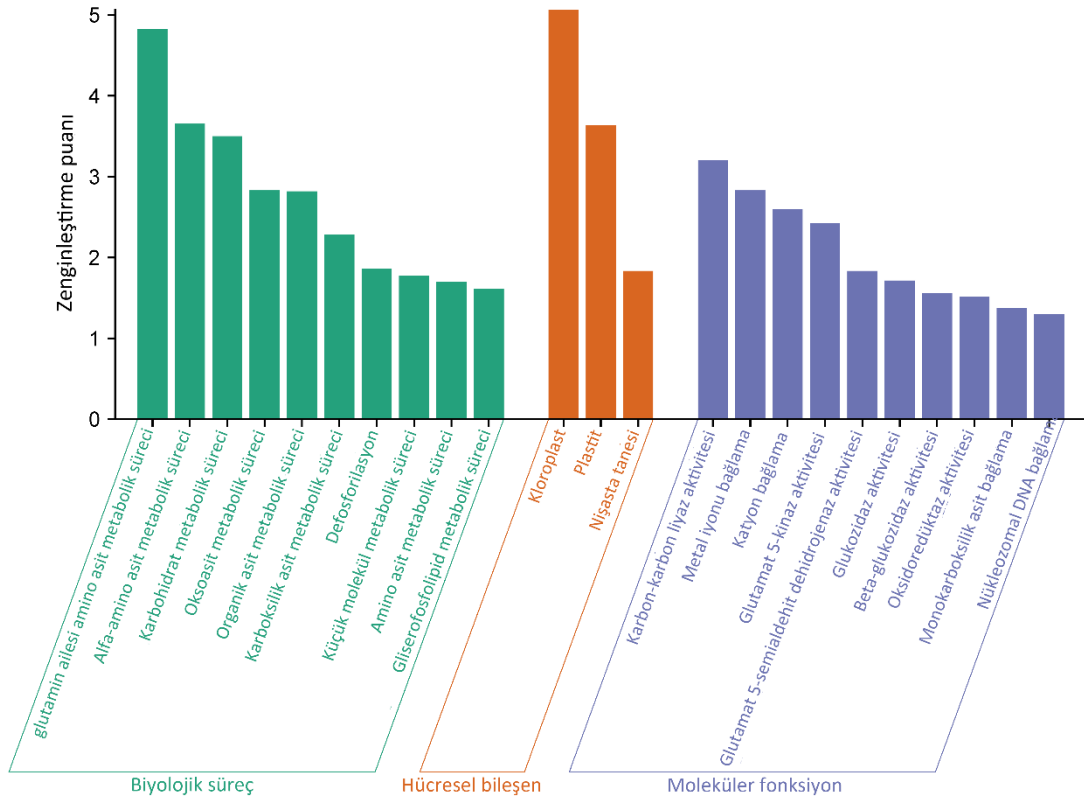


**Şekil 4.2** Kontrol, NaCl (100 mM) ve Tü+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen DEG'lerin sayısı, **a)** Artan ve azalan yönde düzenlenen DEG'lerin histogramı, **b)** DEG'lerin Venn diyagramı.

#### 4.2.4 RNA–Seq Verilerinin Biyoinformatik Programlar ile Görselleştirilmesi

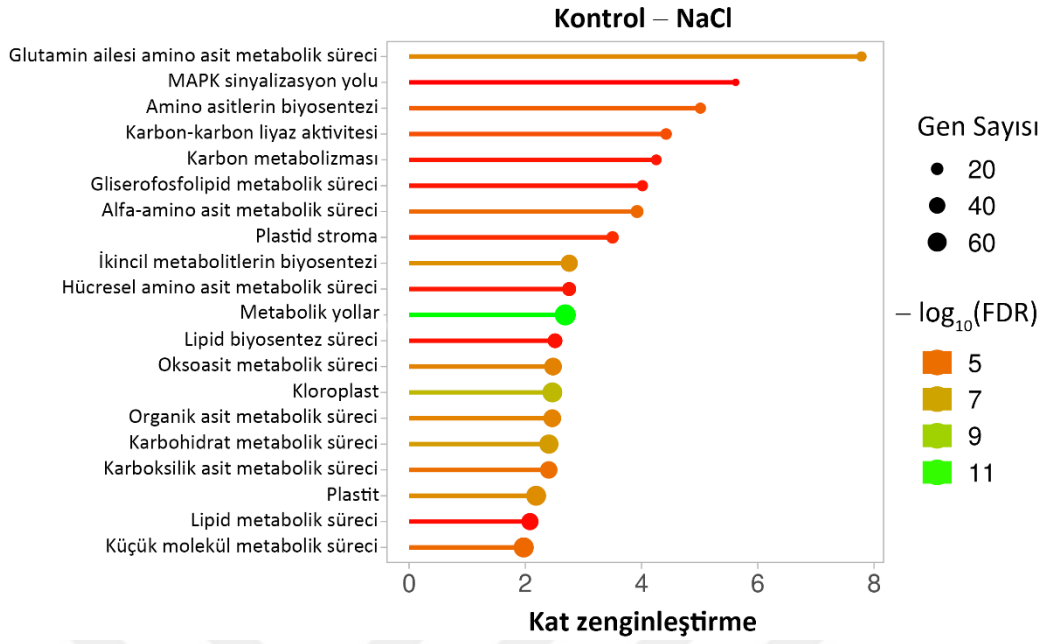
##### 4.2.4.1 Kontrole Göre NaCl Uygulamasında İfadesi Değişen Genler ve Yolakları

RNA–seq analizi ile tespit edilen DEG'lerin kontrole göre NaCl uygulamasında gerçekleştirilen zenginleştirme analizi sonucunda GO sınıflandırmasının histogramı Şekil 4.3'te verilmiştir. GO sınıflandırmasına göre BS analizi sonucunda DEG'ler en fazla glutamin ailesi amino asit metabolik süreci, alfa amino asit metaboik süreci ve karbohidrat metabolik süreci terimlerinde zenginleştirilmiştir. MF analizinde karbon–karbon liyaz aktivitesi, metal iyonu bağlama ve katyon bağlama aktivitelerinde zenginleştirilirken, HB analizi sonucunda DEG'ler en fazla kloroplast, plastit ve nişasta tanesi terimlerinde yer almıştır.

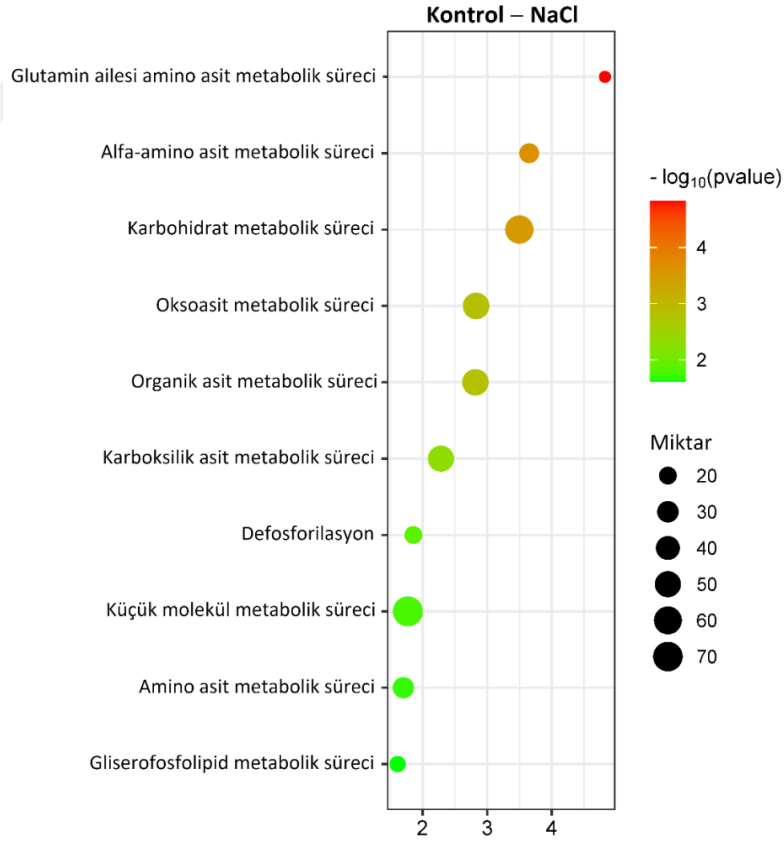


**Şekil 4.3** DEG'lerin kontrole göre NaCl uygulamasında gerçekleştirilen GO sınıflandırmasının histogram gösterimi.

Kontrol, NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizi sonucunda kontrole göre NaCl uygulamasında biyolojik süreç, metabolik fonksiyon ve hücresel bileşen terimleri içerisinde sınıflandırılan DEG'ler, gen sayısına göre sıralanarak ilk 20 terim seçilmiş ve görselleştirilerek Şekil 4.4'te verilmiştir. Ayrıca biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin miktarlarına göre hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği Şekil 4.5'te verilmiştir. Buna göre DEG'ler en fazla glutamin ailesi amino asit metabolik süreci, MAPK sinyalizasyon yolu, amino asit sentezi, karbon metabolizması, plastit, lipid biyosentez süreci ve defosforilasyon gibi terimlerde yer aldığı belirlenmiştir.

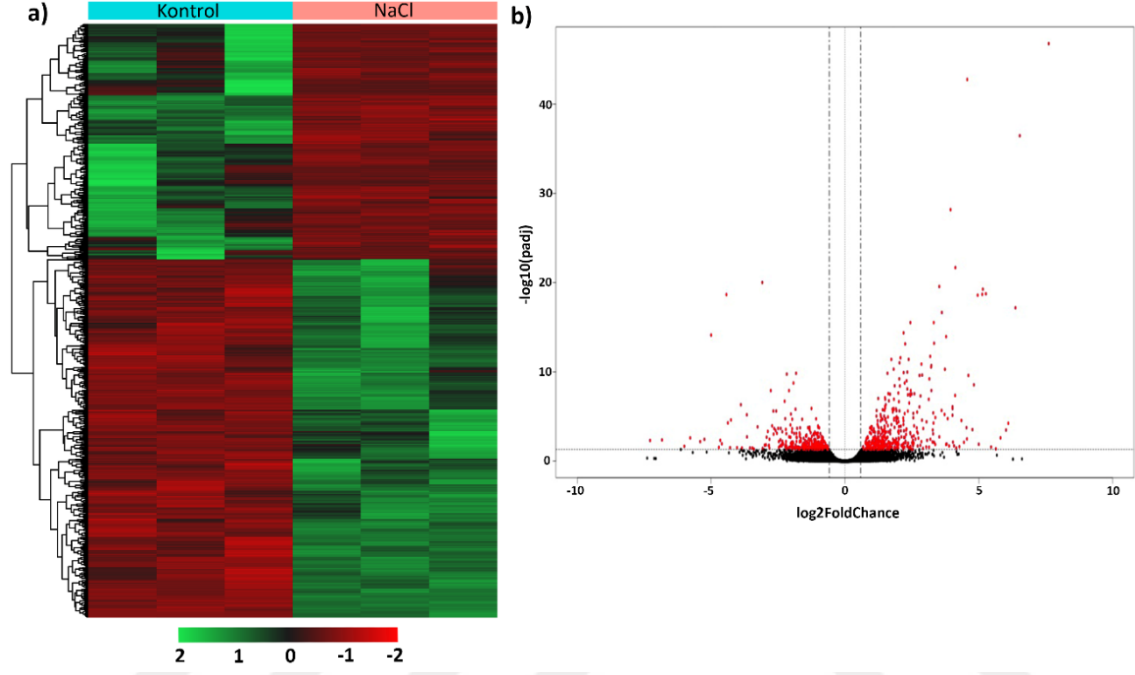


**Şekil 4.4** Kontrole göre NaCl uygulamasında DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizinde gen sayısına göre sıralamada ilk 20 terim içerisinde yer alan DEG'lerin kat zenginleştirme grafiği.



**Şekil 4.5** Kontrole göre NaCl uygulamasında tespit edilen ve biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği.

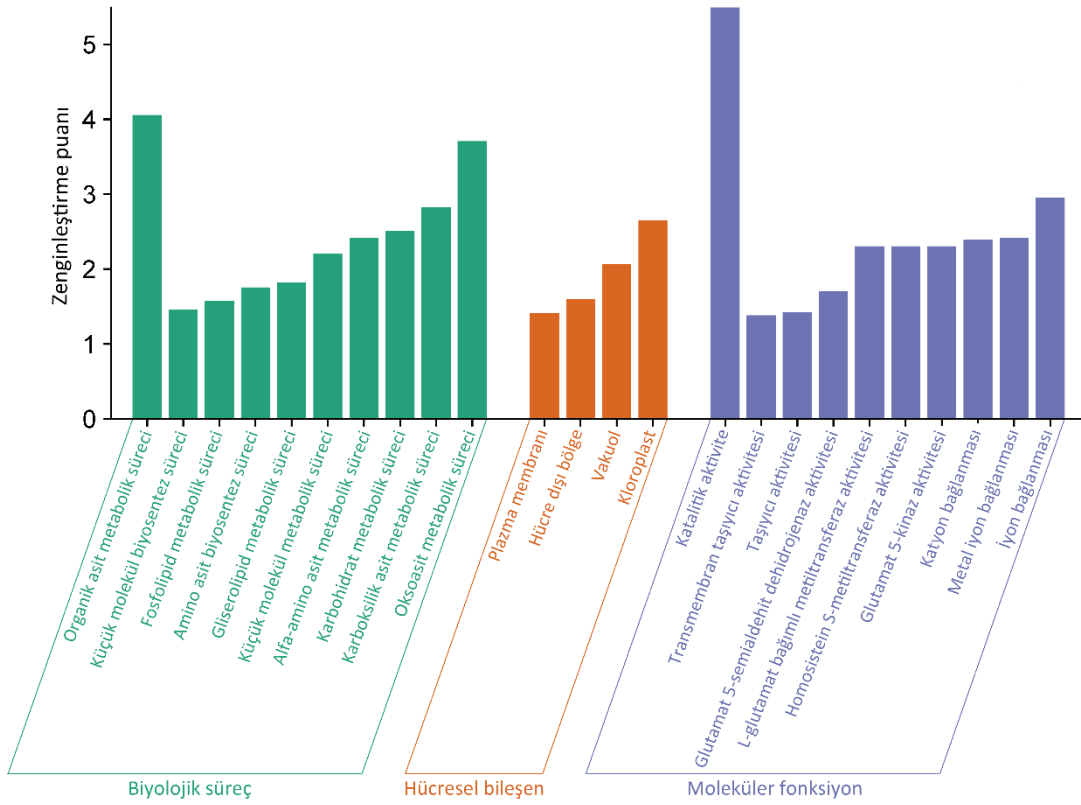
Kontrolle göre NaCl uygulamasında artan veya azalan yönde düzenlendiği tespit edilen tüm DEG'ler ısı haritası (heatmap) ve volkan grafiği (volcano plot) ile Şekil 4.6'da verilmiştir.



**Şekil 4.6** Mısır fidelerinin yaprak dokularında kontrole göre NaCl uygulamalarının karşılaştırılması ile elde edilen DEG'lerin **a)** ısı haritası ve **b)** volcano plot ile gösterimi.

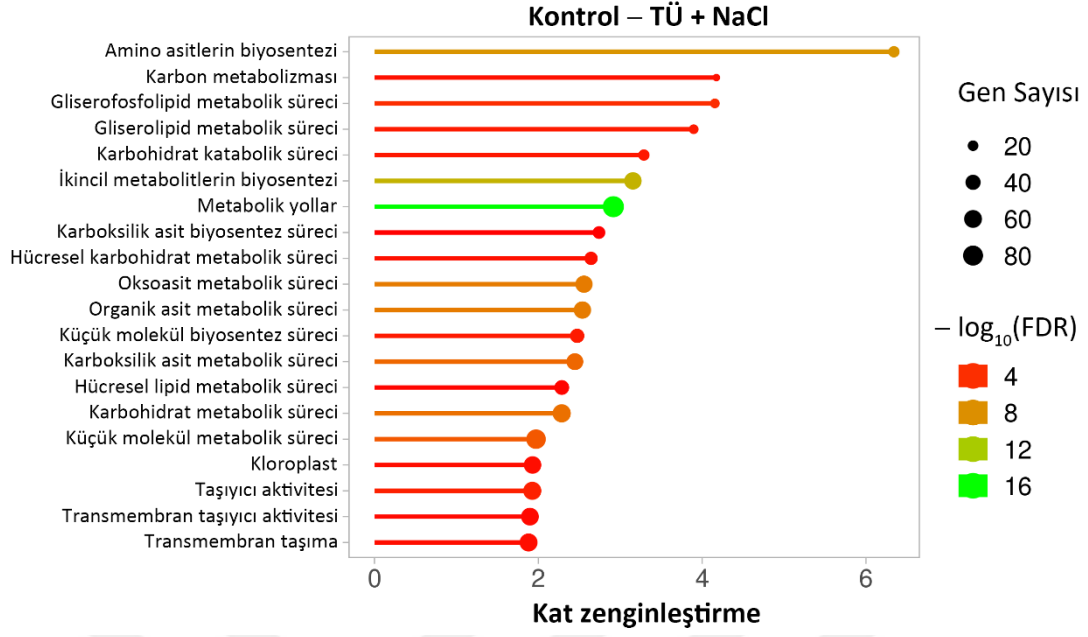
#### 4.2.3.2 Kontrole Göre Tü+NaCl Uygulamasında İfadesi Değişen Genler ve Yolakları

RNA-seq analizi ile tespit edilen DEG'lerin kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında gerçekleştirilen zenginleştirme analizi sonucunda GO sınıflandırmasının histogramı Şekil 4.7'de verilmiştir. Buna göre BS analizi sonucunda DEG'ler en fazla organik asit metabolik süreci, küçük molekül biyosentez süreci ve fosfolipid metabolik süreci terimlerinde zenginleştirilmiştir. MF analizi ile DEG'ler katalitik aktivite, transmembran taşıyıcı aktivitesi ve taşıyıcı aktivitesi terimlerinde zenginleştirilirken, HB analizi sonucunda DEG'lerin plazma membran, hücre dışı bölge ve vakuolde yer aldığı tespit edilmiştir.

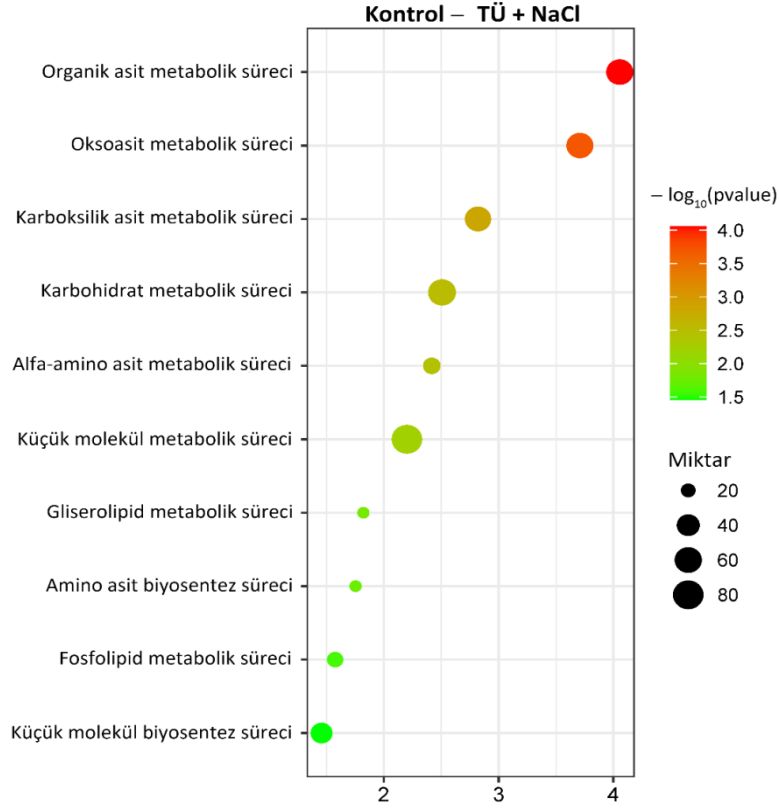


**Şekil 4.7** DEG'lerin kontrole göre TÛ+NaCl uygulamasında gerçekleştirilen GO sınıflandırmasının histogram gösterimi.

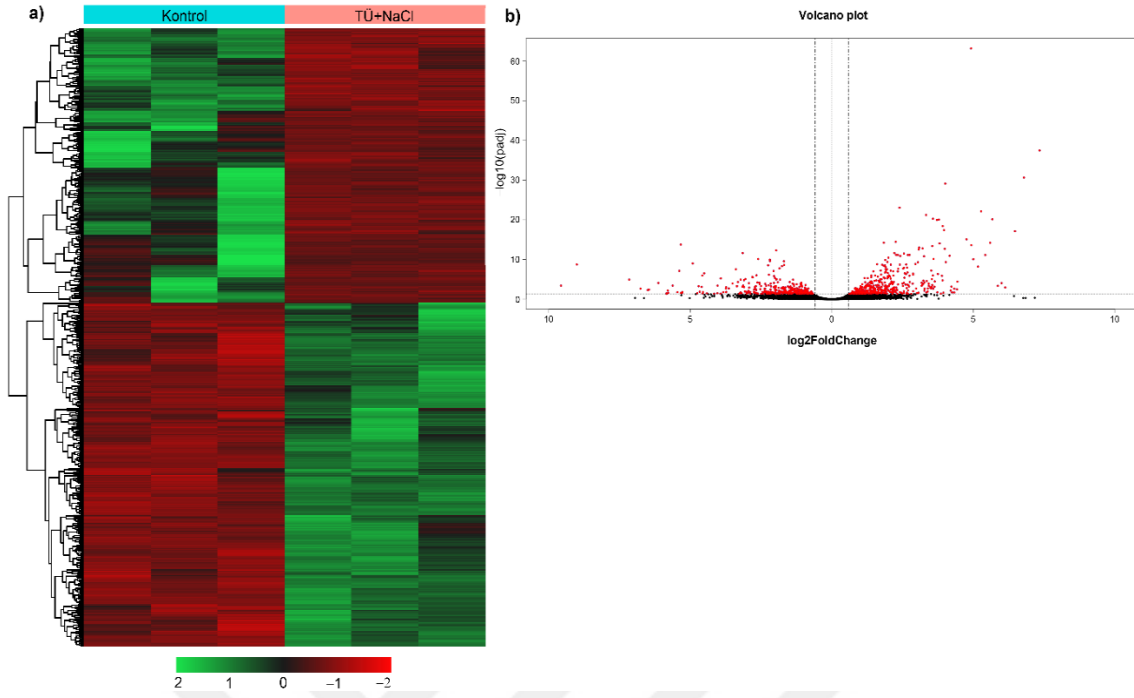
Kontrol, NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizi sonucunda kontrole göre TÛ+NaCl uygulamasında biyolojik süreç, metabolik fonksiyon ve hücresel bileşen terimleri içerisinde sınıflandırılan DEG'ler, gen sayısına göre sıralanarak ilk 20 terim seçilmiş ve görselleştirilerek Şekil 4.8'de verilmiştir. Biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin miktarlarına göre hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği Şekil 4.9'da verilmiştir. Bununla birlikte, artan veya azalan yönde düzenlendiği tespit edilen tüm DEG'ler ısı haritası (heatmap) ve volkan grafiği (volcano plot) ile Şekil 4.10'da verilmiştir. Görselleştirme analizi ile DEG'ler en fazla aminoasit biyosentezi, karbon metabolizması, lipid metabolik süreçleri, sekonder metabolitlerin biyosentezi ve metabolik yollar terimleri içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir.



**Şekil 4.8** Kontrole göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında DEG’lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizinde gen sayısına göre sıralamada ilk 20 terim içerisinde yer alan DEG’lerin kat zenginleştirme grafiği.



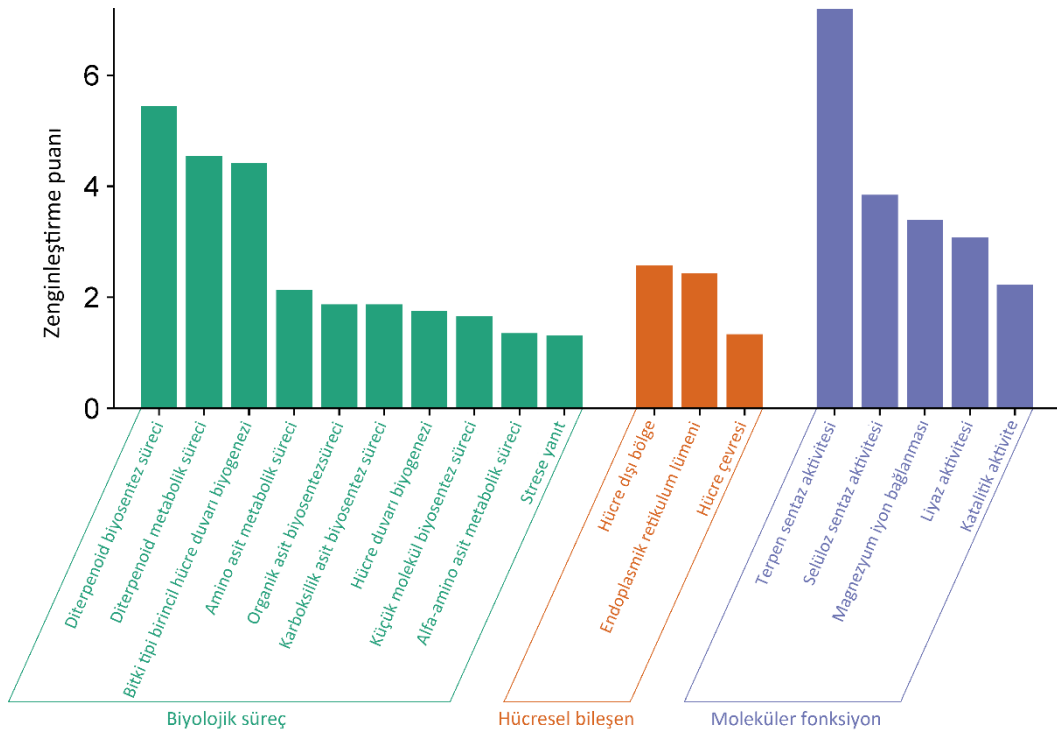
**Şekil 4.9** Kontrole göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında tespit edilen ve biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG’lerin hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği.



**Şekil 4.10** Mısır fidelerinin yaprak dokularında kontrole göre Tü+NaCl uygulamalarının karşılaştırılması ile elde edilen DEG'lerin **a)** ısı haritası ve **b)** volcano plot ile gösterimi.

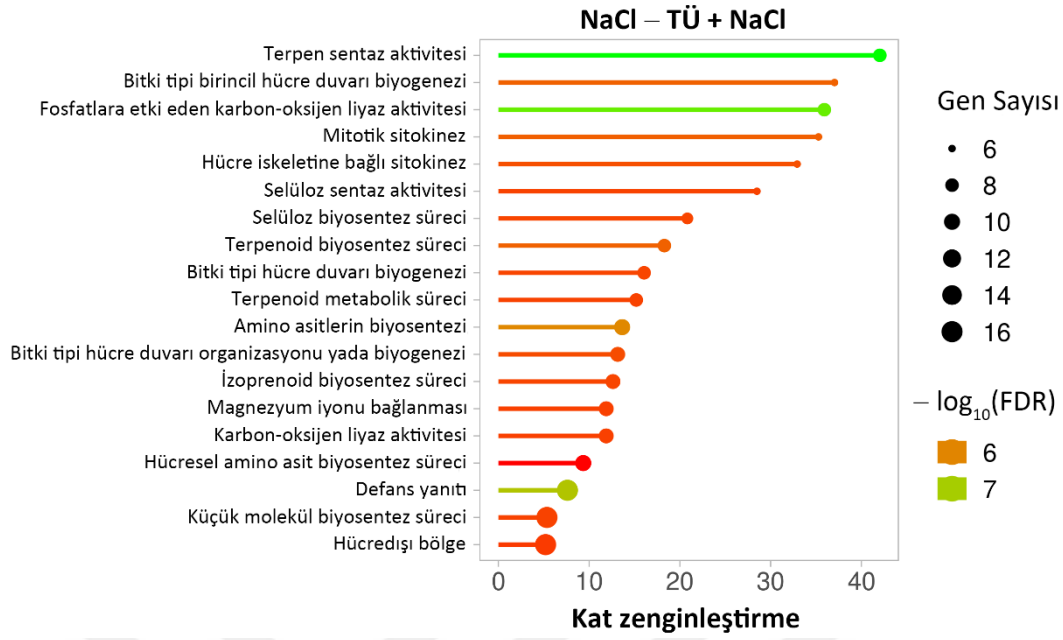
#### 4.2.3.3 NaCl'e Göre Tü+NaCl Uygulamasında İfadesi Değişen Genler ve Yolakları

RNA-seq analizi ile tespit edilen DEG'lerin NaCl'e göre Tü+NaCl uygulamasında gerçekleştirilen zenginleştirme analizi sonucunda GO sınıflandırmasının histogramı Şekil 4.11'de verilmiştir. GO sınıflandırmasının BS analizine göre DEG'ler en fazla diterpenoid biyosentez süreci, diterpenoid metabolik süreci ve birincil hücre duvarı biyogenezi terimlerinde yer almıştır. MF analizi ile DEG'ler en fazla terpen sentaz aktivitesi, selüloz sentez aktivitesi ve magnezyum iyon bağlanması terimlerinde yer alırken, BS analizi ile DEG'ler en fazla hücre dışı bölge, ER lümeni ve hücre çevresi terimlerinde yer almıştır.

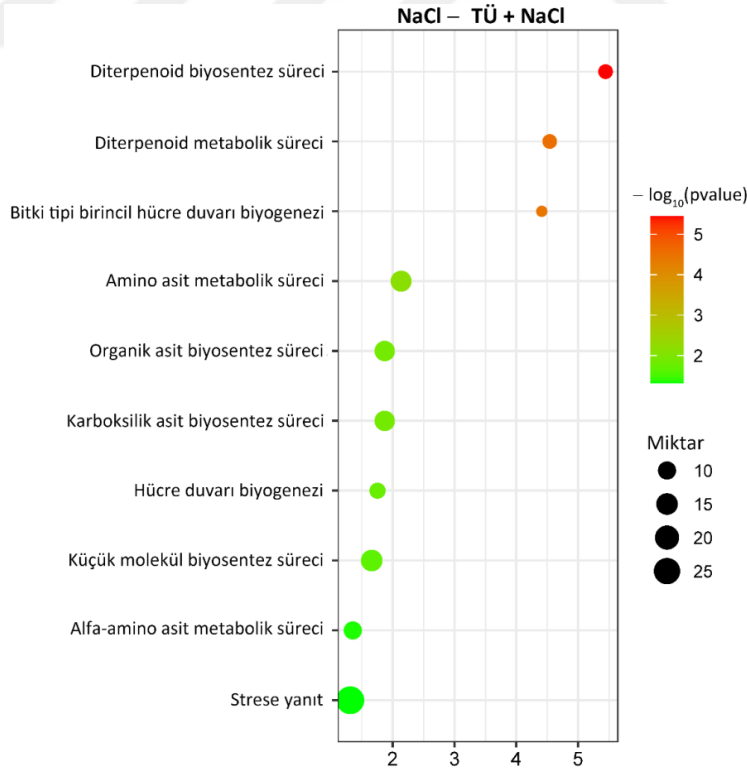


**Şekil 4.11** DEG'lerin NaCl'e göre TÜ+NaCl uygulamasında gerçekleştirilen GO sınıflandırmasının histogram gösterimi.

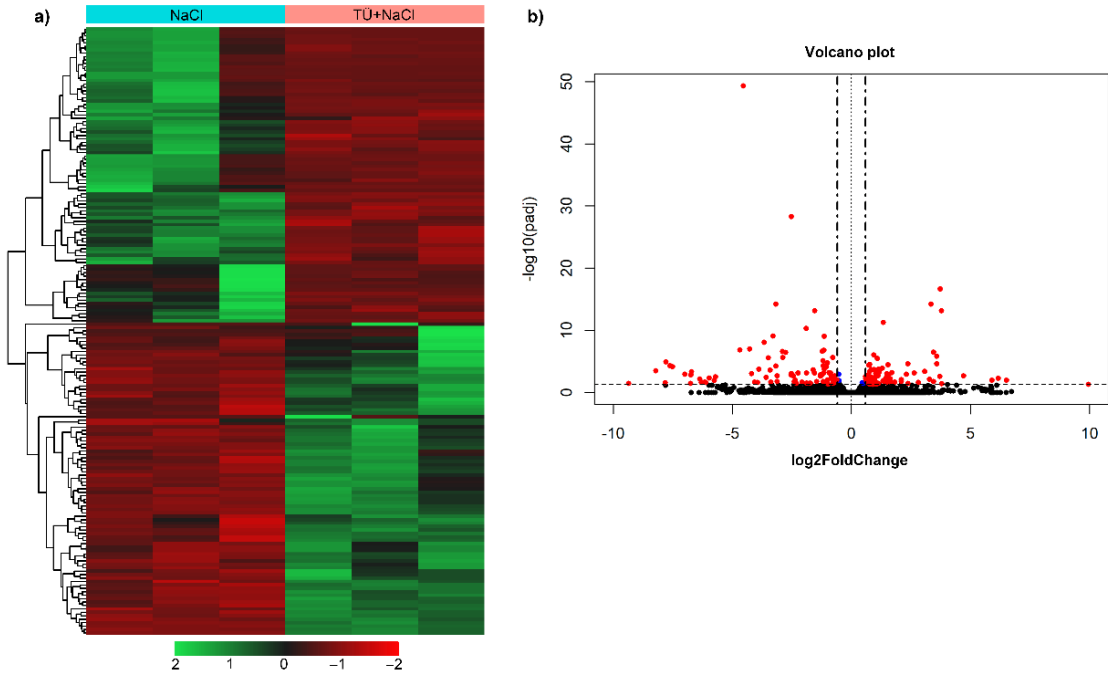
NaCl uygulamasına göre TÜ+NaCl uygulamasında biyolojik süreç, metabolik fonksiyon ve hücresel bileşen terimleri içerisinde sınıflandırılan DEG'ler, gen sayısına göre sıralanarak ilk 20 terim seçilmiş ve görselleştirilerek Şekil 4.12'de verilmiştir. Biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin miktarlarına göre hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği Şekil 4.13'te verilmiştir. Ayrıca artan veya azalan yönde düzenlendiği tespit edilen tüm DEG'ler ısı haritası (heatmap) ve volkan grafiği (volcano plot) ile Şekil 4.14'te verilmiştir. Görselleştirme analizi ile DEG'lerin en fazla terpen sentaz aktivitesi, hücre duvarı biyogenezi, fosfatlara etki eden karbon-oksijen liyaz aktivitesi, mitotik sitokinez ve defans yanıtı gibi terimler içerisinde yer aldığı belirlenmiştir.



**Şekil 4.12** NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında DEG'lerde gerçekleştirilen zenginleştirme analizinde gen sayısına göre sıralamada ilk 20 terim içerisinde yer alan DEG'lerin kat zenginleştirme grafiği.



**Şekil 4.13** NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında tespit edilen ve biyolojik süreçlerde zenginleştirilen DEG'lerin hava kabarcığı zenginleştirme (bubble enrichment) grafiği.



**Şekil 4.14** Mısır fidelerinin yaprak dokularında NaCl'e göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamalarının karşılaştırılması ile elde edilen DEG'lerin **a)** ısı haritası ve **b)** volcano plot ile gösterimi.

Kontrol, NaCl ve T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularından elde edilen ve NaCl'e g $\ddot{o}$ re T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında GO zenginleştirilmesi sonucunda farklı biyolojik s $\ddot{u}$ re $\ddot{c}$  terimlerinde zenginleştirilen genler  $\ddot{C}$ izelge 4.9'da, dairesel ısı haritaları şekil 4.15'te verilmiştir.

**$\ddot{C}$ izelge 4.9** NaCl'e g $\ddot{o}$ re T $\ddot{U}$ + NaCl uygulamasında ifadesi değişen genler.

| <b>Strese Yanıt</b> |                                                               |                    |                       |                 |
|---------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------|
| <b>Gen İD</b>       | <b>Protein Adı</b>                                            | <b>Kat değişim</b> | <b>Artan / Azalan</b> | <b>Gen Adı</b>  |
| Zm00001eb277540     | ABC taşıyıcı G ailesi üyesi 29                                | 1,5582             | artan                 | <i>ABCG29</i>   |
| Zm00001eb333240     | ADP-ribozilasyon fakt $\ddot{o}$ r $\ddot{u}$ 1               | 9,6267             | artan                 | <i>ARF1</i>     |
| Zm00001eb185300     | Akuaporin PIP2-3                                              | 0,6115             | azalan                | <i>ZmPIP2-3</i> |
| Zm00001eb141540     | Glukan endo-1,3-beta-glukozidaz, asidik izoform (EC 3.2.1.39) | 0,4402             | azalan                | <i>BG2</i>      |
| Zm00001eb421600     | Calnexin homolog2                                             | 0,5759             | azalan                | <i>CNX2</i>     |
| Zm00001eb096980     | Kalretik $\ddot{u}$ lin                                       | 0,3263             | azalan                | <i>CRT</i>      |
| Zm00001eb078730     | Endokitinaz A (EC 3.2.1.14)                                   | 0,0159             | azalan                | <i>ChiA</i>     |
| Zm00001eb157820     | Kitinaz (EC 3.2.1.14)                                         | 0,1742             | azalan                | <i>Chi</i>      |
| Zm00001eb068270     | D-3-fosfogliserat dehidrogenaz (EC 1.1.1.95)                  | 2,0707             | artan                 | <i>PGDH</i>     |
| Zm00001eb375640     | Dirigent protein                                              | 0,1739             | azalan                | <i>DIR</i>      |
| Zm00001eb168910     | Protein dis $\ddot{u}$ lfit-izomeraz (PDI) (EC 5.3.4.1)       | 0,4511             | azalan                | <i>PDI</i>      |
| Zm00001eb239600     | Resept $\ddot{o}$ r benzeri protein kinaz HSL1                | 0,5738             | azalan                | <i>HSL1</i>     |
| Zm00001eb408520     | WRKY transkripsiyon fakt $\ddot{o}$ r $\ddot{u}$ 30           | 0,3398             | azalan                | <i>WRKY30</i>   |
| Zm00001eb118760     | WRKY transkripsiyon fakt $\ddot{o}$ r $\ddot{u}$ 6            | 0,1832             | azalan                | <i>WRKY6</i>    |
| Zm00001eb141120     | Kalsiyum bağımlı protein kinaz 24                             | 0,5902             | azalan                | <i>CPK24</i>    |
| Zm00001eb156610     | Glutamat sentaz (NADH) (EC 1.4.1.14)                          | 1,502              | artan                 | <i>GLT</i>      |
| Zm00001eb146890     | Serin/treonin-protein kinaz Nek5                              | 1,8559             | artan                 | <i>NEK5</i>     |
| Zm00001eb010070     | 65-kDa mikrot $\ddot{u}$ b $\ddot{u}$ l-ililşkili protein 6   | 1,9619             | artan                 | <i>MAP65-6</i>  |
| Zm00001eb215710     | T $\ddot{u}$ b $\ddot{u}$ lin alfa zinciri                    | 1,6294             | artan                 | <i>TUBA</i>     |
| Zm00001eb150420     | Tubulin beta-6 zinciri                                        | 2,9121             | artan                 | <i>TUBB6</i>    |
| Zm00001eb008710     | ATMAP70-2                                                     | 2,4438             | artan                 | <i>MAP70-2</i>  |

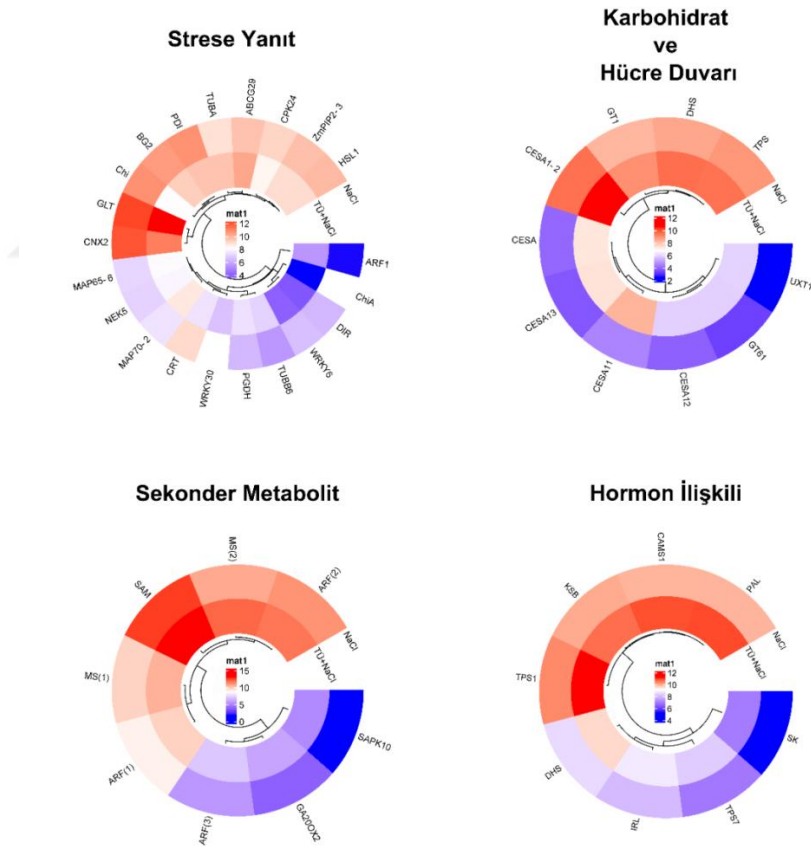
Çizelge 4.9 Devamı.

| <b>Karbohidrat Metabolizması</b> |                                                                               |                    |                       |                |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------|----------------|
| <b>Gen İD</b>                    | <b>Protein Adı</b>                                                            | <b>Kat değişim</b> | <b>Artan / Azalan</b> | <b>Gen Adı</b> |
| Zm00001eb327800                  | Fosfo-2-dehidro-3-deoksiheptonat aldolaz (EC 2.5.1.54)                        | 2,0173             | artan                 | <i>DHS</i>     |
| Zm00001eb109620                  | Fosfo-2-dehidro-3-deoksiheptonat aldolaz (EC 2.5.1.54)                        | 1,8604             | artan                 | <i>DHS</i>     |
| Zm00001eb229630                  | Glikoziltransferaz ailesi 61                                                  | 6,1891             | artan                 | <i>GT61</i>    |
| Zm00001eb293110                  | Trehaloz-6-fosfat sentaz12                                                    | 1,5441             | artan                 | <i>TPS</i>     |
| Zm00001eb087380                  | Glikoziltransferaz                                                            | 1,6735             | artan                 | <i>GT1</i>     |
| <b>Hücre Çeperi Biyosentezi</b>  |                                                                               |                    |                       |                |
| Zm00001eb099710                  | Selüloz sentaz 13                                                             | 13,1948            | artan                 | <i>CesA13</i>  |
| Zm00001eb046440                  | Selüloz sentaz                                                                | 10,1385            | artan                 | <i>CesA</i>    |
| Zm00001eb283110                  | Selüloz sentaz-2                                                              | 2,1424             | artan                 | <i>CESA1_2</i> |
| Zm00001eb313250                  | Selüloz sentaz 12                                                             | 4,2651             | artan                 | <i>CesA12</i>  |
| Zm00001eb095350                  | Selüloz sentaz                                                                | 2,1937             | artan                 | <i>CesA</i>    |
| Zm00001eb153340                  | Selüloz sentaz 11                                                             | 13,7875            | artan                 | <i>CesA11</i>  |
| Zm00001eb077180                  | UDP-ksiloz taşıyıcı 1                                                         | 11,9304            | artan                 | <i>UXT1</i>    |
| <b>Hormon İlişkili</b>           |                                                                               |                    |                       |                |
| Zm00001eb175950                  | Gibberellin 20 oksidaz 2                                                      | 4,2732             | artan                 | <i>GA20OX2</i> |
| Zm00001eb350370                  | Oksine duyarlı protein (faktör)                                               | 1,6278             | artan                 | <i>ARF</i>     |
| Zm00001eb284310                  | Oksine duyarlı protein (faktör)                                               | 1,4867             | artan                 | <i>ARF</i>     |
| Zm00001eb301590                  | Oksine duyarlı protein (faktör)                                               | 2,7411             | artan                 | <i>ARF</i>     |
| Zm00001eb130870                  | S-adenozilmetiyonin sentaz (EC 2.5.1.6)                                       | 1,3574             | artan                 | <i>SAM</i>     |
| Zm00001eb218320                  | 5-metiltetrahidropteroiltriglutam-homosistein S-metiltransferaz (EC 2.1.1.14) | 2,5292             | artan                 | <i>MS</i>      |
| Zm00001eb052750                  | 5-metiltetrahidropteroiltriglutam-homosistein S-metiltransferaz (EC 2.1.1.14) | 1,7002             | artan                 | <i>MS</i>      |
| Zm00001eb352280                  | Serin/treonin-protein kinaz SAPK10                                            | 10,912             | artan                 | <i>SAPK10</i>  |

Çizelge 4.9 Devamı.

**Sekonder Metabolit Metabolizması**

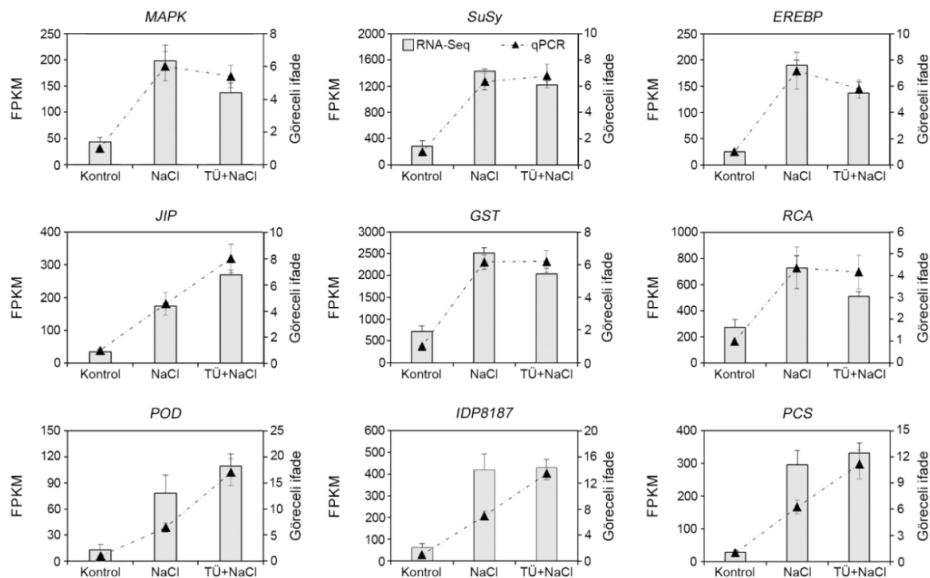
| Gen İD          | Protein Adı                                            | Kat değişim | Artan / Azalan | Gen Adı |
|-----------------|--------------------------------------------------------|-------------|----------------|---------|
| Zm00001eb071090 | Asiklik seskiterpen sentaz                             | 1,7817      | artan          | TPS1    |
| Zm00001eb071080 | Ent-kaurene sentaz B                                   | 1,5022      | artan          | KSB     |
| Zm00001eb041770 | Tau-kadinol sentaz (EC 4.2.3.173)                      | 2,6376      | artan          | TPS7    |
| Zm00001eb232100 | Terpen siklaz/mutaz ailesi üyesi (EC 5.4.99.-)         | 1,912       | artan          | CAMS1   |
| Zm00001eb327800 | Fosfo-2-dehidro-3-deoksiheptonat aldolaz (EC 2.5.1.54) | 2,0173      | artan          | DHS     |
| Zm00001eb069000 | Şikimat kinaz (EC 2.7.1.71)                            | 3,1505      | artan          | SK      |
| Zm00001eb185240 | Fenilalanin amonyum liyaz                              | 1,9595      | artan          | PAL     |
| Zm00001eb126780 | İzoflavon redüktaz homologu IRL (EC 1.3.1.-)           | 1,7393      | artan          | IRL     |



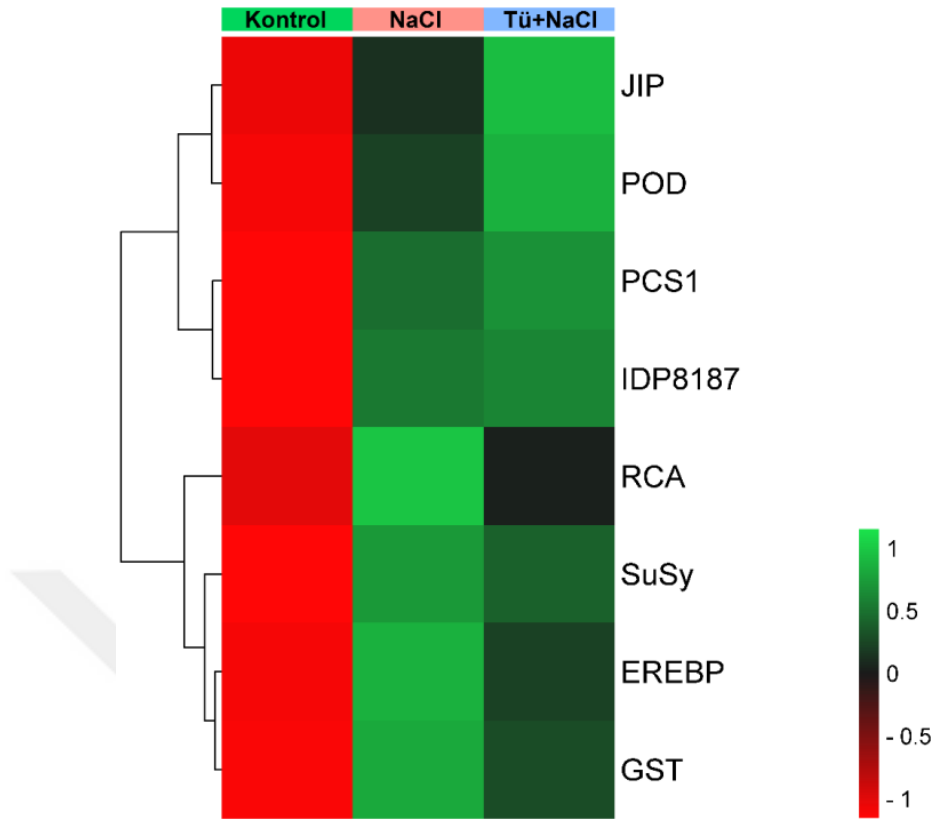
**Şekil 4.15** GO zenginleştirilmesi sonucunda farklı biyolojik süreç terimlerinde zenginleştirilen genlerin dairesel ısı haritaları.

#### 4.2.5 RNA–Seq Verilerinin qPCR ile Doğrulanması

Illumina RNA-Seq sonuçlarının doğruluğunu ve tekrar edilebilirliğini doğrulamak için dokuz temsili gen seçilmiş ve bu genlerin NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarındaki ifade seviyeleri kantitatif gerçek zamanlı PCR (qPCR) ile incelenmiştir. qPCR analizleri için bitki savunma yanıt [A0A804LID0\_MAIZE; Mitogen-activated protein kinase (MAPK)], karbohidrat metabolizması [A0A1D6K2G2\_MAIZE; sucrose synthase (SuSy)], hormon metabolizması [A0A096SFC8\_MAIZE; ethylene-responsive protein (EREBP) ve A0A1D6MXK3\_MAIZE; jasmonate-induced protein (JIP)], strese yanıt [B4FVJ9\_MAIZE; glutathione S-transferase (GST) ve B4FNI0\_MAIZE; peroxidase (POD)], fotosentez [C0P5X6\_MAIZE; ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase (RCA)], ozmoregülasyon [A0A1D6M5N9\_MAIZE; Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase (PCS)] ve senesens [A0A1D6HDN0\_MAIZE, senescence regülatör (IDP8187)] ile ilişkili genler rastgele seçilmiştir. qPCR analizi sonuçları, seçilen genlerin ifade seviyelerinin RNA-seq verileri ile benzer ifade kalıpları sergilediğini göstermiştir (Şekil 4.16 ve 4.17). Bu sonuç, RNA-seq analizi ile tespit edilen DEG'lerin ve DEG'lere ait ifade verilerinin güvenilir olduğunu göstermektedir.



