

Rôles biologiques des antiports vacuolaires NHX : acquis et perspectives d'amélioration génétique des plantes

Mohsen Hanana, Olivier Cagnac, Mokhtar Zarrouk et Eduardo Blumwald

Résumé : Les antiports vacuolaires NHX sont des protéines membranaires qui assurent les échanges de cations et de protons à travers le tonoplaste. En particulier, ils assurent les échanges Na^+-H^+ et, par conséquent, la séquestration du Na^+ au sein de la vacuole. Ce dernier mécanisme protège les principales réactions enzymatiques au sein du cytoplasme contre la toxicité due aux teneurs excessives en Na^+ , tout en ajustant la pression de turgescence en utilisant le Na^+ vacuolaire comme osmoticum. La fonction des antiports vacuolaires NHX chez les plantes a été initialement étudiée dans le cadre de la tolérance à la salinité. L'induction de l'expression de gènes de type NHX en réponse au traitement à l'aide de NaCl a été observée pour la plupart des gènes de type NHX caractérisés, et leur surexpression a permis d'obtenir une amélioration de la tolérance à la salinité chez des plantes transgéniques modèles d'abord (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. et tabac) et, en second lieu, chez des plantes cultivées (tomate, riz, blé, etc.). Étant donné que plusieurs gènes codant ces antiports ont été isolés à la fois à partir d'espèces tolérantes et d'espèces sensibles à la salinité et que plusieurs isoformes peuvent être identifiées au niveau des génomes séquencés, il est très probable que ces antiports agissent à divers niveaux autres que la tolérance à la salinité. En effet, en plus de jouer un rôle dans d'autres fonctions connues, tel la régulation du pH, l'homéostasie ionique et l'osmorégulation, ils assument aussi un rôle important dans divers processus physiologiques, notamment le contrôle de la croissance et de la prolifération cellulaire, la biogénèse et le trafic des vésicules, l'adressage des protéines et, plus spécifiquement, au niveau du développement foliaire, de la coloration bleue des fleurs et de la maturation de la baie du raisin. Si l'on tient compte de la forte probabilité que les antiports vacuolaires NHX jouent un rôle dans plusieurs processus physiologiques, il serait possible, en exploitant les informations disponibles, d'utiliser différentes méthodes moléculaires, tel l'extinction de l'expression ou la surexpression de gènes de type NHX, en vue de la sélection et de l'amélioration de traits et caractères agronomiques intéressants, notamment la couleur des fleurs, la maturation des fruits et la tolérance à la sécheresse et à la salinité.

Mots-clés : antiport, homéostasie ionique, NHX, vacuole.

Abstract: NHX antiporters are membrane proteins that mediate cation and proton exchanges across vacuolar membranes. In particular, they catalyze the Na^+-H^+ exchanges and, consequently, sequester Na^+ into vacuoles. The latter mechanism protects essential enzymatic reactions in the cytoplasm from toxicity due to excess Na^+ levels, while adjusting turgor by means of vacuolar Na^+ as an osmoticum. The function of vacuolar NHX antiporters in plants has been studied primarily in the context of salinity tolerance. The expression of induction of NHX-type genes in response to NaCl treatment was observed for most NHX-type genes characterized, and their overexpression allowed to confer an improved tolerance to salinity, initially in transgenic model plants (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. and tobacco) and, subsequently, in cultivated plants (tomato, rice, wheat, etc.). As many genes encoding these antiporters have been cloned from both salt-sensitive and salt-tolerant species and because multiple isoforms can be identified in genomes that have been sequenced, it is likely that these antiporters assume functions at various levels beside providing tolerance to salinity. Indeed, in addition to playing a role in other known functions such as pH regulation, ion homeostasis, and osmotic and turgor regulation, they also have an important role in diverse physiological processes, including control of cell growth and proliferation, vesicle biogenesis and trafficking, protein targeting, and more specifically, leaf development, blue-flower coloration, and grape berry maturation. If we take into account the high probability that vacuolar NHX antiporters play a role in multiple physiological processes, it would be possible, by exploiting the available information, to use several molecular methods, such as

Reçu le 14 février 2009. Publié sur le site Web des Presses scientifiques du CNRC, au botanique.cnrc.ca, le 31 octobre 2009.

M. Hanana¹ et M. Zarrouk. Laboratoire Caractérisation et qualité de l'huile d'olive, Centre de biotechnologie de Borj-Cédria, B. P. 901, Hammam-lif 2050, Tunisie.

O. Cagnac. Department of Biochemistry, Cellular and Molecular Biology of Plants, Estacion Experimental del Zaidin, Grenade, Espagne.

E. Blumwald. Department of Plant Sciences, University of California, One Shields Avenue, Davis, CA 95616, USA.

1. Auteur correspondant (courriel : punto80@yahoo.com).

overexpression or silencing of NHX-type genes, to achieve the selection and improvement of interesting plant characters, including flower coloration, fruit maturation, and tolerance to salinity and drought.

Key words: antiporteur, ion homeostasis, NHX, vacuole.

Introduction

Parmi les particularités des plantes, notons leur capacité à extraire les ions du sol. Dès lors que les ions sont absorbés de la solution du sol par les racines, ils circulent à travers le cortex racinaire jusqu'à la stèle où ils sont sécrétés dans le xylème, puis répartis et distribués dans la plante entière à travers diverses membranes cellulaires (Levigneron et al. 1995; Fox et Guerinot 1998). Les membranes plasmique et vacuolaire constituent les barrières perméables à travers lesquelles a lieu le passage sélectif des ions, contribuant à l'homéostasie ionique cellulaire et au contrôle du pH (Chrispeels et al. 1999). Le contrôle de cette homéostasie, à l'échelle de chaque organe et de chaque cellule, est principalement atteint grâce à des systèmes de transport d'ions. Les transporteurs membranaires NHX représentent une famille d'antiports jouant un rôle important dans divers processus physiologiques, notamment la régulation de la prolifération cellulaire, l'homéostasie ionique (Pouysselgur et al. 1984; Putney et Barber 2003; Sottosanto et al. 2007), le contrôle du trafic et du mouvement de cations, la biogénèse des vésicules (Bowers et al. 2000; Ali et al. 2004), l'osmorégulation et la tolérance à la salinité chez les végétaux (Blumwald et al. 2000; Apse et Blumwald 2002; Moffat 2002; Shi et al. 2003). Ces antiports sont impliqués dans les échanges de cations et de protons à travers les membranes cellulaires et contribuent à la régulation du pH cellulaire (Hasegawa et al. 2000; Padan et al. 2001; Horie et Schroeder 2004; Pardo et al. 2006). Ils jouent un rôle primordial dans l'homéostasie cellulaire et sont présents pratiquement chez tous les organismes (Wakabayashi et al. 1997; Quintero et al. 2000; Orłowski et Grinstein 2004). En particulier, les antiports vacuolaires permettent de séquestrer le Na^+ à l'intérieur des vacuoles (fig. 1) et, par conséquent, ils améliorent la tolérance à la salinité chez les levures et les plantes (Gaxiola et al. 1999; Brini et al. 2005, 2007). Au moins 550 séquences putatives d'échangeurs de Na^+ et H^+ , dont plus de 200 candidats NHX identifiés, ont été répertoriées dans les bases de données bioinformatiques suite aux programmes de séquençage et d'annotation automatique des génomes (Brett et al. 2005a).

Présentation des antiports vacuolaires NHX

Position systématique de la famille des antiports vacuolaires NHX de plantes

La superfamille des antiports cations monovalents – proton (CPA, *cation-proton antiporter*) se divisent en trois familles (Saier 2000; Chang et al. 2004) : (1) CPA1, (2) CPA2 et (3) NaTDC, la famille des décarboxylases de transport ionique Na^+ (*Na⁺-transport decarboxylases*).