**Şekil 4.16** Farklı şekilde ifade edilen dokuz genin ifade profilleri. Tüm genlerin Ct değerleri housekeeping gen olan ZmActin'e göre normalize edilmiştir. Sol panel, RNA-seq verilerindeki dokuz genin ekspresyon seviyelerini gösterirken, sağ panel qPCR sonuçlarını göstermektedir.

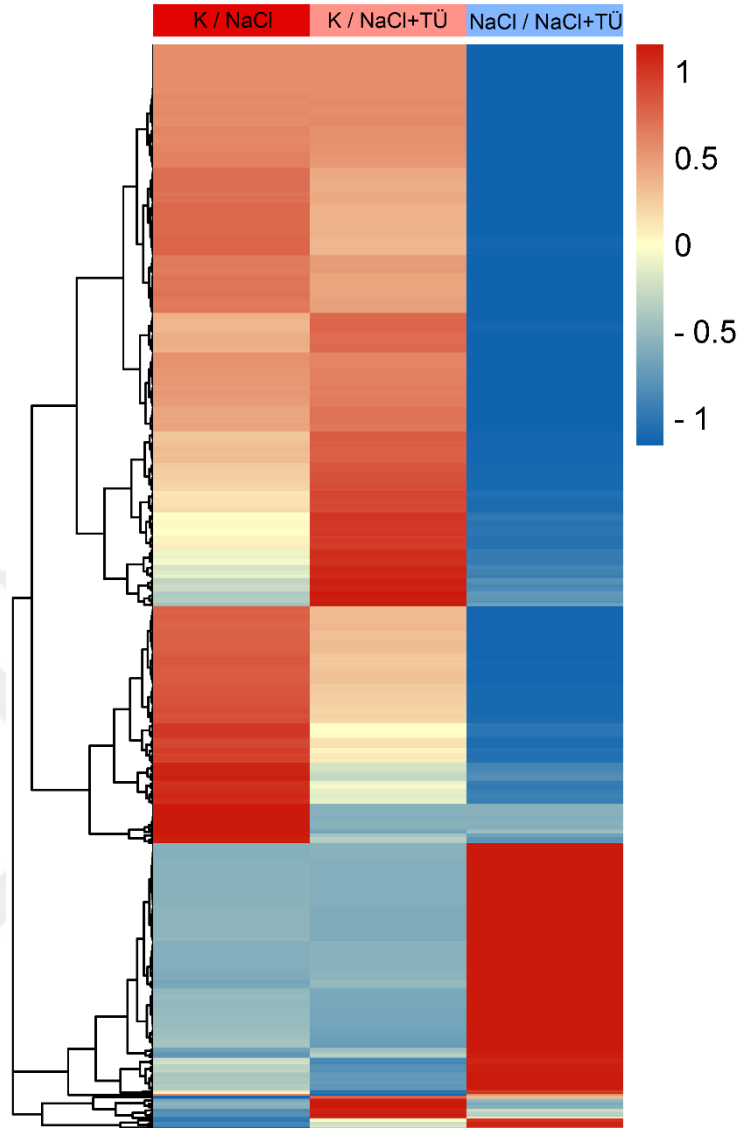


**Şekil 4.17** qRT-PCR ile doğrulama için seçilen genlerin RNA-seq analiz sonucuna göre ifadelerinin ısı haritası ile gösterimi.

### 4.3 Proteomik Analizler

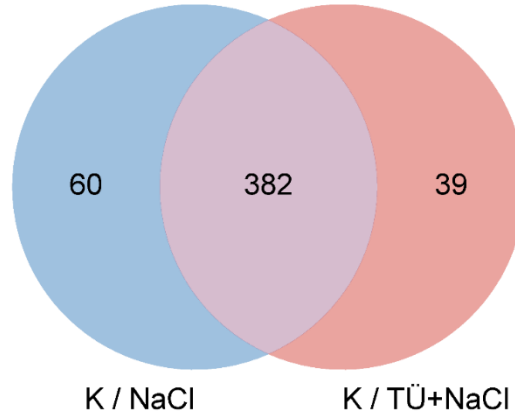
#### 4.3.1 Mısır Yapraklarında Diferansiyel Olarak İfade Edilen Proteinlerin İfade Profilleri Üzerine NaCl ve TÜ Uygulamalarının Etkisi

Nano-Sıvı Kromatografisi Tandem Kütle Spektrometrisi (nLC-MS/MS) kullanılarak kontrol, NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarına ait diferansiyel olarak ifadesinde değişiklik gösteren proteinler (DEP'ler) belirlenmiştir. Buna göre toplam 659 protein tüm uygulamalarda %1'den daha düşük bir FDR (false discovery rate = yanlış keşif oranı) altında tespit edilmiştir. Tespit edilen proteinler analiz edildiğinde, kontrole göre NaCl veya TÜ+NaCl uygulamasında 488 proteinin ifadesinde artış gözlemlenirken, 171 proteinin ifadesinde azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



**Şekil 4.18** NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarına yanıt olarak nLC–MS/MS analizi ile tespit edilen DEP'lerin ısı haritası.

Kontrol, NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak dokularında tespit edilen DEP'lerin sayısı NaCl uygulamasında nispeten daha yüksek bulunmuştur. Artan DEP'ler için  $>2,0$  kat ve azalan DEP'ler için  $<0,5$  kat değişim eşiği belirlenmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında iki kat ve üzerinde farklılık gösteren toplam 607 DEP tespit edilmiştir. Bu DEP'lerin 442'si artan ve 166'i azalan yönde değişiklik göstermiştir. Bununla birlikte, kontrole göre TÜ+NaCl uygulamasında iki kat ve üzerinde farklılık gösteren toplam 590 DEP tespit edilirken bu proteinlerden 421'si artan yönde, 169'u ise azalan yönde düzenlenmiştir (Şekil 4.19).

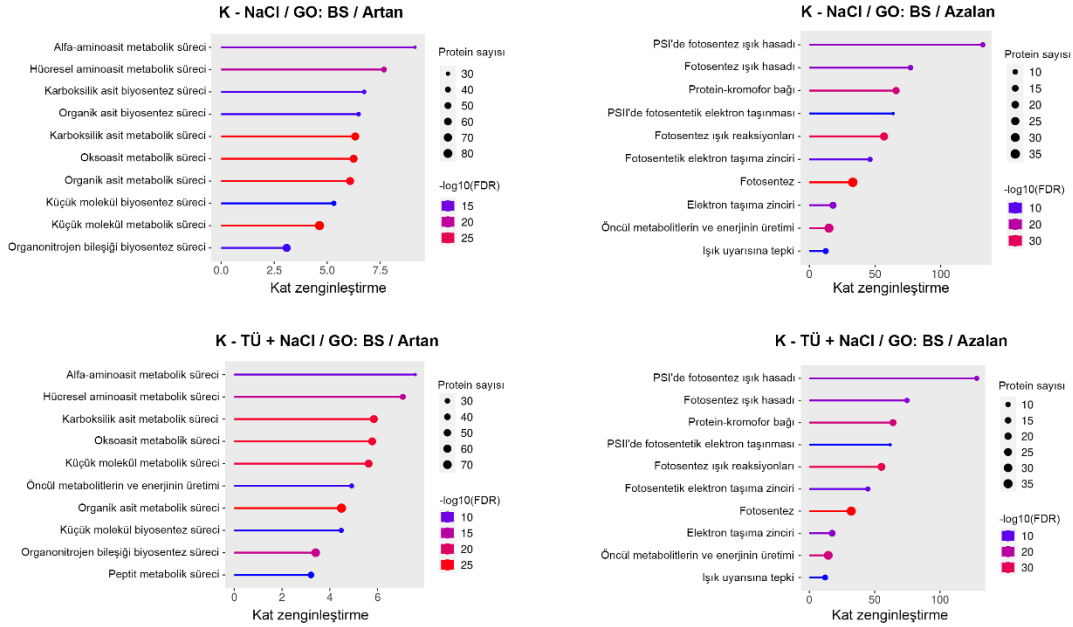


**Şekil 4.19** DEP'lerin kontrole göre NaCl ve T +NaCl uygulamalarında karşılaştırmalı Venn diyagram analizi.

#### **4.3.2 Mısır Yapraklarında Diferansiyel Olarak İfade Edilen Proteinlerin Zenginleştirme Analizi**

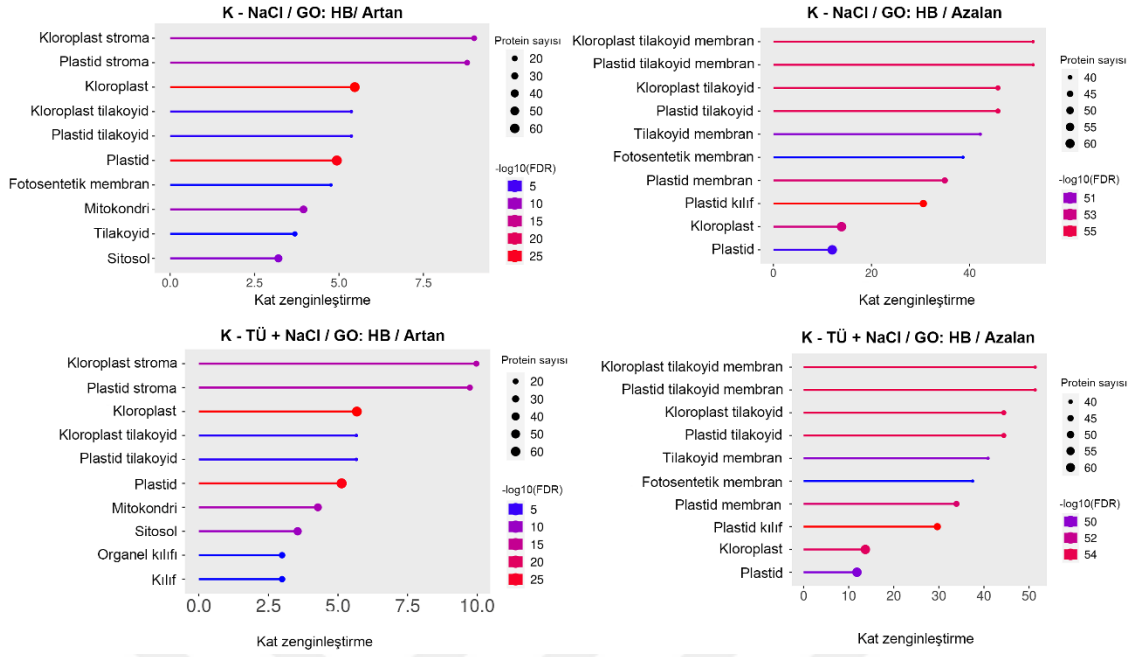
Mısır fidelerinin yaprak dokularından gerçekleştirilen nLC-MS/MS analizi sonrasında tespit edilen DEP'lerin biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak zenginleştirme ve yolak analizleri gerçekleştirilmiştir. Kontrole göre NaCl ve kontrole göre T +NaCl uygulamalarının proteinlerin ifade seviyelerinde neden olduğu değişiklikler biyolojik süreç (BS), hücresel bileşen (HB), moleküler fonksiyon (MF) gibi gen ontolojisi (GO) terimleri ve KEGG yolak analizleri gerçekleştirilerek zenginleştirilmiştir. Buna göre kontrol-NaCl ve kontrol-T +NaCl uygulamalarının gen ontolojisi hiyerarşisinde ve kat zenginleştirme temelinde analiz edilen ilk on BS terimi Şekil 4.20'de gösterilmiştir. BS analizi sonucunda kontrole göre NaCl uygulamasında artan yönde düzenlenen proteinler, alfa-aminoasit metabolik süreci, hücresel aminoasit metabolik süreci ve karboksilik asit biyosentez süreci terimlerinde en fazla zenginleştirilen terim olarak belirlenirken, bunu karboksilik asit metabolik süreci ve hücresel amino asit metabolik süreci terimleri takip etmiştir. Diğer taraftan, azalan DEP'ler için PSI'de fotosentez ışık hasadı, fotosentez ışık hasadı ve protein-kromofor bağı en fazla proteinin zenginleştiği terimleri ifade etmiştir. Kontrole göre T +NaCl uygulamasında artan yönde düzenlendiği tespit edilen DEP'ler alfa-aminoasit metabolik süreci, hücresel aminoasit metabolik süreci ve karboksilik asit biyosentez süreci terimlerinde zenginleşirken,

azalan DEP'ler, PSI'de fotosentez ışık hasadı, fotosentez ışık hasadı ve protein-kromofor bağı terimlerinde zenginleştiği belirlenmiştir (Şekil 4.20).



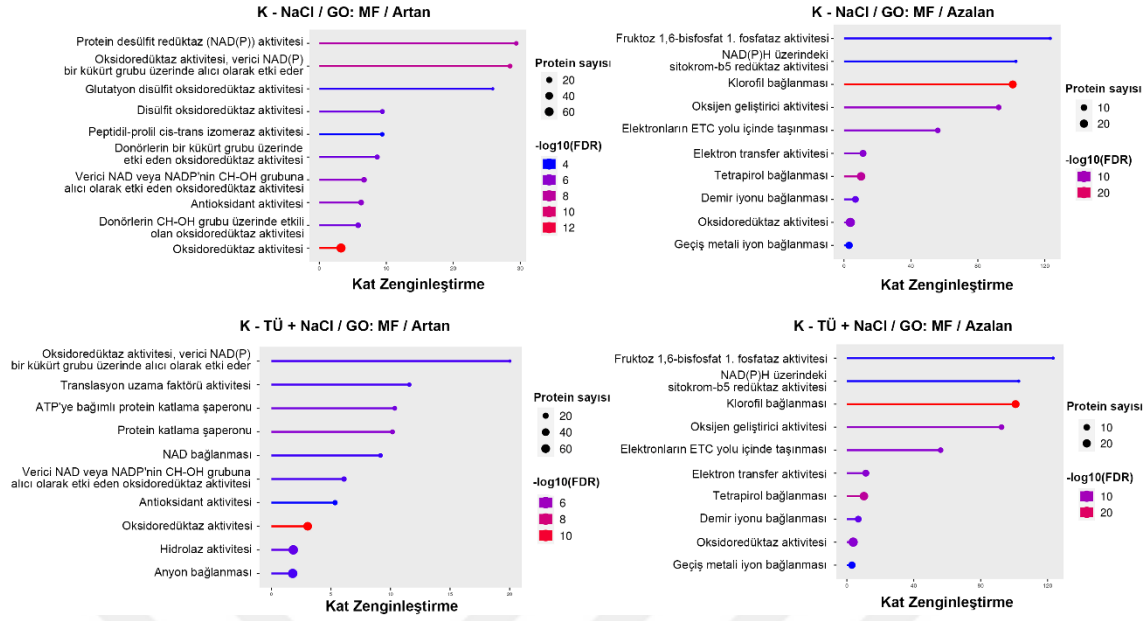
**Şekil 4.20** Kontrol'e göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarının GO: BS zenginleştirme analizi ile ilk 10 terim içerisinde yer alan DEP'lerin kat zenginleştirme ile görselleştirilmesi.

Kontrol–NaCl ve kontrol–Tü+NaCl uygulamalarının gen ontolojisi hiyerarşisinde ve kat zenginleştirme temelinde analiz edilen ilk on HB terimi Şekil 4.21'de gösterilmiştir. HB analizi sonucunda kontrole göre NaCl uygulamasında artan yönde düzenlenen proteinler, kloroplast stroma, plastid stroma ve kloroplast terimlerinde en fazla zenginleştirilen terim olarak belirlenirken, bunu tilakoyid membran ve mitokondri terimleri takip etmiştir. Diğer taraftan, azalan DEP'ler için kloroplast tilakoyid membran, plastid tilakoyid membran ve kloroplast tilakoyid terimleri proteinlerin en fazla zenginleştiği terimleri ifade etmiştir. Kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında artan yönde düzenlendiği tespit edilen DEP'ler kloroplast stroma, plastid stroma ve kloroplast terimlerinde zenginleşirken, bunu mitokondri ve kılıf terimleri takip etmiştir. Kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında azalan yönde düzenlendiği tespit edilen DEP'ler kloroplast tilakoyid membran, plastid tilakoyid membran ve kloroplast tilakoyid terimlerinde zenginleştiği belirlenmiştir (Şekil 4.21).



**Şekil 4.21** Kontrol'e göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarının GO: HB zenginleştirme analizi ile ilk 10 terim içerisinde yer alan DEP'lerin kat zenginleştirme ile görselleştirilmesi.

Kontrol–NaCl ve kontrol–Tü+NaCl uygulamalarının gen ontolojisi hiyerarşisinde ve kat zenginleştirme temelinde analiz edilen ilk on MF terimi Şekil 4.22'de gösterilmiştir. MF analizi sonucunda kontrole göre NaCl uygulamasında artan yönde düzenlenen proteinler, protein desülfid redüktaz aktivitesi, oksidoredüktaz aktivitesi ve glutatyon disülfid oksidoredüktaz aktivitesi terimleri en fazla zenginleştirilen terim olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, azalan DEP'ler için fruktoz 1,6–bifosfat 1–fosfataz aktivitesi, NAD(P)H üzerindeki sitokrom–b5 redüktaz aktivitesi ve klorofil bağlanması terimleri proteinlerin en fazla zenginleştiği terimleri ifade etmiştir. Kontrole göre Tü+NaCl uygulamasında artan yönde düzenlendiği tespit edilen DEP'ler oksidoredüktaz aktivitesi, translasyon uzama faktörü aktivitesi ve ATP'ye bağımlı protein katlama şaperonu terimlerinde zenginleşirken, azalan DEP'ler, fruktoz 1,6–bifosfat 1–fosfataz aktivitesi, NAD(P)H üzerindeki sitokrom–b5 redüktaz aktivitesi ve klorofil bağlanması terimlerinde zenginleştiği belirlenmiştir (Şekil 4.22).



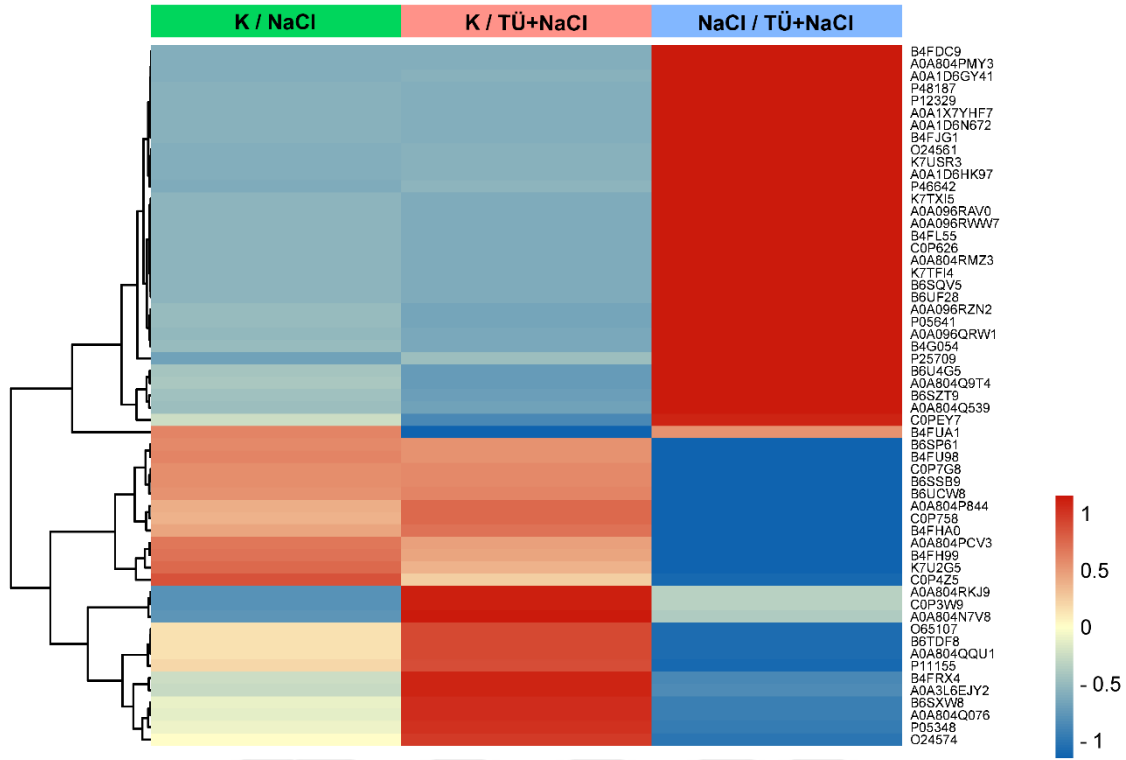
**Şekil 4.22** Kontrol'e göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarının GO: MF zenginleştirme analizi ile ilk 10 terim içerisinde yer alan DEP'lerin kat zenginleştirme ile görselleştirilmesi.

### 4.3.3 DEP'lerin Fonksiyonel Açıklamaları

Mısır fidelerinde nLC-MS/MS analizi ile çok sayıda DEP tespit edilmiştir. DEP sayısının fazlalığı nedeniyle GO ve KEGG yolak analizlerinden elde edilen sonuçlara göre hedefler daraltılmış ve daha spesifik hale getirilerek fotosentez (59 protein), taşıyıcı (18 protein), strese yanıt ve antioksidan sistem (40 protein), protein metabolizması (21 protein), enerji ve TCA döngüsü ve ETS ilişkili (7 protein) olmak üzere 5 fonksiyonel kategoride değerlendirilmesine karar verilmiştir.

#### 4.3.3.1 Fotosentez ile İlişkili DEP'ler

nLC-MS/MS analizi ile kontrole NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında fotosentez ile ilişkili olduğu belirlenen DEP'ler tespit edilmiştir (Şekil 4.23).



**Şekil 4.23** Fotosentezde kontrol'e göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi.

İfade seviyelerinde artış gösteren DEP'ler Çizelge 4.10'da verilmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında, ferredoksin, ferredoksin–tiyoredoksin redüktaz, NADH dehidrojenaz [ubikinin] 1 beta alt kompleks alt birimi 9, fotosistem II D1 işleme proteini PSB27–H2 proteinlerinin ifade seviyeleri önemli düzeyde artış göstermiştir. Fotosentezde kontrole göre NaCl uygulamasında ifadelerinde artış tespit edilen bazı proteinler içerisinde ferredoksin, ferredoksin–tiyoredoksin redüktaz, NADH dehidrojenaz [ubikinin] 1 beta alt kompleks alt birimi 9, tilakoid lümen proteini TL20.3 kloroplastik ve fosfoenolpiruvat karboksilaz ailesi proteini ifadeleri NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında azalmıştır. Ayrıca NAD(P)H–kinon oksidoredüktaz alt birimi M, kloroplastik, fotosistem I reaksiyon merkezi alt birimi N, kloroplastik, fotosistem II reaksiyon merkezi Psb28 proteini, fotosistem II D1 işleme proteini PSB27–H2, kloroplastik, RuBisCO ilişkili proteinler, gliseraldehit–3–fosfat dehidrojenaz, malik enzim ve piruvat, fosfat dikinaz ifadeleri NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında artış göstermiştir.

**Çizelge 4.10** Fotosentezde yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde artış gösteren DEP'ler.

| Aksesyon No | Protein Adı                                                    | Kontrol NaCl | Kontrol TÛ+NaCl |
|-------------|----------------------------------------------------------------|--------------|-----------------|
| Q6JAD2      | Ferredoksin                                                    | 3,653        | 3,334           |
| B6SP61      | Ferredoksin                                                    | 4,126        | 4,043           |
| B6UCW8      | Ferredoksin-tiyoredoksin redüktaz, değişken zincir             | 2,785        | 2,875           |
| K7U2G5      | Ferredoksin-tiyoredoksin redüktaz, değişken zincir             | 3,35         | 2,846           |
| B4FRX4      | NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz alt birimi M, kloroplastik        | 1,793        | 2,445           |
| A0A804PCV3  | NADH dehidrojenaz [ubikinin] 1 beta alt kompleksi alt birimi 9 | 2,935        | 2,699           |
| O65107      | Fotosistem I reaksiyon merkezi alt birimi N, kloroplastik      | 1,986        | 2,519           |
| A0A804P844  | Fotosistem II D1 işleme proteini PSB27-H2, kloroplastik        | 4,561        | 5,321           |
| A0A804N7V8  | Fotosistem II reaksiyon merkezi Psb28 proteini                 | 2,422        | 9,243           |
| C0P7G8      | Fotosistem II onarım proteini PSB27-H1 kloroplastik            | 2,761        | 2,794           |
| B6SSB9      | Plastosiyanın                                                  | 1,872        | 1,894           |
| A0A804RKJ9  | Ribuloz bifosfat karboksilaz büyük zincir                      | 1,485        | 2,601           |
| P05348      | Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük alt birimi, kloroplastik   | 1,825        | 2,462           |
| O24574      | Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük alt birimi, kloroplastik   | 1,702        | 2,165           |
| B6SXW8      | Rubisco büyük alt birim bağlayıcı protein alt birimi alfa      | 1,703        | 2,332           |
| A0A804Q076  | Rubisco büyük alt birim bağlayıcı protein alt birimi alfa      | 1,841        | 2,576           |
| B4FU98      | Thylakoid lumenal 16.5 kda protein kloroplastik                | 2,68         | 2,595           |
| B4FHA0      | Thylakoid lumenal 17.4 kda protein kloroplastik                | 1,958        | 2,123           |
| B4FH99      | Thylakoid lumenal protein TL20.3 kloroplastik                  | 2,739        | 2,492           |
| B6TDF8      | Gliseralehit-3-fosfat dehidrogenaz                             | 2,632        | 3,459           |
| A0A3L6EJY2  | Gliseralehit-3-fosfat dehidrogenaz                             | 1,265        | 2,367           |
| C0P3W9      | Fosfoenolpiruvat karboksikinaz (ATP)                           | 1,547        | 3,176           |
| C0P4Z5      | Fosfoenolpiruvat karboksilaz ailesi proteini                   | 2,098        | 1,668           |
| C0P758      | Malik enzim                                                    | 4,196        | 4,98            |
| P11155      | Piruvat, fosfat dikinaz 1, kloroplastik                        | 1,777        | 2,071           |
| A0A804QQU1  | Piruvat, fosfat dikinaz                                        | 1,647        | 2,075           |
| A0A804QQU1  | Piruvat, fosfat dikinaz                                        | 1,786        | 2,005           |

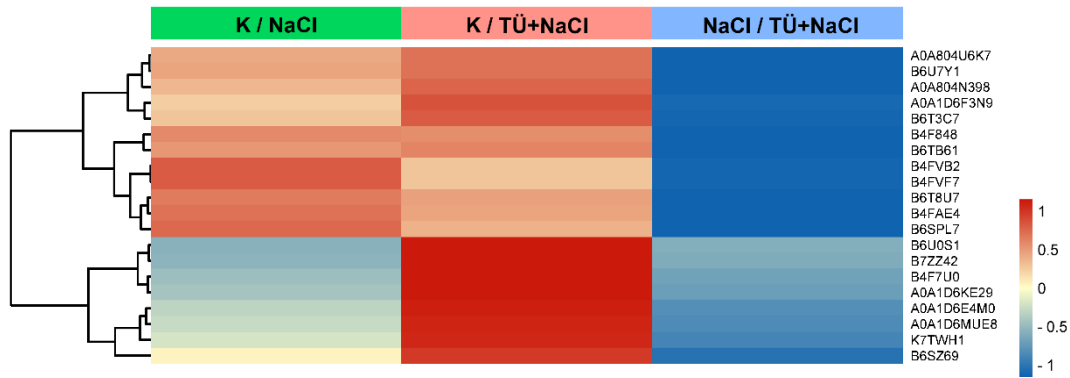
nLC-MS/MS analizi ile kontrole NaCl ve TÛ+NaCl uygulamasında fotosentez ile ilişkili olduğu belirlenen ve ifade seviyelerinde azalış gösteren DEP'ler Çizelge 4.11'de verilmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında klorofil A-B bağlayıcı aile proteini, ferredoksin, NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz alt birimi, fotosistem I ve fotosistem II proteinlerinin ifade seviyeleri önemli düzeyde azalış göstermiştir. NaCl uygulamalarına TÛ ilavesi ile karbonik anhidraz, klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik ve fotosistem II CP47 reaksiyon merkezi proteini gibi bazı proteinlerin ifadeleri daha da azalırken, ferredoksin ve NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz alt birimi H kloroplastik protein ifadeleri artış göstermiştir.

**Çizelge 4.11** Fotosentezde yer alan ve kontrole göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde azalış gösteren DEP'ler.

| Aksesyon No | Protein Adı                                                     | Kontrol NaCl | Kontrol Tü+NaCl |
|-------------|-----------------------------------------------------------------|--------------|-----------------|
| B6U4G5      | Metanol dehidrojenaz tipinin beta-propeller alanı               | 0,456        | 0,384           |
| C0P626      | Karbonik anhidraz                                               | 0,347        | 0,33            |
| A0A096RZN2  | karbonik anhidraz                                               | 0,275        | 0,226           |
| B4FDC9      | Klorofil A-B bağlayıcı aile proteini                            | 0,13         | 0,13            |
| P12329      | Klorofil a-b bağlayıcı protein 1, kloroplastik                  | 0,113        | 0,106           |
| B4FJG1      | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,096        | 0,087           |
| A0A096RWW7  | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,46         | 0,444           |
| B6SZT9      | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,195        | 0,113           |
| B4FL55      | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,119        | 0,099           |
| K7TXI5      | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,093        | 0,061           |
| B4FUA1      | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,184        | 0,038           |
| O24561      | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,116        | 0,122           |
| A0A096QRW1  | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,245        | 0,202           |
| A0A804Q539  | Klorofil a-b bağlayıcı protein, kloroplastik                    | 0,169        | 0,108           |
| A0A1D6GY41  | Ferroşelataz                                                    | 0,001        | 0,17            |
| K7USR3      | Magnezyum-protoporfirin IX monometil ester (oksidatif) siklaz   | 0,43         | 0,434           |
| P25709      | NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz alt birimi H, kloroplastik         | 0,231        | 0,415           |
| K7TFI4      | NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz alt birimi U kloroplastik          | 0,214        | 0,194           |
| A0A804Q9T4  | PSI PGR5 benzeri protein 1A, kloroplastik                       | 0,25         | 0,162           |
| A0A1D6HK97  | PSI Alt kompleks B 4 kloroplastik fotosentetik NDH alt birimi   | 0,171        | 0,182           |
| B4G054      | PSI Alt kompleks B 5 kloroplastik fotosentetik NDH alt birimi   | 0,197        | 0,152           |
| P46642      | Fotosistem I montaj proteini Ycf4                               | 0,101        | 0,126           |
| A0A096RAV0  | Fotosistem I reaksiyon merkezi alt birimi III                   | 0,159        | 0,129           |
| B6SQV5      | Fotosistem II 10 kDa polipeptit, kloroplastik                   | 0,183        | 0,159           |
| P48187      | Fotosistem II CP43 reaksiyon merkezi proteini                   | 0,139        | 0,137           |
| A0A804RMZ3  | Fotosistem II CP43 reaksiyon merkezi proteini                   | 0,079        | 0,058           |
| P05641      | Fotosistem II CP47 reaksiyon merkezi proteini                   | 0,151        | 0,096           |
| A0A1X7YHF7  | Fotosistem II D2 proteini                                       | 0,091        | 0,08            |
| A0A804PMY3  | Fotosistem II proteini D1                                       | 0,105        | 0,105           |
| A0A1D6N672  | Fotosistem II alt birimi PsbS1                                  | 0,077        | 0,065           |
| B6UF28      | Protein DÜŞÜK PSII BİRİKİMİ 2 kloroplastik                      | 0,157        | 0,132           |
| C0PEY7      | Tetratrikopeptit tekrar alanı içeren protein PYG7, kloroplastik | 0,165        | 0,069           |

#### 4.3.3.2 Taşıma Sistemi ile İlişkili DEP'ler

nLC-MS/MS analizi ile kontrole NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında taşıma sistemi ile ilişkili olduğu belirlenen DEP'ler tespit edilmiştir (Şekil 4.24).



**Şekil 4.24** Taşıma sisteminde kontrole göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilme

İfade seviyelerinde artış gösteren DEP'ler Çizelge 4.12'de verilmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında kalsiyum bağlayıcı EF-hand ailesi proteini, kalmodulin, magnezyum taşıyıcı, vakuolar proton pompası alt birimi B, V tipi proton ATPaz katalitik alt birimi A ve V-tipi proton ATPaz alt birimi E3 proteinlerini ifade seviyeleri önemli ölçüde artış göstermiştir. NaCl uygulamasına göre Tü+NaCl uygulamasında kalsiyum bağlayıcı EF-hand ailesi proteini, magnezyum taşıyıcı, vakuolar proton pompası alt birimi B ve V tipi proton ATPaz katalitik alt birimi A proteinlerinin ifadesi azalırken, kalmodulin ve potasyum kanalı proteinlerinin ifadesi artış göstermiştir.

**Çizelge 4.12** Taşıma sisteminde yer alan ve kontrole göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde artış gösteren DEP'ler.

| Aksesyon No | Protein Adı                                | Kontrol NaCl | Kontrol Tü+NaCl |
|-------------|--------------------------------------------|--------------|-----------------|
| B4FAC9      | Kalsiyum bağlayıcı EF-hand ailesi proteini | 3,736        | 2,71            |
| B4FNQ8      | Kalmodulin                                 | 2,192        | 2,236           |
| B4FBW7      | Kalmodulin                                 | 3,579        | 6,202           |
| A0A804LDA2  | Magnezyum taşıyıcı                         | 3,994        | 3,588           |
| A0A804Q5Y7  | Potasyum kanalı                            | 0,613        | 1,514           |
| B6T9C0      | Vakuolar proton pompası alt birimi B       | 2,436        | 2,016           |
| C0PHC0      | V-tipi proton ATPaz katalitik alt birimi A | 2,61         | 2,333           |
| B4FVD5      | V-tipi proton ATPaz alt birimi E3          | 2,781        | 2,616           |

nLC-MS/MS analizi ile kontrole göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında taşıma sistemi ile ilişkili olduğu belirlenen ve ifade seviyelerinde azalış gösteren DEP'ler Çizelge 4.13'te verilmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında aquaporin PIP1-2, aquaporin PIP2-2, aquaporin PIP2-4, aquaporin TIP1-1, kalsiyum bağımlı lipid bağlayıcı (CaLB

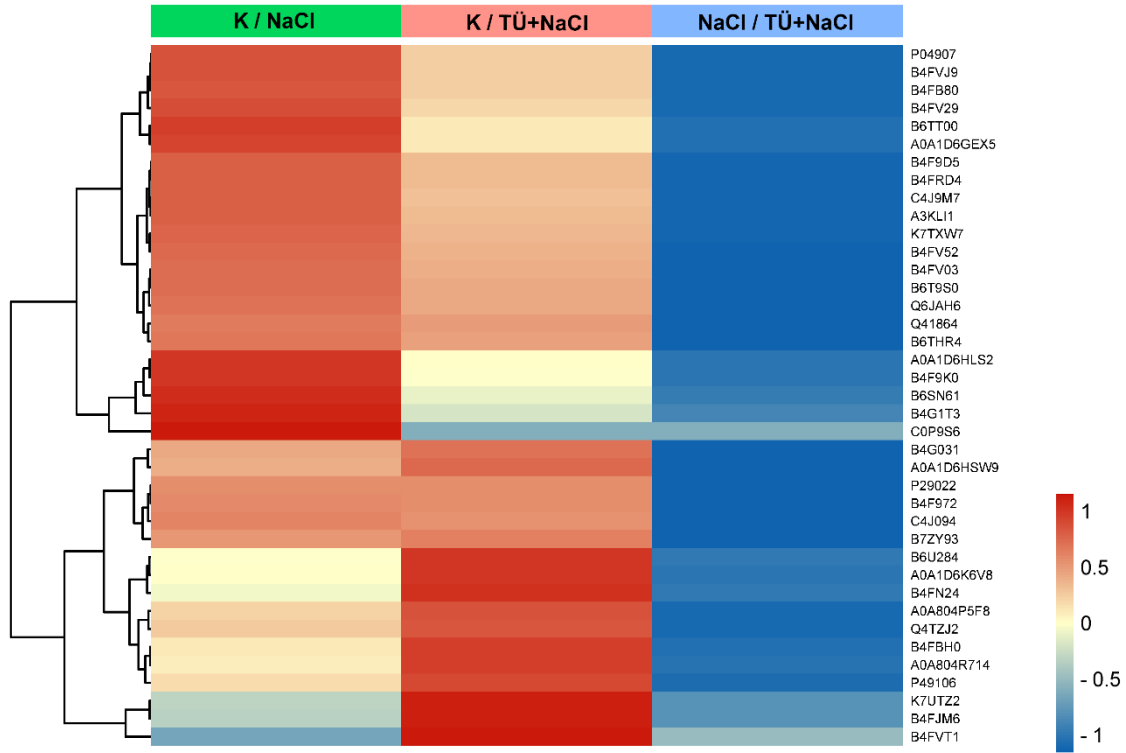
domain) ailesi proteini, hidrojen taşıyan ATP sentaz rotasyonel mekanizma ve ADP, ATP taşıyıcı protein 1 mitokondriyal proteinlerinin ifade seviyeleri önemli düzeyde azalış göstermiştir. NaCl uygulamalarına TÛ ilavesi ile kalsiyum bağımlı lipid bağlayıcı (CaLB domain) aile proteini ve hidrojen taşıyan ATP sentaz rotasyonel mekanizma proteinlerinin ifadeleri daha da azalmıştır. Buna karşın ADP, ATP taşıyıcı protein 1, mitokondriyal, EF-el alanı içeren protein ve Plazma membranı ATPaz ifadeleri NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında artmıştır (Çizelge 4.13).

**Çizelge 4.13** Taşıma sisteminde yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde azalma gösteren DEP'ler.

| Aksesyon No | Protein Adı                                                 | Kontrol NaCl | Kontrol TÛ+NaCl |
|-------------|-------------------------------------------------------------|--------------|-----------------|
| A0A804PL71  | Akuaporin PIP1-2                                            | 0,077        | 0,063           |
| Q9ATM8      | Akuaporin PIP2-2                                            | 0,058        | 0,045           |
| Q9ATM6      | Akuaporin PIP2-4                                            | 0,067        | 0,043           |
| O64964      | Akuaporin TIP1-1                                            | 0,039        | 0,033           |
| A0A804NW07  | Kalsiyum bağımlı lipid bağlayıcı (CaLB alanı) aile proteini | 0,208        | 0,167           |
| A0A804QKR4  | EF-el alanı içeren protein                                  | 0,301        | 0,332           |
| Q6R9G5      | H(+)-taşıyıcı iki sektörlü ATPaz                            | 0,171        | 0,134           |
| B6SIP2      | Hidrojen taşıyıcı ATP sentaz, rotasyonel mekanizma          | 0,22         | 0,137           |
| A0A804M914  | Plazma membranı ATPaz                                       | 0,298        | 0,323           |
| P04709      | ADP, ATP taşıyıcı protein 1, mitokondriyal                  | 0,11         | 0,153           |

#### 4.3.3.3 Antioksidant Sistem ve Tuz Stresi ile İlişkili DEP'ler

nLC–MS/MS analizi ile kontrole NaCl ve TÛ+NaCl uygulamasında antioksidant sistem ile ilişkili olduğu belirlenen DEP'ler tespit edilmiştir (Şekil 4.25). nLC–MS/MS analizi ile kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamasında antioksidant sistem ve tuz stresi ile ilişkili olduğu belirlenen ve ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler Çizelge 4.14'te verilmiştir.



**Şekil 4.25** Antioksidan sistemde kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi.

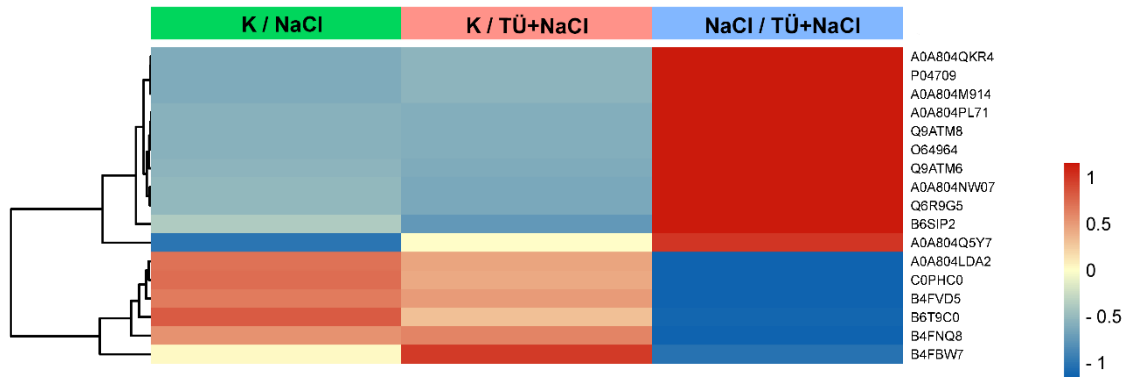
Kontrole göre NaCl uygulamasında dehidrin DHN1, kitinaz, L–askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz, tiyoredoksin, geç embriyogenez bol proteini, dehidratasyona erken yanıt veren protein 15, peptidil–prolil cis–trans izomeraz ve glutatyon sentez mekanizması ile ilişkili proteinlerin ifade seviyeleri önemli ölçüde artış göstermiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında tiyoredoksin Y1 kloroplastik ifadesi azalmış, NaCl uygulamasına kıyasla TÛ+NaCl uygulamasında ifade seviyesi daha da azalmıştır. NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında 14–3–3 benzeri protein, katalaz, glutaredoksin bağımlı peroksiredoksin, peroksidaz, 5–oksoprolinaz ve pirolin–5–karboksilik asit redüktaz proteinlerinin ifadeleri artış gösterirken, dehidrin DHN1, kitinaz, glutatyon S–transferaz, L–askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz, tiyoredoksin, geç embriyogenez bol protein grubu 2, peptidil–prolil cis–trans izomeraz ve dehidratasyona erken yanıt veren protein 15 ve kısa zincirli alkol dehidrojenaz1 proteinlerinin ifadesi önemli düzeyde azalış göstermiştir (Çizelge 14).

**Çizelge 4.14** Stres savunmada yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler.

| Aksesyon No | Protein Adı                                           | Kontrol | Kontrol |
|-------------|-------------------------------------------------------|---------|---------|
|             |                                                       | NaCl    | TÛ+NaCl |
| B6TFS9      | 14-3-3 benzeri protein A                              | 0,562   | 1,122   |
| P49106      | 14-3-3 benzeri protein GF14-6                         | 1,978   | 2,446   |
| B6U284      | 14-3-3 benzeri protein                                | 1,607   | 2,053   |
| B6U7Y1      | 90 kDa ısı şok proteini ATPaz aktivatörü              | 1,945   | 2,086   |
| A0A804P5F8  | Katalaz OS=Zea mays OX=4577 PE=3 SV=1                 | 1,777   | 2,147   |
| B4F9D5      | Kitinaz                                               | 4,67    | 3,773   |
| B6TT00      | Kitinaz                                               | 2,621   | 1,791   |
| B4G1T3      | Kitinaz                                               | 3,378   | 1,436   |
| P29022      | Endokitinaz A                                         | 1000    | 1000    |
| B4F972      | Glutamat dekarboksilaz                                | 3,233   | 3,226   |
| B4FRD4      | Glutaredoksin-C5 kloroplastik                         | 1,934   | 1,695   |
| B4FN24      | Glutaredoksine bağımlı peroksiredoksin                | 2,089   | 3,322   |
| Q6JAH6      | Glutasyon peroksidaz                                  | 2,245   | 2,051   |
| P04907      | Glutasyon S-transferaz 3                              | 2,515   | 1,975   |
| B4FVJ9      | Glutasyon S-transferaz                                | 2,993   | 2,278   |
| B4FV03      | Glutasyon transferaz                                  | 3,551   | 3,102   |
| B6SN61      | Grx_C2.1-glutaredoksin alt grup I                     | 2,233   | 1,337   |
| B4G031      | L-askorbat peroksidaz                                 | 2,011   | 2,178   |
| B4FBH0      | Peroksidaz                                            | 3,59    | 5,293   |
| B4FVT1      | Peroksidaz                                            | 2,101   | 4,775   |
| C4J094      | Süperoksit dismutaz [Cu-Zn]                           | 2,015   | 1,972   |
| A0A804LV79  | Süperoksit dismutaz                                   | 1,945   | 1,193   |
| A0A804R714  | Süperoksit dismutaz                                   | 1,951   | 2,739   |
| B4FB80      | Tiyoredoksin F2 kloroplastik                          | 2,133   | 1,713   |
| B4FV29      | Tiyoredoksin M-tipi                                   | 2,758   | 2,062   |
| K7TXW7      | Tiyoredoksin M-tipi, kloroplastik                     | 1,986   | 1,757   |
| Q41864      | Tiyoredoksin M-tipi, kloroplastik                     | 3,771   | 3,544   |
| B7ZY93      | Tiyoredoksin redüktaz                                 | 2,502   | 2,627   |
| B6T9S0      | Tiyoredoksin X                                        | 3,319   | 2,917   |
| C4J9M7      | Tiyoredoksine bağımlı peroksiredoksin                 | 2,264   | 1,894   |
| A0A1D6HLS2  | Tiyoredoksin benzeri 3-1 kloroplastik                 | 1,934   | 1,341   |
| B6THR4      | Tiyoredoksin benzeri 4                                | 2,43    | 2,248   |
| K7UTZ2      | RNA helikaz                                           | 1,889   | 2,9     |
| A0A1D6K6V8  | 5-oksoprolinaz                                        | 4,084   | 6,543   |
| B4FB80      | Tiyoredoksin F2 kloroplastik                          | 2,133   | 1,713   |
| A3KLI1      | Dehidrin DHN1                                         | 30,374  | 23,082  |
| B4FJM6      | Laktoilglutasyon liyaz / glioksalaz I ailesi proteini | 1,092   | 2,16    |
| B4F9K0      | Geç embriyogenez bol protein grubu 2                  | 2,949   | 1,796   |
| A0A1D6HSW9  | Prolin-tRNA ligaz                                     | 1,903   | 2,09    |
| B4FV52      | Protein DEHİDRASYONA ERKEN TEPKİ VEREN 15             | 2,945   | 2,543   |
| Q4TZJ2      | Pirolin-5-karboksilik asit redüktaz                   | 2,53    | 3,089   |
| A0A1D6GEX5  | Kısa zincirli alkol dehidrojenaz I                    | 2,035   | 1,495   |
| C0P9S6      | Tiyoredoksin Y1 kloroplastik                          | 0,165   | 0,001   |

#### 4.3.3.4 Protein Metabolizması ile İlişkili DEP'ler

nLC-MS/MS analizi ile kontrole NaCl ve TÛ+NaCl uygulamasında protein metabolizması ile ilişkili olduğu belirlenen DEP'ler tespit edilmiştir (Şekil 4.26).



**Şekil 4.26** Protein metabolizmasında kontrolle göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi.

nLC–MS/MS analizi ile kontrolle göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında protein metabolizması ile ilişkili olduğu belirlenen ve ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler Çizelge 4.15'te verilmiştir.

**Çizelge 4.15** Protein metabolizmasında yer alan ve kontrolle göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler.

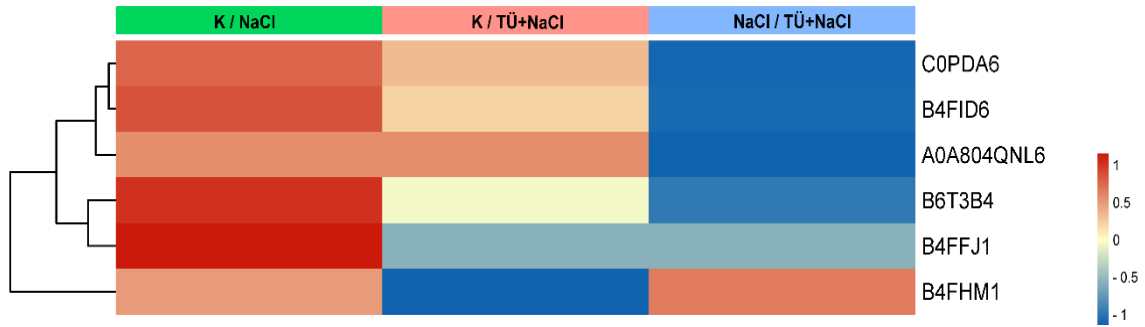
| Aksesyon No | Protein Adı                                 | Kontrol NaCl | Kontrol Tü+NaCl |
|-------------|---------------------------------------------|--------------|-----------------|
| A0A1D6LJS9  | Şaperonin 60 alt birimi beta 2 kloroplastik | 1,491        | 2,096           |
| B4F848      | Şaperonin                                   | 2,408        | 2,381           |
| B6T8U7      | Şaperonin                                   | 3,113        | 2,892           |
| B4FAE4      | CHL-CPN10                                   | 2,4          | 2,206           |
| B6SPL7      | Bakır şaperon                               | 2,286        | 2,018           |
| B7ZZ42      | Isı şoku 70 kDa protein 3                   | 2,098        | 4,221           |
| A0A1D6MUE8  | Isı şoku 70 kDa protein 6 kloroplastik      | 1,435        | 2,03            |
| A0A804U6K7  | Isı şoku 70 kDa proteini, mitokondriyal     | 3,733        | 4,173           |
| B6SZ69      | Isı şoku kognat 70 kDa protein 2            | 2,065        | 2,65            |
| A0A1D6KE29  | Isı şok proteini 70                         | 1,97         | 3,442           |
| B6U7Y1      | 90 kDa ısı şok proteini ATPaz aktivatörü    | 1,945        | 2,086           |
| B6U0S1      | Uzama faktörü 2                             | 1,499        | 2,142           |
| A0A1D6E4M0  | Uzama faktörü G, kloroplastik               | 2,027        | 3,21            |
| A0A1D6F3N9  | Uzama faktörü Ts, mitokondriyal             | 2,045        | 2,445           |
| B4FVB2      | Uzama faktörü Tu                            | 2,186        | 1,802           |
| K7TWH1      | Peptidilprolil izomeraz                     | 1,956        | 2,921           |
| B4FVF7      | Proteaz Do-benzeri 5                        | 2,074        | 1,742           |
| B4F7U0      | Proteazom alt birimi alfa tipi              | 2,035        | 3,805           |
| A0A804N398  | Protein disülfid-izomeraz                   | 1,899        | 2,131           |
| B6T3C7      | Protein fosfataz                            | 2,203        | 2,606           |
| B6TB61      | Ubiquitin reseptörü RAD23                   | 2,04         | 2,096           |

Kontrolle göre NaCl uygulamasında şaperonin, CHL–CPN10, bakır şaperon, ubiquitin reseptörü RAD23, Isı şoku 70 kDa protein 3, Isı şoku 70 kDa protein, 90 kDa ısı şok proteini ATPaz aktivatörü, Uzama faktörü (G, Ts ve Tu), proteaz Do–benzeri 5, proteazom alt birimi alfa tipi, protein fosfataz ve ubiquitin reseptörü RAD23 proteinlerinin ifadeleri artış göstermiştir. Belirlenen bu proteinlerden şaperonin, uzama

faktörü Tu ve proteaz Do-benzeri 5 ifadeleri NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında azalmıştır. Buna ek olarak NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında Şaperonin 60 alt birimi beta 2 kloroplastik, ısı şoku 70 kDa proteinleri, protein fosfataz, protein disülfid–izomeraz, proteazom alt birimi alfa tipi, peptidilprolil izomeraz, uzama faktörü G ve uzama faktörü 2 proteinlerin ifade seviyeleri önemli ölçüde artış göstermiştir (Çizelge 15).

#### 4.3.3.5 Trikarboksilik Asit ve Elektron Taşıma Zinciri ile İlişkili DEP'ler

nLC–MS/MS analizi ile kontrole NaCl ve TÛ+NaCl uygulamasında TCA döngüsü ve ETS'de yer alan DEP'ler tespit edilmiştir (Şekil 4.27).



**Şekil 4.27** TCA döngüsü ve ETS'de kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında tespit edilen DEP'lerin ısı haritası ile görselleştirilmesi.

nLC–MS/MS analizi ile kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamasında TCA döngüsü ve ETS ile ilişkili olduğu belirlenen ve ifade seviyelerinde farklılık gösteren DEP'ler Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Kontrole göre NaCl uygulamasında fumarat hidrataz, izositrat dehidrojenaz [NAD] düzenleyici alt birim 3 mitokondriyal, malat dehidrojenaz ve süksinat dehidrojenaz10 proteinlerinin ifadeleri artış göstermiştir. Belirlenen bu proteinlerin ifadesi (malat dehidrojenaz hariç) TÛ+NaCl uygulamasında azalmıştır. Buna ek olarak NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında ATP sentaz delta zinciri ifadesi önemli ölçüde artış göstermiştir. Ayrıca kontrole göre NaCl uygulamasında sitokrom c oksidaz alt birimi 5C ifadesi önemli düzeyde artarken, ortama TÛ ilavesi protein ifadesini önemli düzeyde azaltmıştır (Çizelge 16). Yine kontrole göre NaCl uygulamasında

Sitokrom c1 1 hem proteini mitokondriyal ifadesi azalmış, ortama TÛ ilavesi ifade seviyesini daha da azaltmıştır.

**Çizelge 4.16** TCA döğüsü ve ETS’ de yer alan ve kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında ifade seviyelerinde farklılıklar gösteren DEP’ler.

| Aksesyon No | Protein Adı                                                        | Kontrol NaCl | Kontrol TÛ+NaCl |
|-------------|--------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------|
| B6TBW2      | ATP sentaz delta zinciri                                           | 1,205        | 3,42            |
| C0PDA6      | Fumarat hidrataz                                                   | 2,359        | 2,018           |
| B4FID6      | İzositrat dehidrojenaz [NAD] düzenleyici alt birim 3 mitokondriyal | 3,595        | 2,624           |
| A0A804QNL6  | Malat dehidrojenaz                                                 | 1000         | 1000            |
| B6T3B4      | Süksinat dehidrojenaz10                                            | 1,98         | 1,308           |
| B4FFJ1      | Sitokrom c oksidaz alt birimi 5C                                   | 1,916        | 0,001           |
| B4FHM1      | Sitokrom c1 1 hem proteini mitokondriyal                           | 0,509        | 0,271           |

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

### 5.1 Tuz Stresi Altındaki Mısır Fidelerinde Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Tiyoürenin Etkileri

Bitki büyüme ve gelişmesinde tuz stresinin olumsuz etkilerini değerlendirmek için yapılan çalışmalarda büyüme kinetiğine ait veriler güvenilir bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Iqbal vd. 2020, Shahid vd. 2020, Zhao 2021). Tiyoüre (TÜ), tuz stresinin bitki büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerinin iyileştirilmesinde rol alan bir bitki büyüme düzenleyicisidir (Granaz vd. 2022, Dhillon vd. 2023). Mevcut çalışmada NaCl stresi mısır fide büyümesini önemli düzeyde azaltırken, dışsal TÜ uygulaması fide büyümesini NaCl uygulamasına göre önemli düzeyde artırmıştır. Bu sonuç, NaCl-teşvikli büyüme inhibisyonu üzerinde TÜ'nün iyileştirici etkiye neden olduğunu göstermiştir. Benzer sonuçlar tuz stresine maruz bırakılan susam, buğday ve *Gerbera jamesonii* bitkilerinde de belirlenmiştir (Dhillon vd. 2023, Farooq vd. 2023, Yadav vd. 2024). Yüksek çözünürlüğü ve biyosistemlere hızlı alımı nedeniyle TÜ'nün C ve N kaynağı olarak fonksiyon gördüğü belirtilmiştir. Ayrıca, bitkilerde strese bağlı redoks dengesizliğini ve ilgili hücrel hasarları azaltma kapasitesine sahip olduğu ve çeşitli abiyotik uyarılara karşı toleransı artırdığı rapor edilmiştir (Yadav vd. 2024). Fizyolojik düzeyde, TÜ'nün kaynak-havuz ilişkilerini iyileştirerek daha yüksek ürün verimi sağladığı, moleküler düzeyde hücrel enerjiyi artırdığı,  $Ca^{2+}$  ve ABA sinyal yollarını koordine ettiği, bitki su homeostazını koruduğu, antioksidan savunmayı güçlendirdiği ve kükürt metabolizmasını iyileştirdiği bildirilmiştir (Srivastava vd. 2009). Sonuç olarak, TÜ uygulamasının mısır fidelerinde kaynak-havuz ilişkilerini iyileştirerek, hücrel enerjiyi artırarak ve stres toleransını güçlendirerek mısır fidelerinin büyümesini teşvik ettiği ileri sürülebilir.

Tuz stresi kaynaklı büyüme inhibisyonunun temel olarak ozmotik streten kaynaklanan fizyolojik ve biyokimyasal bozukluklar ve  $Na^+/Cl^-$  gibi spesifik iyon toksisiteleri tarafından tetiklendiği gösterilmiştir (Amin vd. 2021). Tuz stresine maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak ve köklerinde  $Na^+$  ve  $Cl^-$  birikiminin arttığı bildirilmiştir. Buna karşın  $K^+$  birikiminde bir azalma tespit edilmiştir.  $Na^+$  ve  $Cl^-$  birikimlerinin artmasının  $K^+$  eksikliğine bağlı olarak gerçekleştiği gösterilmiştir (Qu vd. 2012, Guo vd. 2017).

Çalışmamızda gövde  $\text{Na}^+$  içeriği kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde artarken,  $\text{K}^+$  içeriği azalmıştır. Kök  $\text{Na}^+$  içeriği kontrole göre NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarında önemli düzeyde artarken,  $\text{K}^+$  içeriği azalmıştır. Tuz stresine maruz bırakılan mısır fidelerinde dışsal TÛ uygulaması sadece NaCl stresine kıyasla gövde  $\text{Na}^+$  içeriğini azaltırken,  $\text{K}^+$  içeriğini artırdığı bildirilmiştir (Kaya vd. 2013). Benzer şekilde çalışmamızda kontrole göre TÛ ve NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamalarında  $\text{K}^+$  içeriği önemli düzeyde artmıştır. Çalışmamızda NaCl stresi altındaki mısır fidelerine TÛ uygulamasının  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  oranını düzenleyerek iyon toksistesinin etkilerini hafifletebileceği diğer çalışmalara (Kaya vd. 2015, Majeed vd. 2024) benzer şekilde gösterilmiştir. Sonuç olarak, TÛ uygulaması, bitki hücrelerinde  $\text{K}^+$  (ana uyumlu inorganik çözünen madde) seviyesinin yükseltilmesini ve hücrelerin ozmotik potansiyelini artırarak su dengesinin yeniden kazanılmasını sağlayabilir.

Tuz stresi altındaki bitkilerde klorofil seviyelerindeki düşüş, oksidatif stresin tipik bir belirtisi olarak kabul edilmiştir (Smirnoff 1996). Tuz stresi kaynaklı oksidatif stres bitkilerde fotosentezi yavaşlattığı ve fotosentez oranındaki yavaşlamanın klorofil içeriğindeki azalma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Stefanov vd. 2022). Tuz stresi altındaki mısır fidelerinde NaCl stresinin toplam klorofil içeriğini azalttığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (Chandrasekaran vd. 2019, D'Amato ve Del Buono 2021). Çalışmamızda NaCl stresi benzer şekilde klorofil içeriğini önemli düzeyde azaltmıştır. Tuz stresine maruz bırakılan mısır fidelerinde NaCl uygulamasıyla azalan klorofil içeriğinin ortama TÛ ilavesi sonucunda arttığı gösterilmiştir (Granaz vd. 2022). Çalışmamızda benzer şekilde NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında klorofil içeriği önemli düzeyde artış göstermiştir. Buna göre TÛ'nün NaCl stresinde oksidatif stresi azaltarak ve klorofil biyosentez yollarını teşvik ederek klorofil içeriğinde artışa neden olabileceği ileri sürülebilir.

Malondialdehit (MDA) içeriğinin belirlenmesi, özellikle bitkilerin abiyotik ve biyotik streslere verdiği tepkilere odaklanan çalışmalarda lipid peroksidasyonun bir belirteci olarak kullanılmaktadır (Morales ve Munné-Bosch 2019). Mısır fidelerinde tuz stresinin MDA içeriğinde önemli bir artışa neden olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (Hu vd. 2022, Hussain vd. 2023, Iftikhar vd. 2024). Çalışmamızda da mısır fidelerinin yaprak dokularında MDA içeriği kontrole göre NaCl uygulamasında

önemli düzeyde artmıştır. Bitkilerin tuz stresine toleransının düşük MDA içeriği ile ilişkili olduğu ve MDA içeriğinin tuz direnci ile negatif korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur (Mohamadi vd. 2022). Mevcut çalışmada, NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulaması MDA içeriğini azaltmıştır. Sonuç olarak, mısır fidelerinde TÛ uygulamasının tuz stresi kaynaklı oksidatif stresi azaltarak lipid peroksidasyon seviyelerini azalttığı öne sürülebilir.

Bitkiler tuz kaynaklı oksidatif hasarı azaltmak için spesifik adaptif mekanizmalara sahiptir (Hichem vd. 2009). Bu adaptif mekanizmalar içerisinde antioksidan enzim sistemi hayatı bir rol oynamaktadır. Antioksidan enzimler tuz stresi kaynaklı oluşan ROT'ları detoksifiye etmektedirler (Hao vd. 2021). Süperoksit dismutazın (SOD)  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'nin olduğu bir reaksiyonda süperoksit radikalini etkili bir şekilde temizlediği bilinmektedir. Katalaz (CAT) çevresel strese maruz kalan hücrelerde  $H_2O_2$ 'i etkin bir şekilde su ve oksijene dönüştürmektedir. Guaiakol peroksidaz (POD),  $H_2O_2$ 'nin OH ve  $H_2O$ 'ya indirgenmesini katalize etmektedir. Askorbat peroksidaz (APX) ise  $H_2O_2$ 'yi  $H_2O$ 'ya indirgenme reaksiyonunu katalize eden önemli bir enzimdir. Mevcut çalışmada, kontrole göre NaCl uygulamasında SOD aktivitesinde değişiklik belirlenmemiştir. Bununla birlikte, TÛ'ye göre TÛ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde bir artış belirlenmiştir. NaCl uygulaması POD aktivitesini belirgin şekilde artırmıştır ve bu durum NaCl stresine bağlı olarak bitkinin oksidatif stresle mücadele etmeye çalıştığını göstermektedir. Bununla birlikte, TÛ+NaCl uygulaması POD aktivitesini NaCl uygulamasına göre azaltmıştır ve bu durum TÛ'nün aşırı oksidatif strese karşı dengeleyici bir rol oynayabileceğini ileri sürebilir. APX aktivitesi kontrole göre tüm uygulamalarda kademeli bir şekilde artmıştır. Bu durum TÛ'nün tuz stresi altında antioksidan savunmayı güçlendirdiğini göstermektedir. Akladiou (2014), TÛ uygulamasının sıcaklık stresine yanıtta SOD, CAT ve APX aktivitelerini teşvik ettiği bildirilmiştir. Kaya vd. (2015)'te TÛ uygulamasının tuz stresi altındaki mısır fidelerinde SOD ve CAT aktivitelerinin teşvik edildiği vurgulanmıştır. Tiyoüre, tuz stresine maruz kalan mısır fidelerinde oksidatif hasarı hafifletmek için antioksidan savunma sistemlerini düzenleyerek bitkiyi destekleyici bir etkiye sahip olabilir. Özellikle APX aktivitesindeki belirgin artış, tiyoürenin tuz stresine karşı bitkiyi koruyucu bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Prolin, tuzluluk da dahil olmak üzere çeşitli abiyotik stresler altında yüksek seviyelerde biriken en yaygın içsel ozmolittir (Szabados ve Saviouré 2010, Slama vd. 2015). Tuz stresi başta olmak üzere abiyotik streslere yanıtta prolin içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Alam vd. 2016). Mevcut araştırmada, NaCl uygulaması prolin içeriğini önemli ölçüde artırmıştır. Bu durum, tuz stresine maruz kalan bitkilerin ozmoprotektan bir bileşen olarak daha fazla prolin sentezlediğini göstermektedir. Ayrıca Tü+NaCl uygulamasında prolin içeriği NaCl grubuna kıyasla daha düşük seviyede bulunmuştur. Bu, Tü'nün tuz stresini hafiflettiğini ve bitkinin aşırı prolin üretimine olan ihtiyacını azalttığını düşündürmektedir. Kaya vd. (2015), tuz stresine maruz bırakılan mısır fidelerinde kontrole göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarında prolin içeriğinde artış belirlemiştir. Benzer şekilde Tü+NaCl uygulamasının NaCl uygulamasına kıyasla prolin içeriğini daha düşük bulmuşlardır. Bu sonuçlar, Tü'nün tuz stresine maruz kalan mısır fidelerinde prolin seviyesini düşürerek stresin şiddetini azalttığını ve bitkinin daha dengeli bir metabolik tepki vermesini sağladığını göstermektedir. Bu, Tü'nün bitkiyi aşırı stres tepkilerinden koruyarak büyümesini destekleyebileceğini düşündürmektedir.

## **5.2 Tuz Stresi Altındaki Mısır Fidelerinde Tiyoüenin Transkriptomik Değişimler Üzerine Etkileri**

Transkriptomik, farklı bitki gelişim evrelerinde ve/veya farklı çevre koşullarına bağlı olarak ifadesi değişen genlerin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Mevcut araştırmanın sonuçları, NaCl ve Tü+NaCl uygulamalarının mısır fidelerinin yaprak dokusundaki gen ifadesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Gen ifade profillerindeki değişiklikler RNA-seq analizleriyle belirlenmiş ve biyoinformatik yöntemlerle değerlendirilmiştir. Gen ontolojisi (GO) analizlerine göre strese yanıt, sekonder metabolit biyosentezi, karbonhidrat metabolizması, hücre çeperi sentezi ve hormon biyosentezi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu genlerin, hücresel bileşenler, metabolik fonksiyonlar ve biyolojik süreçlerde görev aldığı belirlenmiştir.

ATP-bağlayıcı kaset (ABC) proteinleri, bitki gelişiminde önemli roller oynayan ve çeşitli abiyotik streslere karşı görev alan başlıca transmembran taşıyıcılardır. ABC

taşıyıcılarının polar oksin taşınımı, lipid katabolizması, hastalık direnci, stoma fonksiyonu ile biyotik ve abiyotik streslere bağlı çeşitli süreçlerde yer aldığı bildirilmiştir (Chen vd. 2018, Zhang vd. 2024). Tuz stresine maruz bırakılan *Oryza sativa* fidelerinde yapılan çalışmalarda, ABC genlerine odaklanılmış ve birçok ABC geninin tuz stresine bağlı olarak ifadesinin arttığı gözlemlenmiştir (Saha vd. 2015). Zhang vd. (2024) ise *Prunus dulcis* bitkisinde ABC genlerinin tuz stresine yanıt olarak farklı şekilde ifade edildiğini ortaya koymuştur. Zhang vd. (2020), arpa bitkilerinde ABC genleri ve proteinlerinin çeşitliliğine dayanarak, farklı stres koşulları altında verim artışı için ABC genlerinin potansiyel adaylar olabileceğini bildirmiştir. Çalışmamızda, NaCl uygulamasına kıyasla Tü+NaCl uygulamasında ABCG29 gen ifadesinde önemli bir artış gözlemlenmiştir. Bu sonuç, Tü uygulamasının ABCG29 gen ifadesini teşvik ederek stres koşulları altında bitkinin metabolik ve fizyolojik adaptasyonunda önemli bir role sahip olabileceğini desteklemektedir.

Akuaporinler, su ve küçük çözülmüş maddelerin transmembran taşınmasını kolaylaştıran membran proteinleridir (Maurel vd. 2008, Lopez vd. 2012). Tuz stresine maruz bırakılan domates fidelerinin kök ve yapraklarında, su taşınımında önemli rol oynayan genlerin (*PIP1-1*, *PIP1-3*, *PIP1-7*, *PIP2-10* ve *PIP2-12*) ifadelerinin azaldığı bildirilmiştir (Jia vd. 2020). Ayrıca, PIP genlerinin ifadesinin stresin süresine ve dokunun tipine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ve tuz stresi altında su taşınmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir. Pou vd. (2016), tuz stresi (150 mM NaCl) altındaki *Arabidopsis* fidelerinde *PIP2-7* gen ifade seviyelerinin azaldığını rapor etmiştir. Araştırmacılar, bu verilerin tuz stresi koşullarında PIP transkripsiyonunun baskılanması ve kanal içselleştirilmesinin, akuaporin aktivitesinin modülasyonu ile uyum içinde olduğunu ve dolayısıyla bitkinin su ile ilişkili parametrelerini kısa vadede önemli ölçüde değiştirdiğini ileri sürmüştür. Çalışmamızda, kontrole kıyasla NaCl uygulamasında akuaporin *PIP2-3* geninin ifadesinde bir azalma gözlemlenmiş olup, bu azalmanın NaCl'e kıyasla Tü+NaCl uygulamasında daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Su taşınımından sorumlu akuaporinlerin gen ifade seviyesindeki azalmanın hem stres koşullarında hem de stres altında iyileştiricilerin varlığında gözlemlenmesi, PIP transkripsiyonunun baskılandığını ve akuaporin aktivitesinin modüle edilmesiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Gelecekte, farklı

stres koşullarında iyileştiricilerin PIP protein ifade profilleri üzerindeki etkisinin belirlenmesi, PIP izoformlarının bolluğunun analiz edilmesi ve spesifik antikorlar kullanılarak yapılan araştırmaların genişletilmesi önemli olacaktır.

Reseptör benzeri protein kinazlar (RLK'ler), bitkiye özgü hücre yüzeyi reseptör protein kinazlarının oldukça geniş bir ailesidir ve bitki genomları tarafından kodlanan en büyük transmembran protein grubunu oluşturmaktadır. RLK'ler bitki büyüme ve gelişimi ile savunma sisteminin düzenlenmesinde içsel veya dışsal sinyal moleküllerini algılamak için plazma membranında yer almaktadır (Taylor vd. 2016). MAPK sinyal yolları, birçok RLK aracılı sinyal yolağında hücre dışı sinyaller ile hücre içi transkripsiyon faktörleri arasında köprü kurmaktadır (George vd. 2017). RLK'lerin stres koşullarında bitki hücrelerinde iyon homeostazının düzenlenmesinde rol oynadığı (Amin vd. 2020) ve homeostazın korunmasına bağlı olarak bitkilerin canlılıklarını sürdürebilmelerinin (Kumar ve Mosa 2015) RLK'lerin ifadesine bağımlı olduğu bildirilmiştir. Tuz stresine maruz bırakılan *Prosopis juliflora*'da artan yönde düzenlenen bir RLK olan *HSL1* geninin stres yanıtlarında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (George vd. 2017). Farklı NaCl konsantrasyonu ve sürelerine maruz bırakılan diploid ve ototetraploid Çin hünnabı (*Ziziphus jujuba*) bitkilerinde ifadesinde değişiklik gösteren farklı *RLK*'ler belirlenmiştir (Li vd. 2019). Araştırmamızda, NaCl'e göre T $\ddot{U}$ +NaCl uygulamasında bir RLK olan *HSL1* gen ifadesinde önemli düzeyde bir azalma belirlenmiştir. *HSL1* geninin ifadesindeki azalma tuz stresine yanıtta T $\ddot{U}$ 'nün iyileştirici bir rolü olabileceğini göstermektedir.

Prolin, özellikle tuz stresi de dahil olmak üzere çeşitli abiyotik streslere yanıtta bitkilerde biriken en yaygın içsel ozmolittir (Slama vd. 2015, Al Hinai vd. 2022, Pingle vd. 2022). Birçok çalışma, kontrole kıyasla tuz stresi altındaki bitkilerde prolin içeriğinin önemli düzeyde arttığını göstermiştir (Moghaddam vd. 2020, Shin vd. 2020, Hnilickova vd. 2021). *ARF1* (ADP-ribozilasyon faktörü 1), oksine bağlı çeşitli gelişimsel süreçlerde ve prolin biyosentezinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Tuz stresine maruz bırakılan transgenik *Panicum virgatum* fidelerinde, *PvARF* genlerinin tuz stresi altında prolin birikimini olumlu yönde düzenlemek için prolin biyosentez genlerini teşvik ettiği kanıtlanmıştır (Guan vd. 2020). *ARF1* geninin aşırı ifadesinin

transgenik çeltik, *Arabidopsis* ve *Spartina alterniflora*'da tuz toleransının sağlanmasında rol oynadığı gösterilmiştir (Joshi vd. 2014). Çalışmamızda *ARF1* geni ifadesi NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu sonuç, tuz stresi altındaki bitkilerde TÛ'nün prolin biyosentezini düzenleyerek NaCl toleransına katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Serin (Ser) amino asidi, nükleotidler ve fosfatidil Ser ve sfingolipidler gibi Ser türevi lipidler dahil olmak üzere hücre çoğalması için gerekli proteinlerin ve diğer biyomoleküllerin sentezi için gereklidir (Cascales Miñana vd. 2013). Ser, triptofan gibi diğer amino asitlerin üretiminde (Benstein vd. 2013) ve glisin betainin yanı sıra fosfatidilkolin sentezinde önemli bir öncüdür (Kito vd. 2017). Ser biyosentezi fosfogliserat dehidrogenaz (PGDH) enzimi tarafından katalize edilmektedir. *Arabidopsis*'te *PGDH1* ve *PGDH2*'nin tuz stresi ile teşvik edildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, yabani tipe göre *PGDH1* genini aşırı ifade eden bitkilerin, tuz stresi koşullarına daha iyi tolerans gösterdiği bildirilmiştir (Rosa-Téllez vd. 2020). Tuz stresine maruz bırakılan *Beta vulgaris*'in yaprak, yaprak sapı ve kök dokularında *PGDH* aktivitesinin artan düzeyde ifade olduğu bildirilmiştir (Kito vd. 2017). Çalışmamızda *PGDH* ifadesi NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış göstermiştir. *PGDH* ifadesindeki TÛ teşvikli bu artış, Ser ve Ser türevli bileşiklerin sentezinde artışa neden olarak NaCl toleransına katkıda bulunabilir.

Glutamat, proteinlerin (glutamin, prolin, arginin, histidin,  $\gamma$ -aminobütirik asit ve GABA) ve polipeptitlerin (glutatyon) sentezinin öncülü olan bir amino asittir (Brosnan ve Brosnan 2013, Reiner ve Levitz 2018). Glutatyonun bitkilerde tuz stresine yanıtta yer aldığı iyi bilinmektedir (Chang vd. 2010, Cheng vd. 2016, Qiu ve Li 2020). Domateste GS/GOGAT döngüsünün tuz stresi altında prolin sentezi için önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Liu vd. 2016). Çalışmamızda GOGAT sentez geni *GLT*'nin ifadesi NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış göstermiştir. Buna göre, tuz stresine yanıtta rol aldığı bilinen GOGAT aktivitesi TÛ ilavesi ile teşvik edilmiştir. Tuz stresinin karpuz bitkisinde glutamat sentez yolağında anahtar rol alan GS/GOGAT döngüsünün aktivitesini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Yang vd. 2013). TÛ uygulamasının NaCl uygulamasına kıyasla tuz stresine toleransta önemli rol oynadığı

gösterilen GS/GOGAT döngüsünün aktivitesini önemli ölçüde artırması Tü'nün mısır tuz tolerans mekanizmasını geliştirmede potansiyel bir bileşik olduğu sonucunu gösterebilir.

Temel bir makro besin maddesi olarak kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ), hücre çeperi ve zarını stabilize etmek, diğer besin maddelerinin metabolik süreçlerini iyileştirmek, enzimatik ve hormonal süreçleri düzenlemek gibi bitkilerde önemli roller oynamaktadır. Kalsiyum aynı zamanda hücre ve bitki gelişiminin birçok yönüne ve strese karşı direnç tepkisine aracılık eden sekonder bir haberci olarak görev yapmaktadır (White ve Broadley 2003, Jaleel vd. 2007, Jaleel ve Azooz 2009). Ayrıca  $\text{Ca}^{2+}$ 'un, bitkide  $\text{Na}^+$  akışının ana yolunda görev alan seçici olmayan katyon kanalını (NSCC) bloke ederek tuz kaynaklı  $\text{Na}^+$  toksisitesini iyileştirebileceği gösterilmiştir (Demidchik ve Tester 2002, Shabala vd. 2006). Önemli bir  $\text{Ca}^{2+}$  bağlayıcı protein olan kalretikülin (*CRT*), bitkilerin endoplazmik retikulumunda (ER)  $\text{Ca}^{2+}$  homeostazının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Kalneksin (*CNX2*), endoplazmik retikulumda yeni sentezlenen monoglukozillenmiş glikoproteinlerle etkileşime giren  $\text{Ca}^{2+}$  bağlayıcı proteindir. Protein birleşmesine ve/veya birleşmemiş protein alt birimlerinin ER içinde tutulmasında yardımcı olarak rol oynamaktadır. Domates bitkilerinde yüksek tuz stresine yanıt olarak *CNX* ve *CRT* ifadesinin arttığı bildirilmiştir (Fu vd. 2016). Benzer şekilde, NaCl stresine maruz bırakılan buğday fidelerinde *CNX* ve *CRT* ifadelerinin artış gösterdiği rapor edilmiştir. Çalışmamızda NaCl uygulamasında *CRT* ve *CNX* gen ifadeleri artış gösterirken, Tü uygulaması ile genlerin ifade düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır. Kalsiyum bağımlı protein kinazlar (CPK'lar), iyon kanalları, transkripsiyon faktörleri ve metabolik enzimler dahil olmak üzere çeşitli substratları fosforile ederek  $\text{Ca}^{2+}$  sinyallerini fizyolojik tepkilere aktaran bitki sinyalizasyonunun kilit aktörleridir. Birçok çalışmada CPK'ların tuz stresine yanıtta rol aldığı gösterilmiştir. Yabani bitkilere göre *CPK6* ve *CPK3* ü aşırı ifade eden transgenik *Arabidopsis* fideleri tuz stresine karşı artan bir tolerans göstermiştir (Mehlmer vd. 2010, Xu vd. 2010). Pamukta (*Gossypium hirsutum* L.) *CPK8*, *CPK38*, *CPK54* ve *CPK55* genlerinin susturulmasının tuz stresine karşı hassasiyeti arttırdığı gösterilmiştir. Çalışmamızda kontrole göre NaCl uygulamasında *CPK24* gen ifadesi artarken, NaCl'e göre Tü+NaCl uygulamasında ise önemli düzeyde azalış göstermiştir. Kalsiyum bağımlı protein kinazların bitkilerin stres

toleransında yer almasına rağmen, etki mekanizmasının daha fazla araştırılması gerekmektedir.

Kitinazlar, kitin, kitosan, lipokitoooligosakkaritler, peptidoglikan, arabinogalakattan ve N-asetilglukozamin içeren glikoproteinleri hidrolize eden ve patojen stresi başta olmak üzere tuz, ozmotik, soğuk ve ağır metal gibi bitki abiyotik streslerine karşı yanıtta yer alan büyük bir protein ailesidir. *Arabidopsis thaliana*'da *AtChiA* geninin tuz ve yaralanma stresi altında ifade edildiği gösterilmiştir (Takenaka vd. 2009). Kitinazların tütün (*Nicotiana tabacum*) ve kanatlı fasulyede (*Psophocarpus tetragonolobus*) tuza adaptasyonda teşvik edildiği bildirilmiştir (Yun vd. 1996, Tateishi vd. 2001). Mevcut araştırma sonuçları *ChitA* ve *Chi* gen ifadelerinin kontrole göre NaCl uygulamasında arttığını ancak NaCl'e göre Tü+NaCl uygulamasında azaldığını göstermiştir. *Arabidopsis*'te *AtCTL1* (kitinaz benzeri protein 1) geninin tuz ve kuraklık streslerine tolerans için gerekli olduğu görülmüştür (Kwon vd. 2007). *Chi11*'i ifade eden domates transgenik bitkileri tuz, kuraklık ve fungal streslere karşı gelişmiş tolerans göstermiştir (Kumar vd. 2016). Bu bağlamda, NaCl uygulamasının *ChitA* ve *Chi* gen ifadelerini artırması, bitkinin tuz stresine karşı bir savunma tepkisi geliştirdiğini göstermektedir. Ancak, Tü+NaCl uygulamasında bu genlerin ifadesindeki azalmanın, Tü'nün bitkinin stres yanıt mekanizmalarına farklı bir şekilde etki ettiğini düşündürmektedir. Tü'nün antioksidan savunma sistemleri ve iyon homeostazı gibi farklı stres tolerans mekanizmalarını harekete geçirerek, kitinaz genlerinin aşırı aktivasyonuna olan ihtiyacı azaltabileceği ileri sürülebilir. Bu durum, Tü'nün tuz stresini hafifleten bir bileşik olarak rol oynayabileceğini ve bitkide farklı stres sinyal yollarını düzenleyerek genetik düzeyde adaptasyonu destekleyebileceğini göstermektedir.

Dirigent (*DIR*) proteinlerini kodlayan gen ailesi ağırlıklı olarak savunma tepkisi, sekonder metabolizma ve lif biyosentezinde yer almaktadır (Ralph vd. 2006). Gövdeye özgü ifade sergileyen bir *Saccharum officinarum* dirigent geninin (*ScDIR*) kuraklık, tuz ve oksidatif streslere yanıt verdiği bildirilmiştir (Jin-Long vd. 2012). CaiQiu vd. (2010), tuzluluk-alkalin stresine maruz bırakılan *Tamarix androssowii*'de *TaDIR* ifade seviyelerinin arttığını bildirmiştir. Çalışmamızda *DIR* gen ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında artmıştır. NaCl'e göre Tü+NaCl uygulamasında ise *DIR* gen ifadesi

önemli düzeyde azalmıştır. Bu sonuç, tuz stresi altında TÜ'nün sekonder metabolizmada düzenleyici bir rol oynadığını göstermektedir.

$\beta$ -glukanlar mısır, yulaf ve arpa gibi bitkilerin hücre çeperlerinde bulunan karbohidratlardır.  $\beta$ -glukanın bir savunma elisitörü olarak hareket edebildiği ve savunma yanıtını teşvik edebileceği bildirilmiştir (Winter vd. 2014, Shah vd. 2015, Chandrasekar vd. 2022). Tuz stresine maruz bırakılan *Carex rigescens*'de,  $\beta$ -D-glukanları spesifik olarak hidrolize edebilen glukan endo-1,3-beta-glukozidaz (BG2) gen ifadesinin artış gösterdiği bildirilmiştir (Zhang vd. 2020). Çalışmamızda BG2 gen ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında arttığı ancak NaCl'e göre TÜ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. BG2 geninin pamuk (Li vd. 2015) ve arpada (Mostek vd. 2016) tuz stresine yanıtta artan yönde düzenlendiği rapor edilmiştir. Ayrıca, bu genin beta-glukan ile ilişkili hücre çeperi organizasyonunu aktive ettiği ve daha sonra bitki doğal bağışıklığını teşvik ederek tuz toleransını olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (Fesel ve Zuccaro 2016). Sonuç olarak, TÜ+NaCl koşulundaki BG2 gen ifadesinin azalması, bu koşulun bitkide tuz stresine karşı daha spesifik ve dengeli bir yanıtı tetiklediğini düşündürülebilir. Bu, bitkinin savunma sisteminin aşırı aktivasyonunu önlemeye çalıştığı ve bu sayede tuz stresine daha uygun bir şekilde adapte olabileceği anlamına gelebilir.

Tiyoredoksin (Trx) süper ailesine ait protein disülfid izomerazlar (PDI), substratlarında protein disülfid bağlarının oluşumu, indirgenmesi veya izomerizasyonu ile sonuçlanan tiyol-disülfid değişimini katalize etmekte ve bununla birlikte, yanlış katlanmış proteinlerin toplanmasını engellemek için bir şaperon olarak işlev görmektedir. Bitkilerde PDI genlerinin abiyotik streslere yanıtta rol oynadıkları gösterilmiştir. Mısırdaki PDI genlerinin tuz, ozmotik ve soğuk stresleri altında yüksek oranda ifade edildiği bildirilmiştir (Liu vd. 2009). Mevcut araştırmamızda PDIL1-1 gen ifadesinin kontrole göre NaCl uygulamasında arttığı ve NaCl'e göre TÜ+NaCl uygulamasında önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Tuz stresine maruz bırakılan nohutta (*Cicer arietinum*) dört PDI geninin (CPDI2, CaPDI6, CaPDI7 ve CaPDI8) ifade edildiği gösterilmiştir (Parveen vd. 2024). *Zoysia matrella*'da beş ZmPDI geni tanımlanmış ve bu genlerin NaCl uygulamalarına yanıt olarak artan yönde düzenlendiği bildirilmiştir

(Xiao vd. 2018). Sonuç olarak, T +NaCl uygulamasındaki *PDIL1-1* gen ifadesinin azalması, bu bile i in stres yanıtlarını düzenleyen rolünü yansıtır olabilir. T 'n n bitkinin tuz stresine verdiği tepkiyi dengelemesi, savunma yanıtlarını optimal seviyede tutmaya yönelik bir strateji olarak değerlendirilebilir. Bu, bitkilerin çevresel streslere karşı daha etkili bir şekilde adaptasyonlarını sağlayan bir mekanizma olabilir.

Birçok gen ve çoklu mekanizma, bitkilerin abiyotik streslere karşı tepkilerini kontrol etmektedir. WRKY ailesi de a a ı akış (downstream) genlerinin ifadesini düzenleyerek bitkilerin abiyotik strese adaptasyonunda görev almaktadır. WRKY TF ailesinin tuz stresi gibi abiyotik streslere yanıttaki rolü nedeniyle çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiş ve çeltikte 100'den fazla protein ve *Arabidopsis*'te 74 protein tanımlanmıştır (Huang vd. 2022). Çalışmamızda WRKY30 gen ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında artarken T  ilavesi ile önemli düzeyde azalmıştır. Bununla birlikte, WRKY6 gen ifadesi NaCl'e göre T +NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır. Bu sonuç, WRKY30'un da tuz stresine karşı adaptasyonu düzenleyen bir gen olduğu d   nd rebilir. *Arabidopsis*'te *AtWRKY8* ve *AtWRKY74*' n tuz stresi toleransını olumlu yönde düzenlediği ve tuz stresine karşı toleransı önemli düzeyde artırdığı gösterilmiştir (Hu vd. 2013). Domateste *SIWRKY8*'in aşırı ifadesinin bitkilerin kuraklık ve tuz stresine karşı toleransını artırdığı bildirilmiştir (Gao vd. 2022). Soya fasulyesinde 66 *GmWRKY* geni tuz stresine yanıt olarak farklı ifade modelleri sergilemiş, bunlardan 12'sinin önemli bir değişiklik göstermediği, 35'inin azaldığı ve 19'unun arttığı gösterilerek tuz stresinde *WKRY* gen ailesinin önemi rapor edilmiştir (Yu vd. 2016). Çalışmamızda gözlemlenen sonuçlar, WRKY30 ve WRKY6 genlerinin tuz stresine karşı farklı yollarla adapte olduğunu ve T  uygulamasının bu yanıtları dengeledi ini göstermektedir.

Mikrotübüller, içi boş silindirik bir yapı oluşturan on üç paralel protofilamandan oluşan hücre iskeleti polimerleridir. Her bir protofilament,  $\alpha$ -tubulin ve  $\beta$ -tubulin heterodimerlerinin farklı yapısal polarite ile baştan kuyru a istiflenmesinden oluşmaktadır (Yang ve Zhou 2016). Mikrotübüller, tuz stresine karşı bitki yanıtlarında temel rol oynayan dinamik hücre iskeleti yapılarıdır (Yang vd. 2022). *Arabidopsis*'te gerçekleştirilen birçok çalışma, farklı mikrotübül ve tubulin genlerinin tuz stresine

yanıtta rol oynadığını göstermiştir (Wang vd. 2007, Zhang vd. 2012, Dou vd. 2018, Yang vd. 2022). Mevcut çalışmada, mikrotübüllerle etkileşime giren bitkiye özgü protein *MAP70-2* (microtubule-associated protein 70-2) ve *MAP65-6* (65-kDa microtubule-associated protein 6), hücre iskeleti organizasyonu ve mikrotübül yapısına dahil olan proteinler *TUBB6* (tubulin beta-6 chain), *TUBA* (tubulin alfa chain) ve mikrotübül fonksiyonu üzerinde etkili olan *NEK5* (serin/treonin-protein kinaz) proteinlerini kodlayan genlerin NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında artan yönde düzenlendiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, tuz stresi altında TÛ'nün hücre iskeletini düzenleyerek hücre yapısının korunmasında ve tuz toleransın artırılmasında rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bitkiler, yüksek tuzlulukla başa çıkmak için sitoplazmik uyumlu çözünen madde havuzlarını hassas bir şekilde ayarlamaktadır. Bu bağlamda şekerlerin taşınması ve dağılımı, bitkilerin büyümesi ve gelişmesi üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. Birçok şeker tuz stresine yanıtta önemli roller almaktadır. Trehaloz (Tre), tuzluluk toleransını teşvik etmek için mükemmel bir ozmolit olarak keşfedilmiş bir şekerdir. Tuzluluk stresi altında Tre, membran bütünlüğünün korunması, su dengesinin sağlanması, besin alımının artması ve elektrolit sızıntısı ile lipid peroksidasyonunun azaltılmasında görev almaktadır. Tuz stresinin neden olduğu oksidatif hasarlardan fotosentetik aparatı koruyarak ve sinyal molekülleri ile fitohormonlarla sinyalizasyon ilişkisinde yer alarak tuzluluğa toleransı teşvik etmek için bitki gövdesinde ultra-yapı değişikliklerine neden olmaktadır. Çeltikte trehaloz-6-fosfat sentazı (*OsTPS1*) kodlayan genin aşırı ifadesinin Tre ve prolin birikimini artırarak strese duyarlı genleri (*WSI18*, *RAB16C*, *HSP70* ve *ELI*) düzenlediği ve tuzluluk toleransında artışa katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Li vd. 2011). Araştırmamızda NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında tuz stresinin olumsuz etkilerinin azaltılmasında rol oynadığı bilinen *TPS* gen ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. *Cicer arietinum* bitkisinde tuz stresine yanıtta *TPS* gen ifade seviyelerinin, tuz stresinin etkilerinin azaltılmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Kumar vd. 2022). Bu bulgular, TÛ'nün şeker metabolizmasını teşvik ederek tuz stresine toleransı geliştirebileceği öne sürülebilir.

Glikozilasyon, bitkilerde çok çeşitli biyolojik süreçlerde meydana gelmektedir.

Glikoziltransferazlar (GT'ler) bitki bileşiklerinin glikozilasyonundan sorumlu enzimler olup, şeker moleküllerinin aktif donör moleküllerden lipidler, proteinler, nükleik asitler ve diğer küçük moleküller gibi spesifik alıcı moleküllere transferini katalize etmektedir (Lairson vd. 2008). Bitki glikoziltransferaz (GT) ailesi genleri, bitkilerin abiyotik stres toleransında rol oynamaktadır. *Arabidopsis* glikoziltransferaz *UGT85A5*'in ektopik ifadesinin tütünde tuz stresi toleransını artırdığı gösterilmiştir (Sun vd. 2013). Araştırmamızda NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında *GT1* ve *GT61* genlerinin ifadesi önemli düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Çeltik fidelerinde glikoziltransferaz geni *UGT2*'nin tuz stresi toleransında rol aldığı bildirilmiştir (Wang vd. 2023). Bu bağlamda mısırdaki *GT* genlerinin ifadelerindeki değişimlerin TÛ'nün tuz stresine toleransta rol alabileceğini göstermektedir.

Bitki hücre çeperleri polisakkaritler (selüloz, hemiselülozlar, pektinler, lignin ve süberin gibi), çeşitli yapısal proteinler ve yağ asidi türevi bileşiklerden oluşmakta ve bunlar bitkinin büyümesi, gelişmesi ve olumsuz çevresel etkilerden (hem biyotik hem de abiyotik) korunmasında önemli roller oynamaktadır (Lampugnani vd. 2018). Abiyotik stres sırasında, bitki hücre çeperinin yapısal özellikleri koruma sağlamakta ve bitkiler üzerindeki her türlü zararlı etkiye karşı ilk savunma hattı olarak hareket etmektedir (Somerville vd. 2010). Bitki hücre çeperinde, selüloz hem primer hem de sekonder hücre duvarının ana bileşenini oluşturmakta ve fotosentez ürünleri için önemli bir havuzu temsil etmektedir (Demura ve Ye 2010). Selüloz sentazlar (*CesA*) selüloz sentezinde rol oynayan başlıca enzimlerdir. *Arabidopsis*'te, *CesA* genlerinin tuz stresine yanıtta rol aldığı (Heyndrickx vd. 2014) ve *CesA6* geninin tuz stresi toleransı için önemli olduğu (Zhang vd. 2016) bildirilmiştir. Çalışmamızda NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında hücre çeperi biyosentezinde yer alan altı genin *CesA* (*Zm00001eb046440*, *Zm00001eb095350*), *CesA11*, *CesA12*, *CesA13*, *CESA1\_2* ifade seviyesi önemli düzeyde artış göstermiştir. Bununla birlikte, hücre çeperi selüloz biyosentez sürecinde ve selüloz mikrofibril organizasyonunda yer alan *Bk2L7* geninin de arttığı tespit edilmiştir. Sekonder hücre çeperini oluşturan hemiselüloz, ksilan adı verilen  $\beta$ -(1,4)-bağlı ksiloz birimlerinden oluşan bir polimerdir. Plazma zarındaki büyük kompleksler tarafından sentezlenen selülozun aksine, ksilan golgi aygıtındaki enzimler tarafından sentezlenmektedir. Bu nedenle ksilan sentezi, bu sentetik enzimlerin

yanı sıra substratları sentezleyen ve golgiye taşıyan diğer enzimlerin koordineli hareket etmesini ve düzenlenmesini gerektirmektedir. Bu nedenle, UDP–ksiloz taşıyıcıları ksilan sentezi için gerekmektedir (Rennie ve Scheller 2014). Tuz stresine maruz bırakılan *Lotus tenuis*’te selüloz ve hemiselüloz içeriğinin önemli düzeyde azaldığı gösterilmiştir (Vago vd. 2021). *XTH* (ksiloglukan endotransglukozilaz/hidrolazlar) hemiselüloz modifikasyonu için gerekmektedir. Tuz stresine maruz bırakılan *Medicago truncatula*, kavak, halofit *Salicornia europaea* bitkilerinde *XTH*’lerin farklı ifade profilleri gösterdikleri bildirilmiştir (Xuan vd. 2016, Cheng vd. 2021, Tiika vd. 2021). Bu bağlamda, tuz stresine yanıtta hemiselüloz ve bileşenlerinin önemi vurgulanmıştır (Dabravolski ve Isayenkov 2023). Çalışmamızda NaCl’e göre TÛ+NaCl uygulamasında *UXT1* (UDP–xylose transporter 1) ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu sonuçlar, TÛ’nün hücre çeperi metabolizmasını etkileyerek hücre bütünlüğünün korunmasında rol oynayabileceği ve buna bağlı olarak tuz stresine toleransa katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Bitki sekonder metabolitleri (SM’ler) primer metabolik süreçlerin doğal yan ürünleridir. SM’ler bitki büyümesi, metabolizması ve gelişiminde doğrudan bir rol almazken bitki savunma mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. SM’lerin birincil işlevi, olumsuz koşullar altında bitkilerin büyümesini ve hayatta kalmasını iyileştirmektir (Zandalinas vd. 2017). SM’ler, stresli ortamlarda bitki büyümesi ve hayatta kalması üzerinde uzun vadeli etkiler göstermektedir (Agostini–Costa vd. 2012, Kurepin vd. 2017). Bitkilerde alternatif mekanizmalarla çok çeşitli SM’ler sentezlenmekte ve terpenler, fenoller ve alkaloidler olarak sınıflandırılmaktadır. Fenolik bileşikler, bitkilerde fenilalaninden şikimik asit yolu ve malonik asit yolu kullanılarak sentezlenmektedir (Ghasemzadeh vd. 2011). Fenilalanin amonyum liyaz (PAL) ve kalkon sentaz (CHS), çeşitli stres koşulları altında bitki fenolik seviyelerini düzenleyen ve fenolik bileşiklerin sentezlenmesinde önemli rol oynayan anahtar enzimlerdir. Sekonder metabolitlerin tuzluluk stresi altında olumsuz etkilendikleri iyi bilinmektedir (Salim vd. 2019, Sofy vd. 2020, Raza 2022). Çalışmamızda NaCl’e göre TÛ+NaCl uygulamasında, fenilalanin öncüsü olan korizmat sentez enzimi *DHS* (Phospho–2–dehydro–3–deoxyheptonate aldolase), şikimik asit yolunda görev alan *SK* (şikimat kinaz), fenolik bileşiklerin sentezlenmesinde anahtar rolü olan *PAL*, terpen biyosentezinde yer alan *TPS1* (Acyclic sesquiterpene synthase),

*KSB* (Ent-kaurene synthase B), *TPS7* (T-kadinol sentaz), *CAMS1* (Camelliol C synthase), alkaloid metabozlizmasında ve strese yanıtta yer alan *IRL* (Isoflavone reductase homolog IRL) genleri artan ifade profilleri göstermiştir. T 'n n tuz stresine yanıtta sekonder metabolit biyosentezini artırması önceki çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermiştir (Golkar vd. 2019, Assaf vd. 2022, Shahid vd. 2023). Bu bağlamda abiyotik streslerle mücadelenin anahtarı olan sekonder bileşiklere ait yolların T  ile teşvik edilmesi tuz stresine toleransta önemli olduğu öne sürülebilir.

Bitki büyüme düzenleyicileri olarak kabul edilen fitohormonlar, farklı biyosentez yollarından sentezlenen, stresli koşullar altında ya da normal büyüme ve gelişme tepkilerine aracılık etmek için sentezlendikleri yerde veya bitkinin farklı kısımlarına taşınarak orada etkili olan bileşiklerdir (Peleg ve Blumwald 2011). Bitkiler birçok fizyolojik ve biyokimyasal süreci absisik asit (ABA), gibberellin (GA), etilen (ETHY), oksin (IAA), sitokinin (CK) ve jasmonik asit (JA) gibi çeşitli fitohormonların aktivitesi ile koordineli bir şekilde düzenlenmektedir (Iqbal vd. 2014). Fitohormonlar gelişim sürecini düzenlemekle birlikte farklı abiyotik streslere karşı bitkilerin savunma mekanizmasında da önemli roller üstlenmektedir. Tuz stresi koşullarında, fitohormon seviyeleri ve aktiviteleri de i erek bitkilerin fizyolojik süreçlerini düzenlenmektedir (Yang vd. 2017, Zhang vd. 2017, Wei vd. 2018, Hoang vd. 2019, Jang vd. 2020, Wang vd. 2020). Absisik asit (ABA) bitki büyümesini, gelişimini ve stres tepkilerini düzenleyen önemli bir fitohormondur. ABA'nın farklı bitkilerde tuz stresine yanıtta görev aldığı bildirilmiştir (Wang vd. 2015, Sah vd. 2016, Dar vd. 2017, Marusig ve Tombesi 2020). Stres sırasında ABA, *PYL* (pyrabactin resistance) reseptörüne ba lanarak *PP2C* aktivitesinin inhibisyonuna ve ardından *SnRK2*'lerin (SNF1-ilgili protein kinazlar) aktivasyonuna neden olmaktadır (Fujii vd. 2009, Wang vd. 2018). Çalışmamızda NaCl'e göre T +NaCl uygulamasında, hiper ozmotik yanıtın sinyal iletiminde rol oynayan ve *PYL10*, *PP2C53* ve *SAPK8* ile stres yanıtında yer alan ve ABA sinyal modülünü oluşturan *SAPK10* (serin/treonin-protein kinaz) gen ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. *SnRK2*'ler, *ABRE*'ler (ABA-duyarlı promotör elementler) ve *ABF*'ler (*ABRE* bağlayıcı faktörler) gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedir. Tuz stresi koşulları altında ABA'ya duyarlı fizyolojik süreçleri düzenleyen *SnRK2* kinaz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Du vd. 2012,

Golldacket vd. 2014). Bu bulgular, ABA sinyal yolunun ve SAPK10 gibi kinazların tuz stresine karşı bitkilerin adaptasyonunda önemli bir rol oynadığını ve bu mekanizmanın Tü ile daha etkin hale getirilebileceğini göstermektedir.

Oksin, bitkilerin tuz ve kuraklık stresine yanıtın düzenlenmesinde rol oynayan çok önemli bir fitohormondur. Kimyasal bir haberci olarak oksin, DNA bağlayıcı oksin cevap faktörleri (*ARF*) olarak adlandırılan, işlevsel olarak farklı transkripsiyon faktörlerinden oluşan bir aile aracılığıyla gen ifadesini düzenlemektedir. Mevcut araştırmada, NaCl'e göre Tü+NaCl uygulamasında üç farklı *ARF* geninin (Zm00001eb350370, Zm00001eb284310 ve Zm00001eb301590) ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. Çeşitli çalışmalar, *ARF*'lerin bitkilerde tuz stresi tepkilerinin düzenlenmesinde önemli rolleri olduğunu ortaya koymuştur (Bouzroud vd. 2018, Tang vd. 2022, Wang 2022, Chen 2023). *ARF*'ler çözünür şeker içeriğini düzenlemekte, kök gelişimini teşvik etmekte ve bitkilerin tuz stresine uyum sağlamasına yardımcı olmak için klorofil içeriğinin korunmasında görev almaktadır (Verma vd. 2022). Bu bulgular, Tü bileşiğinin bitkilerde oksin sinyal yolunun etkinliğini artırarak stresle mücadelede önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Tetrasiklik diterpenoid bitki hormonu olan GA, bitkilerde büyüme ve gelişmede rol almaktadır. GA, çeşitli fiziko-biyokimyasal ve moleküler süreçleri düzenleyerek bitkilerde abiyotik streslerin neden olduğu hasarın azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır. GA, izoprenoid biyosentez yolundan sentezlenen GGPP (geranil-geranil pirofosfat) öncülünden sentezlenmektedir. GGPP'den ilk olarak kopalil difosfat ardından ent-kauren sentezlenmektedir (Graebe 1987). Sentez yolağında GA2 (Ent-kaurene sentaz B-2) ve *TPS1* (Asiklik seskiterpen sentaz) genleri ent-kopalil difosfatın ent-kaurene dönüşümüne aracılık etmektedir. Çalışmamızda NaCl'e göre Tü+NaCl uygulamasında, GA2 ve *TPS1* gen ifadeleri önemli düzeyde artış göstermiştir. GA20ox geni GA biyosentezinde anahtar rol oynamaktadır. GA4/1 (biyoaktif form), GA20ox ve GA3ox enzimleri tarafından GA12, GA15, GA24 ve GA9 öncüllerinden sentezlenmektedir. Tuz stresine maruz bırakılan *Sueda salsa*'da GA20ox ve GA2ox genlerinin inhibisyonu sonucu GA3 içeriği azalmış ve bu durumun sürgün büyümesinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Yang vd. 2022). Tuz stresinin GA biyosentezini

inhibe ederek tohumlarda GA deaktivasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir (Li vd. 2016). Bunların aksine, *Limonium bicolor*'da melatonin uygulaması, NaCl uygulaması ile ifadeleri azalan *GA20ox* ve *GA3ox* genlerinin ifade seviyesini artan yönde düzenlenmesine neden olmuştur. Çalışmamızda da NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında *GA20ox2* ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. *GA20ox* ve *GA3ox* genlerini aşırı ifade eden transgenik *Arabidopsis* fidelerinin tuz stresi altında büyümeye devam ettikleri gösterilmiştir (Teshome vd. 2021). Bu sonuçlar, TÛ uygulamasının GA sentezi üzerindeki baskılayıcı etkiyi azaltarak tuz stresinin olumsuz etkilerinin iyileştirilmesinde rol alabileceğini ileri sürebilir.