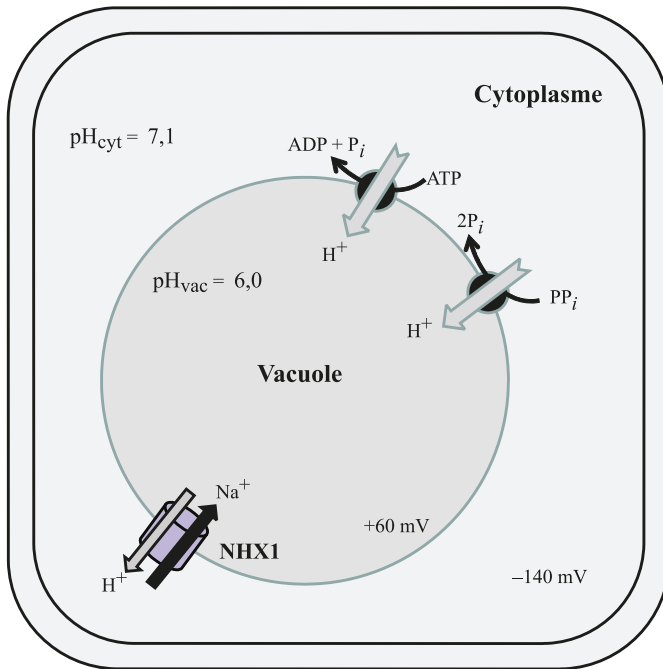
Les antiports NaTDC assurent l'échange transmembranaire d'un ou deux Na^+ contre un proton au niveau d'un complexe multiprotéique catalysant une réaction de décarboxylation. L'existence de cette famille d'antiports n'a été dé-

crité jusqu'ici que chez les procaryotes (Buckel 2001). La famille CPA2 comporte le groupe des échangeurs de cations H^+ (CHX, *cation H⁺ exchanger*) et celui des antiports Na^+ - H^+ (NHA, *Na⁺-H⁺ antiporter*) (Brett et al. 2005a). Vingt-huit transporteurs CHX ont été récemment décrits chez l'arabette de *Thalium* (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) et semblent être exprimés préférentiellement au niveau des tissus sporophyte et gamétophyte mâle (Mäser et al. 2001; Sze et al. 2004). Les membres de cette famille commencent à peine à être caractérisés (Pardo et al. 2006). La famille CPA1 est composée de quatre groupes : (1) NhaP-I-SOS1, (2) NhaP-II, (3) les antiports échangeurs de Na^+ et H^+ (NHE, *Na⁺-H⁺ exchanger*) de la membrane plasmique et (4) les antiports NHE intracellulaires (Saier 2000; Brett et al. 2005a). Les antiports NHE intracellulaires sont constitués par les antiports NHX de l'ensemble endosome – réseau transgolgien (RTG, ou TGN pour *trans-Golgi network*, un réseau de tubules et de vésicules sur la face *trans* de l'appareil de Golgi), les pseudo-NHE8 et les NHX vacuolaires de plantes qui font l'objet de notre étude (Brett et al. 2005a). Ces derniers sont exclusivement présents chez les végétaux et comportent généralement plusieurs isoformes au sein d'une même espèce. Ainsi, au niveau des génomes plus ou moins entièrement séquencés, le nombre d'isoformes identifiées était de six chez l'*Arabidopsis thaliana* (*AtNHX1-AtNHX6*) (Mäser et al. 2001; Yokoi et al. 2002a), six chez le maïs (*Zea mays* L.; *ZmNHX1-ZmNHX6*) (Zörb et al. 2005), quatre chez le riz (*Oryza sativa* L.; *OsNHX1-OsNHX4*) (Fukuda et al. 1999), trois chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.; *HvNHX1-HvNHX3*) (Fukuda et al. 2004a), deux chez la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.; *LeNHX1-LeNHX2*) (Venema et al. 2003), deux chez le blé (*Triticum* spp.; *TNHX1-TNHX2*) (Brini et al. 2005; Yu et al. 2007), deux chez la luzerne cultivée (*Medicago sativa* L.; *MsNHX1-MsNHX2*), deux chez le suéda maritime (*Suaeda maritima* (L.) Dumort.; *SmNHX1-SmNHX2*) et deux chez l'ipomée japonaise (*Ipomoea nil* (L.) Roth; *InNHX1-InNHX2*) (Fukada-Tanaka et al. 2000).

Structure des antiports vacuolaires NHX

Les antiports NHX vacuolaires sont des protéines transmembranaires composées d'environ 550 résidus; ils présentent généralement 10 à 12 régions transmembranaires hydrophobes (Hamada et al. 2001; Xia et al. 2002; Yokoi et al. 2002b; Yamaguchi et al. 2003; Brini et al. 2005). Leur extrémité C-terminale hydrophile est localisée le plus probablement au niveau du cytoplasme bien que celle d'*AtNHX1* se situe au sein du lumen vacuolaire (Yamaguchi et al. 2003). Pour déterminer la structure topologique de l'antiport *AtNHX1*, Yamaguchi et al. (2003) ont dû marquer plusieurs régions hydrophiles de l'antiport avec une étiquette épitopique (*epitope tag*), l'hémagglutinine, dans le but d'effectuer une approche de protection contre l'activité protéase en utilisant un système d'expression hétérologue de levure. Ces

Fig. 1. Représentation schématique de la séquestration vacuolaire du Na^+ chez les cellules végétales. Les pompes à protons vacuolaires ATPases et pyrophosphatases inorganiques du tonoplaste génèrent un gradient de pH ainsi qu'une différence de potentiel électrique à travers cette membrane. L'antiport NHX utilise cette source de protons pour effectuer des échanges contre des ions Na^+ , avec une stœchiométrie $\text{H}^+ : \text{Na}^+$ électro-neutre de 1 : 1. pH_{cyt} , pH cytoplasmique; pH_{vac} , pH vacuolaire.



derniers auteurs affirment que la structure globale d'AtNHX1 est distincte de celles de l'antiport humain NHE1 et de tout autre NHX connu; elle serait composée de neuf domaines transmembranaires hydrophobes et d'un domaine C-terminal hydrophile. La séquence de la partie N-terminale, responsable de l'activité de transport, est la plus conservée parmi celles des antiports NHX, tandis que la partie C-terminale, impliquée dans la régulation de l'activité de la protéine AtNHX1, semble plus spécifique (Putney et al. 2002; Yamaguchi et al. 2005; Pardo et al. 2006). Par ailleurs, selon Yun et al. (1993) et Harris et Fliegel (1999), tous les antiports NHE conservent un domaine de fixation du composé diurétique amiloride LFFIYLLPPI qui possède la faculté d'inhiber l'activité de transport de la protéine NHE. De plus, certains antiports vacuolaires sont glycosylés pour former des glycoprotéines telles que AtNHX1 (Apse et al. 1999), AgNHX1 (chez l'arroche de Gmelin (*Atriplex gmelini* Mey); Hamada et al. 2001) et OsNHX1 (Fukuda et al. 2004b). Bien que les travaux de détermination de la structure soient à l'heure actuelle un champ très actif de la recherche, aucune structure tridimensionnelle de l'antiport vacuolaire NHX n'a encore vu le jour. La comparaison du nombre de structures tridimensionnelles à haute résolution (obtenues par résonance nucléaire magnétique ou par cristallographie aux rayons X) disponibles pour les protéines solubles (> 25 000) et pour les protéines membranaires (3) dans la base de données des protéines du Max Planck Institute of Biophysics, Francfort-sur-le-main, Allemagne (Michel 2006), reflète clairement les difficultés rencontrées avec les

protéines membranaires. La présence d'un environnement lipidique essentiel au maintien de la conformation active de ces dernières, ainsi que leurs hauts poids moléculaires, compliquent considérablement la détermination de leurs structures tridimensionnelles (Chérouati 2005).

Localisation spatio-temporelle des antiports vacuolaires NHX (cas de l'*Arabidopsis thaliana*; expression des gènes *AtNHX1-AtNHX6*)