Gaz formundaki bitki hormonu etilen, bitki büyümesi ve gelişiminin önemli bir düzenleyicisidir. Etilen üretimi, sentez enzimlerinin (SAM sentaz) transkripsiyonel ve posttranslasyonel kontrolünün yanı sıra bitişik Yang döngüsü boyunca metabolik akışta anahtar rol oynayan S-adenozilmetiyonin'in (SAM) homeostazı ile yakından bağlantılıdır. Etilenin bitkilerde tuzluluk stresi yanıtlarında anahtar düzenleyici olduğu bildirilmiştir (Riyazuddin vd. 2020). Çalışmamızda NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında etilen öncüsü SAM sentezinde anahtar rol oynayan *SAM* gen ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. Buna ek olarak, bir metil grubunun 5-metiltetrahidrofolattan homosisteine transferini katalize ederek metiyonin biyosentezinde rol alan 5-metiltetrahidropteroylglutamat-homosistein metiltransferaz gen ifadelerinin (*MS*; Zm00001eb218320 ve Zm00001eb052750) artan yönde düzenlendiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde *SAM* ifadesinin *Arabidopsis* (Yang vd. 2013), mısır (Freitas vd. 2018), asma (Xu vd. 2019) ve domateste (Gharbi vd. 2017) tuz stresi toleransını artırdığı gösterilmiştir. Çalışmamızda NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamasında gözlemlenen *SAM* genlerinin ve *MS* genlerinin artan ifadesi, etilen ve metiyonin biyosentezinin tuz stresine karşı yanıtı düzenleyici rolünü işaret etmektedir. Bu bulgular, TÛ'nün tuz stresine karşı bitkilerin uyum sağlamak için metabolik yolları güçlendirdiğini ve etilen üretimini teşvik ettiğini göstermektedir.

### 5.3 Tuz Stresi Altındaki Mısır Fidelerinde Tiyoürenin Proteomik Değişimler Üzerine Etkileri

Proteomik, biyolojik araştırmaların bir adım ötesine geçerek genetik bilgiyi protein düzeyine taşımakta ve bu proteinlerin nasıl çalıştığını, nasıl etkileşimde bulunduklarını ve hangi süreçlerde rol oynadıklarının yardımcı olmaktadır. Mevcut araştırmanın sonuçları, mısır fidelerinin yaprak dokusunda NaCl ve TÛ+NaCl uygulamalarının protein ifade değişimleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Uygulamalara bağlı olarak protein ifade profillerindeki değişiklikler nLC–MS/MS analizleri ile belirlenmiş ve biyoinformatik analizlerle değerlendirilmiştir. Gen ontolojisi (GO) analizleri, ifadesinde değişiklik gösteren proteinlerin fotosentez, taşıma sistemi, antioksidan sistem, karbohidrat ve enerji metabolizması ve protein metabolizması ile ilgili hücresel bileşen, metabolik fonksiyon ve biyolojik süreçlerde görev yapan proteinler olduğu tespit edilmiştir.

Akuaporinler, su ve diğer küçük moleküllerin ozmotik gradyan boyunca seçici ancak pasif çift yönlü hareketini sağlayan integral zar proteinleridir. Çoğu bitkide, bu işlevi gerçekleştiren 35 farklı akuaporin geni bulunmaktadır (McGaughey vd. 2016). Bu durum, bitkilerin gelişim süreçlerinde ve çevresel değişimlere yanıt olarak farklı işlevlere sahip akuaporinleri çeşitli şekillerde düzenleme yeteneğini kazandırmıştır. Bitkilerdeki akuaporin alt aileleri, dizi benzerliği ve hücre altı lokalizasyonlarına dayanarak plazma zarı proteinleri (PIP'ler) ile tonoplast proteinlerini (TIP'ler) içerir. Bitki akuaporinlerinin yalnızca bitki–su ilişkileri açısından değil, aynı zamanda bitkilerin abiyotik streslere karşı verdikleri tepkilerde de kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir (Chaumont ve Tyerman 2017). Arabidopsis köklerinde yapılan bir çalışmada, 100 mM NaCl uygulamasının PIP1, PIP2 ve TIP proteinlerinin ifade seviyelerini anlamlı şekilde azalttığı bildirilmiştir (Boursiac vd. 2005). Ayrıca, *Mesembryanthemum crystallinum* fidelerine 2 hafta boyunca 200 mM NaCl uygulamasının yaprak dokularında TIP1;2 ifadesinde azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir (Kirch vd. 2000). Ayrıca, Arabidopsis'te 100 mM NaCl uygulamasının PIP1 ifadesini artırırken, PIP2 ifadesini azalttığı belirtilmiştir (di Pietro vd. 2013). Bu çalışmada ise, PIP1–2, PIP2–2, PIP2–4 ve TIP1–1 proteinlerinin ifade seviyeleri, NaCl ve TÛ+NaCl uygulamaları sonucunda belirgin bir şekilde azalmıştır. İyonik stres ve

ozmotik stres arasındaki protein seviyelerindeki bu farklılıklar, tuz stresinin sadece osmotik stresle karşılaştırıldığında akuaporinlerin nasıl düzenlendiğini gösterebilir. Sonuçlar, literatürle ve transkriptomik analizlerle tutarlıdır. Bu bağlamda, NaCl ve Tü+NaCl uygulamaları ile PIP gen ve protein ifadelerindeki azalma, akuaporinlerin tuz stresine yanıt olarak hücre içindeki su kaybını azaltmaya ve osmolit birikimini artırmaya yardımcı olduğuna işaret edebilir.

Kalsiyum iyonu ( $Ca^{2+}$ ), çok çeşitli çevresel ve fizyolojik uyarılara karşı bitki tepkilerinde rol oynayan en yaygın sekonder habercidir. Uyarıcıya özgü sinyaller, sitozoldeki  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunu yükseltmekten sorumludur ve bu da bir sinyal kaskadını başlatmak için çeşitli  $Ca^{2+}$  bağlayıcı proteinler veya  $Ca^{2+}$  sensörleri ile temas eder.  $Ca^{2+}$  bağlayıcı proteinlerin çoğu, bir sarmal–döngü–sarmal yapı olan ve bir  $Ca^{2+}$  iyonu ile bağlanabilen korunmuş bir EF–el motifine sahiptir. Çevresel stresler sırasında, sitozolik  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu hızla yükselme eğilimindedir ve bu da EF–el alanı içeren proteinlerle koordine edilir. Kalmodulin (CaM)/kalmodulin benzeri (CML), kalsinörin B benzeri (CBL), kalsiyum bağımlı protein kinazlar (CDPK, CRK, CCaMK) ve solunum patlaması oksidaz homologları (RBOHs) gibi proteinler EF–El alanı içeren protein ailesine dahildir. Buğdayda tuz stresinin  $Ca^{2+}$  bağımlı proteinlerin ifadesi üzerinde farklı etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Kaur vd. 2022). Çalışmamızda iki CaM ve iki EF-El alanı içeren protein tespit edilmiştir. CaM ifadesi NaCl stresinde artarken, Tü+NaCl uygulamasında daha da artmıştır. EF–El alanı içeren proteinin ifadesi NaCl uygulamasında artarken, Tü+NaCl uygulamasında ifadesi azalmıştır. Bir diğer EF–El alanı içeren protein ifadesi de önemli düzeyde azalma göstermiştir. Kaur vd. (2022) aynı şekilde  $Ca^{2+}$  bağımlı protein ifadelerindeki bu farklılıkların bitki büyümesi ve gelişimine katılımlarını göstermiştir. Ayrıca  $Ca^{2+}$  bağımlı proteinlerin ve genlerin ifadelerinin farklı şekilde düzenlenmesi, tuz stresine karşı savunmadaki önemli işlevlerini ortaya çıkarmıştır.

Potasyum kanalı, düşük  $K^+$  koşulları altında,  $K^+$  alımını artırmak için aktive edilmektedir (Xu vd. 2006). Bitkilerde tuz stresine bağlı oluşan aşırı  $Na^+$  birikimi genellikle  $K^+$  eksikliğine yol açmaktadır (Assaha vd. 2017). Bu nedenle,  $K^+/Na^+$  oranını korumak, bitkilerin tuz stresine uyum sağlamak için kullandığı önemli bir

mekanizmadır. Bu bağlamda, potasyum kanallarının tuz stresi altındaki bitki hücrelerinde  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  oranının korunmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Ma vd. 2017). Mevcut çalışmada NaCl stresi altında potasyum kanal aktivitesinde önemli bir değişiklik tespit edilememesine karşın Tü+NaCl uygulaması ile potasyum kanal ifadesi NaCl stresine kıyasla önemli düzeyde artış göstermiştir. NaCl stresinin potasyum kanal aktivitesini inhibe ettiği ve  $\text{K}^+$  alımını engellediğini gösterilmiştir (Qi ve Spalding 2004). Bu sonuç, Tü ilavesinin NaCl stresinin bitki hücrelerinde potasyum kanal aktivitesini iyileştirebileceğini ve  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  oranını dengelemeye yardımcı olabileceğini gösteriyor.

Magnezyum (Mg) elementi fotosentez, enzim aktivasyonu ve nükleik asit ve protein sentezine katılım gibi işlevleri ile bitki büyümesi için gerekli makro besinlerden biridir (Ahmed vd. 2023). Mg sınırlayıcı hale geldiğinde bitki büyümesi ve gelişimi büyük ölçüde engellenebilir, bu da hem ürün verimliliği hem de kalitesi üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadır (Verbruggen ve Hermans 2013). Araştırmamızda NaCl stresi altında Mg taşıyıcı protein ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. Ayrıca Tü+NaCl uygulaması da kontrole göre önemli düzeyde artmış ancak NaCl uygulamasına kıyasla ifadesi azalmıştır. Benzer olarak,  $\text{K}^+$  taşıyıcı genlerin ve proteinlerin artan ekspresyonuna ek olarak, Mg taşıyıcısı gibi proteinlerin ve genlerin de tuz stresi altında artan yönde düzenlendiği bildirilmiştir (Wu vd. 2017). Bu proteinlerin tuz stresi altında artan yönde düzenlenmesi, bitkide iyon homeostazını korumasına ve tuz toksisitesinin üstesinden gelmesine yardımcı olabilir.

$\text{H}^+$ -ATPazlar, ATP hidrolizini membranlar boyunca elektrokimyasal proton gradyanlarının oluşumuyla eşleştiren proton ( $\text{H}^+$ ) pompalarıdır.  $\text{H}^+$ -ATPazlar esasen fosforile ara tip (P-tipi) ve vakuolar tip (V-tipi)  $\text{H}^+$ -ATPazlar (VHA'lar) olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılır. VHA'lar, tonoplastın yanı sıra endositoz, geri dönüşüm ve salgı yollarından proteinleri alan ve taşıyan oldukça dinamik bir organel olan trans-Golgi ağı/erken endozom (TGN/EE) gibi salgı yolundaki endomembran bölmelerinde yer alır (Dettmer vd. 2006, Viotti vd. 2010). VHA'ların transkript seviyeleri, protein seviyeleri ve aktiviteleri hem halofitlerde hem de glikofitlerde tuz stresi altında düzenlendiği bildirilmiştir (Golldack vd. 2001, Wang vd. 2001).

Endozomal sistemde, VHA aracılığıyla sağlanan pH dengesinin, endozomal  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  taşıyıcılarının aktivitesini etkileyerek tuz toleransına katkı sağlayabileceği öne sürülmüştür (Liv d. 2022). Ayrıca,  $\text{H}^+$ -ATPazlar,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarını apoplast, vakuol ve büyüme ortamına dağıtmak için tonoplast  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter tarafından kullanılan itici güç olan  $\text{H}^+$  elektrokimyasal gradyanını oluşturur (Ashraf ve Harris 2004). Çalışmamızda, vakuolar proton pompası alt birimi B, V-tipi proton ATPaz katalitik alt birimi A ve V-tipi proton ATPaz alt birimi E3 proteinlerinin ifade seviyeleri NaCl uygulaması altında önemli ölçüde artmıştır. Benzer şekilde, yapılan diğer çalışmalar, VHA'nın artan ifadesinin çeşitli bitkilerde tuz toleransını artırabileceğini göstermektedir (Baisakh vd. 2012, Adem vd. 2017). Plazma membran (PM)  $\text{H}^+$ -ATPaz'ları, P-tipi ATPazlar adı verilen geniş bir pompa süper ailesine ait olup, bitki plazma membranının önemli enzim proteinlerinden biridir (Arango vd. 2003). PM  $\text{H}^+$ -ATPazlar, besin alımı, hücre içi pH düzenlemesi, stomaların açılması ve hücre büyümesi gibi fizyolojik işlevlerde merkezi bir rol oynar ve plazma membranı boyunca sekonder aktif taşıma için enerji sağlamada önemli bir görevi vardır (Serrano 1990). Çalışmamızda, plazma membran ATPaz ifadesi, hidrojen taşıyıcı ATP sentaz,  $\text{H}^+$ -taşıyıcı iki sektörlü ATPaz ve ADP/ATP taşıyıcı protein 1 proteinlerinin ifadeleri NaCl uygulaması altında azalma göstermiştir. Diğer çalışmalarda da tuz stresine yanıt olarak PM  $\text{H}^+$ -ATPaz ifadesinin azaldığı bildirilmiştir (Liang vd. 2006, Ghassemi-Golezani ve Abdoli 2021). Proteomik sonuçlar, Batelli vd. (2007)'nin bulgularına benzer şekilde, VHA'ların ifadesindeki artış ve plazma membran ATPaz proteinlerinin ifade seviyelerindeki azalmanın, tuz toleransını artırmak için  $\text{Na}^+$ 'un vakuolar kompartımanlaşmasını sağlamak amacıyla proton itici güç oluşturarak bitkilerde tuz stresine yanıt olarak anahtar bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Tuz stresi fotosentetik elektron taşıma zincirini etkiler ve fotosentetik aktivitenin azalmasına neden olmaktadır. Tuz stresi altında tilakoid membran bileşimindeki ifade değişikliklerine bağlı olarak önemli yapısal ve işlevsel farklılıklar tespit edilmiştir (Unnep vd. 2014, Sun vd. 2016, Labudda vd. 2020, Zeeshan vd. 2020, Stefanov vd. 2021). Oksidatif stres ve iyon toksitesi nedeniyle meydana gelen bu değişiklikler fotosentetik aparatta ve ışık toplayıcı komplekste hasara neden olmakta, böylece LHCB, PSII, PSI, kinon ve PQ'ların yapısal bütünlüğünü bozarak fotosentetik verimin

azalmasına yol açmaktadır (Arif vd. 2020, Sun vd. 2016, Hessini vd. 2025). PSII kompleksinin abiyotik stres altında fotosentetik aygıtın en hassas bölgesi olduğu bildirilmiştir (Baker 1991, Lu vd. 2003, Hakala vd. 2005, Vass 2012). Çalışmalar başta PSII olmak üzere PSI ve diğer proteinlerin tuz stresi altında değişen ifade profilleri sergilediklerini göstermiştir (Liang vd. 2018). İfade profillerindeki farklılıklara ek olarak PSII ve PSI'nin yapısal olarak da farklılığa uğradığı bildirilmiştir (Mehta vd. 2010, Jajoo vd. 2013). Ayrıca, tuzun ferredoksin ve ferrodoksin–tiyoredoksin ifadeleri üzerindeki etkisi de gösterilmiştir (Duan vd. 2022). Bunlara ek olarak tuz stresinin klorofil içeriklerinde değişikliğe neden olduğu gösterilmiştir (Ahmad vd. 2022, Adil vd. 2022). Çalışmamızda, tilakoyid lümen proteini (3 protein), ferredoksin (2 protein), ferredoksin–tiyoredoksin redüktaz (2 protein), plastosiyanin, ubikinon ve fotosistem II onarım proteini PSB27–H1 ifade seviyeleri kontrole göre NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarında önemli düzeyde artış göstermiştir. Bunlara ek olarak, fotosistem I reaksiyon merkezi alt birimi N, fotosistem II D1 işleme proteini PSB27–H2, fotosistem II reaksiyon merkezi Psb28 proteini ve NAD(P)H–kinon oksidoredüktaz alt birimi M ifadeleri kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış gösterirken ortama TÜ ilavesi bu seviyeleri daha da artırmıştır. Ayrıca, klorofil a–b bağlayıcı protein (11 protein), PSI ilişkili (PSI PGR5 benzeri protein 1A, PSI alt kompleks B 4 kloroplastik fotosentetik NDH alt birimi, PSI alt kompleks B 5 kloroplastik fotosentetik NDH alt birimi, fotosistem I montaj proteini Ycf4 ve fotosistem I reaksiyon merkezi alt birimi III), PSII ilişkili (fotosistem II 10 kDa polipeptit, fotosistem II CP43 reaksiyon merkezi proteini, fotosistem II CP43 reaksiyon merkezi proteini, fotosistem II CP47 reaksiyon merkezi proteini, fotosistem II D2 proteini, fotosistem II proteini D1 ve fotosistem II alt birimi PsbS1), magnezyum–protoporfirin IX monometil ester (oksidatif) siklaz, NAD(P)H–kinon oksidoredüktaz alt birimi U, PSI birikimi için gerekli olan nükleer genom kodlu faktör olan tetratrikopeptit tekrar alanı içeren protein PYG7 ve PSII onarımında yer alan metanol dehidrojenaz tip beta–propeller alanı içeren proteinlerin ifadeleri kontrole göre NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarında önemli düzeyde azalmıştır. Diğer taraftan, NAD(P)H–kinon oksidoredüktaz alt birimi H ve klorofil biyosentezinde anahtar enzim olan ferroşelataz proteinlerinin ifadeleri kontrole göre NaCl uygulamasında azalırken ortama TÜ ilavesi özellikle ferroşelataz ifadesini önemli düzeyde artırmıştır. Bu sonuçlar tuz stresinin fotosentezi önemli ölçüde etkilediğini ve

dışsal T  uygulamasının tuz stresinin neden olduğu fotosentetik hasarı iyileştirebileceğini göstermektedir.

Dünya üzerinde en bol bulunan protein olan RuBisCO fotosentez sırasında karbon fiksasyonundan sorumludur ve tuz stresi, yüksek ışık, sıcaklıklar da dahil olmak üzere birçok büyüme koşulunda ürün veriminin belirlenmesinde kilit bir rol oynamaktadır. RuBisCO ve pirüvat fosfat dikinaz (PPDK) proteinlerinin C<sub>4</sub> bitkilerinde fotosentezde hız sınırlayıcı enzimler olduğu bildirilmiştir (Spreitzer ve Salvucci 2002). RuBisCO içeriği ve aktivitesindeki değişiklikler, abiyotik streslerin fotosentezi etkilediği en önemli kanıtlardan biridir (Omoto vd. 2012, Shu vd. 2015, Abdalbaki vd. 2022). Tuz stresinin RuBisCO ve PPDK aktivitesini etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Li vd. 2017, Reddy vd. 2017, Xu vd. 2018). Mevcut  alışmamızda RuBisCO büyük zincir, RuBisCO küçük alt birimi, RuBisCO büyük alt birim bağlayıcı protein alt birimi alfa protein ve üç PPDK enziminin ifade seviyeleri T +NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu sonuçlar, tuz stresine maruz bırakılan bitkilere dışsal SA (ElSayed vd. 2022) ve melatonin (Yan vd. 2021) uygulamalarıyla benzerlik göstermiş ve her iki uygulamada da RuBisCO ifade seviyeleri tuz stresine kıyasla artış göstermiştir. Bunlara ek olarak, tuz stresinin gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) (Kappachery vd. 2021), fosfoenolpirüvat karboksilaz (PEPC) (Feria vd. 2016) ve karbonik anhidraz (CA) (Mohamed vd. 2021) gibi karbon  z mlmesi ile ilgili enzimleri de etkilediği bildirilmiştir. Mevcut araştırmada GAPDH ve PEPC ifadeleri NaCl uygulamasına göre T +NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış göstermiştir. Buna karşın, CA ifadesi kontrole göre NaCl ve T +NaCl uygulamalarında önemli düzeyde azalmıştır. CA aktivitesinin *Pistacia vera* (Tavallali vd. 2009), *S. lycopersicum* (Wani vd. 2013) ve *Brassica juncea*'da (Hayat vd. 2013) tuz stresi altında azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun fotosentezle ilgili diğer proteinlerin seviyeleriyle aynı şekilde düzenlenmesinden kaynaklanabileceği varsayılmıştır (Evers vd. 2012, Hayat vd. 2013). Sonuçlar, tuz stresine yanıtta dışsal T  uygulamasının RuBisCO, PPDK, PEPC ve GAPDH ifadesini artırarak fotosentezi iyileştirebileceğini göstermektedir. Ayrıca proteom analizi NaCl stresi ve T  uygulamasının malik enzim ifadesinin önemli düzeyde teşvik ettiğini göstermiştir. Malik enzim, malatın pirüvat, CO<sub>2</sub> ve NAD(P)H'ye geri-dönüşümlü oksidatif dekarboksilasyonunu katalize eden anahtar bir enzimdir (Sun

vd. 2024). Bu bağlamda NaCl stresi altındaki mısır fidelerine T  uygulanmasının CO<sub>2</sub> salınımını artırabildiği ve bunun da CO<sub>2</sub>  z ml me sürecini destekleyerek bitkilerin tolerans kazanabileceği ileri sürülebilir.

Mitokondriyal solunum ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsü aktivitesi, bitkilerde tuz stresi sırasında iyon dışlama, uyumlu c z nen sentezi ve ROT detoksifikasyonu gibi adaptif süreçler için gereklidir. Tuz stresi sırasında, TCA döngüsünün çalışması için gerekli olan temel metabolik enzimlerin ifadelerinde farklılıklar bildirilmiştir (Che–Othman vd. 2020). Mevcut araştırmamızda TCA döngüsünün enzimleri olan fumarat hidrataz, izositrat dehidrojenaz [NAD] düzenleyici alt birim 3, malat dehidrojenaz ve süksinat dehidrojenaz 10 proteinlerinin ifade seviyeleri kontrole göre NaCl uygulamasında önemli düzeyde artmıştır. Ortama T  ilavesi ile NaCl uygulamasına kıyasla enzimlerin ifadeleri azalmıştır. Bu bağlamda, bitkinin tuz stresine karşı koyabilmesi için artan enerji (ATP, NADH ve FADH<sub>2</sub>) ihtiya ını karşılamak üzere enzim ifadesini artırdığı, buna karşın T  uygulamasının enzim ifadelerini azaltması T  teşvikli oksidatif hasarın azaltılmasıyla ilişkili olabileceğini ileri sürebilir.

Tuz stresinin mitokondriyal elektron taşıma zinciri üzerine olumsuz etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Eprintsev vd. 2021). Elektron taşıma zincirinin tuz kaynaklı inhibisyonu, ps dosiklik elektron taşınımına yol açarak reaktif oksijen türlerinin aşırı birikmesine neden olmaktadır (Al–Farsi vd. 2020, Yan vd. 2021, Zahra vd. 2021a). Sitokrom c oksidaz, i  mitokondriyal membranda bulunan ve moleküler oksijenin suya indirgenmesini katalize ederek ATP sentezlemek için kullanılan bir transmembran proton gradyanı üretilmesini sağlamaktadır (Richter ve Ludwig 2003). Çalışmamızda sitokrom c oksidaz alt birimi 5C ve sitokrom c1 1 hem proteinleri tespit edilmiştir. Sitokrom c oksidaz alt birimi 5C ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında artış gösterirken, T +NaCl uygulamasında önemli düzeyde azalmıştır. Sitokrom c1 1 hem protein ifadesi ise hem NaCl hem de T +NaCl uygulamalarında kontrol fidelerine göre azalmıştır. Benzer olarak, Monterisi vd. (2024), tuz stresi altındaki marul fidelerinde sitokrom c oksidaz ifadesinde azalma olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan, bitkilerin büyüme, gelişme ve strese yanıt verme süreçlerinde gerekli olan ATP mitokondriyal ATP sentaz enzimi tarafından üretilmektedir (Ramadan vd. 2023). Çalışmamızda ATP

sentaz delta zinciri ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında değişmezken, ortama Tü ilavesi bu proteinin seviyesini artırmıştır. Bu sonuçlar, Tü'nün enerji metabolizmasında rol alan proteinlerin ifadesini düzenlenerek tuz toleransının artmasına yardımcı olabileceğini ileri sürebilir.

Redoks homeostazı ve oksidatif stres, CAT, APX, Fe-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, GPX, tiyoredoksinler (TRX'ler), peroksiredoksinler (PRX'ler), glutaredoksinler (GRX'ler) ve glutatyon S-transferazlar (GST'ler) gibi enzimleri ve bu enzimlerin katıldığı askorbat-glutatyon döngüsü (ASA-GSH) gibi antioksidan sistemler tarafından kontrol edilmektedir (Hossain vd. 2015). Bu sistemlerin özellikle kloroplastta ROT temizlenmesinde önemli rolleri olduğu (Asada 2006) ve tuz stresi gibi abiyotik stres koşullarında fotosentezin sürdürülmesinde önemli roller üstlendikleri bildirilmiştir (Foyer ve Noctor 2015). ASA-GSH döngüsünde, hem içeren APX oksitlenen indirgenmiş askorbatı kullanarak  $H_2O_2$ 'yi temizlemektedir. Bu oksitlenmiş formlar, indirgeyici olarak sırasıyla NADPH ve GSH kullanan monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) tarafından indirgenmektedir. Tuz stresinin buğday ve çeltik fidelerinde Cu/Zn-SOD, SOD ve CAT ifade seviyelerini artırdığı bildirilmiştir (Abbasi ve Komatsu 2004, Caruso vd. 2008, Li vd. 2020). Benzer şekilde, çalışmamızda Cu/Zn-SOD, SOD, CAT, APX ve peroksidaz ifadeleri kontrole göre NaCl uygulamasında artmış, Tü+NaCl uygulaması SOD, CAT ve peroksidaz ifadesini daha da artırmıştır. Buna ek olarak tuz stresine maruz bırakılan Arabidopsis fidelerinde Cu-SOD ifadesinin bakır şaperon ifadesiyle doğru orantılı olduğu bulunmuştur (Attia vd. 2011). Mevcut çalışmada da bakır şaperon ifadesi NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında artış gösterdiği tespit edilmiştir. GST'ler ve GPX'ler birçok organizmada abiyotik strese cevapta iyi korunmuş bir mekanizmadır (Madhu vd. 2023). Bitkilerde GPX aktivitesinin GST ve izozimleriyle bağlantılı olduğu bulunmuştur (Madhu vd. 2023). Mevcut araştırmada GST, GST3 ve GPX proteinlerinin kontrole göre NaCl stresinde ifadeleri artarken, Tü+NaCl uygulamasında NaCl uygulamasına kıyasla ifade seviyeleri azalmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde GST ve GPX ifadesinin NaCl stresine yanıtta artışı ve stres toleransında önemli roller oynadığı Gao vd. (2014) ve Muslu vd. (2024) tarafından gösterilmiştir.

Glutamat dekarboksilaz (GAD), L-glutamik asidin (Glu) dekarboksilasyonu yoluyla  $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA) oluşumunu katalize eden bir enzimdir. Bitkilerde GABA'nın sinyal iletimi, pH düzenlemesi ve tuz stresi gibi abiyotik streslere yanıtta rol oynadığı bildirilmiştir (Li vd. 2021). Bununla birlikte, GAD ifadesindeki artışın GABA miktarlarını artırdığı gösterilmiştir (Wang vd. 2017). Mevcut çalışmada, GAD proteininin ifade seviyesi kontrole göre NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında önemli düzeyde artış göstermiştir. GAD proteininin ifadesindeki bu artış, mısır fidesinin tuz stresine karşı GABA yanıt yollarını aktif hale getirdiğini ve muhtemelen Tü'nün bu mekanizmayı daha da güçlendirdiğini göstermektedir. Bu da bitkinin strese karşı dayanıklılığını artıran bir adaptasyon stratejisi olabilir.

GRX'ler sisteince zengin GSH aracılı oksidoredüktazlardır ve tuz stresi koşullarında ifade seviyelerinin arttığı ve böylece bitkinin tolerans kazanılmasında önemli roller oynadığı bildirilmiştir (Kumar vd. 2021). Çalışmamızda glutaredoksin-C5 kloroplastik, glutaredoksine bağımlı peroksiredoksin ve Grx\_C2.1-glutaredoksin alt grup I proteinleri belirlenmiştir. Glutaredoksin-C5 kloroplastik ve Grx\_C2.1-glutaredoksin alt grup I ifade seviyeleri kontrole göre NaCl uygulamasında artmış, ortama Tü ilavesi ifade seviyelerini azaltmıştır. Glutaredoksine bağımlı peroksiredoksin ifadesi ise Tü+NaCl uygulamasında NaCl uygulamasına kıyasla önemli düzeyde artmıştır. TRX'ler, katalitik olarak aktif bir disülfid bağına sahip küçük molekülü çok işlevli bir proteindir ve sülfhidril redoksunun düzenlenmesinde önemli bir proteindir (Limor-Waisberg ve Ben-Dor 2013). TRX'ler, redoks aktif bölgelerindeki disülfid köprülerini indirgeyerek hedef proteinlerin yapısını ve işlevini kontrol eden, farklı hücre bölmelerinde her yerde bulunan proteinlerdir. Peroksiredoksinlerle ilişkili ferredoksin-tiyoredoksin redoks sistemi, kloroplastlarda peroksidaz olarak ve ayrıca APX tamamlayıcısı ve/veya yerine işlev görebileceği bildirilmiştir. Bu bağlamda indirgenmiş tiyoredoksinin, fazla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi temizleyen çeşitli peroksiredoksinler için bir elektron donörü olarak hareket edebileceği gösterilmiştir (Dietz vd. 2006). Bitkilerde altı tip TRX (h, o, f, m, x, y) rapor edilmiştir. TRXf, TRXm, TRXh ve TRXy kloroplastik proteinlerdir ve TRXf ile TRXm'in fotosentezin düzenlenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Deschoenmaecker vd. 2019). Tüm TRX'ler hormon sentezi, enzimatik aktivasyon, translasyon, metabolizma ve abiyotik stres yanıtında önemli bir

rol oynamaktadır (Elasad vd. 2018). TRX'in ifade seviyesi, tuz stresi altında hem tuza toleranslı hem de tuza duyarlı soya fasulyesi çeşitlerinde arttığı tespit edilmiştir (Wang ve Hou 2011). Mevcut çalışmada, tiyoredoksin X, tiyoredoksin F2 kloroplastik, kloroplastik tiyoredoksin M-tipi (3 protein), tiyoredoksine bağımlı peroksiredoksin, tiyoredoksin redüktaz, kloroplastik tiyoredoksin benzeri 3-1, tiyoredoksin benzeri 4 ve kloroplastik tiyoredoksin Y1 proteinleri belirlenmiştir. Kontrole göre NaCl uygulamasında tiyoredoksin Y1 proteini hariç diğer proteinlerin ifade seviyeleri artış göstermiştir. İfade seviyelerinde artış gösteren proteinler içerisinde tiyoredoksin redüktaz hariç tümünde NaCl uygulamasına kıyasla TÛ+NaCl uygulamasında az da olsa ifadelerinde bir azalma tespit edilmiştir. Tiyoredoksin Y1 protein ifadesi kontrole kıyasla önemli ölçüde azalırken, ortama TÛ ilavesi ile ifade seviyelerinin daha da azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, TÛ'nün mısır fidelerinde tuz stresine karşı koruyucu bir etkisi olduğunu ve antioksidan savunma mekanizmalarını optimize ederek oksidatif stresin etkilerini hafıflettiğini göstermektedir.

Çeşitli RNA helikazların stres altında teşvik edildiği ve birçok biyotik ve abiyotik strese karşı tolerans sağladığı bilinmektedir. Mevcut araştırmada, RNA helikaz ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında arttığı ve ortama TÛ ilavesinin RNA helikaz ifade seviyesini NaCl uygulamasına göre önemli düzeyde artırdığı bulunmuştur. Bezelye fidelerinde *MCM6* (Mini-kromozom bakım 6) RNA helikazın tuz stresi altında teşvik edildiği ve tütün fidelerinde *MCM6* aşırı ekspresyonunun tuz toleransını sağladığı gösterilmiştir (Dang vd. 2011). Buna ek olarak arpada *HVD1* (Nakamura vd. 2004), Arabidopsis'te *AtRH17* (Nguyen vd. 2018) ve pamukta *AvDH* helikazların (Chen vd. 2016) tuz toleransını artırdığı bildirilmiştir. Bu bulgular, RNA helikazların bitkilerin tuz stresine adaptasyonunda kritik roller oynadığını ve TÛ'nün bu adaptasyonu destekleyen bir ajan olarak işlev görebileceğini göstermektedir.

Laktoyilglutatyon liyaz (glioksilaz 1), karbonhidrat ve amino asit metabolizmasının toksik bir yan ürünü olan metilglioksalın (MG) glutatyon bazlı detoksifikasyonunda rol oynamaktadır. MG birikiminin tuzluluk ve kuraklık gibi abiyotik stres koşullarının göstergesi olduğu bildirilmiştir (Yadav vd. 2008). Bitkilerde MG'nin nükleik asitlerin mutasyona uğraması ve protein modifikasyonu gibi toksik etkilere sahip olduğu

gösterilmiştir (Thornalley 1996). Mevcut çalışmada, NaCl uygulamasına kıyasla Tü+NaCl uygulamasında glioksilaz 1 ifadesi önemli düzeyde artış göstermiştir. Glioksilaz I'i aşırı eksprese eden tütün bitkilerinin yabancı tip bitkilerden daha yüksek tuz toleransına sahip olduğu gösterilmiştir (Singla–Pareek vd. 2003). Bu nedenle, tuz stresine maruz bırakılan mısır fidelerine dışsal Tü uygulamasının glioksilaz 1 ifadesini artırarak tuza karşı tolerans kazanılmasında önemli bir rol oynayabileceği öne sürülebilir.

LEA (geç embriyogeneze bol bulunan) protein aileleri yüksek hidrofilisite, düşük oranda Cys ve Trp kalıntıları ve yüksek oranda Arg/Lys, Glu, Ala, Thr ve Gly içeriği gibi ortak yapısal özelliklere sahip hidrofilik proteinlerdir (Battaglia vd. 2008). LEA proteinlerinin dehidrasyon altında su tutma kapasiteleri ile iyi düzenlenmiş helikal yapıya ulaşarak tuz stresine karşı tolerans sağladığı bildirilmiştir (Hundertmark ve Hinch 2008). Grup II LEA proteinleri veya dehidrinlerin bitkilerde tuz stresine yanıtta kritik rol oynadıkları bildirilmiştir. Çalışmamızda dehidrin DHN1, grup II LEA ve protein DEHİDRASYONA ERKEN TEPKİ VEREN 15 proteinlerinin ifade seviyeleri sadece NaCl uygulamasında ciddi oranda artmıştır. Tü+NaCl uygulamasında ise her iki protein ifadesi de önemli düzeyde azalmıştır. Benzer şekilde birçok farklı bitkide gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda tuz stresine yanıtta dehidrin ifadelerinin önemli düzeyde arttığı ve bu durumun daha düşük MDA, daha yüksek prolin içeriği ve artan peroksidaz aktivitesi ile desteklendiği bildirilmiştir (Liv d. 2023, Melgar vd. 2024, Zhang vd. 2025). Sonuç olarak, NaCl uygulamasıyla artan dehidrin DHN1, Grup II LEA ve DREB15 protein ifadeleri, bitkilerin tuz stresine karşı geliştirdiği koruyucu mekanizmaların bir göstergesidir. Ancak, Tü ilavesiyle bu ifadelerin azalması, Tü'nün bitkilerin stres yanıtlarını ve ilgili proteinlerin ifadesini etkileyebileceğini göstermektedir. Tü'nün bu etkisinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması için ek araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bitkilerde metabolit üretimi hem bitki gelişimi hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Prolin, yüksek konsantrasyonlarda hücre yapılarına zarar vermeyen ve ozmotik düzenlemede anahtar rol oynayan bir imino asittir (Ashraf ve Harris 2004). Yüksek prolin içeriğinin bitkilerde tuz stresi kaynaklı oluşan ozmotik strese, membran

proteinlerinin denatürasyonuna ve plazmalemma parçalanmasına engel olduğu gösterilmiştir (Soltabayeva vd. 2021). Prolin birikiminin, yüksek bitkilerin su eksikliği ve tuz stresine karşı ortak bir metabolik tepkisi olduğu bildirilmiştir (Al Hinai vd. 2022). Prolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) prolin biyosentezindeki anahtar enzimdir. Prolin-tRNA ligaz prolin metabolizmasında ve 5-oksoprolinaz prolin ve glutamat biyosentez yolunda yer alan bir enzimlerdir. Araştırmamızda kontrole göre NaCl ve NaCl'e göre TÛ+NaCl uygulamalarında prolin içeriğinde artış, P5CS, prolin-tRNA ligaz ve 5-oksoprolinaz proteinlerindeki artışla desteklenmiştir. Benzer olarak, P5CS ifadesinin tuz stresi altında arttığı önceki çalışmalarda da gösterilmiştir (Momeni vd. 2021, Pakzad vd. 2021). Bu bağlamda tuz stresi altındaki mısır fidelerine dışsal TÛ uygulamasının prolin içeriği ve ilgili proteinlerin sentezini daha da artırması tuza toleransta etkili bir biyodüzenleyici olarak uygulanabileceğini göstermiştir.

Bitkilerde metabolizma ürünü olan alkollerin stres koşullarında sinyal molekülleri olarak işlev görebildiği belirtilmiştir (Singh vd. 2018). Alkol dehidrojenaz (ADH), etanol ve asetaldehit ve diğer kısa doğrusal alkol/aldehit çiftlerini birbirine dönüştürmek için NAD(P) kofaktörlerine dayanan bir dimer olarak hareket etmektedir (Strommer 2011). ADH'lerin ABA biyosentezi olmak üzere birçok fizyolojik ve metabolik yolda önemli rolleri olması dışında kuraklık, soğuk ve tuz streslerinden bitkileri korumaya yardımcı oldukları bildirilmiştir (Chattopadhyay vd. 2011, Su vd. 2020). Mevcut çalışmada, ADH1 proteininin ifade seviyesi kontrole kıyasla NaCl stresi altında ifadesi önemli düzeyde artmıştır. Ancak NaCl uygulamasına göre TÛ+NaCl uygulamasında protein ifadesi önemli düzeyde azalmıştır. Tuz stresine maruz bırakılan petunya ve soya fasulyesi bitkilerinde ADH1 ifade seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Garabagi vd. 2005, Sobhanian vd. 2011). Ayrıca *Avena sativa* bitkilerinde ADH seviyesinin tuz stresi altındaki köklerde hızla arttığı ve bu durumun da gelişmiş glikoliz ve artan ATP üretimi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Bai vd. 2016). Sonuç olarak, NaCl stresi altında ADH1 ifadesinin arttığını ve bunun bitkilerin tuz stresine adaptasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak, TÛ ilavesinin ADH1 ifadesini azaltması, TÛ'nün bitkilerin stres yanıtlarını ve ilgili proteinlerin ifadesini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Kitinaz enzimi kitin, kitosan, peptidoglikan, arabinogalaktan ve N-asetilglukozamin gibi glikoproteinleri hidrolize eden ve patojen stresi başta olmak üzere tuz, ozmotik, soğuk ve ağır metal gibi bitki abiyotik streslerine karşı yanıtta yer alan büyük bir protein ailesidir. Çalışmamızda 3 kitinaz proteini ve endokitinaz A ifadesi NaCl uygulamasında önemli düzeyde artarken, Tü ilavesi endokitinaz (3 protein) proteinin ifade seviyelerini azaltmıştır. Benzer sonuçlar tuz stresi altında kitinaz ifadesindeki artışı gösteren Liu vd. (2020) ve Li vd. (2024) tarafından da gösterilmiştir. Tuz stresi altında kitinaz ve endokitinaz A proteinlerinin ifadesinin arttığını ve bunun bitkilerin tuz stresine adaptasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak, Tü ilavesinin bu proteinlerin ifadesini azaltması, Tü'nün bitkilerin stres yanıtlarını ve ilgili proteinlerin ifadesini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Tuz stresinin bitkilerde sinyal yolları üzerinde etkileri olduğunu ve bu sinyallerin de bitkilerde savunma mekanizmasının harekete geçirilmesi için gerekli olduğu bildirilmiştir (Fan vd. 2024). 14-3-3 proteinleri bir sinyal molekülü olarak neredeyse tüm bitki türlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Hücre uzaması ve bölünmesi, tohum çimlenmesi, vejetatif ve üreme büyümesi ve tohum dormansisi dahil olmak üzere birçok biyokimyasal ve hücresel süreçlerde fonksiyon görerek bitki büyümesi ve gelişiminin düzenlenmesinde rol oynarlar. Tuz, ozmotik, kuraklık ve soğuk gibi abiyotik streslere karşı bitki yanıtlarına aracılık etmektedirler. Mevcut araştırmada, 14-3-3 benzeri protein, 14-3-3 benzeri protein A ve 14-3-3 benzeri protein GF14-6 proteinleri tespit edilmiştir. 14-3-3 benzeri protein A protein ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında ifadesi azalırken, Tü+NaCl uygulamasında ifade seviyesi kontrol seviyelerine çıkmıştır. 14-3-3 benzeri protein ve 14-3-3 benzeri protein GF14-6 proteinleri ise kontrole göre NaCl uygulamasında artmasına rağmen Tü uygulamasında önemli seviyelerde artış göstermiştir. Benzer şekilde tuz stresi altındaki pamuk fidelerinde 14-3-3-benzeri protein E, 14-3-3b ve 14-3-3c'nin ifadesinin arttığı bildirilmiştir (Wei vd. 2009, Jiang vd. 2024). Yine tuz stresine maruz bırakılan domates fidelerinde 14-3-3 ifadesinin belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (Xu ve Shi 2006). Sonuç olarak, 14-3-3 proteinlerinin ifadelerindeki farklılıklar, bitkilerin tuz stresine karşı geliştirdikleri karmaşık düzenleme mekanizmalarını yansıtmakta ve Tü uygulamasının bu mekanizmaları nasıl etkileyebileceğine dair önemli ipuçları sunmaktadır.

Proteinlerin doğru katlanması ve taşınmasının, çeşitli çevresel streslere maruz kalan bitkilerde normal hücrel işlevlerin sürdürülmesi için oldukça önemli olduğu belirtilmiştir (Wang vd. 2004). Moleküler şaperonlar, hücrel homeostazı korumak için hem normal hem de stres koşulları altında çok çeşitli hücrel yollarda yer alan anahtar bileşenlerdir. Çeşitli hücrel bölmelerde bulunurlar ve yanlış katlanmış veya doğal proteinlerle etkileşime girerek uygun şekilde katlanmalarına yardımcı olurlar (Pareek vd. 2021). Bu şaperonlar ayrıca denatüre proteinlerin kümelenmesini de önlerler (Gupta ve Tuteja 2011). Strese duyarlı proteinler olarak bildirilen moleküler şaperonların büyük bir alt kümesi ısı şoku proteinleridir (HSP'ler) (Berka vd. 2022). HSP'ler N-terminal alanlarının, işlevlerinin ve moleküler kütlelerinin çeşitliliğine dayanarak HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 ve smHSP'ler (küçük ısı şoku proteinleri) olmak üzere altı sınıfa ayrılırlar. HSP'lerin işlevinin protein katlanmasıyla sınırlı olmadığı, tuz stresi de dahil olmak üzere abiyotik stresler altında sinyal kaskadlarını düzenlemek için protein hedefleme ve bozunmasında önemli bir rol oynadığı açıkça kanıtlanmıştır (Al-Whaibi 2011, Kadota ve Shirasu 2012, Kriechbaumer vd. 2012, Fu 2014, Huang vd. 2014, Niforou vd. 2014, Jacob vd. 2017). Mevcut çalışmada, şaperonin, şaperonin 60 alt birimi beta 2 ve CHL-CPN10 ifadeleri NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarında artış göstermiştir. Ek olarak, ısı şok proteini 70, ısı şoku kognat 70 kDa protein 2, mitokondriyal ısı şoku 70 kDa proteini, kloroplastik ısı şoku 70 kDa protein 6, ısı şoku 70 kDa protein 3 ve 90 kDa ısı şok proteini ATPaz aktivatörü proteinlerinin ifadesi kontrole göre NaCl uygulamasında artış göstermiştir. Tuz stresi ortamına TÜ ilavesi HSP protein ifadelerini daha da artırmıştır. Tuz stresi koşullarında HSP sentezleme yeteneğinin tuz stresi toleransına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Marček vd. 2016). Sonuç olarak, çalışmanızdaki HSP ve şaperon proteinlerinin NaCl ve TÜ+NaCl uygulamalarında artış göstermesi, bu proteinlerin tuz stresine karşı kritik koruyucu roller üstlendiğini ve TÜ'nün bu mekanizmayı daha da güçlendirdiğini göstermektedir. Bu durum, bitkilerin stres altındaki protein homeostazını koruma yeteneğini artırarak daha yüksek tuz toleransı geliştirmesine katkı sağlayabilir.

Uzama faktörleri (EF'ler), protein sentezi sırasında peptit zincirlerinin uzamasından sorumlu olan yaygın hücrel proteinlerdir (Chen vd. 2011). *EF1A* genlerinin birçok

bitkide abiyotik stres tarafından teşvik edildiği bildirilmiştir. *EF1A* ifadesinin arpa ve mısırdaki sıcak ve soğuk stresi ile teşvik edildiği bulunmuştur (Dunn vd. 1993, Berberich vd. 1995, Bhadula vd. 2001). Buğdayda *EF1A* protein ifadesinin yüksek sıcaklığa yanıt olarak arttığı ve *EF1A*'nın moleküler bir şaperon olarak protein katlanmasına dahil olarak proteinleri ısı hasarından koruyabileceği bildirilmiştir (Bukovnik vd. 2009). Mevcut çalışmada *EF2*, *EFG* ve *EFTs* protein ifadeleri tuz stresi altında teşvik edilmiş, ortama Tü ilavesi ile ifade seviyeleri önemli düzeyde artmıştır. *EFTu* proteininin ifade seviyesi NaCl uygulamasında artmış, Tü+NaCl uygulamasında ise azalmıştır. Bulgularımız *M. truncatula* ve *M. sativa* bitkilerinde uzama faktörü proteininin (MTR\_6g021805) tuz stresi ile teşvik edildiği sonucuyla benzerlik göstermiştir (Long vd. 2018, Long vd. 2019). Ayrıca *MtEF1A1* aşırı ifadesinin *Arabidopsis* ve *M. truncatula*'da tuz toleransını artırdığı bulunmuştur (Long vd. 2019). Buna ek olarak tuz stresine maruz bırakılan soya fasulyesi fidelerinde *GmEF4*'ün aşırı ifadesinin yaprak solmasını önemli ölçüde geciktirdiği, kök sistemini uzattığı, biyokütleyi artırdığı ve tuz stresi altında ROT birikimini azalttığı gösterilmiştir (Gao vd. 2019).

Tuz stresi kaynaklı oluşan oksidatif stres ROT oluşumuna neden olmakta ve ROT'lar da proteinlerde istenmeyen modifikasyonlarına yol açabilmektedir. Proteazlar oldukça spesifik bölgelerden proteoliz yoluyla proteinlerin post-translasyonel modifikasyonundan sorumludur (Schaller 2004). Proteazlar kloroplastta fotoinhibisyon, savunma mekanizmaları, programlı hücre ölümü ve gelişmekte olan fidede fotomorfogenez dahil olmak üzere çok çeşitli hücresel süreçlerde yer alırlar (Estelle 2001). Dolayısıyla proteazların, tohum çimlenmesi sırasında depo proteinlerinin taşınmasından hücre ölümü ve yaşlanma programlarının başlatılmasına kadar bitki yaşam döngüsünün tüm yönlerinde yer aldığı bildirilmiştir (Zamyatnin 2015). Tuz stresi kaynaklı oksitlenmiş proteinlerin yeniden kullanılmak üzere amino asitlere parçalanabildiği ve böylece normal hücresel aktivitelerin sürdürülebildiği bildirilmiştir (Mazorra-Manzano vd. 2018). Mevcut çalışmada proteaz Do-benzeri 5, proteazom alt birimi alfa tipi ve nükleotid eksizyon onarımına ek olarak proteazomal bozulmanın modülasyonunda rol oynayan ubiquitin reseptörü RAD23 tespit edilmiş ve protein ifadeleri kontrole göre NaCl uygulamasında artmıştır. Ayrıca Tü uygulaması proteazom alt birimi alfa tipi ifadesin daha da artış göstermiştir. Mevcut bulgulara benzer şekilde

NaCl stresi altında ubiquitin ve proteazom bileşenleri gibi proteazom aracılı protein bozunmasında yer alan çeşitli proteinlerin ifadelerinde farklılıklar gösterilmiştir (Cui vd. 2012, Dabravolski ve Isayenkov 2024). Sonuç olarak, NaCl uygulaması ve Tü ilavesinin proteazom bileşenlerinin ifade seviyelerini artırması, bitkilerin tuz stresi koşullarında protein bozulmasını yönetme kapasitesinin güçlendiğini ve bu sayede bitkinin hayatta kalma şansının arttığını göstermektedir. Bu bulgular, ubiquitin–proteazom sisteminin bitkilerin stresle başa çıkabilme yeteneklerinde kritik bir rol oynadığını ve bu sistemin desteklenmesinin tuz toleransını artırmada önemli bir strateji olabileceğini düşündürmektedir.

Tiyoredoksin süper ailesinin üyeleri olan protein disülfid izomerazlar (PDI), tiyol–disülfid oksidoredüktaz şaperonlarıdır. Endoplazmik retikulumun (ER) yanı sıra nükleus, sitoplazma ve hücre dışı alanda bulunurlar ve burada proteinlerin sentezini veya hedef proteinlerdeki disülfid bağlarının oluşumunu, indirgenmesini ve yeniden düzenlenmesini katalize ederler (Narayan vd. 2000, Tu vd. 2000). PDI'lar, en düşük serbest enerjiye sahip protein konformasyonlarını oluşturmak için disülfid bağlarının koparılmasında kilit bir rol oynar, böylece yeni sentezlenen proteinlerin disülfid bağlarını yeniden oluşturmaya ve doğru katlanmış yapılar üretmesine yardımcı olur (Fu vd. 2020). Aynı zamanda, PDI'lar yanlış katlanmış veya denatüre proteinlere de bağlanarak normal hücre metabolizmayı etkileyen protein çöktirlerinin birikmesini önleyebilir (Gruber vd. 2006). Bu nedenle, PDI'lar proteinlerin doğru katlanması ve stabilitesi için özellikle önemlidir. Mevcut araştırmada, PDI ifadesi NaCl ve Tü+NaCl uygulamasında artmıştır. Benzer şekilde tuz stresine maruz bırakılan nohut fidelerinde PDI ifadelerinin önemli düzeyde artış gösterdiği bildirilmiştir (Parveen vd. 2024). Bu bulgular, PDI'ların bitkilerde tuz stresi ve diğer abiyotik streslere karşı önemli savunma mekanizmaları oluşturduğunu ve bu proteinlerin bitkilerin hayatta kalma şansını artırmak için adaptif yanıtlar geliştirdiğini göstermektedir.

Tersinir protein fosforilasyonu önemli bir moleküler anahtar mekanizmadır (Kusakina ve Dodd 2012, Humphrey vd. 2015, Vavrdova vd. 2019, Lee vd. 2020, Rantala vd. 2020). Yapılan çalışmalar, protein fosfatazların bekçi hücrelerinde iyon kanalı düzenlemesi, ABA fonksiyonları, vakuolar kanal yönetimi, gelişimsel süreçler, ışığa

duyarlı transkripsiyon, abiyotik stres tepkilerinin düzenlenmesi ve sinyal yollarında kritik bileşenler olduğunu ortaya koymuştur (DeLong 2006, Singh vd. 2010). Mevcut çalışmada protein fosfataz ifadesi NaCl uygulamasında artarken, TÛ+NaCl uygulamasında ilave artış göstermiştir. SOS yolu, bitkilerde sodyum iyonu homeostazını korumak için gereklidir. Çalışmamıza benzer şekilde PP2C.D6 ve PP2C.D7 olmak üzere iki fosfatazın ifadesinde artış belirlenmiş ve SOS1'i defosforile ederek Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu durumun tuz stresi üzerine SOS yolunun düzenlenmesi için geri dönüşümlü fosforilasyon/defosforilasyonda protein fosfatazların önemli roller oynayabileceğini göstermiştir (Fu vd. 2022).

Peptidil prolil cis/trans izomerazlar (PPIaz'lar), bir prolin kalıntısından önceki peptit bağlarının yavaş dönme hareketini katalize ederek proteinlerin katlanmasına ve yeniden yapılandırılmasına yardımcı olmaktadır (Schiene–Fischer 2015). Stres kaynaklı meydana gelen protein hasarının düzeltilebilmesi için PPIaz'lar gereklidir. Mevcut çalışmada, NaCl stresi PPIaz ifadesini artırırken TÛ+NaCl uygulaması PPIaz ifadesinde daha da artışa neden olmuştur. Jia vd. (2019)'da tuz stresi altında arbusküler mikorizal mantarlarla aşıl原因an *E. angustifolia* fidelerinde PPIaz protein ifadeleri çalışmamıza benzer şekilde önemli düzeyde artmıştır. Proteomik sonuçlar tuz stresinin protein metabolizmasını olumsuz etkilediğini ve dışsal TÛ uygulamasının mısır fidelerinde protein biyosentezini teşvik ettiğini, protein katlanmasını hızlandırdığını ve tuz stresi altında proteinin bozulmasını engellediğini göstermiştir.

Sonuç olarak, TÛ'nün mısır fidelerinde tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifleten ve stresle mücadeleyi destekleyen önemli bir biyodüzenleyici olduğu ortaya çıkmıştır. TÛ uygulamasının, bitkilerin su dengesini, iyon dengesini ve antioksidan savunma sistemlerini iyileştirerek, tuz stresine karşı dirençlerini artırdığı ve büyüme performanslarını olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir. Tuz stresi, bitkilerin metabolizması ve savunma mekanizmalarını düzenleyen genlerin ifadesinde önemli değişikliklere yol açarken, TÛ'nün bu değişiklikleri modüle etme potansiyeline sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Özellikle, ABC genleri, akuaporinler, RLK'ler, prolin biyosentezi ve kalsiyum bağımlı protein kinazlar gibi çeşitli gen sınıflarında görülen

ifade değişiklikleri, T  n n tuz stresine karşı adaptasyon süreçlerine katkı sağladığını göstermektedir. T  n n, prolin ve glutamat gibi osmolitlerin birikimini teŗvik ettiği ve sekonder metabolizmanın düzenlenmesinde rol oynadığı bulunmuŗtur. T   uygulaması, fenolik bileŗiklerin biyosentezini artıran önemli enzimlerin (*PAL*, *CHS*, *DHS*) ekspresyonunu tetikleyerek, bitkilerin stres koŗullarında daha etkili savunma mekanizmaları geliŗtirmelerini saęlamıŗtır. Ayrıca, fitohormonlar arasındaki etkileŗimler de T  n n tuz stresine yanıtı modüle etme şeklinde önemli bir rol oynamaktadır. Diğer taraftan, tuz stresinin mısır fidelerindeki proteomik deęiŗimleri derinlemesine incelemiŗ ve T  n n bu deęiŗimleri iyileŗtirme potansiyelini g stermiŗtir. T  nin, tuz stresine karşı bitkilerde fotosentez kapasitesini artırarak ve oksidatif hasarı azaltarak bitkilerin stres toleransını iyileŗtirdięi kanıtlanmıŗtır. Ayrıca, 14–3–3 proteinleri gibi sinyal moleküllerinin ifade seviyelerindeki deęiŗiklikler, T  n n bitkilerin stres yanıtlarını ve sinyal yolaklarını güçlendirdiğini göstermektedir. Bununla birlikte, LEA proteinleri ve şaperonların ifadelerindeki deęiŗiklikler de T  n n stresle mücadele mekanizmalarını düzenleyerek, protein katlanması ve taŗınmasını iyileŗtirdięine iŗaret etmektedir. Tüm bu sonuçlar, T  n n mısır fidelerinde tuz stresine karşı önemli bir biyodüzenleyici olarak iŗlev görebileceğini ve bitkilerin stres toleransını artırmak için kullanılabileceğini göstermektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abbasi F M, Komatsu S, 2004, A Proteomic Approach to Analyze Salt-Responsive Proteins in Rice Leaf Sheath, *Proteomics*, 4, 2072–2081.
- Abdulbaki A S, Alsamadany H, Alzahrani Y, Olayinka B U, 2022, Rubisco and Abiotic Stresses in Plants: Current Assessment, *Turkish Journal of Botany*, 46, 541–552.
- Abobatta W F, 2020, Plant Responses and Tolerance to Combined Salt and Drought Stress, *Salt and Drought Stress Tolerance in Plants: Signaling Networks and Adaptive Mechanisms*, Mirza Hasanuzzaman, Mohsin Tanveer, Springer, 17–52.
- Abouelsaad I, Renault S, 2018, Enhanced Oxidative Stress in The Jasmonic Acid-Deficient Tomato Mutant *def-1* Exposed to NaCl Stress, *Journal of Plant Physiology*, 226, 136–144.
- Acharjee A, Chibon P Y, Kloosterman B, America T, Renaut J, Maliepaard C, vd., 2018, Genetical Genomics of Quality Related Traits in Potato Tubers Using Proteomics, *BMC Plant Biology*, 18, 20.
- Acosta-Motos J R, Diaz-Vivancos P, Álvarez S, Fernández-García N, Sanchez-Blanco M J, Hernández J A, 2015, Physiological and Biochemical Mechanisms of the Ornamental *Eugenia myrtifolia* L. Plants for Coping with NaCl Stress and Recovery, *Planta*, 242, 829–846.
- Acosta-Motos J R, Ortuño M F, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco M J, Hernandez J A, 2017, Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms, *Agronomy*, 7, 18.
- Adabnejad H, Kavousi H R, Hamidi H, Tavassolian I, 2015, Assessment of the Vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter (NHX1) Transcriptional Changes in *Leptochloa fusca* L. in Response to Salt and Cadmium Stresses, *Molecular Biology Research Communications*, 4, 133–142.
- Adem G D, Roy S J, Huang Y, Chen Z H, Wang F, 2017, Expressing *Arabidopsis thaliana* V-ATPase subunit C in barley (*Hordeum vulgare*) Improves Plant

- Performance under Saline Condition by Enabling Better Osmotic Adjustment, *Functional Plant Biology*, 44, 1147–1159.
- Adil M, Bashir S, Bashir S, Aslam Z, Ahmad N, Younas T, vd., 2022, Zinc Oxide Nanoparticles Improved Chlorophyll Contents, Physical Parameters, and Wheat Yield under Salt Stress, *Frontiers in Plant Science*, 13, 932861.
- Aebi H, 1984, Catalase in Vitro, In *Methods in Enzymology*, 105, 121–126.
- Afzal M, Alghamdi S S, Migdadi H H, El-Harty E, Al-Faifi S A, 2022, Agronomical and Physiological Responses of Faba Bean Genotypes to Salt Stress, *Agriculture*, 12, 235.
- Aghdam M S, Mahmoudi R, Razavi F, Rabiei V, Soleimani A, 2018, Hydrogen Sulfide Treatment Confers Chilling Tolerance in Hawthorn Fruit During Cold Storage by Triggering Endogenous H<sub>2</sub>S Accumulation, Enhancing Antioxidant Enzyme Activity and Promoting Phenols Accumulation, *Scientia Horticulturae*, 238, 264–271.
- Agostini-Costa T D S, Wondracek D C, Rocha W D S, Silva D B D, 2012, Carotenoids Profile and Total Polyphenols in Fruits of *Pereskia aculeata* Miller, *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34, 234–238.
- Ahanger M A, Agarwal R M, 2017, Salinity Stress Induced Alterations in Antioxidant Metabolism and Nitrogen Assimilation in Wheat (*Triticum aestivum* L.) as Influenced by Potassium Supplementation, *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 449–460.
- Ahmad M, Waraich E A, Hussain S, Ayyub C M, Ahmad Z, Zulfiqar U, 2021, Improving Heat Stress Tolerance in *Camelina sativa* and *Brassica napus* Through Thiourea Seed Priming, *Journal of Plant Growth Regulation*, 1–17.
- Ahmad P, Abdel Latef A A, Hashem A, AbdAllah E F, Gucel S, Tran L S P, 2016, Nitric Oxide Mitigates Salt Stress by Regulating Levels of Osmolytes and Antioxidant Enzymes in Chickpea, *Frontiers in Plant Science*, 7, 347.
- Ahmad R, Hussain S, Anjum M A, Khalid M F, Saqib M, Zakir I, vd., 2019, Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in plants under salt stress, *Plant*

abiotic stress tolerance: Agronomic, molecular and biotechnological approaches, 191–205.

Ahmad Z, Khaliq A, Waraich E A, Artyszak A, Zaman Q U, Abbasi A, vd., 2023, Exogenously Applied Silicon and Zinc Mitigates Salt Stress By Improving Leaf Pigments and Antioxidant Activities in Canola Cultivars, *Silicon*, 15, 5435–5444.

Ahmad I, Munsif F, Mihoub A, Jamal A, Saeed M F, Babar S, vd., 2022, Beneficial Effect of Melatonin on Growth and Chlorophyll Content in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grown under Salt Stress Conditions, *Gesunde Pflanzen*, 74, 997–1009.

Ahmed N, Zhang B, Bozdar B, Chachar S, Rai M, Li J, vd., 2023, The Power of Magnesium: Unlocking The Potential for Increased Yield, Quality, and Stress Tolerance of Horticultural Crops, *Frontiers in Plant Science*, 14, 1285512.

Akladios S A, 2014, Influence of Thiourea Application on Some Physiological and Molecular Criteria of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Plants under Conditions of Heat Stress, *Protoplasma*, 251, 625–638.

Akram R, Fahad S, Masood N, Rasool A, Ijaz M, Ihsan M Z, 2019, Plant Growth and Morphological Changes in Rice Under Abiotic Stress, In *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance*, 69–85.

Al Hinai M S, Ullah A, Al-Rajhi R S, Farooq M, vd., 2022, Proline Accumulation, Ion Homeostasis and Antioxidant Defence System Alleviate Salt Stress and Protect Carbon Assimilation in Bread Wheat Genotypes of Omani Origin, *Environmental and Experimental Botany*, 193, 104687.

Al-Farsi S M, Nawaz A, Nadaf S K, Al-Sadi A M, Siddique K H, Farooq M, 2020, Effects, Tolerance Mechanisms and Management of Salt Stress in Lucerne (*Medicago sativa*), *Crop And Pasture Science*, 71, 411–428.

Al-Mushhin A A, Qari S H, Fakhr M A, Alnusairi G S, Alnusaire T S, Alrashidi A A, vd., 2021, Exogenous Myo-Inositol Alleviates Salt Stress by Enhancing Antioxidants and Membrane Stability via The Upregulation of Stress Responsive

Genes in *Chenopodium quinoa* L., *Plants*, 10, 2416.

- Al-Obaidi J R, Rahmad N, Hanafi N M, Halabi M F, Al-Soqeer A, A, 2017, Comparative Proteomic Analysis of Male and Female Plants in Jojoba (*Simmondsia chinensis*) Leaves Revealed Changes in Proteins Involved in Photosynthesis, Metabolism, Energy, and Biotic and Abiotic Stresses, *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 179.
- Al-Whaibi M H, 2011, Plant Heat-shock Proteins: A Mini Review, *Journal of King Saud University-Science*, 23, 139–150.
- Alam R, Das D, Islam M, Murata Y, Hoque M, 2016, Exogenous Proline Enhances Nutrient Uptake and Confers Tolerance to Salt Stress in Maize (*Zea mays* L.), *Programme Agriculture*, 27, 409–417.
- Alayat A, Boumedris Z, Benosmane S, Atilia A, Moumeni O, Hacini N, 2022, Role of Silicon Foliar Application in Promoting Salt Stress Tolerance and Enhanced Antioxidant Capacity of *Hordeum vulgare* L. (cv. saida), *Ukrainian Journal of Ecology*, 12, 28–35.
- Ali A, Maggio A, Bressan R A, Yun D J, 2019, Role and Functional Differences of HKT1-type Transporters in Plants Under Salt Stress, *International Journal Of Molecular Sciences*, 20, 1059.
- Ali S, Rizwan M, Ullah N, Bharwana S A, Waseem M, Farooq M A, vd., 2016, Physiological and Biochemical Mechanisms of Silicon-induced Copper Stress Tolerance in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1–11.
- Allakhverdiev S I, Nishiyama Y, Miyairi S, Yamamoto H, Inagaki N, Kanesaki Y, vd., 2002, Salt Stress Inhibits The Repair of Photodamaged Photosystem II by Suppressing the Transcription and Translation of *psbA* Genes in *Synechocystis*, *Plant Physiology*, 130, 1443–1453.
- Almeida D M, Oliveira M M, Saibo N J, 2017, Regulation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> Homeostasis in Plants: Towards Improved Salt Stress Tolerance in Crop Plants, *Genetics And Molecular Biology*, 40, 326–345.

- Amin I, Rasool S, Mir M A, Wani W, Masoodi K Z, Ahmad P, 2020, Ion Homeostasis for Salinity Tolerance in Plants: A Molecular Approach, *Physiologia Plantarum*, 171, 578–594.
- Andrews S, 2010, FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data.
- Anjum F, Wahid A, Farooq M, Javed F, 2011, Potential of Foliar Applied Thiourea in Improving Salt and High Temperature Tolerance of Bread Wheat (*Triticum aestivum*), *International Journal Of Agriculture And Biology*, 13.
- Anjum N A, Ahmad I, Mohmood I, Pacheco M, Duarte A C, Pereira E, 2012, Modulation of Glutathione and Its Related Enzymes in Plants' Responses to Toxic Metals and Metalloids—a Review, *Environmental and Experimental Botany*, 75, 307–324.
- Antoniou C, Xenofontos R, Chatzimichail G, Christou A, Kashfi K, Fotopoulos V, 2020, Exploring the Potential of Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide (NOSH) Releasing Synthetic Compounds as Novel Priming Agents Against Drought Stress in *Medicago sativa* Plants, *Biomolecules*, 10, 120.
- Arefian M, Vessal S, Malekzadeh–Shafaroudi S, Siddique K H M, Bagheri A, 2019, Comparative Proteomics and Gene Expression Analyses Revealed Responsive Proteins and Mechanisms for Salt Tolerance in Chickpea Genotypes, *BMC Plant Biology*, 19, 300.
- Arif M S, Yasmeen T, Abbas Z, Ali S, Rizwan M, Aljarba N H, vd., 2020, Role of Exogenous and Endogenous Hydrogen Sulfide (H<sub>2</sub>S) On Functional Traits of Plants Under Heavy Metal Stresses: A Recent Perspective, *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Arif Y, Singh P, Siddiqui H, Baiguz A, Havat S, 2020, Salinity Induced Physiological and Biochemical Changes in Plants: An Omic Approach Towards Salt Stress Tolerance, *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64–77.
- Armengaud P, Thiery L, Buhot N, March G G, Savouré A, 2004, Transcriptional Regulation of Proline Biosynthesis in *Medicago truncatula* Reveals Developmental and Environmental Specific Features, *Physiologia*

- Plantarum, 120, 442–450.
- Arnao M B, Hernández Ruiz J, 2019, Melatonin: A New Plant Hormone and/or a Plant Master Regulator?, Trends Plant Science, 24, 38–48.
- Aroca A, Benito J M, Gotor C, Romero L C, 2017, Persulfidation Proteome Reveals the Regulation of Protein Function by Hydrogen Sulfide in Diverse Biological Processes in Arabidopsis, Journal of Experimental Botany, 68, 4915–4927.
- Arshad T, Wahid A, Tanwir S, 2019, Medium Supplementation of Thiourea Orchestrates the Metabolites Levels to Diminish the Oxidative Damage in Hybrid Maize, International Journal of Agriculture and Biology, 21, 606–614.
- Artyszak A, 2018, Effect of Silicon Fertilization on Crop Yield Quantity and Quality—A Literature Review in Europe, Plants, 7, 54.
- Asada K, 2006, Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions, Plant physiology, 141, 391–396.
- Asensi-Fabado M, Munne-Bosch S, 2011, The *aba3-1* Mutant of *Arabidopsis thaliana* Withstands Moderate Doses of Salt Stress by Modulating Leaf Growth and Salicylic Acid Levels, Journal of Plant Growth and Regulation, 30, 456–466.
- Ashraf M, Fooland M R, 2007, Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance, Environmental and Experimental Botany, 59, 206–216.
- Ashraf M, Harris P J C, 2004, Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants, Plant Science, 166, 3–16.
- Asif M A, Zafar Y, Iqbal J, Iqbal M M, Rashid U, Ali G M, vd., 2011, Enhanced Expression of *AtNHX1*, in Transgenic Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Improves Salt and Drought Tolerance, Molecular Biotechnology, 49, 250–256.
- Assaf M, Korkmaz A, Karaman Ş, Kulak M, 2022, Effect of Plant Growth Regulators and Salt Stress on Secondary Metabolite Composition in Lamiaceae Species, South African Journal of Botany, 144, 480–493.
- Assaha D V M, Ueda A, Saneoka H, Al-Yahyai R, Yaish M W, 2017, The Role of

- Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes, *Front Physiology*, 18, 509.
- Attia H, Karray N, Msilini N, Lachaâl M J B P, 2011, Effect of Salt Stress on Gene Expression of Superoxide Dismutases and Copper Chaperone in *Arabidopsis thaliana*, *Biologia Plantarum*, 55, 159–163.
- Bachani J, Mahanty A, Aftab T, Kumar K, 2022, Insight into Calcium Signaling in Salt Stress Response, *South African Journal of Botany*, 151, 1–8.
- Bahmani K, Noori S A, Darbandi A I, Akbari A, 2015, Molecular Mechanisms of Plant Salinity Tolerance: A Review, *Australian Journal of Crop Science*, 9, 321–336
- Bai J, Liu J, Jiao W, Sa R, Zhang N, Jia R, 2016, Proteomic Analysis of Salt-responsive Proteins in Oat Roots (*Avena sativa* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 3867–3875.
- Baisakh N, RamanaRao M V, Rajasekaran K, Subudhi P, Janda J, 2012, Enhanced Salt Stress Tolerance of Rice Plants Expressing a Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase Subunit c1 (*SaVHAc1*) Gene From The Halophyte Grass *Spartina alterniflora* Lœisel, *Plant Biotechnology Journal*, 10, 453–464.
- Baker N R, 1991, Possible Role of Photosystem II in Environmental Perturbations of Photosynthesis, *Physiologia Plantarum*, 81, 563–570.
- Balasubramaniam T, Shen G, Esmaeili N, Zhang H, 2023, Plants Response Mechanisms to Salinity Stress, *Plants*, 12, 2253.
- Barkla B J, Vera-Estrella R, Pantoja O, 2013, Progress and Challenges for Abiotic Stress Proteomics of Crop Plants, *Proteomics*, 13, 1801–1815.
- Basyuni M, Manalu N B, 2021, Impact of Different Salt Levels on The Seedling Growth and Root Development of *Bruguiera sexangula* for The Regeneration of Mangroves, In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 713, 012013.
- Batelli G, Verslues PE, Agius F, Qiu Q, Fujii H, 2007, SOS2 Promotes Salt Tolerance in Part By Interacting With The Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase and Upregulating Its Transport Activity, *Molecular Cell Biology*, 27, 7781–7790.

- Bates L S, Waldren R P A, Teare I D, 1973, Rapid Determination of Free Proline for Water–stress Studies, *Plant and Soil*, 39, 205–207.
- Battaglia M, Olvera–Carrillo Y, Garcarrubio A, Campos F, Alejandra A, 2008, The Enigmatic LEA Proteins and Other Hydrophilins, *Plant Physiology*, 148, 6–24.
- Baudouin E, Hancock J T, 2014, Nitric Oxide Signaling in Plants, *Frontiers in Plant Science*, 4, 553.
- Beauchamp C, Fridovich I, 1971, Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels, *Analytical Biochemistry*, 44, 276–287.
- Behtash F, Hajizadeh H S, Tarighi B, 2023, Modulation of Nutritional and Biochemical Status of Hydroponically Grown *Cucurbita pepo* L. by Calcium Nitrate Under Saline Conditions, *Horticultural Science*, 50, 127–141.
- Ben Ahmed C, Magdich S, Ben Rouina B, Sensoy S, Boukhris M, Ben Abdullah F, 2011, Exogenous Proline Effects on Water Relations and Ions Contents in Leaves and Roots of Young Olive, *Amino Acids*, 40, 565–573.
- Ben Saad R, Ben Romdhane W, Bouteraa M T, Jrad O, Ben Hsouna A, 2022, *Lobularia maritima* thioredoxin *h2* Gene Mitigates Salt and Osmotic Stress Damage in Tobacco By Modeling Plant Antioxidant System, *Plant Growth Regulation*, 97, 101–115.
- Benstein R M, Ludewig K, Wulfert S, Wittek S, Gigolashvili T, Frerigmann H, vd., 2013, Arabidopsis Phosphoglycerate Dehydrogenase1 of The Phosphoserine Pathway is Essential for Development and Required for Ammonium Assimilation and Tryptophan Biosynthesis, *The Plant Cell*, 25, 5011–5029.
- Berberich T, Sugawara K, Harada M, Kusano T, 1995, Molecular Cloning, Characterization and Expression of an Elongation *EF1 $\alpha$*  Gene in Maize, *Plant Molecular Biology*, 29, 611–615.
- Berka M, Kopecká R, Berková V, Brzobohatý B, Černý M, 2022, Regulation of Heat Shock Proteins 70 and Their Role in Plant Immunity, *Journal of Experimental Botany*, 73, 1894–1909.
- Bhadula S K, Elthon T E, Habben J E, Helentjaris T G, Jiao S P, Ristic Z, 2001, Heat–

- stress Induced Synthesis of Chloroplast Protein Synthesis Elongation Factor (EF-Tu) in a Heat-tolerant Maize Line, *Planta*, 212, 359–66.
- Bhardwaj S, Kapoor D, 2021, Fascinating Regulatory Mechanism of Silicon for Alleviating Drought Stress in Plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 1044–1053.
- Bhaskaran S, Savithramma D L, 2011, Co-Expression of *Pennisetum glaucum* Vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Antiporter and Arabidopsis H<sup>+</sup>-Pyrophosphatase Enhances Salt Tolerance in Transgenic Tomato, *Journal of Experimental Botany*, 62, 5561–5570.
- Bhuyan M B, Hasanuzzaman M, Parvin K, Mohsin S M, Al Mahmud J, Nahar K, vd., 2020, Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide: Two Intimate Collaborators Regulating Plant Defense Against Abiotic Stress, *Plant Growth Regulation*, 90, 409–424.
- Bolger A M, Lohse M, Usadel B, 2014, Trimmomatic: Aflexible Trimmer for Illumina Sequence Data, *Bioinformatics*, 30, 2114–2120.
- Borsani O, Valpuesta V, Botella M A, 2001, Evidence for a Role of Salicylic Acid in the Oxidative Damage Generated by NaCl and Osmotic Stress in Arabidopsis Seedlings, *Plant Physiology*, 126, 1024–1030
- Bose J, Munns R, Shabala S, Gilliham M, Pogson B, Tyerman S D, 2017, Chloroplast Function and Ion Regulation in Plants Growing on Saline Soils: Lessons From Halophytes, *Journal of Experimental Botany*, 68, 3129–3143.
- Bose J, Rodrigo-Moreno A, Lai D, Xie Y, Shen W, Shabala S, 2014, Rapid Regulation of The Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase Activity is Essential to Salinity Tolerance in Two Halophyte Species, *Atriplex lentiformis* and *Chenopodium quinoa*, *Annals of Botany*, 115, 481–494.
- Bosnic P, Bosnic D, Jasnic J, Nikolic M, 2018, Silicon Mediates Sodium Transport and Partitioning in Maize Under Moderate Salt Stress, *Environmental and Experimental Botany*, 155, 681–687.
- Bounaouara F, Hidri R, Falouti M, Rabhi M, Abdelly C, Zorrig W, vd., 2024, Silicon

- Mitigates Salinity Effects on Sorghum–sudangrass (*Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanense*) by Enhancing Growth and Photosynthetic Efficiency, *Functional Plant Biology*, 51, 7.
- Boursiac Y, Chen S, Luu D T, 2005, Early Effects of Salinity on Water Transport in *Arabidopsis* Roots, Molecular and Cellular Features of Aquaporin Expression, *Plant Physiology*, 139, 790–805
- Bouzrout S, Gouiaa S, Hu N, Bernadac A, Mila I, Bendaou N, vd., 2018, Auxin Response Factors (ARFs) are Potential Mediators of Auxin Action in Tomato Response to Biotic and Abiotic Stress (*Solanum lycopersicum*), *PloS One*, 13, e0193517.
- 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.
- Bray N L, Pimentel H, Melsted P, Pachter L, 2016, Near–Optimal Probabilistic RNA–seq Quantification, *Nature Biotechnology*, 34, 525–527.
- Brini F, Hanin M, Mezghani I, Berkowitz G A, Masmoudi K, 2007, Overexpression of Wheat Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Antiporter *TNAX1* and H<sup>+</sup>–Pyrophosphatase *TVP1* Improve Salt and Drought–Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana* Plants, *Journal of Experimental Botany*, 58, 301–308.
- Brosnan J T, Brosnan M E, 2013, Glutamate: a Truly Functional Amino Acid, *Amino acids*, 45, 413–418.
- Bukovnik U, Fu J M, Bennett M, Prasad P V V, Ristic Z, 2009, Heat Tolerance and Expression of Protein Synthesis Elongation Factors, EF–Tu and EF–1 $\alpha$ , in Spring Wheat, *Functional Plant Biology*, 36, 234–241.
- Burman U, Garg B K, Kathju S, 2008, Influence of Pre–and Post–Drought Application of Thiourea on Growth, Net Photosynthesis and Nitrogen Metabolism of Clusterbean, *Annals of Arid Zone*, 47, 177–184.
- Bybordi A, 2010, The Influence of Salt Stress on Seed Germination, Growth and Yield of Canola Cultivars, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj–Napoca*, 38,

128–133.

- Cabassa–Hourton C, Schertl P, Bordenave–Jacquemin M, Saadallah K, Guivarc'h A, Lebreton S, vd., 2016, Proteomic and Functional Analysis of Proline Dehydrogenase 1 Link Proline Catabolism to Mitochondrial Electron Transport in *Arabidopsis thaliana*, *Biochemical Journal*, 473, 2623–2634.
- Cao Y, Zhang Z W, Xue L W, Du J B, Shang J, Xu F, vd., 2009, Lack of Salicylic Acid in *Arabidopsis* Protects Plants Against Moderate Salt Stress, *Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences*, 64, 231–238.
- Caruso G, Cavaliere C, Guarino C, Gubbiotti R, Foglia P, Laganà 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.
- Cascales–Miñana B, Muñoz–Bertomeu J, Flores–Tornero M, Anoman A D, Pertusa J, Alaiz M, vd., 2013, The Phosphorylated Pathway of Serine Biosynthesis is Essential Both for Male Gametophyte and Embryo Development and for Root Growth in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, 25, 2084–2101.
- Chandrasekar B, Wanke A, Wawra S, Saake P, Mahdi L, Charura N, 2022, Fungi Hijack a Ubiquitous Plant Apoplastic Endoglucanase to Release a ROS Scavenging  $\beta$ –glucan Decasaccharide to Subvert Immune Responses, *Plant Cell*, 34, 2765–2784.
- Chandrasekaran M, Chanratana M, Kim K, Seshadri S, Sa T, 2019, Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Photosynthesis, Water Status, and Gas Exchange of Plants under Salt Stress—a Meta–analysis, *Front Plant Science*, 10, 457.
- Chang C, Wang B, Shi L, Li Y, Duo L, Zhang W, 2010, Alleviation of Salt Stress–induced Inhibition of Seed Germination in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) by Ethylene and Glutamate, *Journal of Plant Physiology*, 167, 1152–1156.
- Chattha M B, Khan I, Mahmood A, Chattha M U, Anjum S A, Ashraf U, vd., 2017, Seed Priming with Thiourea Improves The Performance of Late Sown

- Wheat, *Journal of Agricultural Research*, 55, 29–39.
- Chattopadhyay A, Subba P, Pandey A, Bhushan D, Kumar R, Datta A, vd., 2011, Analysis of The Grasspea Proteome and Identification of Stress–responsive Proteins upon Exposure to High Salinity, Low Temperature, and Abscissic Acid Treatment, *Phytochemistry*, 72, 1293–307.
- Chaudhary J, Khatri P, Singla P, Kumawat S, Kumari A, Vikram A, vd., 2019, Advances in Omics Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Tomato, *Biology*, 8, 90.
- Che–Othman M H, Jacoby R P, Millar A H, Taylor N L, 2020, Wheat Mitochondrial Respiration Shifts from The Tricarboxylic Acid Cycle to The GABA Shunt under Salt Stress, *New Phytologist*, 225, 1166–1180.
- Chen C Z, Zhao Z X, Hu H Z, Leng L P, 2019, Nitric Oxide Modulating Ion Balance in *Hylotelephium erythrostictum* Roots Subjected to NaCl Stress Based on the Analysis of Transcriptome, Fluorescence, and Ion Fluxes, *Scientific Reports*, 9, 18317.
- Chen C, Cheng D, Li L, Sun X, He S, Li M, vd., 2023, Physiological Characteristics and Transcriptome Analysis of Exogenous Brassinosteroid–Treated Kiwifruit, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 17252.
- Chen F, Fang P, Zeng W, Ding Y, Zhuang Z, Peng Y, 2020, Comparing Transcriptome Expression Profiles to Reveal the Mechanisms of Salt Tolerance and Exogenous Glycine Betaine Mitigation in Maize Seedlings, *PLoS One*, 15, e0233616.
- Chen F, Zhang J, Ha X, Ma H, 2023, Genome–wide Identification and Expression Analysis of the Auxin–Response Factor (*ARF*) Gene Family in *Medicago sativa* Under Abiotic Stress, *BMC Genomics*, 24, 498.
- Chen J B, Yang J W, Zhang Z Y, Feng X F, Wang S M, 2013, Two *P5CS* Genes from Common Bean Exhibiting Different Tolerance to Salt Stress in Transgenic Arabidopsis, *Journal of Genetics*, 92, 461–469.
- Chen J, Wan S, Liu H, Fan S, Zhang Y, Wang W, vd., 2016, Overexpression of an *Apocynum venetum* DEAD-box helicase gene (*AvDH1*) in Cotton Confers

- Salinity Tolerance and Increases Yield in a Saline Field, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1227.
- Chen J, Wang W H, Wu F H, He E M, Liu X, Shangguan Z P, vd., 2015, Hydrogen Sulfide Enhances Salt Tolerance Through Nitric Oxide-mediated Maintenance of Ion Homeostasis in Barley Seedling Roots, *Scientific reports*, 5, 12516.
- Chen J, Yu F, Liu Y, Du C Q, Li X S, 2016, FERONIA Interacts with ABI2-type Phosphatases to Facilitate Signaling Cross-talk Between Abscissic Acid and RALF Peptide in Arabidopsis, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 5519–5527.
- Chen N, Song B, Tang S, He J, Zhou Y, Feng J, vd., 2018, Overexpression of the ABC Transporter Gene *TsABCG11* Increases Cuticle Lipids and Abiotic Stress Tolerance in Arabidopsis, *Plant Biotechnology Reports*, 12, 303–313.
- Chen X, Ding Y, Yang Y, Song C, Wang B, Yang S, vd., 2021, Protein Kinases in Plant Responses to Drought, Salt, and Cold Stress, *Journal of Integrative Plant Biology*, 63, 53–78.
- Chen X, Wang J, Zhu M, Jia H, Liu D, Hao L, vd., 2015, A Cotton Raf-Like *MAP3K* Gene, *GhMAP3K40*, Mediates Reduced Tolerance to Biotic and Abiotic Stress in *Nicotiana benthamiana* by Negatively Regulating Growth and Development, *Plant Science*, 240, 10–24.
- Chen Z, Gopalakrishnan S M, Bui M H, Soni N B, Warrior U, Johnson E F, vd., 2011, 1-Benzyl-3-cetyl-2-methylimidazolium Iodide (NH125) Induces Phosphorylation of Eukaryotic Elongation Factor-2 (eEF2): a Cautionary Note on The Anticancer Mechanism of an eEF2 Kinase Inhibitor, *The Journal of Biological Chemistry*, 286, 43951–43958.
- Chen Z, Yang B, Hao Z, Zhu J, Zhang Y, Xu T, 2018, Exogenous Hydrogen Sulfide Ameliorates Seed Germination and Seedling Growth of Cauliflower Under Lead Stress and Its Antioxidant Role, *Journal of Plant Growth Regulation*, 37, 5–15.
- Cheng C, Zhang F, Li L, Ni Z, 2024, Identification and Analysis of the Plasma Membrane  $H^+$ -ATPase Gene Family in Cotton and Its Roles in Response to Salt

Stress, Plants, 13, 3510.

- Cheng C, Zhong Y, Wang Q, Cai Z, Wang D, Li C, 2019, Genome–Wide Identification and Gene Expression Analysis of SOS Family Genes in Tuber Mustard (*Brassica juncea* var. *tumida*), PLoS One, 14, e0224672.
- Cheng Y, Tian Q, Zhang W H, 2016, Glutamate Receptors Are Involved in Mitigating Effects of Amino Acids on Seed Germination of *Arabidopsis thaliana* under Salt Stress, Environmental and Experimental Botany, 130, 68–78.
- Cheng Z, Zhang X, Yao W, Gao Y, Zhao K, Guo Q, vd., 2021, Genome–wide Identification and Expression Analysis of the Xyloglucan Endotransglucosylase/hydrolase Gene Family in Poplar, BMC genomics, 22, 1–13.
- Choi H I, Park H J, Park J H, Kim S, Im M Y, Seo H H, 2005, Arabidopsis Calcium–dependent Protein Kinase AtCPK32 Interacts with ABF4, A Transcriptional Regulator of Absciscic Acid–responsive Gene Expression, and Modulates Its Activity, Plant Physiology, 139, 1750–1761.
- Choudhary M, Singh A, Gupta M, Rakshit S, 2020, Enabling Technologies for Utilization of Maize as A Bioenergy Feedstock, Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 14, 402–416.
- Cohen S, Flescher E, 2009, Methyl Jasmonate: A Plant Stress Hormone as An Anti–Cancer Drug, Phytochemistry, 70, 1600–1609.
- Corpas F J, Palma J M, 2020, H<sub>2</sub>S Signaling in Plants and Applications in Agriculture, Journal of Advanced Research, 24, 131–137.
- Cortleven A, Leuendorf J E, Frank M, Pezzetta D, Bolt S, Schmülling T, 2019, Cytokinin Action in Response to Abiotic and Biotic Stresses in Plants, Plant, Cell & Environment, 42, 998–1018.
- Cui D, Wu D, Somarathna Y, Xu C, Li S, Li P, vd., 2015, QTL Mapping for Salt Tolerance Based on SNP Markers at the Seedling Stage in Maize (*Zea mays* L.), Euphytica, 203, 273–283.
- Cui F, Liu L, Zhao Q, Zhang Z, Li Q, Lin B, vd., 2012, Arabidopsis Ubiquitin

- Conjugase UBC32 is an ERAD Component That Functions in Brassinosteroid-mediated Salt Stress Tolerance, *The Plant Cell*, 24, 233–244.
- Cui M H, Yoo K S, Hyoung S, Nguyen H T K, Kim Y Y, Kim H J, vd., 2013, An Arabidopsis *R2R3-MYB* Transcription Factor, *AtMYB20*, Negatively Regulates Type 2C Serine/Threonine Protein Phosphatases to Enhance Salt Tolerance, *Febs Letters*, 587, 1773–1778.
- D’Amato R, Del Buono D, 2021, Use of A Biostimulant to Mitigate Salt Stress in Maize Plants, *Agronomy*, 11, 1755.
- Dabravolski S A, Isayenkov S V, 2023, The regulation of Plant Cell Wall Organization Under Salt Stress, *Frontiers in Plant Science*, 14, 1118313.
- Dabravolski S A, Isayenkov S V, 2024, The Role of Plant Ubiquitin-like Modifiers in the Formation of Salt Stress Tolerance, *Plants*, 13, 1468.
- Dang H Q, Tran N Q, Gill S S, Tuteja R, Tuteja N, 2011, A Single Subunit MCM6 from Pea Promotes Salinity Stress Tolerance Without Affecting Yield, *Plant Molecular Biology*, 76, 19–34.
- Dar N A, Amin I, Wani W, Wani S A, Shikari A B, Wani S H, vd., 2017, Absciscic acid: A key Regulator of Abiotic Stress Tolerance in Plants, *Plant Gene*, 11, 106–111.
- Das K, Roychoudhury A, 2014, Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as ROS-Scavengers During Environmental Stress in Plants, *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Datnoff L E, Deren C W, Snyder G H, 1997, Silicon Fertilization for Disease Management of Rice in Florida, *Crop Protection*, 16, 525–531.
- de Freitas P A F, de Carvalho H H, Costa J H, Miranda R D S, Saraiva K D D C, de Oliveira, F D B, 2019, Salt Acclimation in Sorghum Plants by Exogenous Proline: Physiological and Biochemical Changes and Regulation of Proline Metabolism, *Plant Cell Reports*, 38, 403–416.
- de Freitas P A F, de Souza Miranda R, Marques E C, Prisco J T, Gomes-Filho E, 2018, Salt Tolerance Induced by Exogenous Proline in Maize Is Related to Low Oxidative Damage and Favorable Ionic Homeostasis, *The Journal of Plant*

- Growth Regulation, 37, 911–924.
- Debona D, Rodrigues F A, Datnoff L E, 2017, Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses, Annual Review of Phytopathology, 55, 85–107.
- Deinlein U, Stephan A B, Horie T, Luo W, Xu G, Schroeder J I, 2014, Plant Salt-Tolerance Mechanisms, Trends in Plant Science, 19, 371–379.
- Delatorre-Herrera J, Ruiz K B, Pinto M, 2021, The Importance of Non-diffusional Factors in Determining Photosynthesis of Two Contrasting Quinoa Ecotypes (*Chenopodium quinoa* Willd.) Subjected to Salinity Conditions, Plants, 10, 927.
- DeLong A, 2006, Switching The Flip: Protein Phosphatase Roles in Signaling Pathways, Current Opinion Plant Biology, 9, 470–477.
- Demidchik V, Tester M, 2002, Sodium Fluxes Through Nonselective Cation Channels in The Plasma Membrane of Protoplasts from Arabidopsis Roots, Plant physiology, 128, 379–387.
- Demura T, Ye Z H, 2010, Regulation of Plant Biomass Production, Current Opinion in Plant Biology, 13, 298–303.
- Deschoenmaeker F D R, Mihara S, Niwa T, Taguchi H, Nomata J, Wakabayashi K I, vd., 2019, Disruption of The Gene *trx-m1* Impedes the Growth of *Anabaena* sp. PCC 7120 under Nitrogen Starvation, Plant Cell Physiology, 60, 1504–1513.
- Deshmukh R, Sonah H, Belanger R R, 2020, New Evidence Defining The Evolutionary Path of Aquaporins Regulating Silicon Uptake in Land Plants, Journal of Experimental Botany, 71, 6775–6788.
- Dettmer J, Hong H A, Stierhof Y D, Schumacher K, 2006, Vacuolar  $H^+$ -ATPase Activity is Required for Endocytic and Secretory Trafficking in Arabidopsis, Plant Cell, 18, 715–30.
- Deuschle K, Funck D, Hellmann H, Däschner K, Binder S, Frommer W B, 2001, A Nuclear Gene Encoding Mitochondrial  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate Dehydrogenase and Its Potential Role in Protection From Proline Toxicity, The Plant Journal 27, 345–356.

- Dhal S, Pal H, 2022, Regulation of Glycolysis and Krebs Cycle during Biotic and Abiotic Stresses, In Photosynthesis and Respiratory Cycles During Environmental Stress Response in Plants, 263–308.
- Dhaliwal S S, Sharma V, Shukla A K, 2022, Impact of Micronutrients in Mitigation of Abiotic Stresses in Soils and Plants—A Progressive Step Toward Crop Security and Nutritional Quality, *Advances in Agronomy*, 173, 1–78.
- Dhillon S A, Mujahid N, Shahbaz M, Debez, 2023, Response of Sesame (*Sesamum indicum* L.) to Foliar-Applied Thiourea under Saline Conditions, *International Journal of Applied and Experimental Biology*, 2, 167–177.
- Dhiman P, Rajora N, Bhardwaj S, Sudhakaran S S, Kumar A, Raturi G, vd., 2021, Fascinating Role of Silicon to Combat Salinity Stress in Plants: An Updated Overview, *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 110–123.
- di Pietro M, Vialaret J, Li G W, 2013, Coordinated Post-translational Responses of Aquaporins to Abiotic and Nutritional Stimuli in Arabidopsis Roots, *Molecular and Cellular Proteomics*, 12, 3886–3897.
- Dietz K J, Jacob S, Oelze M L, Laxa M, Tognetti V, de Miranda S M N, vd., 2006, The Function of Peroxiredoxins in Plant Organelle Redox Metabolism, *Journal of Experimental Botany*, 57, 1697–1709.
- Dluzniewska P, Gessler A, Dietrich H, Schnitzler J P, Teuber M, Rennenberg H, 2007, Nitrogen Uptake and Metabolism in *Populus x canescens* as Affected by Salinity, *The New Phytologist*, 173, 279–293.
- Domingos P, Prado A M, Wong A, Gehring C, Feijo J A, 2015, Nitric Oxide: A Multitasked Signaling Gas in Plants, *Molecular Plant*, 8, 506–520.
- Dong H, Wang C, Xing C, Yang T, Yan J, Gao J, vd., 2019, Overexpression of *PbrNHX2* Gene, a  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter Gene Isolated From *Pyrus betulaefolia*, Confers Enhanced tolerance to Salt Stress Via Modulating ROS Levels, *Plant Science*, 285, 14–25.
- Dong Q, Wallrad L, Almutairi B O, Kudla J, 2022,  $\text{Ca}^{2+}$  Signaling in Plant Responses to Abiotic Stresses, *Journal of Integrative Plant Biology*, 64, 287–300.

- Dou L, He K, Higaki T, Wang X, Mao T, 2018, Ethylene Signaling Modulates Cortical Microtubule Reassembly in Response to Salt Stress, *Plant Physiology*, 176, 2071–2081.
- Du S Y, Zhang X F, Lu Z, Xin Q, Wu Z, Jiang T, vd., 2012, Roles of the Different Components of Magnesium Chelatase in Absciscic Acid Signal Transduction, *Plant Molecular Biology*, 80, 519–537.
- Duan X, Wang Z, Zhang Y, Li H, Yang M, Yin H, vd., 2022, Overexpression of A Thioredoxin–protein–encoding Gene, *MsTRX*, from *Medicago sativa* Enhances Salt Tolerance to Transgenic Tobacco, *Agronomy*, 12, 1467.
- Dunn M A, Morris A, Jack P L, Hughes M A, 1993, A Low Temperature Responsive Translation Elongation Factor 1 Alpha from Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Plant Molecular Biology*, 23, 221–225.
- El Mahi H, Pérez–Hormaeche J, De Luca A, Villalta I, Espartero J, Gámez–Arjona F, vd., 2019, A Critical Role of Sodium Flux *via* The Plasma Membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Exchanger SOS1 in The Salt Tolerance Of Rice, *Plant Physiology*, 180, 1046–1065.
- El–Taher A M, Abd El–Raouf H S, Osman N A, Azoz S N, Omar M A, Elkelish A, vd., 2021, Effect of Salt Stress and Foliar Application of Salicylic Acid on Morphological, Biochemical, Anatomical, and Productivity Characteristics of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Plants, *Plants*, 11, 115.
- Elasad M, Wei H, Wang H, Su J, Ondati E, Yu S, 2018, Genome–Wide Analysis and Characterization of the *TRX* Gene Family in Upland Cotton, *Tropical Plant Biology*, 11, 119–130.
- El–Keblawy A, Gairola S, 2017, Dormancy Regulating Chemicals Alleviate Innate Seed Dormancy and Promote Germination of Desert Annuals, *Journal of Plant Growth Regulation*, 36, 300–311.
- Elkelish A A, Alnusaire T S, Soliman M H, Gawayed S, Senousy H H, Fahad S, 2019, Calcium Availability Regulates Antioxidant System, Physio–Biochemical Activities and Alleviates Salinity Stress Mediated Oxidative Damage In Soybean Seedlings, *The Journal of Applied Botany and Food Quality*, 92, 258–266.

- ElSayed A I, Rafudeen M S, Ganie S A, Hossain M S, Gomaa A M, 2022, Seed Priming With Cypress Leaf Extract Enhances Photosynthesis and Antioxidative Defense in Zucchini Seedlings under Salt Stress, *Scientia Horticulturae*, 293, 110707.
- Eprintsev A T, Fedorin D N, Cherkasskikh M V, Igamberdiev A U, 2021, Effect of Salt Stress on The Expression and Promoter Methylation of The Genes Encoding The Mitochondrial and Cytosolic Forms of Aconitase and Fumarase in Maize, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 6012.
- Erland L A, Saxena P K, 2018, Melatonin in Plant Morphogenesis, *In Vitro Cellular & Developmental Biology–Plant*, 54, 3–24.
- Estelle M, 2001, Proteases and Cellular Regulation in Plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 254–260.
- Etesami H, Noori F, 2019, Soil Salinity as a Challenge for Sustainable Agriculture and Bacterial-mediated Alleviation of Salinity Stress in Crop Plants, *Saline Soil-based Agriculture by Halotolerant Microorganisms*, 1–22.
- Evans M J, Choi W G, Gilroy S, Morris R J, 2016, A ROS-Assisted Calcium Wave Dependent on the *AtRBOHD* NADPH Oxidase and TPC1 Cation Channel Propagates The Systemic Response to Salt Stress, *Plant Physiology*, 171, 1771–1784.
- Evers D, Legay S, Lamoureux D, Hausman J F, 2012, Towards a Synthetic View of Potato Cold and Salt Stress Response By Transcriptomic and Proteomic Analyses, *Plant Molecular Biology*, 78, 503–514.
- Fageria N K, Moreira A, 2011, The Role of Mineral Nutrition on Root Growth of Crop Plants, *Advances in Agronomy*, 110, 251–331.
- Fan Z, Zhu Y, Kuang W, Leng J, Wang X, Qiu L, 2024, The 14–3–3 Protein GRF8 Modulates Salt Stress Tolerance in Apple via the WRKY18–SOS Pathway, *Plant physiology*, 194, 1906–1922.
- Fancy N N, Bahlmann A K, Loake G J, 2016, Nitric Oxide Function in Plant Abiotic Stress, *Plant Cell Environment*, 40, 462–472.
- Farnese F S, Menezes-Silva P E, Gusman G S, Oliveira J A, 2016, When Bad Guys

- Become Good Ones: The Key Role of Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in The Plant Responses to Abiotic Stress, *Front Plant Science*, 7, 471.
- Farooq M A, Hong Z, Islam F, Noor Y, Hannan F, Zhang Y, vd., 2021, Comprehensive Proteomic Analysis of Arsenic Induced Toxicity Reveals The Mechanism of Multilevel Coordination of Efficient Defense and Energy Metabolism in Two *Brassica napus* Cultivars, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111744.
- Farooq M, Gogoi N, Hussain M, Barthakur S, Paul S, Bharadwaj N, 2017, Effects, Tolerance Mechanisms and Management of Salt Stress in Grain Legumes, *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 199–217.
- Farooq M, Hussain M, Wakeel A, Siddique K H, 2015, Salt Stress in Maize: Effects, Resistance Mechanisms, and Management, A Review, *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 461–481.
- Farooq M, Uzma J, Dayakar T, Pizzio G A, Mamidala P, 2023, Foliar Spray of Thiourea Enhances Salt Tolerance and Improves Biochemical Induced Physiological Responses in *Gerbera jamesonii*, *Preprints*, 2023101725.
- Feng D, Gao Q, Liu J, Tang J, Hua Z, Sun X, 2023, Categories of Exogenous Substances and Their Effect on Alleviation of Plant Salt Stress, *European Journal of Agronomy*, 142, 126656.
- Feria A B, Bosch N, Sánchez A, Nieto–Ingelmo A I, de la Osa C, Echevarría C, vd., 2016, Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PEPC) and PEPC–kinase (PEPC–k) Isoenzymes in *Arabidopsis thaliana*: Role in Control and Abiotic Stress Conditions, *Planta*, 244, 901–913.
- Fesel P H, Zuccaro A, 2016,  $\beta$ –glucan: Crucial Component of the Fungal Cell Wall and Elusive MAMP in Plants, *Fungal Genetics and Biology*, 90, 53–60.
- Flam–Shepherd R, Huynh W Q, Coskun D, Hamam A M, Britto D T, Kronzucker H J, 2018, Membrane Fluxes, Bypass Flows, and Sodium Stress in Rice: the Influence of Silicon, *Journal of Experimental Botany*, 69, 1679–1692.
- Foyer C H, Noctor G, 2011, Ascorbate and Glutathione: The Heart of The Redox

- Hub, Plant Physiology, 155, 2–18.
- Foyer C H, Noctor G, 2012, Managing the Cellular Redox Hub in Photosynthetic Organisms, Plant, Cell and Environment, 35, 199–201.
- Foyer C H, Noctor G, 2015, Defining Robust Redox Signalling within The Context of The Plant Cell, Plant, Cell & Environment, 38, 239–239.
- Franz S, Ehlert B, Liese A, Kurth J, Cazale A C, Romeis T, 2011, Calcium–dependent Protein Kinase CPK21 Functions in Abiotic Stress Response in *Arabidopsis thaliana*, Molecular Plant, 4, 83–96.
- Freeha A, Abdul W, Farrukh J, Muhammad A, 2008, Influence of Foliar Applied Thiourea on Flag Leaf Gas Exchange and Yield Parameters of Bread Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars Under Salinity and Heat Stresses, International Journal of Agriculture and Biology, 10, 619–626.
- Freitas V S, de Souza Miranda R, Costa J H, de Oliveira D F, de Oliveira Paula S, de Castro Miguel E, vd., 2018, Ethylene Triggers Salinity Tolerance in Maize Genotypes by Modulating Polyamine Catabolism Enzymes Associated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Production, Environment Experimental and Botany, 145, 75–86.
- Frew A, Weston L A, Reynolds O L, Gurr G M, 2018, A Framework for Understanding Silicon's Role in Plant Biology, Annals of Botany, 121, 1265–1273.
- Fu C, Liu X X, Yang W W, Zhao C M, Liu J, 2016, Enhanced Salt Tolerance in Tomato Plants Constitutively Expressing Heat–shock Protein in the Endoplasmic Reticulum, Genetics and Molecular Research, 15.
- Fu H, Yu X, Jiang Y, Wang Y, Yang Y, Chen S, vd., 2023. SALT OVERLY SENSITIVE 1 is Inhibited by Clade D Protein Phosphatase 2C D6 and D7 in *Arabidopsis thaliana*, The Plant Cell, 35, 279–297.
- Fu J, Gao J, Liang Z, Yang D, 2020, *Pdi*–Regulated Disulfide Bond Formation in Protein Folding and Biomolecular Assembly, Molecules, 26, 171.
- Fujii H V, Chinnusamy A, Rodrigues S, Rubio R, Antoni S Y, Park S R, vd., 2009, In Vitro Reconstitution of An Absciscic Acid Signaling Pathway, Nature, 462, 660–664.