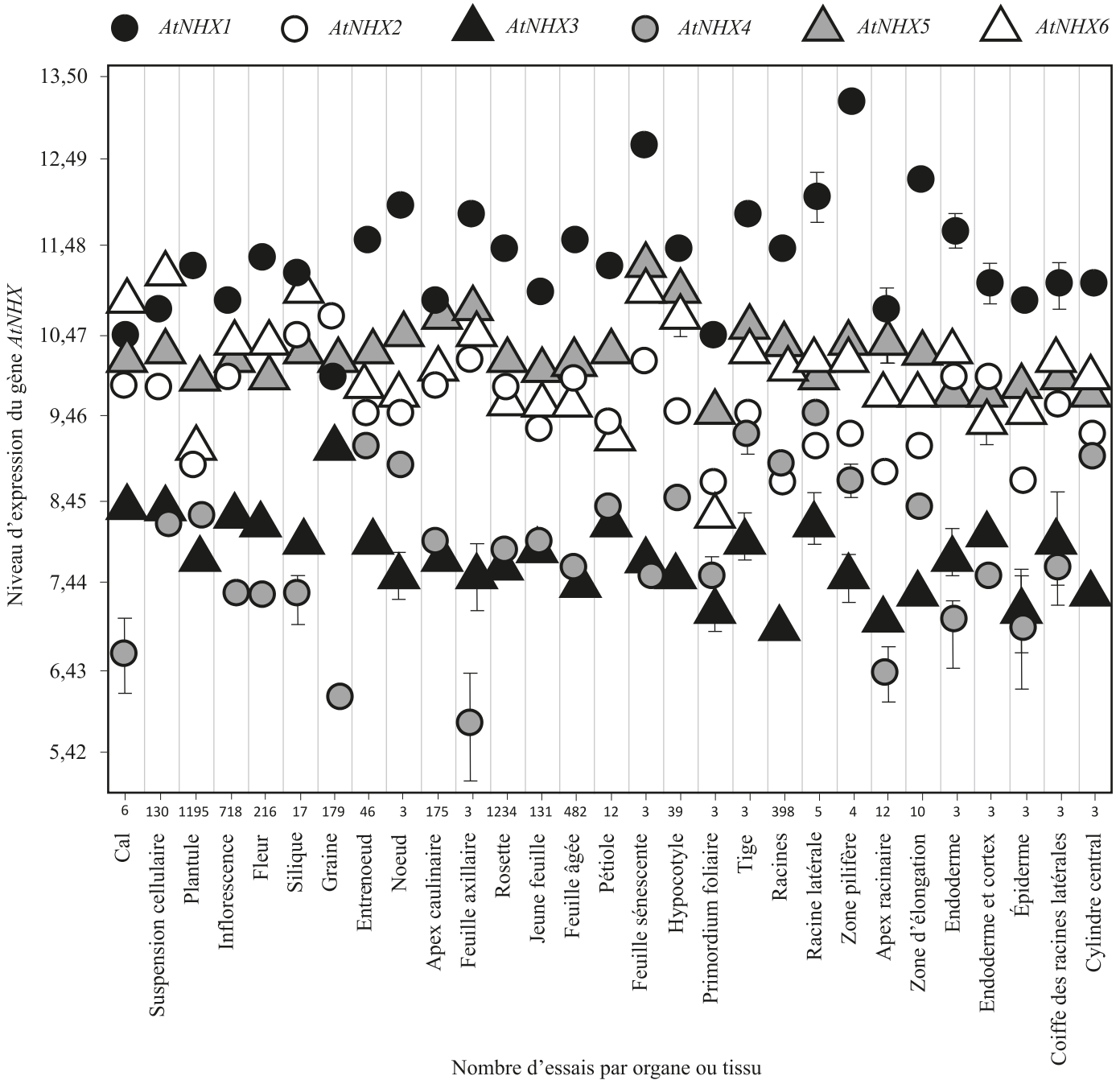
Les antiports vacuolaires NHX sont des protéines transmembranaires assurant les échanges $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ au niveau du tonoplaste en utilisant l'énergie du gradient électrochimique de protons généré par l'activité des pompes à protons vacuolaires ATPases et pyrophosphatases inorganiques (Blumwald et al. 2000; Hasegawa et al. 2000; Horie et Schroeder 2004). Ils sont présents plus particulièrement au niveau des cellules racinaires, mais également au niveau des cellules des tissus foliaires, où ils assurent la séquestration du Na^+ à l'intérieur de la vacuole, conférant ainsi aux plantes un système de tolérance à la salinité (Serrano et Rodriguez-Navarro 2001; Apse et Blumwald 2002; Moffat 2002; Ohta et al. 2002; Tester et Davenport 2003; Zhu 2003; Brini et al. 2005, 2007). De ce fait, l'expression de gènes de type NHX est fortement induite par les stress salin et osmotique, et les plants transgéniques surexprimant ces gènes (tableau 1) sont remarquablement tolérants à la salinité (Apse et al. 1999; Gaxiola et al. 1999; Blumwald et al. 2000; Ohta et al. 2002; Zhang et Blumwald 2001; Zhang et al. 2001; Fukuda et al. 2004b; Wu et al. 2004; Brini et al. 2007). Des études récentes ont démontré qu'en plus de jouer un rôle dans la séquestration du Na^+ au sein de la vacuole, les antiports NHX peuvent se localiser au niveau de l'endosome et intervenir dans l'homéostasie du K^+ , le contrôle du pH et la régulation du trafic vésiculaire (Quintero et al. 2000; Pardo et al. 2006). La transcription des gènes de type NHX est généralement induite par le NaCl (excepté pour *InNHX1* et *AtNHX3*), le KCl , le mannitol et l'acide abscissique. Au niveau subcellulaire, les antiports vacuolaires NHX ont été identifiés, à l'origine, au niveau du tonoplaste ou membrane vacuolaire, puis il s'est avéré qu'ils pouvaient se retrouver également au niveau des membranes des compartiments prévacuolaires, de l'endosome et des vésicules (Apse et al. 1999; Quintero et al. 2000; Venema et al. 2003). Au niveau tissulaire, les antiports NHX se situent dans la majorité des organes et tissus végétaux, avec cependant différents niveaux d'expression des gènes de type NHX. La localisation de ces antiports semble reliée à leur fonction et dépend également de l'espèce végétale et de l'isoforme du gène de type NHX (Apse et al. 1999; Yokoi et al. 2002a). L'analyse de l'expression spatio-temporelle des gènes *AtNHX1-AtNHX6* chez l'*Arabidopsis thaliana* a été effectuée au niveau de la plateforme Genevestigator (Hruz et al. 2008; Institut fédéral suisse de technologie de Zürich et Nebion 2008), et les résultats sont représentés en figures 2 et 3. Nous avons maintenu les paramètres d'analyse par défaut du serveur mais, pour l'affichage graphique, la forme logarithmique a été sélectionnée afin de mieux visualiser les écarts d'expression des six isoformes d'*AtNHX*. Au cours du développement et au niveau des différents tissus analysés, *AtNHX1* est toujours le gène dont le niveau d'expression est le plus élevé parmi les six isoformes (fig. 2 et 3). Il affiche ainsi un niveau