- Gómez-Arjona F, Park H J, García E, Aman R, Villalta I, Raddatz N, 2024, Inverse Regulation of SOS1 and HKT1 Protein Localization and Stability by SOS3/CBL4 in *Arabidopsis thaliana*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 121, e2320657121.
- Gan T, Lin Z, Bao L, Hui T, Cui X, Huang Y, vd., 2021, Comparative Proteomic Analysis of Tolerant and Sensitive Varieties Reveals That Phenylpropanoid Biosynthesis Contributes to Salt Tolerance in Mulberry, International Journal of Molecular Sciences, 22, 9402.
- Gao C Q, Liu G F, Wang Y C, Jiang J, Yang C P, 2010, Cloning and Analysis of Dirigent-like Protein in Gene from *Tamarix androssowii*, Bulletin of Botanical Research, 30, 81–86.
- Gao F, Chen J, Ma T, Li H, Wang N, Li Z, vd., 2014, The Glutathione Peroxidase Gene Family in *Thellungiella salsuginea*: Genome-wide Identification, Classification, and Gene and Protein Expression Analysis under Stress Conditions, International Journal of Molecular Science, 15, 3319–3335.
- Gao J, Sun J, Cao P, Ren L, Liu C, Chen S, 2016, Variation in Tissue Na<sup>+</sup> Content and The Activity of SOS1 Genes Among Two Species and Two Related Genera of *Chrysanthemum*, BMC Plant Biology, 16, 1–15.
- Gao Y F, Liu J K, Yang F M, Zhang G Y, Wang D, Zhang L, vd., 2020, The WRKY Transcription Factor WRKY8 Promotes Resistance to Pathogen Infection and Mediates Drought and Salt Stress Tolerance in *Solanum lycopersicum*, Plant Physiology, 168, 98–117.
- Gao Y, Ma J, Zheng J C, Chen J, Chen M, Zhou Y B, vd., 2019, The Elongation Factor GmEF4 is Involved in The Response to Drought and Salt Tolerance in Soybean, International Journal of Molecular Science, 19, 3001.
- Garabagi F, Duns G, Strommer J, 2005, Selective Recruitment of *Adh* Genes for Distinct Enzymatic Functions in *Petunia hybrida*, Plant Molecular Biology, 58, 283–94.
- García-García A L, García-Machado F J, Borges A A, Morales-Sierra S, Boto A,

- Jiménez–Arias D, 2020, Pure Organic Active Compounds Against Abiotic Stress: A Biostimulant Overview, *Frontiers in Plant Science*, 11, 575829.
- Gautam A, Pandey A K, 2021, Aquaporins Responses Under Challenging Environmental Conditions and Abiotic Stress Tolerance in Plants, *The Botanical Review*, 87, 467–495.
- Gaxiola R A, Rao R, Sherman A, Grisafi P, Alper S L, Fink G R, 1999, The *Arabidopsis thaliana* Proton Transporters, *AtNhx1* and *Avp1*, Can Function in Cation Detoxification in Yeast, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 1480–1485.
- Geiger D, Scherzer S, Mumm P, Marten I, Ache P, Matschi, vd., 2010, Guard Cell Anion Channel SLAC1 is Regulated by CDPK Protein Kinases with Distinct  $\text{Ca}^{2+}$  Affinities, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 8023–8028.
- Geng X, Chen S, Yilan E, Zhang W, Mao H, Qiqige A, vd., 2020, Overexpression of A Tonoplast  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter From The Halophytic Shrub *Nitraria sibirica* Improved Salt Tolerance and Root Development in Transgenic Poplar, *Tree Genetics & Genomes*, 16, 1–14.
- George S, Manoharan D, Li J, Britton M, Parida A, 2017, Transcriptomic Responses to Drought and Salt Stress in Desert Tree *Prosopis juliflora*, *Plant Gene*, 12, 114–122.
- Ghani M A, Mushtaq A, Ziaf K, Ali B, Jahangir M M, Khan R W, vd., 2021, Exogenously Applied GA3 Promotes Plant Growth in Onion by Reducing Oxidative Stress Under Saline Conditions, *Journal of Agricultural Sciences*, 27, 122–128.
- Gharbi E, Martínez J P, Benahmed H, Lepoint G, Vanpee B, Quinet M, vd., 2017, Inhibition of Ethylene Synthesis Reduces Salinity–Tolerance in Tomato Wild Relative Species *Solanum chilense*, *Journal of Plant Physiology*, 210, 24–37.
- Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N, 2011, Flavonoids and Phenolic Acids: Role and Biochemical Activity in Plants and Human, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 6697–6703.

- Ghassemi–Golezani K, Abdoli S, 2021, Improving ATPase and PPase Activities, Nutrient Uptake and Growth of Salt Stressed Ajowan Plants By Salicylic Acid and Iron–oxide Nanoparticles, *Plant Cell Reports*, 40, 559–573.
- Gholizadeh F, Mirmazloun I, Janda T, 2024, Genome–wide Identification of *HKT* Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.): Insights From The Expression of Multiple Genes (*HKT*, *SOS*, *TVP* and *NHX*) Under Salt Stress, *Plant Stress*, 13, 100539.
- Godoy F, Olivos–Hernández K, Stange C, Handford M, 2021, Abiotic Stress in Crop Species: Improving Tolerance by Applying Plant Metabolites, *Plants*, 10, 186.
- Golkar P, Taghizadeh M, Yousefian Z, 2019, The Effects of Chitosan and Salicylic Acid on Elicitation of Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of Safflower Under in Vitro Salinity Stress, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 137, 575–585.
- Golldack D C, Li H, Mohan N, 2014, Tolerance to Drought and Salt Stress in Plants: Unraveling the Signaling Networks, *Front Plant Science*, 5, 151.
- Golldack D, Dietz K J, 2001, Salt–induced Expression of The Vacuolar H<sup>+</sup>–ATPase in The Common Ice Plant is Developmentally Controlled and Tissue Specific, *Plant Physiology*, 125, 1643–54.
- Gou C, Huang Q, Rady M M, Wang L, Ihtisham M, El–Awady H H, vd., 2023, Integrative Application of Silicon and/or Proline Improves Sweet Corn (*Zea mays* L. *saccharata*) Production and Antioxidant Defense System under Salt Stress Condition, *Scientific Reports*, 13, 18315.
- Goussi R, Manfredi M, Marengo E, Derbali W, Cantamessa S, Barbato R, vd., 2021, Thylakoid Proteome Variation of *Eutrema salsugineum* in Response to Drought and Salinity Combined Stress, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862, 148482.
- Graebe J E, 1987, Gibberellin Biosynthesis and Control. *Annual Review of Plant Physiology*, 38, 419–465.
- Granaz S K, Baksh G, Zahra N, Hafeez M B, Raza A, Wahid A, 2022, Foliar Application of Thiourea, Salicylic Acid, and Kinetin Alleviate Salinity Stress in

- Maize Grown Under Etiolated and De-Etiolated Conditions, *Discover Food*, 2, 27.
- Gruber C W, Cemazar M, Heras B, Martin J L, Craik D J, Protein Disulfide Isomerase: The Structure of Oxidative Folding, *Trends Biochemistry Science*, 31, 455–464.
- Gu S, Abid M, Bai D, Chen C, Sun L, Qi X, vd., 2023, Transcriptome–Wide Identification and Functional Characterization of *CIPK* Gene Family Members in *Actinidia valvata* Under Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 805.
- Gu X, Lu L, Gao J, Fan F, Song, G, Zhang H, 2025, Comprehensive Transcriptome and Proteome Analysis Revealed The Molecular Mechanisms of Melatonin Priming and Waterlogging Response in Peach, *Frontiers in Plant Science*, 16, 1527382.
- Guan B, Hu Y, Zeng Y, Wang Y, Zhang F, 2011, Molecular Characterization and Functional Analysis of a Vacuolar  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter Gene (*HcNHX1*) from *Halostachys capsica*, *Molecular Biology Reports*, 38, 1889–1899.
- Guan C, Li X, Tian D Y, Liu H Y, Cen H F, Tadege M, vd., 2020, ADP ribosylation Factors Improve Biomass Yield and Salinity Tolerance in Transgenic Switchgrass (*Panicum virgatum* L.), *Plant Cell Reports*, 39, 1623–1638.
- Guan Q, Wu J, Yue X, Zhang Y, Zhu J, 2013, A Nuclear Calcium–sensing Pathway is Critical for Gene Regulation and Salt Stress Tolerance in Arabidopsis, *PLoS Genetics*, 9, e1003755.
- Gull A, Lone A A, Wani N U I, 2019, Biotic and Abiotic Stresses in Plants, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 1807–1828.
- Guo K M, Babourina O, Rengel Z, 2009,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter Activity of the *SOS1* Gene: Lifetime Imaging Analysis and Electrophysiological Studies on Arabidopsis Seedlings, *Physiologia Plantarum*, 137, 155–165.
- Guo R, Shi L, Yan C, Zhong X, Gu F, Liu Q, vd., 2017, Ionomic and Metabolic Responses to Neutral Salt or Alkaline Salt Stresses in Maize (*Zea mays* L.) Seedlings, *BMC Plant Biology*, 17, 1–13.
- Guo T R, Zhang G P, Zhang Y H, 2007, Physiological Changes in Barley Plants Under

- combined Toxicity of Aluminum, Copper and Cadmium, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57, 182–188.
- Gupta D K, Palma J M, Corpas F J, 2015, Production Sites of Reactive Oxygen Species (ROS) in Organelles from Plant Cells, *Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage in Plants Under Stress* (No. 11810), 370, Springer, Switzerland.
- Gupta D, Tuteja N, 2011, Chaperones and Foldases in Endoplasmic Reticulum Stress Signaling in Plants, *Plant Signaling & Behavior*, 6, 232–236.
- Hakala M, Tuominen I, Keranen M, Tyystjärvi T, Tyystjärvi E, 2005, Evidence for The Role of The Oxygen–Evolving Manganese Complex in Photoinhibition of Photosystem II, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1706, 68–80.
- Han Y, Yin S, Huang L, Wu X, Zeng J, Liu X, vd., 2018, A Sodium Transporter HvHKT1; 1 Confers Salt Tolerance in Barley via Regulating Tissue and Cell Ion Homeostasis, *Plant and Cell Physiology*, 59, 1976–1989.
- Hanson A D, Wyse R, 1982, Biosynthesis, Translocation, and Accumulation of Betaine in Sugar Beet and Its Progenitors in Relation to Salinity, *Plant Physiology*, 70, 1191–1198.
- Hao L, Zhao Y, Jin D, Zhang L, Bi X, Chen H, vd. 2012, Salicylic Acid–altering Arabidopsis Mutants Response to Salt Stress, *Plant Soil*, 354, 81–95.
- Hao S, Wang Y, Yan Y, Liu Y, Wang J, Chen S, 2021, A Review on Plant Responses to Salt Stress and Their Mechanisms of Salt Resistance, *Horticulturae*, 7, 132.
- Hasanuzzaman M, Raihan M R H, Masud A A C, Rahman K, Nowroz F, Rahman M, vd., 2021, Regulation of Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants Under Salinity, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 9326.
- Hayat S, Hayat Q, Alyemeni M N, Ahmad A, 2013, Proline Enhances Antioxidative Enzyme Activity, Photosynthesis and Yield of *Cicer arietinum* L. Exposed to Cadmium Stress, *Acta Botanica Croatica*, 72, 323–335.
- He L, Jin P, Chen X, Zhang T Y, Zhong K L, Liu P, vd., 2021, Comparative Proteomic Analysis of *Nicotiana benthamiana* Plants under Chinese Wheat Mosaic Virus Infection, *BMC Plant Biology*, 21, 10–17.

- He W, Yan K, Zhang Y, Bian L, Mei H, Han G, 2021, Contrasting Photosynthesis, Photoinhibition and Oxidative Damage in Honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) under Iso-osmotic Salt and Drought Stresses, *Environmental and Experimental Botany*, 182, 104313.
- Heath R L, Packer L, 1968, Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts: I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189–198.
- Hessini K, Jeddi K, Siddique K, Cruz C, 2021, Drought and Salinity: A Comparison of Their Effects on The Ammonium–preferring Species *Spartina Alterniflora*, *Physiologia Plantarum*, 172, 431–440.
- Heuer B, 2010, “Role of Proline in Plant Response to Drought and Salinity,” in *Handbook of Plant and Crop Stress*, 3rd ed. Ed. Pessarakli A, 1245, Boca Raton, CRC Press.
- Heyndrickx K S, de Velde J V, Wang C, Weigel D, Vandepoele K, 2014, A Functional and Evolutionary Perspective on Transcription Factor Binding in *Arabidopsis thaliana*, *The Plant Cell*, 26, 3894–3910.
- Hichem H, Mounir D, 2009, Differential Responses of Two Maize (*Zea mays* L.) Varieties to Salt Stress: Changes on Polyphenols Composition of Foliage and Oxidative Damages, *Industrial Crops and Products*, 30, 144–151.
- Hnilickova H, Kraus K, Vachova P, Hnilicka F, 2021, Salinity Stress Affects Photosynthesis, Malondialdehyde Formation, and Proline Content in *Portulaca oleracea* L., *Plants*, 10, 845.
- Hoang X L T, Guyen N C N, Nguyen Y H, Watanabe Y, Tran L P, Thao N P, 2019, The Soybean *GmNAC019* Transcription Factor Mediates Drought Tolerance in *Arabidopsis* in an Absciscic Acid–dependent Manner, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 286
- Horváth E, Bela K, Holinka B, Riyazuddin R, Gallé Á, Hajnal Á, vd., 2019, The *Arabidopsis* Glutathione Transferases, *AtGSTF8* and *AtGSTU19* are Involved in the Maintenance of Root Redox Homeostasis Affecting Meristem Size and Salt

- Stress Sensitivity, *Plant Science*, 283, 366–374.
- Hossain M S, Dietz K J, 2016, Tuning of Redox Regulatory Mechanisms, Reactive Oxygen Species and Redox Homeostasis Under Salinity Stress, *Frontiers in plant science*, 7, 548.
- Hossain M A, Bhattacharjee S, Armin S M, Qian P, Xin W, Li H Y, vd., 2015, Hydrogen Peroxide Priming Modulates Abiotic Oxidative Stress Tolerance: Insights From ROS Detoxification and Scavenging, *Frontiers in Plant Science*, 6, 420.
- Hu D, Li R, Dong S, Zhang J, Zhao B, Ren B, vd., 2022, Maize (*Zea mays* L.) Responses to Salt Stress in Terms of Root Anatomy, Respiration and Antioxidative Enzyme Activity, *BMC Plant Biology*, 22, 602.
- Hu J, Zou S, Huang J, Huan X, Jin X, Zhou L, vd., 2023, *PagMYB151* Facilitates Proline Accumulation to Enhance Salt Tolerance of Poplar, *BMC genomics*, 24, 345.
- Hu W, Su Y, Zhou J, Zhu H, Guo J, Huo H, vd., 2022, Foliar Application of Silicon and Selenium Improves The Growth, Yield and Quality Characteristics of Cucumber in Field Conditions, *Scientia Horticulturae*, 294, 110776.
- Hu Y, Chen L, Wang H, Zhang L, Wang F, Yu D, 2013, Arabidopsis Transcription Factor *WRKY8* Functions Antagonistically with Its Interacting Partner *VQ9* to Modulate Salinity Stress Tolerance, *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 74, 730–745.
- Huang D, Huo J, Liao W, 2021, Hydrogen Sulfide: Roles in Plant Abiotic Stress Response and Crosstalk with Other Signals, *Plant Science*, 302, 110733.
- Huang H, Ullah F, Zhou D X, Yi M, Zhao Y, 2019, Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses, *Frontiers in Plant Science*, 10, 800.
- Huang J, Liu F, Chao D, Xin B, Liu K, Cao S, vd., 2022, The *WRKY* Transcription Factor *OsWRKY54* is Involved in Salt Tolerance in Rice, *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 11999.
- Huang J, Liu J, Jiang F, Liu M, Chen Z, Zhou R, vd., 2024, Identification and

- Expression Pattern Analysis of the SOS Gene Family in Tomatoes, *Agronomy*, 14, 773.
- Huang L, Kuang L, Wu L, Shen Q, Han Y, Jiang L, vd., 2020, The HKT Transporter *HvHKT1;5* Negatively Regulates Salt Tolerance, *Plant Physiology*, 182, 584–596.
- Huang Y, Bie Z, Liu Z, Zhen A, Wang W, 2009, Protective Role of Proline Against Salt Stress is Partially Related to The Improvement of Water Status and Peroxidase Enzyme Activity in Cucumber, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 55, 698–704.
- Huangfu L, Zhang Z, Zhou Y, Zhang E, Chen R, Fang H, vd., 2021, Integrated Physiological, Metabolomic and Transcriptomic Analyses Provide Insights into the Roles of Exogenous Melatonin in Promoting Rice Seed Germination under Salt Stress, *Plant Growth Regulation*, 95, 19–31.
- Huihui Z, Yue W, Xin L, Guoqiang H, Yanhui C, Zhiyuan T, vd., 2020, Chlorophyll Synthesis and The Photoprotective Mechanism in Leaves of Mulberry (*Morus alba* L.) Seedlings under NaCl and NaHCO<sub>3</sub> Stress Revealed by TMT-based Proteomics Analyses, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110164.
- Humphrey S J, James D E, Mann M, 2015, Protein Phosphorylation: A Major Switch Mechanism for Metabolic Regulation, *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 26, 676–687.
- Hundertmark M, Hincha D K, 2008, LEA (Late Embryogenesis Abundant) Proteins and Their Encoding Genes in *Arabidopsis thaliana*, *BMC Genom*, 9, 118–139.
- Hunpatin O S, Yuan G, Nong T, Shi C, Wu X, Liu H, vd., 2023, The Roles of Calcineurin B-like Proteins in Plants Under Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 16958.
- Hurtado A C, Chiconato D A, Prado R D M, Junior G D S S, Gratão P L, Felisberto G, vd., 2020, Different Methods of Silicon Application Attenuate Salt Stress in Sorghum and Sunflower by Modifying the Antioxidative Defense Mechanism, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 110964.

- Hussain M, Khan T A, Yusuf M, Fariduddin Q, 2019, Silicon Mediated Role of 24-Epibrassinolide in Wheat under High-Temperature Stress, *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 17163–17172.
- Hussain S S, Rasheed M, Saleem M H, Ahmed Z I, Hafeez A, Jilani G, vd., 2023, Salt Tolerance in Maize with Melatonin Priming to Achieve Sustainability in Yield on Salt Affected Soils, *Pakistan Journal of Botany*, 55, 19–35.
- Hussain S, Zhang R, Liu S, Li R, Wang Y, Chen Y, vd., 2022, Methyl Jasmonate Alleviates The Deleterious Effects of Salinity Stress by Augmenting Antioxidant Enzyme Activity and Ion Homeostasis in Rice (*Oryza sativa* L.), *Agronomy*, 12, 2343.
- Hussain S, Zhang R, Liu S, Li R, Zhou Y, Chen Y, vd., 2022, Transcriptome-wide Analysis Revealed The Potential of The High-affinity Potassium Transporter (*HKT*) Gene Family in Rice Salinity Tolerance Via Ion Homeostasis, *Bioengineering*, 9, 410.
- Hýsková V, Plisková V, Červený V, Ryšlavá H, 2017, NADP-dependent Enzymes Are Involved in Response to Salt and Hypoosmotic Stress in Cucumber Plants, *General Physiology and Biophysics*, 36, 247–258.
- Iftikhar I, Shahbaz M, Maqsood M F, Zulfiqar U, Rana S, Farhat F, vd., 2024, Resilient Mechanism of Strigolactone (GR24) in Regulating Morphological and Biochemical Status of Maize under Salt Stress, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 60, 103340.
- Iqbal M, Athar H U R, Ibrahim M, Javed M, Zafar Z U, Ashraf M, 2019, Leaf Proteome Analysis Signified That Photosynthesis and Antioxidants Are Key Indicators of Salinity Tolerance in Canola (*Brassica napus* L.), *Pakistan Journal of Botany*, 52, 1955–1968.
- Iqbal N, Umar S, Khan NA, Khan M I R, 2014, A New Perspective of Phytohormones in Salinity Tolerance: Regulation of Proline Metabolism, *Environmental and Experimental Botany*, 100, 34–42.
- Iqbal S, Hussain S, Qayyuum M A, Ashraf M, Saifullah S, 2020, The Response of

- Maize Physiology under Salinity Stress and Its Coping Strategies, *Plant Stress Physiology*, 1–25.
- Iqbal Z, Shariq Iqbal M, Singh S P, Buaboocha T, 2020,  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin Complex Triggers CAMTA Transcriptional Machinery Under Stress in Plants: Signaling Cascade and Molecular Regulation, *Frontiers in Plant Science*, 11, 598327.
- Iqra L, Rashid M S, Ali Q, Latif I, Mailk A, 2020, Evaluation for  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  Ratio Under Salt Stress Condition in Wheat, *Life Science Journal*, 17, 43–47.
- Irfan B, Shahbaz M, Mukhtiar A, Akram M Z, Bashir M A, Asghar S, vd., 2024, Seed Priming with Thiourea Enhances The Performance of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Varieties under Salinity Stress, *Sarhad Journal of Agriculture*, 40, 740–753.
- Isayenkov S V, Maathuis F J, 2019, Plant Salinity Stress: Many Unanswered Questions Remain, *Frontiers in Plant Science*, 10, 80.
- Islam M M, Jahan K, Sen A, Urmi T A, Haque M M, Ali H M, vd., 2023, Exogenous Application of Calcium Ameliorates Salinity Stress Tolerance of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and Enhances Fruit Quality, *Antioxidants*, 12, 558.
- Islam W, Tayyab M, Khalil F, Hua Z, Huang Z, Chen H Y H, 2020, Silicon–Mediated Plant Defense Against Pathogens and Insect Pests, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 168, 104641.
- Ismail A M, Horie T, 2017, Genomics, Physiology, and Molecular Breeding Approaches for Improving Salt Tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 68, 405–434.
- Jabborova D, Abdrakhmanov T, Jabbarov Z, Abdullaev S, Azimov A, Mohamed I, vd., 2023, Biochar Improves the Growth and Physiological Traits of Alfalfa, Amaranth and Maize Grown Under Salt Stress, *PeerJ*, 11, e15684.
- Jacob P, Hirt H, Bendahmane A, 2017, The Heat–shock Protein/chaperone Network and Multiple Stress Resistance, *Plant Biotechnology Journal*, 15, 405–414.
- Jahan B, Rasheed F, Sehar Z, Fatma M, Iqbal N, Masood A, vd., 2021, Coordinated Role of Nitric Oxide, Ethylene, Nitrogen, and Sulfur in Plant Salt Stress

- Tolerance, Stresses, 1, 181–199.
- Jain M, Nagar P, Goel P, Singh A K, Kumari S, Mustafiz A, 2018, Second Messengers: Central Regulators in Plant Abiotic Stress Response, Abiotic Stress-mediated Sensing and Signaling in Plants: An Omics Perspective, 47–94.
- Jajoo A, 2013, Changes in Photosystem II in Response to Salt Stress, In Ecophysiology Responses Plants under Salt Stress, Ahmad P, Azooz M, Prasad M, Eds, Springer, New York, NY, USA, pp. 149–168.
- Jaleel C A, Azooz M M, 2009, Exogenous Calcium Alters Pigment Composition,  $\gamma$ -glutamyl Kinase and Proline Oxidase Activities in Salt-stressed *Withania somnifera*, Plant Omics, 2, 85–90.
- Jamil A, Riaz S, Ashraf M, Foolad, M R, 2011, Gene Expression Profiling of Plants Under Salt Stress, Critical Reviews in Plant Sciences, 30, 435458.
- Jang G, Yoon Y, Choi Y D, 2020, Crosstalk with Jasmonic Acid Integrates Multiple Responses in Plant Development, International Journal of Molecular Sciences, 21, 305.
- Jangra M, Devi S, Satpal Kumar N, Goyal V, Mehrotra S, 2022, Amelioration Effect of Salicylic Acid Under Salt Stress in *Sorghum bicolor* L., Applied Biochemistry and Biotechnology, 194, 4400–4423.
- Javaid T, Farooq M A, Akhtar J, Saqib Z A, Anwarul-Haq M, 2019, Silicon Nutrition Improves Growth of Salt-stressed Wheat by Modulating Flows and Partitioning of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  and Mineral Ions, Plant physiology and biochemistry, 141, 291–299.
- Ji F S, Tang L, Li Y Y, Wang W C, Yang Z, Li X G, vd., 2019, Differential Proteomic Analysis Reveals The Mechanism of *Musa paradisiaca* Responding to Salt Stress, Molecular Biology Reports, 46, 1057–1068.
- Ji H, Pardo J M, Batelli G, Van Oosten M J, Bressan R A, Li X, 2013, The Salt Overly Sensitive (SOS) Pathway: Established and Emerging Roles, Molecular Plant, 6, 275–286.
- Ji W, Cong R, Li S, Li R, Qin Z, Li Y, vd., 2016, Comparative Proteomic Analysis of Soybean Leaves and Roots by iTRAQ Provides Insights Into Response

- Mechanisms to Short-term Salt Stress, *Frontiers in Plant Science*, 7, 573.
- Jia J, Liang Y, Gou T, Hu Y, Zhu Y, Huo H, vd., 2020, The Expression Response of Plasma Membrane Aquaporins to Salt Stress in Tomato Plants, *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104190.
- Jia T, Wang J, Chang W, Fan X, Sui X, Song F, 2019, Proteomics Analysis of *E. angustifolia* Seedlings Inoculated with Arbuscular Mycorrhizal Fungi under Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 788.
- Jiang J, Ren X, Li L, Hou R, Sun W, Jiao C, vd., 2020, H<sub>2</sub>S Regulation of Metabolism in Cucumber in Response to Salt-Stress Through Transcriptome and Proteome Analysis, *Frontiers in Plant Science*, 11, 1283.
- Jiang W, He J, Babla M, Wu T, Tong T, Riaz A, vd., 2024, Molecular Evolution and Interaction of 14-3-3 Proteins with H<sup>+</sup>-ATPases in Plant Abiotic Stresses, *Journal of Experimental Botany*, 75, 689–707.
- Jiang Y, Ye J, Rasulov B, Niinemets U, 2020, Role of Stomatal Conductance in Modifying The Dose Response of Stress-volatile Emissions in Methyl Jasmonate Treated Leaves of Cucumber (*Cucumis Sativa*), *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 1018.
- Jiang Z, Zhou X, Li R, Michal J J, Zhang S, Dodson M V, vd., 2015, Whole Transcriptome Analysis with Sequencing: Methods, Challenges and Potential Solutions, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72, 3425–3439.
- Jin-Long G, Li-Ping X, Jing-Ping F, Ya-Chun S, Hua-Ying F, You-Xiong Q, vd., 2012, A Novel Dirigent Protein Gene with Highly Stem-specific Expression from Sugarcane, Response to Drought, Salt, and Oxidative Stresses, *Plant Cell Reports*, 31, 1801–1812.
- Jini D, Joseph B, 2017, Physiological Mechanism of Salicylic Acid for Alleviation of Salt Stress in Rice, *Rice Science*, 24, 97–108.
- Joshi R, Ramanarao M V, Lee S, Kato N, Baisakh N, 2014, Ectopic Expression of ADP Ribosylation Factor 1 (*SaARF1*) from Smooth Cordgrass (*Spartina alterniflora* L.) Confers Drought and Salt Tolerance in Transgenic Rice and Arabidopsis,

Plant Cell, Tissue, and Organ Culture, 117, 17–30.

- Joshi S, Nath J, Singh A K, Pareek A, Joshi R, 2022, Ion Transporters and Their Regulatory Signal Transduction Mechanisms for Salinity Tolerance in Plants, *Physiologia Plantarum*, 174, e13702.
- Ju Y L, Yue X F, Min Z, Wang X H, Fang Y L, Zhang J X, 2020, *VvNAC17*, a Novel Stress-Responsive Grapevine (*Vitis vinifera* L.) NAC Transcription Factor, Increases Sensitivity to Absciscic Acid and Enhances Salinity, Freezing, and Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis, *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 98–111.
- Kader M A, Seidel T, Golldack D, Lindberg S, 2006, Expressions of *OsHKT1*, *OsHKT2*, and *OsVHA* are Differentially Regulated under NaCl Stress in Salt-Sensitive and Salt-Tolerant Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars, *Journal of Experimental Botany*, 57, 4257–4268.
- Kadota Y, Shirasu K, 2012, The HSP90 Complex of Plants, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Molecular Cell Research*, 1823, 689–697.
- Kamal A H M, Cho K, Kim D E, Uozumi N, Chung K Y, Lee S Y, vd., 2012, Changes in Physiology and Protein Abundance in Salt-stressed Wheat Chloroplasts, *Molecular Biology Reports*, 39, 9059–9074.
- Kang G, Li G, Zheng B, Han Q, Wang C, Zhu Y, 2012, Proteomic Analysis on Salicylic Acid-induced Salt Tolerance in Common Wheat Seedlings (*Triticum aestivum* L.), *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Proteins and Proteomics*, 1824, 1324–1333.
- Kapilan R, Vaziri M, Zwiazek J J, 2018, Regulation of Aquaporins in Plants Under Stress. *Biological Research*, 51, 1–11.
- Kappachery S, Sasi S, Alyammahi O, Alyassi A, Venkatesh J, Gururani M A, 2021, Overexpression of Cytoplasmic *Solanum tuberosum* Glyceraldehyde 3-phosphate Dehydrogenase (*GAPDH*) Gene Improves PSII Efficiency and Alleviates Salinity Stress in Arabidopsis, *Journal of Plant Interactions*, 16, 398–410.

- Karamian R, Ghasemlou F, Amiri H, 2020, Physiological Evaluation of Drought Stress Tolerance and Recovery in *Verbascum sinuatum* Plants Treated with Methyl Jasmonate, Salicylic Acid and Titanium Dioxide Nanoparticles, *Plant Biosystems*, 154, 277–287.
- Kataria S, Verma S K, 2018, Salinity Stress Responses and Adaptive Mechanisms in Major Glycophytic Crops: The Story So Far, *Salinity Responses and Tolerance in Plants*, Volume 1: Targeting Sensory, Transport and Signaling Mechanisms, 399, Springer, ABD, NY.
- Katerji N, Van Hoorn J W, Hamdy A, Mastrorilli M, 2003, Salinity Effect on Crop Development and Yield, *Analysis of Salt Tolerance According to Several Classification Methods*, *Agricultural Water Management*, 62, 37–66.
- Katiyar P, Pandey N, Keshavkant S, 2022, Gamma Radiation: A Potential Tool for Abiotic Stress Mitigation and Management of Agroecosystem, *Plant stress*, 5, 100089.
- Kaur A, Sharma A, Verma P C, Upadhyay S K, 2022, EF-hand Domain-containing Proteins in *Triticum aestivum*: Insight Into Their Roles in Stress Response and Signalling, *South African Journal of Botany*, 149, 663–681.
- Kausar R, Nishiuchi T, Komatsu S, 2024, Proteomic and Molecular Analyses to Understand The Promotive Effect of Safranal on Soybean Growth under Salt Stress, *Journal of Proteomics*, 294, 105072.
- Kaya C, Ak B E, Higgs D, 2003, Response of Salt-stressed Strawberry Plants to Supplementary Calcium Nitrate and/or Potassium Nitrate, *Journal of Plant Nutrition*, 26, 543–560.
- Kaya C, Ashraf M, Sönmez O, 2015, Promotive Effect of Exogenously Applied Thiourea on Key Physiological Parameters and Oxidative Defense Mechanism in Salt-Stressed *Zea mays* L. Plants, *Turkish Journal of Botany*, 39, 786–795.
- Kaya C, Sonmez O, Aydemir S, Ashraf M, Dikilitas M, 2013, Exogenous Application of Mannitol and Thiourea Regulates Plant Growth and Oxidative Stress Responses in Salt-Stressed Maize (*Zea mays* L.), *Journal of plant interactions*, 8,

234–241.

- Kelner M J, Bagnell R, Welch K J, 1990, Thioureas React with Superoxide Radicals to Yield a Sulfhydryl Compound Explanation for Protective Effect Against Paraquat, *Journal of Biological Chemistry*, 265, 1306–1311.
- Ketehouli T, Idrice Carther K F, Noman M, Wang F W, Li X W, Li H Y, 2019, Adaptation of Plants to Salt Stress: Characterization of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> Transporters and Role of *CBL* Gene Family in Regulating Salt Stress Response, *Agronomy*, 9, 687.
- Khan M I R, Syeed S, Nazar R, Anjum N A, 2012, An Insight into The Role of Salicylic Acid and Jasmonic Acid in Salt Stress Tolerance, *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants*, 277–300.
- Khan W U D, Aziz T, Hussain I, Ramzani P M A, Reichenauer T G, 2017, Silicon: a Beneficial Nutrient for Maize Crop to Enhance Photochemical Efficiency of Photosystem II under Salt Stress, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63, 599–611.
- Killi D, Haworth M, 2017, Diffusive and Metabolic Constraints to Photosynthesis in Quinoa During Drought and Salt Stress, *Plants*, 6, 49.
- Kim W Y, Ali Z, Park H J, Park S J, Cha J Y, Perez–Hormaeche J, vd., 2013, Release of SOS2 Kinase From Sequestration With GIGANTEA Determines Salt tolerance in Arabidopsis, *Nature communications*, 4, 1352.
- Kim Y H, Khan A L, Waqas M, Shim J K, Kim D H, Lee K Y, vd., 2014, Silicon Application to Rice Root Zone Influenced The Phytohormonal and Antioxidant Responses Under Salinity Stress, *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, 137–149.
- Kirch H H, Vera–Estrella R, Golldack D, 2000, Expression of Water Channel Proteins in *Mesembryanthemum crystallinum*, *Plant Physiology*, 123, 111–24.
- Kito K, Tsutsumi K, Rai V, Theerawitaya C, Cha–Um S, Yamada–Kato N, vd., 2017, Isolation and Functional Characterization of 3–phosphoglycerate Dehydrogenase Involved in Salt Responses in Sugar Beet, *Protoplasma*, 254,

2305–2313.

- Kiyosue T, Yoshida Y, Yamaguchi–Shinozaki K, Shinozaki K, 1996, A nuclear Gene Encoding Mitochondrial Proline Dehydrogenase, an Enzyme Involved in Proline Metabolism, Is Upregulated by Proline but Downregulated By Dehydration in Arabidopsis, *Plant Cell*, 8, 1323–1335.
- Kolberg L, Raudvere U, Kuzmin I, Vilo J, Peterson H, 2020, Gprofiler2—an R Package for Gene List Functional Enrichment Analysis and Namespace Conversion Toolset g: Profiler, *F1000Research*, 9.
- Kolomeichuk L V, Efimova M V, Zlobin I E, Kreslavski, V D, Murgan O K, Kovtun I S, vd., 2020, 24–Epibrassinolide Alleviates the Toxic effects of NaCl on Photosynthetic Processes in Potato Plants, *Photosynthesis Research*, 146, 151–163.
- Kong X, Pan J, Zhang M, Xing X I N, Zhou Y A N, Liu Y, vd., 2011, *ZmMKK4*, a Novel Group C Mitogen–Activated Protein Kinase Kinase in Maize (*Zea mays*), Confers Salt and Cold Tolerance in Transgenic Arabidopsis, *Plant, Cell and Environment*, 34, 1291–1303.
- Kong X, Wang T, Li W, Tang W, Zhang D, Dong H, 2016, Exogenous Nitric Oxide Delays Salt–Induced Leaf Senescence in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1–9.
- Korkmaz Y, Ayasan T, Aykanat S, Avcı M, 2019, Çukurova İkinci Ürün Koşullarında Yetiştirilen Silajlık Mısır (*Zea mays* L.) Çeşitlerinin Verim ve Silaj Kalite Performanslarının Değerlendirilmesi, *Turkish Journal of Agriculture–Food Science and Technology*, 7, 13–19.
- Kosová K, Vítámvás P, Urban M O, Prášil I T, Renaut J, 2018, Plant Abiotic Stress Proteomics: The Major Factors Determining Alterations in Cellular Proteome, *Frontiers in Plant Science*, 9, 122.
- Kourghi M, Nourmohammadi S, Pei J X V, Qiu J E, Mcgaughey S, Tyerman S D, vd., 2017, Divalent Cations Regulate The Ion Conductance Properties of Diverse Classes of Aquaporins, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 2323.

- Koyro H W, 2006, Effect of Salinity of Growth, Photosynthesis, Water Relations and Solute Composition of The Potential Cash Crop Halophyte *Plantago coronopus* (L.), Environment Experimental Botany, 56, 136–146.
- Krasensky J, Broyart C, Rabanal F A, Jonak C, 2014, The Redox–Sensitive Chloroplast Trehalose–6–Phosphate Phosphatase *AtTPPD* Regulates Salt Stress Tolerance, Antioxidants and Redox Signaling, 21, 1289–1304.
- Krishnamurthy P, Qingsong L, Kumar P P, 2018, Proteomics Perspectives in Post–genomic Era for Producing Salinity Stress–tolerant Crops, Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 2: Exploring RNAi, Genome Editing and Systems Biology, 239–266.
- Ku Y S, Sintaha M, Cheung M Y, Lam H M, 2018, Plant Hormone Signaling Crosstalks Between Biotic and Abiotic Stress Responses, International Journal of Molecular Sciences, 19, 3206.
- Kumar A, Kumar V, Dubey A K, Ansari M A, Narayan S, Meenakshi I, vd., 2021, Chickpea Glutaredoxin (*CaGrx*) Gene Mitigates Drought and Salinity Stress By Modulating The Physiological Performance and Antioxidant Defense Mechanisms, Physiology and Molecular Biology of Plants, 27, 923–944.
- Kumar K, Mosa K A, 2015, Ion Transporters: a Decisive Component of Salt Stress Tolerance in Plants, Managing Salt Tolerance in Plants: Molecular and Genomic Perspectives, CRC Press, 373–390.
- Kumar P, Pathak S, 2018, Nitric Oxide: A Key Driver of Signaling in Plants, MOJ Eco Environment Science, 3, 145–148.
- Kumar S A, Kumari P H, Jawahar G, Prashanth S, Suravajhala P, Katam R, vd., 2016, Beyond Just Being Foot Soldiers–osmotin Like Protein (*OLP*) and Chitinase (*Chi11*) Genes Act as Sentinels to Confront Salt, Drought, and Fungal Stress Tolerance in Tomato, Environmental and Experimental Botany, 132, 53–65.
- Kumar T, Tiwari N, Bharadwaj C, Roorkiwal M, Reddy S P P, Patil B S, vd., 2022, A Comprehensive Analysis of Trehalose–6–phosphate Synthase (*TPS*) Gene for Salinity Tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.), Scientific Reports, 12, 16315.

- Kumari P H, Kumar S A, Sivan P, Katam R, Suravajhala P, Rao K S, vd., 2017, Overexpression of A Plasma Membrane Bound  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter-like Protein (SbNHXLP) Confers Salt Tolerance and Improves Fruit Yield in Tomato By Maintaining Ion Homeostasis, *Frontiers in plant science*, 7, 2027.
- Kurepin L V, Ivanov A G, Zaman M, Pharis R P, Hurry V, Hüner N P, 2017, Interaction of Glycine Betaine and Plant Hormones: Protection of the Photosynthetic Apparatus During Abiotic Stress, *Photosynthesis: Structures, Mechanisms, and Applications*, 185–202.
- Kusakina J, Dodd A N, 2012, Phosphorylation in The Plant Circadian System, *Trends in Plant Science*, 17, 575–583.
- Kwon Y, Kim S H, Jung M S, Kim M S, Oh J E, Ju H W, vd., 2007, *Arabidopsis hot2* Encodes an Endochitinase-like Protein that is Essential for Tolerance to Heat, Salt and Drought Stresses, *The Plant Journal*, 49, 184–193.
- Labudda M, Tokarz K, Tokarz B, Muszyńska E, Gietler M, Górecka M, vd., 2020, Reactive Oxygen Species Metabolism and Photosynthetic Performance in Leaves of *Hordeum vulgare* plants Co-infested with *Heterodera flipjevi* and *Aceria tosichella*, *Plant Cell Reputation*, 39, 1719–1741.
- Lachhab I, Louahlia S, Laamarti M, Hammani K, 2013, Effet D'un Stress Salin Sur La Germination Et l'activité Enzymatique Chez Deux Génotypes de *Medicago sativa*, *IJIAS*, 3, 511–516
- Lairson L L, Henrissat B, Davies G J, Withers S G, 2008, Glycosyltransferases: Structures, Functions, and Mechanisms, *Annual Review of Biochemistry*, 77, 521–555.
- Lee D, Lal N K, Lin Z J D, Ma S, Liu J, Castro B, vd., 2020, Regulation of Reactive Oxygen Species During Plant Immunity Through Phosphorylation and Ubiquitination of RBOHD, *Nature communications*, 11, 1838.
- Lefevere H, Bauters L, Gheysen G, 2020, Salicylic Acid Biosynthesis in Plants, *Frontiers in Plant Science*, 11, 338.
- Li C H, Sun Y, 2014, The Receptor-like Kinase *SIT1* Mediates Salt Sensitivity By

- Activating *MAPK3/6* and Regulating Ethylene Homeostasis in Rice, *Plant Cell*, 26, 2538–2553
- Li C, Wang P, Wei Z, Liang D, Liu C, Yin L, vd., 2012, The Mitigation Effects of Exogenous Melatonin on Salinity–induced Stress in *Malus hupehensis*, *Journal of Pineal Research*, 53, 298–306.
- Li H W, Zang B S, Deng X W, Wang X P, 2011, Overexpression of the Trehalose–6–phosphate Synthase Gene *OsTPS1* Enhances Abiotic Stress Tolerance in Rice, *Planta*, 234, 1007–1018.
- Li H Y, Ning K, Song X, Wang Z J, Liu G F, Jiang J, vd., 2013, Molecular Cloning and Expression Analysis of Nine *ThTrx* Genes in *Tamarix hispida*, *Plant Molecular Biology Reporter*, 31, 917–924.
- Li H, Zhang L, Lin J, Chen S, Gao W, Zhang J, vd., 2023, SsDHN, a Dehydrin Protein from *Suaeda salsa*, Enhances Salt Stress Tolerance in Transgenic Tobacco Plants, *Plant Growth Regulation*, 99, 299–312.
- Li H, Zhang W, Han M, Song J, Ning Y, Yang H, 2022, H<sub>2</sub>S Enhanced the Tolerance of *Malus hupehensis* to Alkaline Salt Stress through the Expression of Genes Related to Sulfur–Containing Compounds and the Cell Wall in Roots, *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 14848.
- Li J, Essemine J, Shang C, Zhang H, Zhu X, Yu J, vd., 2020, Combined Proteomics and Metabolism Analysis Unravels Prominent Roles of Antioxidant System in The Prevention of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Against Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 909.
- Li J, Xu L, Xuan P, Tian Z, Liu R, 2024, Thiourea and Arginine Synergistically Preserve Redox Homeostasis and Ionic Balance for Alleviating Salinity Stress in Wheat, *Scientific Reports*, 14, 21375.
- Li L, Dou N, Zhang H, Wu C, 2021, The Versatile GABA in Plants, *Plant signaling & Behavior*, 16, 1862565.
- Li M, Guo Y, Liu S, Zhao Y, Pang X, Li Y, 2019, Auto Tetraploidization in *Ziziphus jujuba* Mill. var. *Spinosa* Enhances Salt Tolerance Conferred by Active, Diverse

- Stress Responses, *Environmental and Experimental Botany*, 165, 92–107.
- Li M, Zhang K, Long R, Sun Y, Kang, Zhang T, vd., 2017, iTRAQ–based Comparative Proteomic Analysis Reveals Tissue–specific and Novel Early–Stage Molecular Mechanisms of Salt Stress Response in *Carex rigescens*, *Environmental and Experimental Botany*, 143, 99–114.
- Li P, Yang H, Liu G, Ma W, Li C, Huo H, vd., 2018, *PpSARK* Regulates Moss Senescence and Salt Tolerance through ABA Related Pathway, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 2609.
- Li Q, Yang Y, Bai X, Xie L, Niu S, Xiong B, 2024, Systematic Analysis and Functional Characterization of The Chitinase Gene Family in *Fagopyrum tataricum* under Salt Stress, *BMC Plant Biology*, 24, 1222.
- Li W, Yamaguchi S, Khan M A, Tran L S P, 2016, Roles of Gibberellins and Absciscic Acid in Regulating Germination of *Suaeda salsa* Dimorphic Seeds under Salt Stress, *Frontiers in Plant Science*, 6, 177849.
- Li W, Zhao F A, Fang W, Xie D, Hou J, Yang X, vd., 2015, Identification of Early Salt Stress Responsive Proteins in Seedling Roots of Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Employing iTRAQ–based Proteomic Technique, *Frontiers in Plant Science*, 6, 732.
- Li X J, Yang M F, Chen H, Qu L Q, Chen F, Shen S H, 2010, Absciscic Acid Pretreatment Enhances Salt Tolerance of Rice Seedlings: Proteomic Evidence, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) –Proteins and Proteomics*, 1804, 929–940.
- Li X, Liu L, Sun S, Li Y, Jia L, Ye S, vd., 2023, Transcriptome Analysis Reveals the Key Pathways and Candidate Genes Involved in Salt Stress Responses in *Cymbidium ensifolium* Leaves, *BMC Plant Biology*, 23, 64.
- Li X, Wang S, Chen X, Cong Y, Cui J, Shi Q, vd., 2022, The Positive Effects of Exogenous Sodium Nitroprusside on The Plant Growth, Photosystem II Efficiency and Calvin Cycle of Tomato Seedlings under Salt Stress, *Scientia Horticulturae*, 299, 111016.

- Li Y, Zeng H, Xu F, Yan F, Xu W, 2022, H<sup>+</sup>-ATPases in Plant Growth and Stress Responses, *Annual Review of Plant Biology*, 73, 495–521.
- Li Z, Cheng B, Zeng W, Zhang X, Peng Y, 2020, Proteomic and Metabolomic Profiling Reveal Crucial Functions of  $\gamma$ -aminobutyric Acid in Regulating Ionic, Water, and Metabolic Homeostasis in Creeping Bent grass Under Salt Stress, *Journal of Proteome Research*, 19, 769–780.
- Liang W, Ma X, Wan P, Liu L, Plant salt-tolerance Mechanism: A Review, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495, 286–291.
- Liang Y, Zhang W, Chen Q, Liu Y, Ding R, 2006, Effect of Exogenous Silicon (Si) on H<sup>+</sup>-ATPase Activity, Phospholipids and Fluidity of Plasma Membrane in Leaves of Salt-Stressed Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Environmental and Experimental Botany*, 57, 212–219.
- Liang Y, Zhang W, Chen Q, Liu Y, Ding R, 2006, Effect of Exogenous Silicon (Si) on H<sup>+</sup>-ATPase Activity, Phospholipids and Fluidity of Plasma Membrane in Leaves of Salt-stressed Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Environmental and Experimental Botany*, 57, 212–219.
- Limor-Waisberg K, Ben-Dor S, 2013 Diversification of Quiescin Sulfhydryl Oxidase in A Preserved Framework for Redox Relay, *BMC Evolutionary Biology*, 13, 70.
- Lin J, Li J P, Yuan F, Yang Z, Wang B S, Chen M, 2018, Transcriptome Profiling of Genes Involved in Photosynthesis in *Elaeagnus angustifolia* L. Under Salt Stress, *Photosynthetica*, 56, 998–1009.
- Lin Y, Li W, Zhang Y, Xia C, Liu Y, Wang C, vd., 2019, Identification of Genes/proteins Related to Submergence Tolerance By Transcriptome and Proteome Analyses in Soybean, *Scientific Reports*, 9, 14688.
- Linh N T, Cham L T T, Thang V N, 2021, Effects of Salinity Stress on the Growth, Physiology, and Yield of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill), *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 4, 1043–1055.

- Linić I, Mlinarić S, Brkljačić L, Pavlović I, Smolko A, Salopek–Sondi B, 2021, Ferulic Acid and Salicylic Acid Foliar Treatments Reduce Short-term Salt Stress in Chinese Cabbage by Increasing Phenolic Compounds Accumulation and Photosynthetic Performance, *Plants*, 10, 2346.
- Liu C W, Chang T S, Hsu Y K, Wang A Z, Yen H C, Wu Y P, vd., 2014, Comparative Proteomic Analysis of Early Salt Stress Responsive Proteins in Roots and Leaves of Rice, *Proteomics*, 14, 1759–1775.
- Liu F, Chen W, Mi J, Zhang J Y, Kan X, Zhong F Y, 2019, Thermodynamic and Molecular Insights into The Absorption of H<sub>2</sub>S, CO<sub>2</sub>, and CH<sub>4</sub> in Choline Chloride Plus Urea Mixtures, *AIChE Journal*, 65, e16574.
- Liu H F, He X L, Xiao C Y, Cui J X, Xu W, Liu H Y, 2014a, Effects of Exogenous GSH on Photosynthetic Characteristics and Expression of Key Enzyme Genes of CO<sub>2</sub> Assimilation in Leaves of Tomato Seedlings Under NaCl Stress, *Chinese Journal of Applied Ecology*, 25, 2637–2644.
- Liu H, He X, Ma Z, Xu W, Liu M, Liu H, vd., 2014b, Effects of Exogenous GSH on The Growth and AsA-GSH Cycle in Tamato Seedlings Under NaCl Stress, *Journal of Shihezi University (Natural Science)*, 32, 265–271.
- Liu L, Li J, 2019, Communications Between The Endoplasmic Reticulum and Other Organelles During Abiotic Stress Response in Plants, *Frontiers Plant Science*, 10, 749.
- Liu L, Wang B, Liu D, Zou C, Wu P, Wang Z, vd., 2020, Transcriptomic and Metabolomic Analyses Reveal Mechanisms of Adaptation to Salinity in Which Carbon and Nitrogen Metabolism is Altered in Sugar Beet Roots, *BMC Plant Biology*, 20, 121.
- Liu L, Wang J, Han Z, Sun X, Li H, Zhang J, vd., 2016, Molecular Analyses of Tomato *GS*, *GOGAT* and *GDH* Gene Families and Their Response To Abiotic Stresses, *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1–14.
- Liu M, Pan T, Allakhverdiev S I, Yu M, Shabala S, 2020, Crop Halophytism: an Environmentally Sustainable Solution for Global Food Security, *Trends in Plant Science*, 25, 630–634.

- Liu S, Yang R, Liu M, Zhang S, Yan K, Yang G, vd., 2020, *PLATZ2* Negatively Regulates Salt Tolerance in Arabidopsis Seedlings By Directly Suppressing The Expression of The *CBL4/SOS3* and *CBL10/SCaBP8* Genes, *Journal of Experimental Botany*, 71, 5589–5602.
- Liu X, Yu Y, Liu Q, Deng S, Jin X, Yin Y, vd., 2020, A  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ –responsive Chitinase Gene from *Leymus chinensis* Improve Pathogen Resistance and Saline–alkali Stress Tolerance in Transgenic Tobacco and Maize, *Frontiers in Plant Science*, 11, 504.
- Liu Y H, Wang X T, Shi Y S, Huang Y Q, Song Y C, Wang T Y, vd., 2009, Expression and Characterization of Protein Disulfide Isomerases in Maize (*Zea mays* L.), *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 25, 229–234.
- Liu Y L, Shen Z J, Simon M, Li H, Ma D N, Zhu X Y, vd., 2019, Comparative Proteomic Analysis Reveals The Regulatory Effects of  $\text{H}_2\text{S}$  on Salt Tolerance of Mangrove Plant *Kandelia obovate*, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 118.
- Livak K J, Schmittgen T D, 2001, Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real–time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  Method, *Methods*, 001, 25, 402–408.
- Long R C, Gao Y L, Sun H, Zhang T J, Li X, Li M N, vd., 2018, Quantitative Proteomic Analysis Using iTRAQ to Identify Salt–responsive Proteins During the Germination Stage of two *Medicago* species. *Scientific Reports*, 8, 9553.
- Long R C, Sun H, Cao C, Zhang T J, Kang J M, vd., 2019, Identification of Alkali–responsive Proteins from Early Seedling Stage of Two Contrasting *Medicago* species by iTRAQ–Based Quantitative Proteomic Analysis, *Environmental Experimental Botany*, 157, 26–34.
- Lopez D, Bronner G, Brunel N, Auguin D, Bourgerie S, Brignolas F, 2012, Venisse Insights into Populus XIP Aquaporins: Evolutionary Expansion, Protein Functionality, and Environmental Regulation, *Journal of Experimental Botany*, 63, 2217–2230.

- Lou L, Yu F, Tian M, Liu G, Wu Y, Wu Y, vd., 2020, *ESCRT-I* Component *VPS23A* Sustains Salt Tolerance by Strengthening the SOS Module in *Arabidopsis*, *Molecular Plant*, 13, 1134–1148.
- Love M I, Huber W, Anders S, 2014, Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA–Seq Data with DESeq2, *Genome Biology*, 15, 1–21.
- Lu C, Jiang B, Wang B, Kuang T, 2003, Photosystem II Photochemistry and Photosynthetic Pigment Composition in Salt Adapted Chalophyte *Artemisia anethifolia* Grown under Outdoor Conditions, *Journal of Plant Physiology*, 160, 403–408.
- Ludwig M, Wilmes P, Schrader S, 2018, Measuring Soil Sustainability Via Soil Resilience, *Science of the Total Environment*, 626, 1484–1493.
- Luo D, Li Z, Mubeen S, Rehman M, Cao S, Wang C, vd., 2024, Integrated Transcriptomic and Proteomic Analysis Revealed The Regulatory Role of 5–azacytidine in Kenaf Salt Stress Alleviation, *Journal of Proteomics*, 309, 105328.
- Luo M, Zhang Y, Chen K, Kong M, Song W, Lu B, vd., 2019, Mapping of Quantitative Trait Loci for Seedling Salt Tolerance in Maize, *Molecular Breeding*, 39, 1–12.
- Luo M, Zhao Y, Wang Y, Shi Z, Zhang P, Zhang Y, vd., 2017, Comparative Proteomics of Contrasting Maize Genotypes Provide Insights into Salt–stress Tolerance Mechanisms, *Journal of Proteome Research*, 17, 141–153.
- Ma J, Wang Y, Wang L Y, Lin D, Yang Y, 2023, Transcriptomic Analysis reveals the Mechanism of the Alleviation of Salt Stress by Salicylic Acid in Pepper (*Capsicum annuum* L.), *Molecular Biology Reports*, 50, 3593–3606.
- Ma L, Ye J, Yang Y, Lin H, Yue L, Luo J, vd., 2019, The SOS2–SCaBP8 Complex Generates and Finetunes an AtANN4–dependent Calcium Signature Under Salt Stress, *Developmental Cell*, 48, 697–709.
- Ma Q, Hu J, Zhou X R, Yuan H J, Kumar T, Luan S, vd., 2017, ZxAKT1 is essential for  $K^+$  uptake and  $K^+/Na^+$  homeostasis in The Succulent Xerophyte *Zygophyllum xanthoxylum*, *Plant Journal*, 90, 48–60.

- Ma S Y, Wu W H, 2007, *AtCPK23* Functions in Arabidopsis Responses to Drought and Salt Stresses, *Plant Molecular Biology*, 65, 511–518.
- Madeira A, Moura T F, Soveral G, 2016, Detecting Aquaporin Function and Regulation, *Frontiers in Chemistry*, 4, 3.
- Madhu S A, Kaur A, Tyagi S, Upadhyay S K, 2023, Glutathione Peroxidases in Plants: Innumerable Role in Abiotic Stress Tolerance and Plant Development, *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 598–613.
- Mahlooji M, Seyed Sharifi R, Razmjoo J, Sabzalain M R, Sedghi M, 2018, Effect of Salt Stress on Photosynthesis and Physiological Parameters of Three Contrasting Barley Genotypes, *Photosynthetica*, 56, 549–556.
- Majeed J A, Bibi S, Mahmood A, Ali L, Safdar M E, Seleiman M F, vd., 2024, Optimizing Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Yield Under Salt Stress: The Physiological and Biochemical Effects of Foliar Thiourea Application, *Plants*, 13, 3318.
- Mandlik R, Thakral V, Raturi G, Shinde S, Nikolić M, Tripathi D K, vd., 2020, Significance of Silicon Uptake, Transport, and Deposition in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 71, 6703–6718.
- Mani F, Bettaieb T, Zheni K, Doudech N, Hannachi C, 2012, Effect of Hydrogen Peroxide and Thiourea on Fluorescence and Tuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.), *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8, 61–67.
- Manishankar P, Wang N, Köster P, Alatar A A, Kudla J, 2018, Calcium Signaling During Salt Stress and in The Regulation of Ion Homeostasis, *Journal of Experimental Botany*, 69, 4215–4226.
- Manivannan A, Soundararajan P, Jeong B R, 2023, Editorial: Silicon: A “Quasi–Essential” Element’s Role in Plant Physiology and Development, *Frontiers in Plant Science*, 14, 1157185.
- Manivannan A, Soundararajan P, Muneer S, Ko C H, Jeong B R, 2016, Silicon Mitigates Salinity Stress By Regulating The Physiology, Antioxidant Enzyme Activities, and Protein Expression in *Capsicum annuum* ‘Bugwang’, *BioMed*

- Research International, 216, 3076357.
- Mansour M M F, 2013, Plasma Membrane Permeability as an Indicator of Salt Tolerance in Plants, *Biologia Plantarum*, 57, 1–10.
- Mansour M M F, Ali E F, 2017, Evaluation of Proline Functions in Saline Conditions, *Phytochemistry*, 140, 52–68.
- Mansour M M F, Hassan F A, 2022, How Salt Stress–responsive Proteins Regulate Plant Adaptation to Saline Conditions, *Plant Molecular Biology*, 108, 1750–224.
- Marcec M J, Gilroy S, Poovaiah B W, Tanaka K, 2019, Mutual Interplay of  $\text{Ca}^{2+}$  and ROS Signaling in Plant Immune Response, *Plant Science*, 283, 343–354.
- Marček T, Tkalec M, Vidaković–Cifrek Ž, Ježić M, Ćurković–Perica M, 2016, Expression of Dehydrins, HSP70, Cu/Zn SOD, and RuBisCO in Leaves of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Dihaploids under Salt Stress, *In Vitro Cellular & Developmental Biology–Plant*, 52, 233–240.
- Marriboina S, Sekhar K M, Subramanyam R, Reddy A R, 2022, Physiological, Biochemical, and root Proteome Networks Revealed New Insights Into Salt Tolerance Mechanisms in *Pongamia pinnata* (L.) Pierre, *Frontiers in Plant Science*, 12, 771992.
- Martin–StPaul N, Delzon S, Cochard H, 2017, Plant Resistance to Drought Depends on Timely Stomatal Closure, *Ecology Letters*, 20, 1437–1447.
- Martínez–Atienza J, Jiang X, Garcíadeblas B, Mendoza I, Zhu J K, Pardo J M, vd., 2007, Conservation of The Salt Overly Sensitive Pathway in Rice, *Plant physiology*, 143, 1001–1012.
- Marusig D, Tombesi S, 2020, Absciscic Acid Mediates Drought and Salt Stress Responses in *Vitis vinifera*, A review, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 8648.
- Massaretto I L, Albaladejo I, Purgatto E, Flores F B, Plasencia F, Egea–Fernández J M, vd., 2018, Recovering Tomato Landraces to Simultaneously Improve Fruit Yield and Nutritional Quality Against Salt Stress, *Frontiers in Plant Science*, 9, 1778.

- Mata–González R, Abdallah M A, Trejo–Calzada R, Wan C, 2017, Growth and Leaf Chemistry of *Atriplex* Species from Northern Mexico as Affected By Salt Stress, *Arid Land Research and Management*, 31, 57–70.
- Matysik J, Alia B B, Mohanty P, 2002, Molecular Mechanisms of Quenching of Reactive Oxygen Species By Proline Under Stress in Plants, *Current Science*, 82, 525–532.
- Maurel C, Verdoucq L, Luu D T, Santoni V, 2008, Plant Aquaporins: Membrane Channels with Multiple Integrated Functions, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 595–624.
- Mazorra–Manzano M A, Ramírez–Suarez J C, Yada R Y, 2018, Plant Proteases for Bioactive Peptides Release: A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58, 2147–2163.
- McGaughey S A, Qiu J, Tyerman S D, Byrt C S, 2018, “Regulating Root Aquaporin Function in Response to Changes in Salinity,” in *Annual Plant Reviews Online*, Ed. Roberts J A, New York, USA.
- Mehlmer N, Wurzinger B, Stael S, Hofmann–Rodrigues D, Csaszar E, Pfister B, vd., 2010, The  $\text{Ca}^{2+}$ –dependent Protein Kinase CPK3 is Required for MAPK–independent Salt–stress Acclimation in Arabidopsis, *The Plant Journal*, 63, 484–498.
- Mehta P, Jajoo A, Mathur S, Bharti S, 2010, Chlorophyll a Fluorescence Study Revealing Effects of High Salt Stress on Photosystem II in Wheat Leaves, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 16–20.
- Mei X, Zhao Z, Bai Y, Yang Q, Gan Y, Wang W, vd., 2023, Salt Tolerant Gene 1 Contributes to Salt Tolerance by Maintaining Photosystem II Activity in Maize, *Plant, Cell and Environment*, 46, 1833–1848.
- Melgar A E, Rizzo A J, Moyano L, Cenizo R, Palacios M B, Zelada A M, 2024, Genome–wide Identification and Salt Stress–expression Analysis of The Dehydrin Gene Family in *Chenopodium quinoa*, *Current Plant Biology*, 38, 100340.

- Mendoza-Cózatl D, Loza-Tavera H, Hernández-Navarro A, Moreno-Sánchez R, 2005, Sulfur Assimilation and Glutathione Metabolism Under Cadmium Stress in Yeast, Protists and Plants, *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 653–671.
- Meng F, Luo Q, Wang Q, Zhang X, Qi Z, Xu F, vd., 2016, Physiological and Proteomic Responses to Salt Stress in Chloroplasts of Diploid and Tetraploid Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.), *Scientific Reports*, 6, 23098.
- Meng Y, Yin Q, Yan Z, Wang Y, Niu J, Zhang J, vd., 2020, Exogenous Silicon Enhanced Salt Resistance by Maintaining  $K^+/Na^+$  Homeostasis and Antioxidant Performance in Alfalfa Leaves, *Frontiers in Plant Science*, 11, 1183.
- Mika A, Luthje S, 2003, Properties of Guaiacol Peroxidase Activities Isolated from Corn Root Plasma Membranes, *Plant Physiology*, 132, 1489–1498.
- Mir R A, Somasundaram R, 2021, Salicylic Acid and Salt Stress Tolerance in Plants: A Review, *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 17, 32–50.
- Mishra S, Alavilli H, Lee B H, Panda S K, Sahoo L, 2014, Cloning and Functional Characterization of a Vacuolar  $Na^+/H^+$  Antiporter Gene from Mungbean (*VrNHX1*) and Its Ectopic Expression Enhanced Salt Tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *PloS One*, 9, e106678.
- Mittler R, 2017, ROS Are Good, *Trends in Plant Science*, 22, 11–19.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F, 2004, Reactive Oxygen Gene Network of Plants, *Trends in Plant Science*, 9, 490–498.
- Miura K, Sato A, Ohta M, Furukawa J, 2011, Increased Tolerance to Salt Stress in The Phosphate-Accumulating *Arabidopsis* Mutants *siz1* and *pho2*, *Planta*, 234, 1191–1199.
- Moghaddam M, Farhadi N, Panjtandoust M, Ghanati F, 2020, Seed Germination, Antioxidant Enzymes Activity and Proline Content in Medicinal Plant *Tagetes Minuta* Under Salinity Stress, *Plant Biosystems—An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 154, 835–842.
- Mohamed N A, Saad M F, Shukry M, El-Keredy A M, Nasif O, Van Doan H, vd., 2021, Physiological and Ion Changes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

- under The Effect of Salinity Stress, *Aquaculture reports*, 19, 100567.
- Molla Md SH, Nakasathien S, Ali Md A, Khan A, Alam Md R, Hossain A, vd., 2019, Influence of Nitrogen Application on Dry Biomass Allocation and Translocation in Two Maize Varieties Under Short Pre-Anthesis and Prolonged Bracketing Flowering Periods of Drought, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65, 928–944.
- Momeni M M, Kalantar M, Dehghani–Zahedani M, 2021, Physiological, Biochemical and Molecular Responses of Durum Wheat under Salt Stress, *Plant Genetic Resources*, 19, 93–103.
- Monterisi S, Zhang L, Garcia-Perez P, Alzate Zuluaga M Y, Ciriello M, El–Nakhel C, vd., 2024, Integrated Multi–omic Approach Reveals The Effect of a Graminaceae–derived Biostimulant and Its Lighter Fraction on Salt–stressed Lettuce Plants, *Scientific Reports*, 14, 10710.
- Morales M, Munné–Bosch S, 2019, Malondialdehyde: Facts and Artifacts, *Plant Physiology*, 180, 1246–1250.
- Mori I C, Murata Y, Yang Y, Munemasa S, Wang Y F, Andreoli S, vd., 2006, CDPKs CPK6 and CPK3 Function in ABA Regulation of Guard Cell S–Type Anion–and  $\text{Ca}^{2+}$ –Permeable Channels and Stomatal Closure, *PLoS Biology*, 4, e327.
- Mostek A, Börner A, Weidner S, 2016, Comparative Proteomic Analysis of  $\beta$ –Aminobutyric Acid–Mediated Alleviation of Salt Stress in Barley, *Plant Physiology and Biochemistry*, 99, 150–161.
- Mukhtar I, Shahid M A, Khan M W, Balal R M, Iqbal M M, Naz T, vd., 2016, Improving Salinity Tolerance in Chili by Exogenous Application of Calcium and Sulphur, *Soil and Environment*, 35.
- Mulaudzi T, Hendricks K, Mabiya T, Muthevhuli M, Ajayi R F, Mayedwa N, vd., 2020, Calcium Improves Germination and Growth of *Sorghum bicolor* Seedlings Under Salt Stress, *Plants*, 9, 730.
- Muneer S, Jeong B R, 2015, Proteomic Analysis of Salt–stress Responsive Proteins in

- Roots of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Plants Towards Silicon Efficiency, *Plant Growth Regulation*, 77, 133–146.
- Muneer S, Park Y G, Manivannan A, Soundararajan P, Jeong B R, 2014, Physiological and Proteomic Analysis in Chloroplasts of *Solanum lycopersicum* L. under Silicon Efficiency and Salinity Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 21803–21824.
- Munns R, Tester M, 2008, Mechanisms of Salinity Tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681.
- Muslu S, Kasapoğlu A G, Güneş E, Aygören A S, Yiğider E, İlhan E, vd., 2024, Genome-wide Analysis of Glutathione S-transferase Gene Family in *P. vulgaris* under Drought and Salinity Stress, *Plant Molecular Biology Reporter*, 42, 57–76.
- Naeem M, Basit A, Ahmad I, Mohamed H I, Wasila H, 2020, Effect of Salicylic Acid and Salinity Stress on the Performance of Tomato Plants, *Gesunde Pflanzen*, 72.
- Nagamiya K, Motohashi T, Nakao K, Prodhan S H, Hattori E, Hirose S, vd., 2007, Enhancement of Salt Tolerance in Transgenic Rice Expressing an *Escherichia coli* Catalase Gene *katE*, *Plant Biotechnology Reports*, 1, 49–55.
- Nahar K, Hasanuzzaman M, Alam M M, Fujita M, 2015, Exogenous Glutathione Confers High Temperature Stress Tolerance in Mung Bean (*Vigna radiata* L.) by Modulating Antioxidant Defense and Methylglyoxal Detoxification System, *Environmental and Experimental Botany*, 112, 44–54.
- Najar R, Aydi S, Sassi-Aydi S, Zarai A, Abdelly C, 2019, Effect of Salt Stress on Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence in *Medicago truncatula*, *Plant Biosystems—An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153, 88–97.
- Nakamura T, Muramoto Y, Yokota S, Ueda A, Takabe T, 2004, Structural and Transcriptional Characterization of a Salt-responsive Gene Encoding Putative ATP-dependent RNA Helicase in Barley. *Plant science*, 167, 63–70.
- Nakano Y, Asada K, 1987, Purification of Ascorbate Peroxidase in Spinach

- Chloroplasts; Its Inactivation in Ascorbate-depleted Medium and Reactivation by Monodehydroascorbate Radical, *Plant and Cell Physiology*, 28, 131–140.
- Nakashima K, Satoh R, Kiyosue T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, 1998, A Gene Encoding Proline Dehydrogenase Is Not Only Induced by Proline and Hypo Osmolarity but Is also Developmentally Regulated in the Reproductive Organs of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 118, 1233–1241.
- Nam M H, Huh S M, Kim K M, Park W W, Seo J B, Cho K, vd., 2012, Comparative Proteomic Analysis of Early Salt Stress-Responsive Proteins in Roots of SnRK2 Transgenic Rice, *Proteome Science*, 10, 1–19.
- Narayan M, Welker E, Wedemeyer W J, Scheraga H A, 2000, Oxidative Folding of Proteins, *Accounts of Chemical Research*, 33, 805–812.
- Navarro A, Bañón S, Conejero W, Sánchez-Blanco M J, 2008, Ornamental Characters, Ion Accumulation and Water Status in *Arbutus unedo* Seedlings Irrigated with Saline Water and Subsequent Relief and Transplanting, *Environmental and Experimental Botany*, 62, 364–370.
- Nawaz M A, Huang Y, Bie Z, Ahmed W, Reiter R J, Niu M, vd., 2016, Melatonin: Current Status and Future Perspectives in Plant Science, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1230.
- Ngara R, Ndimba R, Borch-Jensen J, Jensen O N, Ndimba B, 2012, Identification and Profiling of Salinity Stress-Responsive Proteins in *Sorghum bicolor* Seedlings, *Journal of Proteomics*, 75, 4139–4150.
- Nguyen L V, Seok H Y, Woo D H, Lee S Y, Moon Y H, 2018, Overexpression of the DEAD-box RNA helicase gene *AtRH17* Confers Tolerance to Salt Stress in *Arabidopsis*, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 3777.
- Nguyen M L, Kim G B, Hyun S H, Lee S Y, Lee C Y, Choi H K, vd., 2013, Physiological and Metabolomic Analysis of a Knockout Mutant Suggests a Critical Role of *MtP5CS3* Gene in Osmotic Stress Tolerance of *Medicago truncatula*, *Euphytica*, 193, 101–120.
- Niforou K, Cheimonidou C, Trougakos I P, 2014, Molecular Chaperones and Proteostasis Regulation During Redox Imbalance, *Redox Biology*, 2, 323–332.

- NMKL, 1998, Metals: Determination by Atomic Adsorption Spectrophotometry After Wet Digestion in Microwave Oven, NMKL Method No. 161, Nordic Committee on Food Analysis, Norway, 8.
- Noctor G, Mhamdi A, Chaouch S, Han Y I, Neukermans J, Marquez–Garcia B E L E N, vd., 2012, Glutathione in Plants: An Integrated Overview, Plant, Cell and Environment, 35, 454–484.
- Noor J, Ullah A, Saleem M H, Tariq A, Ullah S, Waheed A, vd., 2022, Effect of Jasmonic Acid Foliar Spray on The Morpho–Physiological Mechanism of Salt Stress Tolerance in Two Soybean Varieties (*Glycine max* L.), Plants, 11, 651.
- Noreen S, Siddiq A, Hussain K, Ahmad S, Hasanuzzama M, 2017, Foliar Application of Salicylic Acid with Salinity Stress on Physiological and Biochemical Attributes of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Crop, Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus, 16.
- Nounjan N, Nghia P T, Theerakulpisut P, 2012, Exogenous Proline and Trehalose Promote Recovery of Rice Seedlings from Salt–Stress and Differentially Modulate Antioxidant Enzymes and Expression of Related Genes, Journal of Plant Physiology, 169, 596–604.
- Ologundudu A F, Adelusi A A, Akinwale R O, 2014, Effect of Salt Stress on Germination and Growth Parameters of Rice (*Oryza sativa* L.), Notulae Scientia Biologicae, 6, 237–243.
- Omoto E, Taniguchi M, Miyake H, 2012, Adaptation Responses in C<sub>4</sub> Photosynthesis of Maize under Salinity, Journal of Plant Physiology, 169, 469–477.
- Özcan S, 2009, Modern Dünyanın Vazgeçilmez Bitkisi Mısır: Genetiği Değiştirilmiş (Transgenik) Mısırın Tarımsal Üretime Katkısı, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2, 1–34.
- Paik I, Huq E, 2019, Plant Photoreceptors: Multi–Functional Sensory Proteins and Their Signaling Networks, Seminars in Cell and Developmental Biology, 92, 114–121.
- Pakzad R, Goharizi K J, Riahi–Madvar A, Amirmahani F, Mortazavi M, Esmaeeli L, 2021, Identification of *Lepidium draba*  $\Delta$ 1–pyrroline–5–carboxylate Synthetase

- (P5CS) and Assessment of Its Expression under NaCl Stress: P5CS Identification in *L. draba* Plant, Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 91, 195–203.
- Pan J, Wang L, Huang C, You Q, Guo P, 2024, Review on Effects of Salt Stress on Plant Energy Metabolism Processes in Arid Regions, Journal of Desert Research, 44, 111–118.
- Pandey M, Paladi R K, Srivastava A K, Suprasanna P, 2021, Thiourea and Hydrogen Peroxide Priming Improved K<sup>+</sup> Retention and Source–Sink Relationship for Mitigating Salt Stress in Rice, Scientific Reports, 11, 3000.
- Pang Q, Chen S, Dai S, Chen Y, Wang Y, Yan X, 2010, Comparative Proteomics of Salt Tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila*, Journal of Proteome Research 9, 2584–2599.
- Panta S, Flowers T, Lane P, Doyle R, Haros G, Shabala S, 2014, Halophyte Agriculture: Success Stories, Environmental and Experimental Botany, 107, 71–83.
- Pareek A, Mishra D, Rath D, Verma J K, Chakraborty S, Chakraborty N, 2021, The Small Heat Shock Proteins, Chaperonin 10, in Plants: an Evolutionary View and Emerging Functional Diversity, Environmental and Experimental Botany, 182, 104323.
- Parihar P, Singh S, Singh R, Singh V P, Prasad S M, 2015, Effect of Salinity Stress on Plants and Its Tolerance Strategies: A Review, Environmental Science and Pollution Research, 22, 4056–4075.
- Park H J, Kim W Y, Yun D J, 2016, A New Insight of Salt Stress Signaling in Plant, Molecules and Cells, 39, 447–459.
- Parveen K, Saddique M A B, Waqas M U, Attia K A, Rizwan M, Abushady A M, 2024, Genome–Wide Analysis and Expression Divergence of Protein Disulfide Isomerase (*PDI*) Gene Family Members in Chickpea (*Cicer arietinum*) Under Salt Stress, Functional Plant Biology, 51.
- Passamani L Z, Barbosa R R, Reis R S, Heringer A S, Rangel P L, Santa–Catarina C, vd., 2017, Salt Stress Induces Changes in The Proteomic Profile of Micropropagated Sugarcane Shoots, PLoS One, 12, e0176076.

- Patade V Y, Nikalje G C, Srivastava S, 2020, Role of Thiourea in Mitigating Different Environmental Stresses in Plants, Roychoudhury A, Tripathi D K (Ed.), Protective Chemical Agents in the Amelioration of Plant Abiotic Stress: Biochemical and Molecular Perspectives (467–482), Wiley–Blackwell, 704p.
- Pei L, Che R, He L, Gao X, Li W, Li H, 2019, Role of Exogenous Glutathione in Alleviating Abiotic Stress in Maize (*Zea mays* L.), Journal of Plant Growth Regulation, 38, 199–215.
- Peleg Z, Blumwald E, 2011, Hormone Balance and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, Current Opinion in Plant Biology, 14, 290–295.
- Peña Calzada K, Calero Hurtado A, Olivera Viciado D, Habermann E, de Mello Prado R, De Oliveira R, vd., 2023, Regulatory Role of Silicon on Growth, Potassium Uptake, Ionic Homeostasis, Proline Accumulation, and Antioxidant Capacity of Soybean Plants under Salt Stress, Journal of Plant Growth Regulation, 42, 4528–4540.
- Per T S, Khan N A, Reddy P S, Masood A, Hasanuzzaman M, Khan M I R, vd., 2017, Approaches in Modulating Proline Metabolism in Plants for Salt and Drought Stress Tolerance: Phytohormones, Mineral Nutrients and Transgenics, Plant Physiology and Biochemistry, 115, 126–140.
- Perveen A, Wahid A, Mahmood S, Hussain I, Rasheed R, 2015, Possible Mechanism of Medium–Supplemented Thiourea in Improving Growth, Gas Exchange, and Photosynthetic Pigments in Cadmium–Stressed Maize (*Zea mays*), Brazilian Journal of Botany, 38, 71–79.
- Perveen S, Farooq R, Shahbaz M, 2016, Thiourea–Induced Metabolic Changes in Two Mung Bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) (Fabaceae) Varieties Under Salt Stress, Brazilian Journal of Botany, 39, 41–54.
- Pingle S N, Suryawanshi S T, Pawar K R, Harke S N, 2022, The Effect of Salt Stress on Proline Content in Maize (*Zea mays* L.), Environmental Sciences Proceedings, 16, 64.
- Pou A, Jeanguenin L, Milhiet T, Batoko H, Chaumont F, Hachez C, 2016, Salinity–Mediated Transcriptional and Post–Translational Regulation of the

- Arabidopsis Aquaporin *PIP2*;7, *Plant Molecular Biology*, 92, 731–744.
- Qi Z, Spalding E P, 2004, Protection of Plasma Membrane  $K^+$  Transport By The Salt Overly Sensitive  $Na^+-H^+$  Antiporter During Salinity Stress, *Plant Physiology*, 136, 2548–2555.
- Qin C, Ahanger M A, Zhou J, Ahmed N, Wei C, Yuan S, vd., 2020, Beneficial Role of Acetylcholine in Chlorophyll Metabolism and Photosynthetic Gas Exchange in *Nicotiana benthamiana* Seedlings Under Salinity Stress, *Plant Biology*, 22, 357–365.
- Qiu J, McGaughey S A, Groszmann M, Tyerman S D, Byrt C S, 2020, Phosphorylation Influences Water and Ion Channel Function of *AtPIP2*;1, *Plant, Cell and Environment*, 43, 2428–2442.
- Qiu Q S, Guo Y, Dietrich M A, Schumaker K S, Zhu J K, 2002, Regulation of SOS1, A Plasma Membrane  $Na^+/H^+$  Exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 8436–8441.
- Qiu X M, Li Z G 2020, Signaling Role of Glutamate in Plants, *Frontiers in Plant Science*, 10, 493584.
- Qu C, Liu C, Gong X, Li C, Hong M, Wang L, vd., 2012, Impairment of Maize Seedling Photosynthesis Caused By A Combination of Potassium Deficiency and Salt Stress, *Environmental Experimental Botany*, 75, 134–141.
- Quamruzzaman M, Manik S N, Shabala S, Zhou M, 2021, Improving Performance of Salt-Grown Crops by Exogenous Application of Plant Growth Regulators, *Biomolecules*, 11, 788.
- Quintero F J, Martinez-Atienza J, Villalta I, Jiang X, Kim W Y, Ali Z, vd., 2011, Activation of The Plasma Membrane Na/H Antiporter Salt-Overly-Sensitive 1 (SOS1) by Phosphorylation of an Auto-Inhibitory C-Terminal Domain, *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 108, 2611–2616.
- Quintero F J, Ohta M, Shi H, Zhu J K, Pardo J M, 2002, Reconstitution in Yeast of The Arabidopsis SOS Signaling Pathway for  $Na^+$  Homeostasis, *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 99, 9061–9066.

- Rady M, Kusvuran A, Alharby H F, Alzahrani Y, Kusvuran S, 2019, Pretreatment with Proline or an Organic Bio-Stimulant Induces Salt Tolerance in Wheat Plants by Improving Antioxidant Redox State and Enzymatic Activities and Reducing the Oxidative Stress, *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 449–462.
- Rajappa S, Krishnamurthy P, Kumar P P, 2020, Regulation of *AtKUP2* Expression by *bHLH* and *WRKY* Transcription Factors Helps to Confer Increased Salt Tolerance to *Arabidopsis thaliana* Plants, *Frontiers in Plant Science*, 11, 1311.
- Ralph S, Park J Y, Bohlmann J, Mansfield S D, 2006, Dirigent Proteins in Conifer Defense: Gene Discovery, Phylogeny, and Differential Wound- and Insect-Induced Expression of a Family of *DIR* and *DIR-Like* Genes in Spruce (*Picea* spp.), *Plant Molecular Biology*, 60, 21–40.
- Ramadan A M, Al-Ghamdi K M, Alghamdi A J, Amer M, Ibrahim M I, Atef A, 2023, *Withania somnifera* Mitochondrial *atp4* Gene Editing Alters The ATP Synthase b Subunit, Independent of Salt Stress, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30, 103817.
- Rana M, Solanki N S, Chouhan G S, Mali H, Kumar S, 2018, Alleviating the Adverse Effects of Water Stress in Wheat by Foliar Sprays of Bio-Regulators, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7, 3345–3354.
- Ranjan A, Sinha R, Bala M, Pareek A, Singla-Pareek S L, Singh A K, 2021, Silicon-Mediated Abiotic and Biotic Stress Mitigation in Plants: Underlying Mechanisms and Potential for Stress Resilient Agriculture, *Plant Physiology and Biochemistry*, 163, 15–25.
- Rantala M, Rantala S, Aro E M, 2020, Composition, Phosphorylation and Dynamic Organization of Photosynthetic Protein Complexes in Plant Thylakoid Membrane, *Photochemical & Photobiological Sciences*, 19, 604–619.
- Rao S, Du C, Li A, Xia X, Yin W, Chen J, 2019, Salicylic Acid Alleviated Salt Damage of *Populus euphratica*: A Physiological and Transcriptomic Analysis, *Forests*, 10, 423.
- Rasool A, Shah W H, Mushtaq N U, Saleem S, Hakeem K R, Rehman R, 2022,

- Amelioration of Salinity Induced Damage in Plants by Selenium Application: A Review, *South African Journal of Botany*, 147, 98–105.
- Rasoolizadeh A, Labbé C, Sonah H, Deshmukh R K, Belzile F, Menzies J G, vd., 2018, Silicon Protects Soybean Plants Against *Phytophthora sojae* by Interfering with Effector–Receptor Expression, *BMC Plant Biology*, 18, 1–13.
- Ratnakumar P, Khan M I R, Minhas P S, Farooq M A, Sultana R, Per T S, vd., 2016, Can Plant Bio–Regulators Minimize Crop Productivity Losses Caused by Drought, Salinity and Heat Stress? An Integrated Review, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89, 113–125.
- Raza A, 2022, Metabolomics: A Systems Biology Approach for Enhancing Heat Stress Tolerance in Plants, *Plant Cell Reports*, 41, 741–763.
- Reiner A, Levitz J, 2018, Glutamatergic Signaling in The Central Nervous System: Ionotropic and Metabotropic Receptors in Concert, *Neuron*, 98, 1080–1098.
- Rennie E A, Scheller H V, 2014, Xylan Biosynthesis, *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 100–107.
- Rhodes D, Samaras Y, 2020, Genetic Control of Osmoregulation in Plants, Strange K (Ed.), *Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation* (347–361), CRC Press, 416P, Boca Raton.
- Rhodes D, Verslues P E, Sharp R E, 1999, Role of Amino Acids in Abiotic Stress Resistance, In *Plant Amino Acids. Biochemistry and Biotechnology* (319–356), Singh B K, Ed, Marcel Dekker, Inc, New York, NY, USA, Basel, Switzerland, Hong Kong, China.
- Riccillo P M, Muglia C I, De Bruijn F J, Roe A J, Booth I R, Aguilar O M, 2000, Glutathione Is Involved in Environmental Stress Responses in *Rhizobium tropici*, Including Acid Tolerance, *Journal of Bacteriology*, 182, 1748–1753.
- Riyazuddin R, Verma R, Singh K, Nisha N, Keisham M, Bhati K K, vd., 2020, Ethylene: A Master Regulator of Salinity Stress Tolerance in Plants, *Biomolecules*, 10, 959.
- Rodziewicz P, Swarczewicz B, Chmielewska K, Wojakowska A, Stobiecki M, 2014,

- Influence of Abiotic Stresses on Plant Proteome and Metabolome Changes, *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 1–19.
- Romero–Puertas M C, Rodríguez–Serrano M, Corpas F J, Gomez M D, Del Rio L A, Sandalio L M, 2004, Cadmium–Induced Subcellular Accumulation of  $O_2^{\cdot-}$  and  $H_2O_2$  in Pea Leaves, *Plant, Cell and Environment*, 27, 1122–1134.
- Ronzier E, Corratgé–Faillie C, Sanchez F, Prado K, Brière C, Leonhardt N, vd., 2014, CPK13, A Noncanonical  $Ca^{2+}$ –Dependent Protein Kinase, Specifically Inhibits KAT2 and KAT1 Shaker  $K^+$  Channels and Reduces Stomatal Opening, *Plant Physiology*, 166, 314–326.
- Rosa–Téllez S, Anoman A D, Alcántara–Enguádanos A, Garza–Aguirre R A, Alseekh S, Ros R, 2020, *PGDH* Family Genes Differentially Affect Arabidopsis Tolerance to Salt Stress, *Plant Science*, 290, 110284.
- Roy S, Chowdhury N, 2020, Salt Stress in Plants and Amelioration Strategies: A Critical Review, Fahad S, Saud S, Chen Y, Wu C, Wang D (Ed.), *Abiotic Stress in Plants*, Intech Open, 494p.
- Roychoudhury A, Basu S, Sengupta D N, 2009, Effects of Exogenous Absciscic Acid on Some Physiological Responses in a Popular Aromatic Indica Rice Compared with Those from Two Traditional Non–Aromatic Indica Rice Cultivars, *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 915–926.
- Roychoudhury A, Chakraborty M, 2013, Biochemical and Molecular Basis of Varietal Difference in Plant Salt Tolerance, *Annual Research and Review in Biology*, 3, 422–454.
- Ryu H, Cho Y G, 2015, Plant Hormones in Salt Stress Tolerance, *Journal of Plant Biology*, 58, 147–155.
- Sabagh A E, Çiğ F, Seydoşoğlu S, Battaglia M L, Javed T, Iqbal M A, vd., 2021, Salinity Stress in Maize: Effects of Stress and Recent Developments of Tolerance for Improvement, *Cereal Grains*, 1, 213.
- Sah S K, Reddy K R, Li J, 2016, Absciscic Acid and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, *Frontiers in Plant Science*, 7, 190245.

- Saha J, Sengupta A, Gupta K, Gupta B, 2015, Molecular Phylogenetic Study and Expression Analysis of ATP-Binding Cassette Transporter Gene Family in *Oryza sativa* in Response to Salt Stress, *Computational Biology and Chemistry*, 54, 18–32.
- Sahin O, Gunes A, Deniz Y K, Kadioglu Y K, 2025, Exploring The Impact of Rice Husk Biochar on Oxidative Mechanisms and Salt Stress Tolerance in Lettuce Plants, *Journal of Plant Nutrition*, 48, 607–616.
- Sakuraba Y, Bülbül S, Piao W, Choi G, Paek N C, 2017, Arabidopsis EARLY FLOWERING 3 Increases Salt Tolerance by Suppressing Salt Stress Response Pathways, *The Plant Journal*, 92, 1106–1120.
- Salim B, Hikal M S, Osman H S, 2019, Ameliorating the Deleterious Effects of Saline Water on the Antioxidants Defense System and Yield of Eggplant Using Foliar Application of Zinc Sulphate, *Annals of Agricultural Sciences*, 64, 244–251.
- Sanaullah T, Wahid A, Sadia B, Hanif A, Maqbool N, Arshad T, vd., 2016, Exogenous Application of Thiourea Ameliorates Salt Stress Effects by Alleviation of Oxidative Damage in Hybrid Maize, *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 6, 220–231.
- Sathee L, Sairam R K, Chinnusamy V, Jha S K, 2015, Differential Transcript Abundance of Salt Overly Sensitive (SOS) Pathway Genes Is a Determinant of Salinity Stress Tolerance of Wheat, *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 1–10.
- Sathee L, Sairam R K, Chinnusamy V, Jha S K, Singh D, 2022, Upregulation of Genes Encoding Plastidic Isoforms of Antioxidant Enzymes and Osmolyte Synthesis Impart Tissue Tolerance to Salinity Stress in Bread Wheat, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28, 1639–1655.
- Saxena I, Srikanth S, Chen Z, 2016, Cross Talk Between H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Interacting Signal Molecules Under Plant Stress Response, *Frontiers in Plant Science*, 7, 570.
- Schaller A, 2004, A Cut Above The Rest: The Regulatory Function of Plant Proteases, *Planta*, 220, 183–197.
- Schaller A, Stintzi A, 2009, Enzymes in Jasmonate Biosynthesis—Structure, Function,

Regulation, *Phytochemistry*, 70, 1532–1538.

- Schiene–Fischer C, 2015, Multidomain Peptidyl Prolyl Cis/trans Isomerases, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–General Subjects*, 1850, 2005–2016.
- Sehrawat A, Deswal R, 2022, Proteomics Approach to Uncover Key Signalling Pathways in *Brassica juncea* in Abiotic and Biotic Stress. In *The Brassica juncea Genome* (pp. 337-347), Cham: Springer International Publishing.
- Seleiman M F, Aslam M T, Alhammad B A, Hassan M U, Maqbool R, Chattha M U, vd., 2022, Salinity Stress in Wheat: Effects, Mechanisms and Management Strategies, *Phyton*, 91, 667–664.
- Seo S Y, Wi S J, Park K Y, 2020, Functional Switching of NPR1 Between Chloroplast and Nucleus for Adaptive Response to Salt Stress, *Scientific Reports*, 10, 4339.
- Shabala L, Zhang J, Pottosin I, Bose J, Zhu M, Fuglsang A T, vd., 2016, Cell-type-specific H<sup>+</sup>–ATPase Activity in Root Tissues Enables K<sup>+</sup> Retention and Mediates Acclimation of Barley (*Hordeum vulgare*) to Salinity Stress, *Plant Physiology*, 172, 2445–2458.
- Shabala S, Demidchik V, Shabala L, Cuin T A, Smith S J, Miller A J, vd., 2006, Extracellular Ca<sup>2+</sup> Ameliorates NaCl-induced K<sup>+</sup> Loss from Arabidopsis Root and Leaf Cells by Controlling Plasma Membrane K<sup>+</sup>–permeable Channels, *Plant Physiology*, 141, 1653–1665.
- Shah A, Masoodi F, Gani A, Ashwar B A, 2015, Effect of  $\gamma$ –Irradiation on Antioxidant and Antiproliferative Properties of Oat  $\beta$ –Glucan, *Radiation Physics and Chemistry*, 117, 120–127.
- Shahbaz M, Ashraf M, 2013, Improving Salinity Tolerance in Cereals, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32, 237–249.
- Shahid M A, Sarkhosh A, Khan N, Balal R M, Ali S, Rossi L, vd., 2020, Insights into The Physiological and Biochemical Impacts of Salt Stress on Plant Growth and Development, *Agronomy*, 10, 938.
- Shahid S, Kausar A, Zahra N, Hafeez M B, Raza A, Ashraf M Y, 2023,

- Methionine–Induced Regulation of Secondary Metabolites and Antioxidants in Maize (*Zea mays* L.) Subjected to Salinity Stress, *Gesunde Pflanzen*, 75, 1143–1155.
- Sharma S, Joshi J, Kataria S, Verma S K, Chatterjee S, Jain M, vd., 2020, Regulation of The Calvin Cycle Under Abiotic Stresses: An Overview, *Plant Life Under Changing Environment*, 681–717.
- Sharma J K, Sihmar M, Santal A R, Singh N P, 2019, Impact Assessment of Major Abiotic Stresses on The Proteome Profiling of Some Important Crop Plants: A Current Update, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 35, 126–160.
- Shekhawat K, Fröhlich K, García–Ramírez G X, Trapp M A, Hirt H, 2022, Ethylene: A Master Regulator of Plant–Microbe Interactions Under Abiotic Stresses, *Cells*, 12, 31.
- Shen G, Wei J, Qiu X, Hu R, Kuppu S, Auld D, vd., 2015, Co–Overexpression of *AVP1* and *AtNHX1* in Cotton Further Improves Drought and Salt Tolerance in Transgenic Cotton Plants, *Plant Molecular Biology Reporter*, 33, 167–177.
- Shen Q, Fu L, Qiu L, Xue F, Zhang G, Wu D, 2017, Time–Course of Ionic Responses and Proteomic Analysis of a Tibetan Wild Barley at Early Stage Under Salt Stress, *Plant Growth Regulation*, 81, 11–21.
- Shen Z J, Chen J, Ghoto K, Hu W J, Gao G F, Luo M R, vd., 2018, Proteomic Analysis on Mangrove Plant *Avicennia marina* Leaves Reveals Nitric Oxide Enhances Salt Tolerance By Up–Regulating Photosynthetic and Energy Metabolic Protein Expression, *Tree physiology*, 38, 1605–1622.
- Sheteiwy M S, Shao H, Qi W, Daly P, Sharma A, Shaghaleh H, vd., 2021, Seed Priming and Foliar Application with Jasmonic Acid Enhance Salinity Stress Tolerance of Soybean (*Glycine max* L.) Seedlings, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101, 2027–2041.
- Shi H, Kim Y, Guo Y, Stevenson B, Zhu J K, 2003, The Arabidopsis *SOS5* Locus Encodes a Putative Cell Surface Adhesion Protein and Is Required for Normal Cell Expansion, *The Plant Cell*, 15, 19–32.

- Shi H, Zhu J K, 2002, *SOS4*, A Pyridoxal Kinase Gene, Is Required for Root Hair Development in *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 129, 585–593.
- Shi L Y, Li H Q, Pan X P, Wu G J, Li M R, 2008, Improvement of *Torenia fournieri* Salinity Tolerance by Expression of *Arabidopsis AtNHX5*, *Functional Plant Biology*, 35, 185–192.
- Shi S, Li S, Asim M, Mao J, Xu D, Ullah Z, vd., 2018, The *Arabidopsis* Calcium–Dependent Protein Kinases (CDPKs) and Their Roles in Plant Growth Regulation and Abiotic Stress Responses, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1900.
- Shin Y K, Bhandari S R, Cho M C, Lee J G, 2020, Evaluation of Chlorophyll Fluorescence Parameters and Proline Content in Tomato Seedlings Grown Under Different Salt Stress Conditions, *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 61, 433–443.
- Shinozaki K, Yamaguchi–Shinozaki K, 1997, Gene Expression and Signal Transduction in Water–Stress Response, *Plant Physiology*, 115, 327.
- Shtereva L A, Vassilevska–Ivanova R D, Karceva T V, 2015, Effect of Salt Stress on Some Sweet Corn (*Zea mays* L. var. *saccharata*) Genotypes, *Archives of Biological Sciences*, 67, 993–1000.
- Shu J, Ma X, Ma H, Huang Q, Zhang Y, Guan M, vd., 2022, Transcriptomic, Proteomic, Metabolomic, and Functional Genomic Approaches of *Brassica napus* L. During Salt Stress, *PLoS One*, 17, e0262587.
- Shu S, Yuan Y, Chen J, Sun J, Zhang W, Tang Y, vd., 2015, The Role of Putrescine in The Regulation of Proteins and Fatty Acids of Thylakoid Membranes under Salt Stress, *Scientific Reports*, 5, 14390.
- Shumayla Tyagi S, Upadhyay S K, 2019, Receptor–Like Kinases and Environmental Stress in Plants, Singh S P, Upadhyay S K, Pandey A, Kumar S (Ed.), *Molecular Approaches in Plant Biology and Environmental Challenges* (79-102), Springer, 499p, Singapore.
- Signorelli S, Dans P D, Coitiño E L, Borsani O, Monza J, 2015, Connecting Proline and  $\gamma$ -Aminobutyric Acid in Stressed Plants Through Nonenzymatic Reactions, *PloS*

One, 10, e0115349.

- Silva A A R D, Lima G S D, Azevedo C A V D, Veloso L L D S A, Souza L D P, Fátima R T D, vd., 2022, Exogenous Application of Salicylic Acid on The Mitigation of Salt Stress in *Capsicum annuum* L., *Ciência Rural*, 53, e20210447.
- Silva B R S, Batista B L, Lobato A S, 2021, Anatomical Changes in Stem and Root of Soybean Plants Submitted to Salt Stress, *Plant Biology*, 23, 57–65.
- Silva E N, Silveira J A G, Rodrigues C R F, Viégas R A, 2015, Physiological Adjustment to Salt Stress in *Jatropha curcas* Is Associated with Accumulation of Salt Ions, Transport and Selectivity of  $K^+$ , Osmotic Adjustment and  $K^+/Na^+$  Homeostasis, *Plant Biology*, 17, 1023–1029.
- Singh A, Giri J, Kapoor S, Tyagi A K, Pandey G K, 2010, Protein Phosphatase Complement in Rice: Genome-wide Identification and Transcriptional Analysis under Abiotic Stress Conditions and Reproductive Development, *BMC Genomics*, 11, 435.
- Singh I, Anand K G V, Solomon S, Shukla S K, Rai R, Zodape S T, vd., 2018, Can We Not Mitigate Climate Change Using Seaweed Based Biostimulant: A Case Study with Sugarcane Cultivation in India, *Journal of Cleaner Production*, 204, 992–1003.
- Singh R K, Srivastava S, Chidley H G, Nath P, Sane V A, 2018, Overexpression of Mango Alcohol Dehydrogenase (*MiADH1*) Mimics Hypoxia in Transgenic Tomato and Alters Fruit Flavor Components, *Agri Gene*, 7, 23–33.
- Singla–Pareek S L, Reddy M K, Sopory S K, 2003, Genetic Engineering of The Glyoxalase Pathway in Tobacco Leads to Enhanced Salinity Tolerance, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 14672–14677.
- Sivakumar P, Sharmila P, Saradhi P P, 2000, Proline Alleviates Salt–Stress–Induced Enhancement in Ribulose–1,5–Bisphosphate Oxygenase Activity, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279, 512–515.
- Slama S, Bouchereau A, Flowers T, Abdelly C, Saviouré A, 2015, Diversity,

- Distribution, and Roles of Osmoprotective Compounds Accumulated in Halophytes under Abiotic Stress, *Annals of Botany*, 115, 433–447.
- Smirnoff N, 1996, Botanical Briefing: The Function and Metabolism of Ascorbic Acid in Plants, *Annals of botany*, 78, 661–669.
- Sobhanian H, Razavizadeh R, Nanjo Y, Ehsanpour A A, Jazii F R, Motamed N, vd., 2010, Proteome Analysis of Soybean Leaves, Hypocotyls and Roots under Salt Stress, *Proteome Science*, 8, 19.
- Sofy M R, Elhawat N, Alshaal T, 2020, Glycine Betaine Counters Salinity Stress by Maintaining High  $K^+/Na^+$  Ratio and Antioxidant Defense via Limiting  $Na^+$  Uptake in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Ecotoxicology Environment Safety*, 200, 110732.
- Solomon A, Beer S, Waisel Y, Jones G P, Paleg L G, 1994, Effects of NaCl on The Carboxylating Activity of Rubisco from *Tamarix jordanis* in The Presence and Absence of Proline–Related Compatible Solutes, *Physiologia Plantarum*, 90, 198–204.
- Soltabayeva A, Ongaltay A, Omondi J O, Srivastava S, Morphological, Physiological and Molecular Markers for Salt–stressed, *Plants*, 10, 243.
- Somerville C, Youngs H, Taylor C, Davis S C, Long S P, 2010, Feedstocks for Lignocellulosic Biofuels, *Science*, 329, 790–792.
- Song W, Shao H, Zheng A, Zhao L, Xu Y, 2023, Advances in Roles of Salicylic Acid in Plant Tolerance Responses to Biotic and Abiotic Stresses, *Plants*, 12, 3475.
- Soundararajan P, Manivannan A, Cho Y S, Jeong B R, 2017, Exogenous Supplementation of Silicon Improved the Recovery of Hyperhydric Shoots in *Dianthus caryophyllus* L. by Stabilizing the Physiology and Protein Expression, *Frontiers in Plant Science*, 8, 738.
- Soundararajan P, Manivannan A, Ko C H, Jeong B R, 2018, Silicon Enhanced Redox Homeostasis and Protein Expression to Mitigate The Salinity Stress in *Rosa hybrida* ‘Rock Fire’, *Journal of Plant Growth Regulation*, 37, 16–34.
- Soundararajan P, Manivannan A, Ko C H, Muneer S, Jeong B R, 2017, Leaf

- Physiological and Proteomic Analysis to Elucidate Silicon Induced Adaptive Response under Salt Stress in *Rosa hybrida* ‘Rock Fire’, International journal of molecular sciences, 18, 1768.
- Soundararajan P, Sivanesan I, Jana S, Jeong B R, 2014, Influence of Silicon Supplementation on The Growth and Tolerance to High Temperature in *Salvia splendens*, Horticulture, Environment, and Biotechnology, 55, 271–279.
- Spreitzer R J, Salvucci M E, 2002, Rubisco: Structure, Regulatory Interactions, and Possibilities for a Better Enzyme, Annual Review of Plant Biology, 53, 449–475.
- Srivastava A K, Ramaswamy N K, Suprasanna P, D'souza S F, 2010a, Genome–Wide Analysis of Thiourea–Modulated Salinity Stress–Responsive Transcripts in Seeds of *Brassica juncea*: Identification of Signalling and Effector Components of Stress Tolerance, Annals of Botany, 106, 663–674.
- Srivastava A K, Sablok G, Hackenberg M, Deshpande U, Suprasanna P, 2017, Thiourea Priming Enhances Salt Tolerance Through Co–Ordinated Regulation of microRNAs and Hormones in *Brassica juncea*, Scientific Reports, 7, 45490.
- Srivastava A K, Srivastava S, Penna S, D'Souza S F, 2011, Thiourea Orchestrates Regulation of Redox State and Antioxidant Responses to Reduce the NaCl–Induced Oxidative Damage in Indian Mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern.), Plant Physiology and Biochemistry, 49, 676–686.
- Srivastava A K, Suprasanna P, Srivastava S, D'Souza S F, 2010b, Thiourea Mediated Regulation in the Expression Profile of Aquaporins and Its Impact on Water Homeostasis Under Salinity Stress in *Brassica juncea* Roots, Plant Science, 178, 517–522.
- Stefanov M A, Rashkov G D, Apostolova E L, vd., 2022, Assessment of The Photosynthetic Apparatus Functions By Chlorophyll Fluorescence and P700 Absorbance in C3 and C4 Plants under Physiological Conditions and Under Salt Stress, International Journal of Molecular Sciences, 23, 3768.
- Stefanov M, Biswal A K, Misra M, Misra, A N, Apostolova E L, 2021, Responses of Photosynthetic Apparatus to Salt Stress: Structure, Function and Protection.

- In Handbook of Plant & Crop Stress, 4th ed (233–250), Pessarakli M, Ed, Taylor & Francis, NY, USA, CRC Press Instead Taylor & Francis, Abingdon–on–Thames, UK.
- Stepien P, Johnson G N, 2009, Contrasting Responses of Photosynthesis to Salt Stress in the Glycophyte *Arabidopsis* and the Halophyte *Thellungiella*: Role of The Plastid Terminal Oxidase as an Alternative Electron Sink, *Plant Physiology*, 149, 1154–1165.
- Strommer J, 2011, The plant *ADH* gene family, *Plant Journal*, 66, 128.
- Su W, Ren Y, Wang D, Su Y, Feng J, Zhang C, 2020, The Alcohol Dehydrogenase Gene Family in Sugarcane and Its Involvement in Cold Stress Regulation, *BMC genomics*, 21, 1–17.
- Suarez N, 2011, Comparative Leaf Anatomy and Pressure–Volume Analysis in Plants of *Ipomoea pes-caprae* Experimenting Saline and/or Drought Stress, *International Journal of Botany*, 7, 53–62.
- Sun K, Mehari T G, Fang H, Han J, Huo X, Zhang J, vd., 2023, Transcriptome, Proteome and Functional Characterization Reveals Salt Stress Tolerance Mechanisms in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Frontiers in Plant Science*, 14, 1092616.
- Sun L N, Wang F, Wang J W, Sun L J, Gao W R, Song X S, 2019, Overexpression of the *ChVDE* Gene, Encoding a Violaxanthin de–Epoxidase, Improves Tolerance to Drought and Salt Stress in Transgenic *Arabidopsis*, *3 Biotech*, 9, 1–10.
- Sun Q, Liu X, Kitagawa Y, Calamita G, Ding X, 2024, Plant Aquaporins: Their Roles Beyond Water Transport, *The Crop Journal*, 12, 641–655.
- Sun Y G, Wang B, Jin S H, Qu X X, Li Y J, Hou B K, 2013, Ectopic Expression of *Arabidopsis* Glycosyltransferase *UGT85A5* Enhances Salt Stress Tolerance in Tobacco, *PLoS One*, 8, e59924.
- Sun Y, Zhao J, Li X, Li Y, 2020, E2 Conjugases UBC1 and UBC2 Regulate MYB42–Mediated SOS Pathway in Response to Salt Stress in *Arabidopsis*, *New Phytologist*, 227, 455–472.

- Sun Z W, Ren L K, Fan J W, Li Q, Wang K J, Guo M M, vd., 2016, Salt Response of Photosynthetic Electron Transport System in Wheat Cultivars with Contrasting Tolerance, *Plant Soil Environment*, 62, 515–521.
- Szabados L, Savouré A, 2010, Proline: A Multifunctional Amino Acid, *Trends in Plant Science*, 15, 89–97.
- Székely G, Ábrahám E, Cséplő Á, Rigó G, Zsigmond L, Csiszár J, vd., 2008, Duplicated *P5CS* Genes of *Arabidopsis* Play Distinct Roles in Stress Regulation and Developmental Control of Proline Biosynthesis, *The Plant Journal*, 53, 11–28.
- Tabatabaei S, Ehsanzadeh P, 2016, Photosynthetic Pigments, Ionic and Antioxidative Behaviour of Hulled Tetraploid Wheat in Response to NaCl, *Photosynthetica*, 54, 340–350.
- Tahjib-Ul-Arif M, Afrin S, Polash M A S, Akter T, Ray S R, Hossain M T, vd., 2019, Role of Exogenous Signaling Molecules in Alleviating Salt-Induced Oxidative Stress in Rice (*Oryza sativa* L.): A Comparative Study, *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 1–14.
- Taiz L, Zeiger E, Moller I S, Murphy A (Ed.), 2015, *Plant Physiology and Development*, Sinauer Associates Incorporated, 761p, USA.
- Takenaka Y, Nakano S, Tamoi M, Sakuda S, Fukamizo T, 2009, Chitinase Gene Expression in Response to Environmental Stresses in *Arabidopsis thaliana*: Chitinase Inhibitor Allosamidin Enhances Stress Tolerance, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73, 1066–1071.
- Talbi Zribi O, Slama I, Trabelsi N, Hamdi A, Smaoui A, Abdelly C, 2018, Combined Effects of Salinity and Phosphorus Availability on Growth, Gas Exchange, and Nutrient Status of *Catapodium rigidum*, *Arid Land Research and Management*, 32, 277–290.
- Tan X, Long W, Zeng L, Ding X, Cheng Y, Zhang X, 2019, Melatonin-Induced Transcriptome Variation of Rapeseed Seedlings Under Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5355.
- Tang X, Mu X, Shao H, Wang H, Brestic M, 2015, Global Plant-Responding

Mechanisms to Salt Stress: Physiological and Molecular Levels and Implications in Biotechnology, *Critical Reviews in Biotechnology*, 35, 425–437.

Tang Y, Du G, Xiang J, Hu C, Li X, Wang W, vd., 2022, Genome–Wide Identification of Auxin Response Factor (ARF) Gene Family and the miR160–ARF18–Mediated Response to Salt Stress in Peanut (*Arachis hypogaea* L.), *Genomics*, 114, 171–184.

Tanveer K, Gilani S, Hussain Z, Ishaq R, Adeel M, Ilyas N, 2020, Effect of Salt Stress on Tomato Plant and The Role of Calcium, *Journal of Plant Nutrition*, 43, 28–35.

Tao C, Jin X, Zhu L, Xie Q, Wang X, Li H, 2018, Genome–Wide Investigation and Expression Profiling of APX Gene Family in *Gossypium hirsutum* Provide New Insights in Redox Homeostasis Maintenance During Different Fiber Development Stages, *Molecular Genetics and Genomics*, 293, 685–697.

Tateishi Y, Umemura Y, Esaka M, 2001, A Basic Class I Chitinase Expression in Winged Bean Is Up Regulated by Osmotic Stress, *Bioscience, biotechnology, and Biochemistry*, 65, 1663–1668.

Tavallali V, Rahemi M, Maftoun M, Panahi B, 2009, Zinc Influence and Salt Stress on Photosynthesis, Water Relations, and Carbonic Anhydrase Activity in Pistachio, *Science Horticulture*, 123, 272–279.

Taylor I, Wang Y, Seitz K, Baer J, Bennewitz S, Mooney B P, vd., 2016, Analysis of Phosphorylation of The Receptor–Like Protein Kinase HAESA During Arabidopsis Floral Abscission, *PLoS One*, 11, e0147203.

Teige M, Scheikl E, Eulgem T, Doczi R, Ichimura K, Shinozaki K, vd., 2004, The MKK2 Pathway Mediates Cold and Salt Stress Signaling in Arabidopsis, *Molecular Cell*, 15, 141–152.

Teshome S, Kebede M, 2021, Analysis of Regulatory Elements in *GA2ox*, *GA3ox* and *GA20ox* Gene Families in *Arabidopsis thaliana*: An important Trait, *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 35, 1603–1612.

Theerawitaya C, Tisarum R, Samphumphuang T, Singh H P, Takabe T, Cha–Um S, 2020, Expression Levels of Vacuolar Ion Homeostasis–Related Genes,  $\text{Na}^+$

- Enrichment, and Their Physiological Responses to Salt Stress in Sugarcane Genotypes, *Protoplasma*, 257, 525–536.
- Thornalley P J, 1996, Pharmacology of Methylglyoxal: Formation, Modification of Proteins and Nucleic Acids, and Enzymatic Detoxification—a Role in Pathogenesis and Antiproliferative Chemotherapy, *General Pharmacology: The Vascular System*, 27, 565–573.
- Tian B, Qiao Z, Zhang L, Li H, Pei Y, 2016, Hydrogen Sulfide and Proline Cooperate to Alleviate Cadmium Stress in Foxtail Millet Seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 293–299.
- Tiika R J, Wei J, Cui G, Ma Y, Yang H, Duan H, 2021, Transcriptome-wide Characterization and Functional Analysis of Xyloglucan Endo-transglycosylase/hydrolase (*XTH*) Gene Family of *Salicornia europaea* L. under Salinity and Drought Stress, *BMC Plant Biology*, 21, 1–15.
- Tokarz K M, Wesołowski W, Tokarz B, Makowski W, Wysocka A, Jędrzejczyk R J, vd., 2021, Stem Photosynthesis—A Key Element of Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Acclimatisation to Salinity, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 685.
- Tripathi D K, Vishwakarma K, Singh V P, Prakash V, Sharma S, Muneer S, vd., 2020, Silicon Crosstalk with Reactive Oxygen Species, Phytohormones and Other Signaling Molecules, *Journal of Hazardous Materials*, 408, 124820.
- Tu B P, Ho-Schleyer S C, Travers K J, Weissman J S, 2000, Biochemical Basis of Oxidative Protein Folding in the Endoplasmic Reticulum, *Science*, 290, 1571–1574.
- TÜİK, 2024, Bitkisel Üretim İstatistikleri.
- Tuna A L, Kaya C, Ashraf M, Altunlu H, Yokas I, Yagmur B, 2007, The Effects of Calcium Sulphate on Growth, Membrane Stability and Nutrient Uptake of Tomato Plants Grown Under Salt Stress, *Environmental and Experimental Botany*, 59, 173–178.
- Türkan I, Demiral T, 2009, Recent Developments in Understanding Salinity Tolerance,

- Environmental and Experimental Botany, 67, 2–9.
- Tyerman S D, Wignes J A, Kaiser B N, 2017, Root Hydraulic and Aquaporin Responses to N Availability, In: Chaumont F, Tyerman S, (eds) Plant Aquaporins, Signaling and Communication in Plants, 353, Springer, New York.
- Unnep R, Zsiros O, Salymosi K, Kovacs L, Lambrev P H, Toth T, 2014, The Ultrastructure and Flexibility of Thylakoid Membranes in Leaves and Isolated Chloroplasts as Revealed By Small Angle Neutron Scattering, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1837, 1572–1580.
- Vaculík M, Lukačová Z, Bokor B, Martinka M, Tripathi D K, Lux A, 2020, Alleviation Mechanisms of Metal (Loid) Stress in Plants by Silicon: A Review, *Journal of Experimental Botany*, 71, 6744–6757.
- Vafadar F, Amooaghaie R, Ehsanzadeh P, Ghanadian M, Talebi M, Ghanati F, 2020, Melatonin and Calcium Modulate The Production of Rosmarinic Acid, Luteolin, and Apigenin in *Dracocephalum kotschyi* Under Salinity Stress, *Phytochemistry*, 177, 112422.
- Vago M E, Jaurena G, Estevez J M, Castro M A, Zavala J A, Ciancia M, 2021, Salt Stress on *Lotus tenuis* Triggers Cell Wall Polysaccharide Changes Affecting Their Digestibility by Ruminants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 405–415.
- Vaid N, Pandey P, Srivastava V K, Tuteja N, 2015, Pea Lectin Receptor–Like Kinase Functions in Salinity Adaptation without Yield Penalty, by Alleviating Osmotic and Ionic Stresses and Upregulating Stress–Responsive Genes, *Plant Molecular Biology*, 88, 1–14.
- Van Zelm E, Zhang Y, Testerink C, 2020, Salt Tolerance Mechanisms of Plants, *Annual Review of Plant Biology*, 71, 403–433.
- Vass I, 2012, Molecular Mechanisms of Photodamage in The Photosystem II Complex, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1817, 209–217.
- Vavrdová T, Samaj J, Komis G, 2019, Phosphorylation of Plant Microtubule–associated

- Proteins During Cell Division, *Frontiers in Plant Science*, 10, 238.
- Venkataraman G, Shabala S, Véry A A, Hariharan G N, Somasundaram S, Pulipati S, vd., 2021, To Exclude or to Accumulate? Revealing The Role of The Sodium HKT1;5 Transporter in Plant Adaptive Responses to Varying Soil Salinity, *Plant Physiology and Biochemistry*, 169, 333–342.
- Verbruggen N, Hermans C, 2013, Physiological and Molecular Responses to Magnesium Nutritional Imbalance in Plants, *Plant and soil*, 368, 87–99.
- Verma D, Lakhanpal N, Singh K, 2019, Genome–Wide Identification and Characterization of Abiotic–Stress Responsive *SOD* (Superoxide Dismutase) Gene Family in *Brassica juncea* and *B. rapa*, *BMC Genomics*, 20, 1–18.
- Verma D, Singla–Pareek S L, Rajagopal D, Reddy M K, Sopory S K, 2007, Functional Validation of a Novel Isoform of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Antiporter from *Pennisetum glaucum* for Enhancing Salinity Tolerance in Rice, *Journal of Biosciences*, 32, 621–628.
- Verma S, Negi N P, Pareek S, Mudgal G, Kumar D, 2022, Auxin Response Factors in Plant Adaptation to Drought and Salinity Stress, *Physiologia Plantarum*, 174, e13714.
- Verma V, Ravindran P, Kumar P P, 2016, Plant Hormone–Mediated Regulation of Stress Responses, *BMC Plant Biology*, 16, 1–10.
- Verslues P E, Sharma S, 2010, Proline Metabolism and Its Implications for Plant–Environment Interaction, *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 8, e0140.
- Vetoshkina D, Balashov N, Ivanov B, Ashikhmin A, Borisova–Mubarakshina M, 2023, Light Harvesting Regulation: A Versatile Network of Key Components Operating under Various Stress Conditions in Higher Plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 194, 576–588.
- Vidhyasekaran P, Vidhyasekaran P, 2015, Salicylic Acid Signaling in Plant Innate Immunity, *Plant Hormone Signaling Systems in Plant Innate Immunity*, 27–122.
- Viotti C, Bubeck J, Stierhof Y D, Krebs M, Langhans M, vd., 2010, Endocytic and Secretory Traffic in *Arabidopsis* merge in The Trans–Golgi Network/early

- Endosome, an Independent and Highly Dynamic Organelle, *Plant Cell*, 22, 1344–1357.
- Wahid A, Basra S, Farooq M, 2017, Thiourea: A Molecule with Immense Biological Significance for Plants, *International Journal of Agriculture and Biology*, 19, 911–920.
- Wang C K, Zhao Y W, Han P L, Yu J Q, Hao Y J, Qian X U, vd., 2022, Auxin Response Factor Gene *MdARF2* Is Involved in ABA Signaling and Salt Stress Response in Apple, *Journal of Integrative Agriculture*, 21, 2264–2274.
- Wang C, Chen S, Dong Y, Ren R, Chen D, Chen X, 2020, Chloroplastic Os3BGlu6 Contributes Significantly to Cellular ABA Pools and Impacts Drought Tolerance and Photosynthesis in Rice, *New Phytologist*, 226, 1042–1054.
- Wang C, Li J, Yuan M, 2007, Salt Tolerance Requires Cortical Microtubule Reorganization in Arabidopsis, *Plant and Cell Physiology*, 48, 1534–1547.
- Wang D, Li L, Xu Y, Limwachiranon J, Li D, Ban Z, Luo Z, 2017, Effect of Exogenous Nitro Oxide on Chilling Tolerance, Polyamine, Proline, and Gamma-aminobutyric Acid in Bamboo Shoots (*Phyllostachys praecox* f. prevernalis), *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 65, 5607–5613.
- Wang F W, Wang M L, Guo C, Wang N, Li X W, Chen H, vd., 2016, Cloning and Characterization of A Novel Betaine Aldehyde Dehydrogenase Gene from *Suaeda corniculata*, *Genetics and Molecular Research*, 15, 1–14.
- Wang F, Wan C, Wu W, Zhang Y, Pan Y, Chen X, vd., 2023, Methyl Jasmonate (MeJA) Enhances Salt Tolerance of Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Plants by Regulating ABA Signaling, Osmotic Adjustment Substances, Photosynthesis and ROS Metabolism, *Scientia Horticulturae*, 319, 112145.
- Wang G, Liang Y H, Zhang J Y, Cheng Z M M, 2020, Cloning, Molecular and Functional Characterization by Overexpression in Arabidopsis of *MAPKK* Genes from Grapevine (*Vitis vinifera*), *BMC Plant Biology*, 20, 1–15.
- Wang H, Huang H, Shang Y, Song M, Ma H, 2022, Identification and Characterization of Auxin Response Factor (ARF) Family Members Involved in Fig (*Ficus carica*

- L.) Fruit Development, PeerJ, 10, e13798.
- Wang J Y, Tong S M, Li Q L, 2013, Constitutive and Salt-Inducible Expression of *SIBADH* Gene in Transgenic Tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) Enhances Salt Tolerance, Biochemical and Biophysical Research Communications, 432, 262–267.
- Wang J, Song L, Gong X, Xu J, Li M, 2020, Functions of Jasmonic Acid in Plant Regulation and Response to Abiotic Stress, International Journal of Molecular Sciences, 21, 1446.
- Wang K J, He Y, Zhao T, Wu X, Zhou Y, Ding L, vd., 2018, Ear1 Negatively Regulates ABA Signaling by Enhancing 2C Protein Phosphatase Activity, Plant Cell, 30, 815–834.
- Wang S M, Zhang J L, Flowers T J, 2007, Low-Affinity Na<sup>+</sup> Uptake in The Halophyte *Suaeda maritima*, Plant Physiology, 145, 559–571.
- Wang T, Li X K, Liu X, Yang X Q, Li Y J, Hou B K, 2023, Rice Glycosyltransferase Gene *UGT2* Functions in Salt Stress Tolerance Under the Regulation of *bZIP23* Transcription Factor, Plant Cell Reports, 42, 17–28.
- Wang T, Tohge T, Ivakov A, Mueller-Roeber B, Fernie A R, Mutwil M, vd., 2015, Salt-Related *MYB1* Coordinates Absciscic Acid Biosynthesis and Signaling During Salt Stress in Arabidopsis, Plant Physiology, 169, 1027–1041.
- Wang W Q, Hou W S, 2011, Clone and Analysis of Thioredoxin Gene from Soybean (*Glycine max* L.), Soybean Science, 28, 145–153.
- Wang W, Cheng Y, Chen D, Liu D, Hu M, Dong J, vd., 2019, The Catalase Gene Family in Cotton: Genome-Wide Characterization and Bioinformatics Analysis, Cells, 8, 86.
- Wang W, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A, 2004, Role of Plant Heat-shock Proteins and Molecular Chaperones in The Abiotic Stress Response, Trends in Plant Science, 9, 244–252.
- Wang W, Yang Y, Deng Y, Wang Z, Yuan Y, Yang S, vd., 2021, Overexpression of Isochorismate Synthase Enhances Salt Tolerance in Barley, Plant Physiology

- and Biochemistry, 162, 139–149.
- Wang X, Li N, Li W, Gao X, Cha M, Qin L, vd., 2020, Advances in Transcriptomics in The Response to Stress in Plants, *Global Medical Genetics*, 7, 030–034.
- Wang Y, Mopper S, Hasenstein K H, 2001, Effects of Salinity on Endogenous ABA, IAA, JA, and SA in *Iris hexagona*, *Journal of Chemical Ecology*, 27, 327–342.
- Wang B, Lüttge U, Ratajczak R, 2001, Effects of Salt Treatment and Osmotic Stress on V–ATPase and V–PPase in Leaves of The Halophyte *Suaeda salsa*, *Journal of Experimental Botany*, 52, 2355–2365.
- Wani A B, Chadar H, Wani A H, Singh S, Upadhyay N, 2017, Salicylic Acid to Decrease Plant Stress, *Environmental Chemistry Letters*, 15, 101–123.
- Wani A S, Ahmad A, Hayat S, Tahir I, 2016, Is Foliar Spray of Proline Sufficient for Mitigation of Salt Stress in *Brassica juncea* Cultivars?, *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 13413–13423.
- Wani S H, Sah S K, Hossain M A, Kumar V, Balachandran S M, 2016, Transgenic Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, Al–Khayri J M, Jain S M, Johnson D V (Ed.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Agronomic, Abiotic and Biotic Stress Traits* (345–396), Springer, 707p, Switzerland.
- Wanichthanarak K, Boonchai C, Kojonna T, Chadchawan S, Sangwongchai W, Thitisaksakul M, 2020, Deciphering Rice Metabolic Flux Reprograming Under Salinity Stress via in Silico Metabolic Modeling, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 3555–3566.
- Waraich E A, Ahmad M, Soufan W, Manzoor M T, Ahmad Z, Habib–Ur–Rahman M, vd., 2021, Seed Priming with Sulphydral Thiourea Enhances the Performance of *Camelina sativa* L. Under Heat Stress Conditions, *Agronomy*, 11, 1875.
- Wasternack C, 2014, Action of Jasmonates in Plant Stress Responses and Development–Applied Aspects, *Biotechnology Advances*, 32, 31–39.
- Wasternack C, Strnad M, 2019, Jasmonates Are Signals in The Biosynthesis of Secondary Metabolites–Pathways, Transcription Factors and Applied Aspects–A Brief Review, *New Biotechnology*, 48, 1–11.

- Wei M Y, Liu J Y, Li H, Hu W J, Shen Z J, Qiao F, vd., 2021, Proteomic Analysis Reveals The Protective Role of Exogenous Hydrogen Sulfide Against Salt Stress in Rice Seedlings, *Nitric Oxide*, 111, 14–30.
- Wei W, Cui M Y, Yang H, Gao K, Xie Y G, Jiang Y, vd., 2018, Ectopic Expression of *FvWRKY42*, a WRKY Transcription Factor from the Diploid Woodland Strawberry (*Fragaria vesca*), Enhances Resistance to Powdery Mildew, Improves Osmotic Stress Resistance, and Increases Absciscic Acid Sensitivity in Arabidopsis, *Plant Science*, 275, 60–74
- Wei X, Zhang Z, Li Y, Wang X, Shao S, Chen L, 2009, Expression Analysis of Two Novel Cotton *14-3-3* Genes in Root Development and in Response to Salt Stress, *Progress in Natural Science*, 19, 173–178.
- Wellburn A R, 1994, The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution, *Journal of Plant Physiology*, 144, 307–313.
- Wendehenne D, Durner J, Klessig D F, 2004, Nitric Oxide: A New Player in Plant Signalling and Defence Responses, *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 449–455.
- White P J, Broadley M R, 2003, Calcium in Plants, *Annals of botany*, 92, 487–511.
- Wijayasinghe Y S, Tyagi A, Poddar N K, 2017, Regulation of Cell Volume by Osmolytes, *Cellular Osmolytes: From Chaperoning Protein Folding to Clinical Perspectives*, 195–228.
- Wilson I D, Neill S J, Hancock J T, 2008, Nitric Oxide Synthesis and Signaling in Plants, *Plant Cell Environment*, 31, 622–631.
- Winter P S, Bowman C E, Villani P J, Dolan T E, Hauck N R, 2014, Systemic Acquired Resistance in Moss: Further Evidence for Conserved Defense Mechanisms in Plants, *PLoS One*, 9, e101880.
- Wu B, Hu Y, Huo P, Zhang Q, Chen X, Zhang Z, 2017, Transcriptome Analysis of Hexaploid Hulless Oat in Response to Salinity Stress, *PloS One*, 12, e0171451.
- Wu G Q, Feng R J, Li S J, Du Y Y, 2017, Exogenous Application of Proline Alleviates

- Salt-Induced Toxicity in Sainfoin Seedlings, *Journal of Animal and Plant Sciences*, 27, 246–251.
- Wu H, Li Z, 2019, The Importance of Cl<sup>-</sup>-Exclusion and Vacuolar Cl<sup>-</sup>-Sequestration: Revisiting The Role of Cl<sup>-</sup>-Transport in Plant Salt Tolerance, *Frontiers in Plant Science*, 10, 1418.
- Xiao X L, Wang K, Zhang B, Liu J X, 2018, Analysis of Salt Tolerance Function of Protein Disulfide Isomerase Gene Family in *Zoysia matrella*, *Acta Agrestia Sinica*, 26, 1181.
- Xing B, Gu C, Zhang T, Zhang Q, Yu Q, Jiang J, vd., 2021, Functional Study of BpPP2C1 Revealed Its Role in Salt Stress in *Betula platyphylla*, *Frontiers in plant Science*, 11, 617635.
- Xiong J B, Sun Y, Yang Q C, Tian H, Zhang H S, Liu Y, vd., 2017, Proteomic Analysis of Early Salt Stress Responsive Proteins in Alfalfa Roots and Shoots, *Proteome Science*, 15, 19.
- Xu E, Chen M, He H, Zhan C, Cheng Y, Zhang H, vd., 2017, Proteomic Analysis Reveals Proteins Involved in Seed Imbibition Under Salt Stress in Rice, *Frontiers in Plant Science*, 7, 2006.
- Xu J, Lan H, Fang H, Huang X, Zhang H, Huang J, 2015, Quantitative Proteomic Analysis of The Rice (*Oryza sativa* L.) Salt Response, *PloS One*, 10, e0120978.
- Xu J, Tian Y S, Peng R H, Xiong A S, Zhu B, Jin X F, vd., 2010, *AtCPK6*, a Functionally Redundant and Positive Regulator Involved in Salt/Drought Stress Tolerance in Arabidopsis, *Planta*, 231, 1251–1260.
- Xu J, Li H D, Chen L Q, Wang Y, Liu L L, He L, vd., 2006, A Protein Kinase, Interacting with Two Calcineurin B-like Proteins, Regulates K<sup>+</sup> Transporter AKT1 in Arabidopsis, *Cell*, 125, 1347–1360.
- Xu N, Chu Y, Chen H, Li X, Wu Q, Jin L, vd., 2018, Rice Transcription Factor *OsMADS25* Modulates Root Growth and Confers Salinity Tolerance via the ABA-Mediated Regulatory Pathway and ROS Scavenging, *PLoS Genetics*, 14, e1007662.

- Xu W F, Shi W M, 2006, Expression Profiling of The 14–3–3 Gene Family in Response to Salt Stress and Potassium and Iron Deficiencies in Young Tomato (*Solanum lycopersicum*) Roots: Analysis by Real–time RT–PCR, *Annals of Botany*, 98, 965–974.
- Xuan Y, Zhou Z S, Li H B, Yang Z M, 2016, Identification of a Group of *XTHs* Genes Responding to Heavy Metal Mercury, Salinity and Drought Stresses in *Medicago truncatula*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132, 153–163.
- Yadav P, Khatri N, Gupta R, Mudgil Y, 2024, Proteomic Profiling of Arabidopsis G–Protein  $\beta$  Subunit AGB1 Mutant Under Salt Stress, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 30, 571–586.
- Yadav S K, Singla–Pareek S L, Sopory S K, 2008, An Overview on The Role of Methylglyoxal and Glyoxalases in Plants, *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 23, 51–68.
- Yadav S, Modi P, Dave A, Vijapura A, Patel D, Patel M, 2020, Effect of Abiotic Stress on Crops, Hasanuzzaman M, Fujita M, Filho M C M T, Nogueira T A R, Galindo F S (Ed.), *Sustainable Crop Production (3–23)*, Books on Demand, 352p.
- Yadav T, Yadav R K, Yadav G, Kumar A, Makarana G, 2023, Salicylic Acid and Thiourea Ameliorated Adverse Effects of Salinity and Drought–induced Changes in Physiological Traits and Yield of Wheat, *Cereal Research Communications*, 1–14.
- Yan F, Zhang J, Li W, Ding Y, Zhong Q, Xu X, vd., 2021, Exogenous Melatonin Alleviates Salt Stress by Improving Leaf Photosynthesis in Rice Seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 163, 367–375.
- Yan F, Zhang J, Li W, Ding Y, Zhong Q, Xu X, vd., 2021, Exogenous Melatonin Alleviates Salt Stress By Improving Leaf Photosynthesis in Rice Seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 163, 367–375.
- Yan M, Mao J, Wu T, Xiong T, Huang Q, Wu H, vd., 2023, Transcriptomic Analysis of Salicylic Acid Promoting Seed Germination of Melon under Salt Stress,

Horticulturae, 9, 375

- Yang B, Chen M, Zhan C, Liu K, Cheng Y, Xie T, 2022, Identification of *OsPK5* involved in Rice Glycolytic Metabolism and GA/ABA Balance for Improving Seed Germination via Genome-wide Association Study, *Journal of Experimental Botany*, 73, 3446–3461.
- Yang C, Wang R, Gou L, Si Y, Guan Q, 2017, Overexpression of *Populus trichocarpa* Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase4 Enhances Salt Tolerance in Tobacco. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 2090.
- Yang G, Yu L, Zhang K, Zhao Y, Guo Y, Gao C, 2017, A *ThDREB* Gene from *Tamarix hispida* Improved the Salt and Drought Tolerance of Transgenic Tobacco and *T. hispida*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 113, 187–197.
- Yang L, Liu H, Fu S M, Ge H M, Tang R J, Yang Y, vd., 2017,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  and  $\text{K}^+/\text{H}^+$  Antiporters AtNHX1 and AtNHX3 from Arabidopsis Improve Salt and Drought Tolerance in Transgenic Poplar, *Biologia Plantarum*, 61, 641–650.
- Yang L, Zu Y G, Tang Z H, 2013, Ethylene Improves Arabidopsis Salinity Tolerance Mainly via Retaining  $\text{K}^+$  in Shoots and Roots Rather than Decreasing Tissue  $\text{Na}^+$  Content, *Environment Experimental and Botany*, 86, 60–69.
- Yang P, Jin J, Zhang J, Wang D, Bai X, Xie W, vd., 2022, MDP25 Mediates the Fine-tuning of Microtubule Organization in Response to Salt Stress, *Journal of Integrative Plant Biology*, 64, 1181–1195.
- Yang Q, Chen Z Z, Zhou X F, Yin H B, Li X, Xin X F, vd., 2009, Overexpression of SOS (Salt Overly Sensitive) Genes Increases Salt Tolerance in Transgenic Arabidopsis, *Molecular Plant*, 2, 22–31.
- Yang S L, Chen K, Wang S S, Gong M, 2015, Osmoregulation as a Key Factor in Drought Hardening-Induced Drought Tolerance in *Jatropha curcas*, *Biologia Plantarum*, 59, 529–536.
- Yang X, Chen X, Ge Q, Li B, Tong Y, Zhang A, vd., 2006, Tolerance of Photosynthesis to Photoinhibition, High Temperature and Drought Stress in Flag Leaves of Wheat: A Comparison Between a Hybridization Line and Its Parents Grown

- Under Field Conditions, *Plant Science*, 171, 389–397.
- Yang Y, Guo Y, 2018a, Elucidating the Molecular Mechanisms Mediating Plant Salt–Stress Responses, *New Phytologist*, 217, 523–539.
- Yang Y, Guo Y, 2018b, Unraveling Salt Stress Signaling in Plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60, 796–804.
- Yang Y, Guo Z, Liu Q, Tang J, Huang S, Dhankher O P, vd., 2018, Growth, Physiological Adaptation, and *NHX* Gene Expression Analysis of *Iris halophila* Under Salt Stress, *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 25207–25216.
- Yang Y, Lu X, Yan B, Li B, Sun J, Guo S, vd., 2013, Bottle Gourd Rootstock–Grafting Affects Nitrogen Metabolism in NaCl–stressed Watermelon Leaves and Enhances Short–term Salt Tolerance, *Journal of Plant Physiology*, 170, 653–661.
- Yang Y, Tang R J, Li B, Wang H H, Jin Y L, Jiang C M, vd., 2015, Overexpression of a *Populus trichocarpa* H<sup>+</sup>–Pyrophosphatase Gene *PtVP1.1* Confers Salt Tolerance on Transgenic Poplar, *Tree Physiology*, 35, 663–677.
- Yang Y, Yu T F, Ma J, Chen J, Zhou Y B, Chen M, vd., 2020, The Soybean *bZIP* Transcription Factor Gene *GmbZIP2* Confers Drought and Salt Resistances in Transgenic Plants, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 670.
- Yang Y, Zhou J, 2016, CYLD a Deubiquitylase That Acts to Fine–tune Microtubule Properties and Functions, *Journal of Cell Science*, 129, 2289–2295.
- Yang Z, Wang Y, Wei X C, Zhao X, Wang B S, Sui N, 2017, Transcription Profiles of Genes Related to Hormonal Regulations under Salt Stress in Sweet Sorghum, *Plant Molecular Biology Reports*, 35, 586–599.
- Yasmin F, Biswas S, Jewel G N A, Elias S M, Seraj Z I, 2015, Constitutive Overexpression of The Plasma Membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Antiporter for Conferring Salinity Tolerance in Rice, *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 25, 257–272.
- Yassen A, Abdallah E, Gaballah M, Zaghloul S, 2017, Role of Silicon Dioxide Nano

- Fertilizer in Mitigating Salt Stress on Growth, Yield and Chemical Composition of Cucumber (*Cucumis sativus* L.), International Journal of Agricultural Research, 12, 130–135.
- Yastrebova T O, Kolupaev Y E, Havva E N, Horielova E I, Dmitriev A P, 2020, Involvement of the *JIN1/MYC2* Transcription Factor in Inducing Salt Resistance in Arabidopsis Plants by Exogenous Hydrogen Sulfide, Cytology and Genetics, 54, 96–102.
- Ye W, Muroyama D, Munemasa S, Nakamura Y, Mori I C, Murata Y, 2013, Calcium-dependent Protein Kinase CPK6 Positively Functions in Induction By Yeast Elicitor of Stomatal Closure and Inhibition By Yeast Elicitor of Light-induced Stomatal Opening in Arabidopsis, Plant Physiology, 163, 591–599.
- Yi S Y, Ku S S, Sim H J, Kim S K, Park J H, Lyu J I, vd., 2017, An Alcohol Dehydrogenase Gene From *Synechocystis* sp. Confers Salt Tolerance in Transgenic Tobacco, Front Plant Science, 8, 1965.
- Yıldız M, Akçalı N, Terzi H, 2015, Proteomic and Biochemical Responses of Canola (*Brassica napus* L.) Exposed to Salinity Stress and Exogenous Lipoic Acid, Journal of plant physiology, 179, 90–99.
- Yin X, Xia Y, Xie Q, Cao Y, Wang Z, Hao G, vd., 2020, The Protein Kinase Complex CBL10–CIPK8–SOS1 Functions in Arabidopsis to Regulate Salt Tolerance, Journal of Experimental Botany, 71, 1801–1814.
- Yong M T, Solis C A, Rabbi B, Huda S, Liu R, Zhou M, vd., 2020, Leaf Mesophyll  $K^+$  and  $Cl^-$  Fluxes and Reactive Oxygen Species Production Predict Rice Salt Tolerance at Reproductive Stage in Greenhouse and Field Conditions, Plant Growth Regulation, 92, 53–64.
- Yu F, Qian L C, Nibau C, Duan Q H, Kita D, Levasseur K, vd., 2012, *FERONIA* Receptor Kinase Pathway Suppresses Abscissic Acid Signaling in Arabidopsis by Activating *ABI2* Phosphatase, PNAS, 109, 14693–14698.
- Yu K, Ju F, Wang Z, Sun L, Huo Y, Zhu J, vd., 2023, Potassium Ameliorates Cotton

- (*Gossypium hirsutum* L.) Fiber Length By Regulating Osmotic and  $K^+/Na^+$  Homeostasis Under Salt Stress, *Physiologia plantarum*, 175, e13842.
- Yu Y, Wang N, Hu R, Xiang F, 2016, Genome-wide Identification of Soybean *WRKY* Transcription Factors in Response to Salt Stress, *Springerplus*, 5, 1–15.
- Yu Z, Zhang D I, Xu Y, Jin S, Zhang L, Zhang S, vd., 2019, *CEPR2* Phosphorylates and Accelerates The Degradation of PYR/PYLs in Arabidopsis, *Journal of Experimental Botany*, 70, 5457–5469.
- Yuan K, He Q, Hu Y, Feng C, Wang X, Liu H, vd., 2024, Integrated Physiology, Transcriptome and Proteome Analyses Highlight The Potential Roles of Multiple Hormone-mediated Signaling Pathways Involved in Tapping Panel Dryness in Rubber Tree, *Plant Science*, 341, 112011.
- Yue J, You Y, Zhang L, Fu Z, Wang J, Zhang J, vd., 2019, Exogenous 24-epibrassinolide Alleviates Effects of Salt Stress on Chloroplasts and Photosynthesis in *Robinia pseudoacacia* L. Seedlings, *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 669–682.
- Yuenyong W, Chinpongpanich A, Comai L, Chadchawan S, Buaboocha T, 2018, Downstream Components of The Calmodulin Signaling Pathway in The Rice Salt Stress Response Revealed By Transcriptome Profiling and Target Identification, *BMC plant biology*, 18, 1–23.
- Yun D J, D'Urzo M P, Abad L, Takeda S, Salzman R, Chen Z, vd., 1996, Novel Osmotically Induced Antifungal Chitinases and Bacterial Expression of an Active Recombinant Isoform, *Plant Physiology*, 111, 1219–1225.
- Zahedi S M, Hosseini M S, Meybodi N D H, Abadía J, Germ M, Gholami R, vd., 2022, Evaluation of Drought Tolerance in Three Commercial Pomegranate Cultivars Using Photosynthetic Pigments, Yield Parameters and Biochemical Traits as Biomarkers, *Agricultural Water Management*, 261, 107357.
- Zahra N, Raza Z A, Mahmood S, 2020, Effect of Salinity Stress on Various Growth and Physiological Attributes of Two Contrasting Maize Genotypes, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 63.

- Zahra N, Wahid A, Shaukat K, Hafeez M B, Batool A, Hasanuzzaman M, 2021, Oxidative Stress Tolerance Potential of Milk Thistle Ecotypes after Supplementation of Different Plant Growth-promoting Agents under Salinity, *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 53–65.
- Zamyatnin A A, 2015, Plant Proteases Involved in Regulated Cell Death, *Biochemistry*, 80, 1701–1715.
- Zandalinas S I, Balfagón D, Arbona V, Gómez-Cadenas A, 2017, Modulation of Antioxidant Defense System is Associated with Combined Drought and Heat Stress Tolerance in Citrus, *Frontiers in Plant Science*, 8, 266741.
- Zargar S M, Mahajan R, Bhat J A, Nazir M, Deshmukh R, 2019, Role of Silicon in Plant Stress Tolerance: Opportunities to Achieve A Sustainable Cropping System, *3 Biotech*, 9, 73.
- Zeeshan M, Lu M, Shar S, Holford P, Wu F, Comparison of Biochemical, Anatomical, Morphological, and Physiological Responses to Salinity Stress in Wheat and Barley Genotypes Differing in Salinity Tolerance, *Agronomy*, 10, 127.
- Zhai L, Teng F, Zheng K, Xiao J, Deng W, Sun W, 2019, Expression Analysis of Argonaute genes in Maize (*Zea mays* L.) in Response to Abiotic Stress, *Hereditas* 156, 27.
- Zhang D, Jiang S, Pan J, Kong X, Zhou Y, Liu Y, vd., 2014, The Overexpression of a Maize Mitogen-Activated Protein Kinase Gene (*ZmMPK5*) Confers Salt Stress Tolerance and Induces Defence Responses in Tobacco, *Plant Biology*, 16, 558–570.
- Zhang D, Yu Z, Zeng B, Liu X, 2024, Genome-wide Analysis of The *ABC* Gene Family in Almond and Functional Predictions During Flower Development, Freezing Stress, and Salt Stress, *BMC Plant Biology*, 24, 12.
- Zhang H, Zhang Y, Deng C, Deng S, Li N, Zhao C, vd., 2018, The Arabidopsis  $\text{Ca}^{2+}$ -Dependent Protein Kinase CPK12 is Involved in Plant Response to Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 4062.
- Zhang J, Zhou M, Zhou H, Zhao D, Gotor C, Romero L C vd., 2021, Hydrogen Sulfide,

- A Signaling Molecule in Plant Stress Responses, *Journal of Integrative Plant Biology*, 63, 146–160.
- Zhang K, Cui H, Li M, Xu Y, Cao S, Long R, vd., 2020, Comparative Time–course Transcriptome Analysis in Contrasting *Carex rigescens* Genotypes in Response to High Environmental Salinity, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 194, 110435.
- Zhang L, Ma H, Chen T, Pen J, Yu S, Zhao X, 2014, Morphological and Physiological Responses of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Plants to Salinity, *PLoS One*, 9, e112807.
- Zhang L, Xi D, Li S, Gao Z, Zhao S, Shi J, vd., 2011, A Cotton Group C MAP Kinase Gene, *GhMPK2*, Positively Regulates Salt and Drought Tolerance in Tobacco, *Plant Molecular Biology*, 77, 17–31.
- Zhang M, Cao Y, Wang Z, Wang Z Q, Shi J, Liang X, vd., 2018, A Retrotransposon in an *HKT1* Family Sodium Transporter Causes Variation of Leaf Na<sup>+</sup> Exclusion and Salt Tolerance in Maize, *New Phytologist*, 217, 1161–1176.
- Zhang M, Li Y, Liang X, Lu M, Lai J, Song W, vd., 2023, A Teosinte–derived Allele of An *HKT1* Family Sodium Transporter Improves Salt Tolerance in Maize, *Plant Biotechnology Journal*, 21, 97–108.
- Zhang M, Smith J A C, Harberd N P, Jiang C, 2016, The Regulatory Roles of Ethylene and Reactive Oxygen Species (ROS) in Plant Salt Stress Responses, *Plant Molecular Biology*, 91, 651–659.
- Zhang N, Sun Q, Zhang H, Cao Y, Weeda S, Ren S, vd., 2015, Roles of Melatonin in Abiotic Stress Resistance in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 66, 647–656.
- Zhang P Y, Zhang Z H, Wang J, Cong B L, Chen K S, Liu S H, 2014, A Novel Receptor–like Kinase (*PnRLK–1*) from The Antarctic Moss *Pohlia nutans* Enhances Salt and Oxidative Stress Tolerance, *Plant Molecular Biology Reporter*, 33, 1156–1170.
- Zhang Q, Dai W, 2019, Plant Response to Salinity Stress. In *Stress Physiology of*

Woody Plants, 155–173.

Zhang Q, Lin F, Mao T, Nie J, Yan M, Yuan M, vd., 2012, Phosphatidic Acid Regulates Microtubule Organization by Interacting with *MAP65-1* in Response to Salt Stress in Arabidopsis, *The Plant Cell*, 24, 4555–4576.

Zhang S S, Sun L, Dong X, Lu S J, Tian W, Liu J X, 2016, Cellulose Synthesis Genes *CESA6* and *CSII* are Important for Salt Stress Tolerance in Arabidopsis, *Journal of Integrative Plant Biology*, 58.

Zhang W W, Meng J J, Xing J Y, Yang S, Guo F, Li X G, 2017, The  $K^+/H^+$  Antiporter AhNHX1 Improved Tobacco Tolerance to NaCl Stress By Enhancing  $K^+$  Retention, *Journal of Plant Biology*, 60, 259–267.

Zhang W, Huang W, Yang Q Y, Zhang S B, Hu H, 2013, Effect of Growth Temperature on The Electron Flow for Photorespiration in Leaves of Tobacco Grown in The Field, *Physiologia Plantarum*, 149, 141–150.

Zhang X H, Ma C, Zhang L, Su M, Wang J, Zheng S, 2022, GR24-mediated Enhancement of Salt Tolerance and Roles of  $H_2O_2$  and  $Ca^{2+}$  in Regulating This Enhancement in Cucumber, *Journal of Plant Physiology*, 270, 153640.

Zhang X, Chen L, Shi Q, Ren Z, 2020, *SlMYB102*, an R2R3-type *MYB* Gene, Confers Salt Tolerance in Transgenic Tomato, *Plant Science*, 291, 110356.

Zhang X, Chen L, Shi Q, Ren Z, 2020, *SlMYB102*, an R2R3-Type *MYB* Gene, Confers Salt Tolerance in Transgenic Tomato, *Plant Science*, 291, 110356.

Zhang X, Long Y, Huang J, Xia J, 2020, *OsNAC45* is Involved in ABA Response and Salt Tolerance in Rice, *Rice*, 13, 1–13.

Zhang X, Xia X, Sun Y, Wang R, Liang K, Wang Y, vd., 2025, Identification of Dehydrin Family Genes in Three Medicago Species and Insights into Their Tolerant Mechanism to Salt Stress, *Plant Cell Reports*, 44, 1–13.

Zhang Y, Xu S, Ding P, Wang D, Cheng YT, He J, 2010, Control of Salicylic Acid Synthesis and Systemic Acquired Resistance by Two Members of a Plant-Specific Family of Transcription Factors, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 18220–18225.

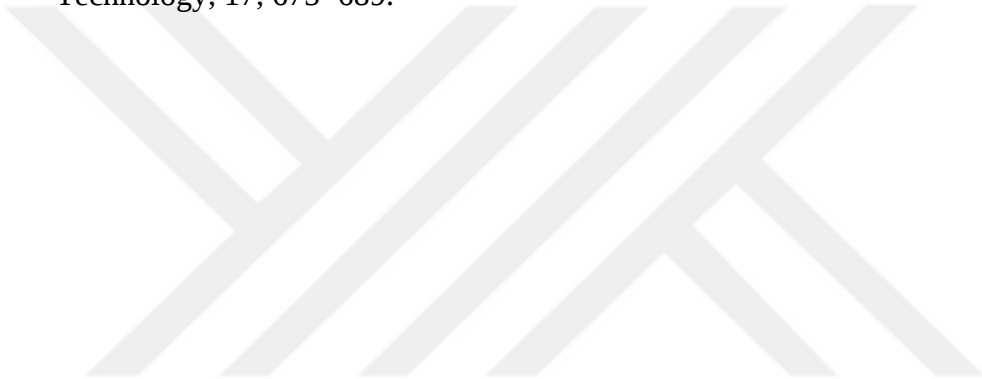
- Zhao C, William D, Sandhu D, 2021, Isolation and Characterization of Salt Overly Sensitive Family Genes in Spinach, *Physiologia Plantarum*, 171, 520–532.
- Zhao G, Zhao Y, Yu X, Kiprotich F, Han H, Guan R, vd., 2018, Nitric Oxide is Required for Melatonin-enhanced Tolerance Against Salinity Stress in Rapeseed (*Brassica napus* L.) Seedlings, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1912.
- Zhao L, Zhang F, Guo J, Yang Y, Li B, Zhang L, 2004, Nitric Oxide Functions as a Signal in Salt Resistance in The Calluses from Two Ecotypes of Reed, *Plant Physiology*, 134, 849–857.
- Zhao Q, Sun Q, Dong P, Ma C, Sun H, Liu C, 2019, Jasmonic Acid Alleviates Boron Toxicity in *Puccinellia tenuiflora*, a Promising Species for Boron Phytoremediation, *Plant Soil*, 445, 397–407.
- 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.
- Zhao R, Sun H L, Mei C, Wang X J, Yan L, vd., 2011, The Arabidopsis  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent Protein Kinase CPK12 Negatively Regulates Absciscic Acid Signaling in Seed Germination and Post-Germination Growth, *New Phytologist*, 192, 61–73.
- Zhao R, Sun H, Zhao N, Jing X, Shen X, Chen S, 2015, The Arabidopsis  $\text{Ca}^{2+}$ -Dependent Protein Kinase CPK27 is Required for Plant Response to Salt-Stress, *Gene*, 563, 203–214.
- Zhao S, Zhang Q, Liu M, Zhou H, Ma C, Wang P, 2021, Regulation of Plant Responses to Salt Stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 4609.
- Zheng J L, Zhao L Y, Wu C W, Shen B, Zhu A Y, 2015, Exogenous Proline Reduces NaCl-Induced Damage By Mediating Ionic and Osmotic Adjustment and Enhancing Antioxidant Defense in *Eurya emarginata*, *Acta Physiologia Plantarum*, 37, 181.
- Zheng Q, Liu Z, Chen G, Gao Y, Li Q, Wang J, 2010, Comparison of Osmotic

- Regulation in Dehydration– and Salinity–stressed Sunflower Seedlings, *Journal of Plant Nutrition*, 33, 966–981.
- Zhou N, Huang J, Jiang F, Hu E, Song X, Zhou R, vd., 2024, SOS3–3 Enhances the Salt Tolerance of Tomato Plants by Regulating ROS Balance, *Agronomy*, 14, 3044.
- Zhou Y, Wen Z, Zhang J, Chen X, Cui J, Xu W, vd., 2017, Exogenous Glutathione Alleviates Salt–induced Oxidative Stress in Tomato Seedlings by Regulating Glutathione Metabolism, Redox Status, and The Antioxidant System, *Scientia Horticulturae*, 220, 90–101.
- Zhu J K, 2002, Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants, *Annual Review of Plant Biology*, 53, 247–273.
- Zhu J, Lee B H, Dellinger M, Cui X, Zhang C, Wu S, vd., 2010, A Cellulose Synthase–Like Protein is Required for Osmotic Stress Tolerance in Arabidopsis, *The Plant Journal*, 63, 128–140.
- Zhu J, Schwörer S, Berisa M, Kyung Y J, Ryu K W, Yi J, vd., 2021, Mitochondrial NADP(H) Generation is Essential for Proline Biosynthesis, *Science*, 372, 968–972.
- Zhu S Y, Yu X C, Wang X J, Zhao R, Li Y, Fan R C, 2007, Two Calcium–dependent Protein Kinases CPK4 and CPK11 Regulate Absciscic Acid Signal Transduction in Arabidopsis, *Plant Cell*, 19, 3019–3036.
- Zhu Y, Yin J, Liang Y, Liu J, Jia J, Huo H, vd., 2019, Transcriptomic Dynamics Provide an Insight into The Mechanism for Silicon–Mediated Alleviation of Salt Stress in Cucumber Plants, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174, 245–254.
- Zivcak M, Brestic M, Sytar O, 2016, Osmotic Adjustment and Plant Adaptation to Drought Stress, In: Hossain MA (ed) *Drought stress Tolerance in Plants*, vol 1, (105–143), Springer International Publishing, Switzerland.
- Zou J J, Li X D, Ratnasekera D, Wang C, Liu W X, Song L F, vd., 2015, Arabidopsis Calcium–Dependent Protein Kinase–8 and Catalase–3 Function in Absciscic

Acid-Mediated Signaling and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Homeostasis in Stomatal Guard Cells Under Drought Stress, *The Plant Cell*, 27, 1445–1460.

Zou J J, Wei F J, Wang C, Wu J J, Ratnasekera D, Liu W X vd., 2010, Arabidopsis Calcium-dependent Protein Kinase CPK10 Functions in Absciscic Acid- and Ca<sup>2+</sup>-Mediated Stomatal Regulation in Response to Drought Stress, *Plant Physiology*, 154, 1232–1243.

Zrig A, Tounekti T, Ennajeh M, Valero D, Khemira H, 2015, A Comparative Study of Salt Tolerance of Three Almond Rootstocks: Contribution of Organic and Inorganic Solutes to Osmotic Adjustment, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 675–689.



Biochemical Alterations in Maize Seedlings, European Journal of Biology, 82(2), 154–160.

Terzi H, Yalçın H, Yıldız M, Zengin G, Pehlivan E, Uba A I, 2025, Exogenous Nitric Oxide Induces Production of Phenolic Compounds, Enzyme Inhibitory Properties and Antioxidant Capacity Through Activating The Phenylpropanoid Pathway in Sage (*Salvia officinalis*) Leaves, South African Journal of Botany, 180, 811–819.

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

Aydın S, Terzi H, Yıldız M, Kargıoğlu M, Serteser A, Pehlivan E, 2024, Brassicaceae Familyasına ait Üç *Lepidium* Türünün Karşılaştırmalı Fitokimyasal İçerikleri ve Antioksidan Kapasiteleri, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 2, 248–254.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

Yıldız M, Terzi H, Akçalı N, Pehlivan E, 2014, Kanola (*Brassica napus* L.) Çeşitlerinin Tohum Çimlenmesi Üzerinde Tuzluluk, Sıcaklık ve Fotoperiyodun Etkileri, 5. Uluslararası Katılımlı Tohumculuk Kongresi, Diyarbakır.

Yıldız M, Terzi H, Sakartepe E, Pehlivan E, Kaya F, Mısır Fidelerinde Kadmiyum Stresinin Oksidatif Etkilerinin Araştırılması, 2016, 2. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, Mersin.

Yıldız M, Pehlivan E, Terzi H, 2016, 2016, Türkiye Endemiği *Thermopsis turcica* (Fabaceae)’da Çiçek Gelişiminin Karşılaştırmalı Proteomik Analizleri, 2. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, Mersin.

Sönmez N, Yıldız M, Terzi H, Pehlivan E, Aydın S, 2024, Proteomic Analysis Reveals Thiourea Mediated Amelioration of Cadmium in Maize, TuPA Uluslararası Proteomik Kongresi – 6. Ulusal Proteomik Kongresi, Kocaeli.

Pehlivan E, Yıldız M, Terzi H, 2024, Proteomic Analysis Reveals Thiourea Mediated Amelioration of Salt Stress in Maize, TuPA Uluslararası Proteomik Kongresi – 6. Ulusal Proteomik Kongresi, Kocaeli.