Tableau 1. Espèces de plantes transgéniques surexprimant des gènes de l'antiport NHX et exhibant une meilleure tolérance à la salinité.

Espèce		Gène surexprimé	Caractère amélioré	Références
Nom scientifique	Nom commun			
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	Arabette de Thalius	<i>AeNHX1</i> , <i>AtNHX1</i> , <i>AtNHX3</i> , <i>TNHX1</i>	Tolérance à la sécheresse et à la salinité (NaCl, 200 mmol/L); performance photosynthétique (CO ₂ , 4 μmol m ⁻² s ⁻¹)	Apse et al. 1999; Brini et al. 2007; Duan 2001; Qiao et al. 2007
<i>Beta vulgaris</i> L.	Betterave à sucre	<i>AtNHX3</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 500 mmol/L); teneur en sucres solubles dans les tubercules (250 mg par gramme de matière sèche, pour chacun des sucres fructose, glucose et saccharose, sous NaCl à 500 mmol/L)	Liu et al. 2008
<i>Brassica napus</i> L.	Navette	<i>AtNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 200 mmol/L); rendements en grains et en huile des plants transgéniques sous NaCl à 200 mmol/L équivalents à ceux des plants sauvages sous NaCl à 10 mmol/L	Ruiz et Blumwald 2002; Wang et al. 2003; Zhang et al. 2001
<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	Fétuque élevée	<i>AeNHX1</i> , <i>AtNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 200 mmol/L)	Qiao et al. 2007; Tian et al. 2006; Zhao et al. 2007
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Coton	<i>AtNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 200 mmol/L); performance photosynthétique (CO ₂ , 20 μmol m ⁻² s ⁻¹); activité de la nitrate réductase (1,4 nmol/min par milligramme de protéine); rendement et qualité des fibres (17 g/plante sous NaCl à 200 mmol/L)	He et al. 2005
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Tomate	<i>AtNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 200 mmol/L)	Zhang et Blumwald 2001
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Tabac	<i>AlNHX</i> , <i>BnNHX1</i> , <i>HbNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 400 mmol/L)	Lü et al. 2005; Zhang et al. 2008; Wang et al. 2003
<i>Oryza sativa</i> L.	Riz	<i>AgNHX1</i> , <i>OsNHX1</i> , <i>PgNHX1</i>	Tolérance à la salinité (plantules tolérant le NaCl à 150 mmol/L; disques foliaires cultivés in vitro tolérant le NaCl à 600 mmol/L)	Fukuda et al. 2004b; Ohta et al. 2002; Verma et al. 2007
<i>Triticum aestivum</i> L.	Blé	<i>AtNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 150 mmol/L); rendement en grains (taille du grain et augmentation de la masse de 1000 grains de 150 %)	Xue et al. 2004
<i>Vitis vinifera</i> L.	Vigne	<i>AtNHX1</i> , <i>AtNHX5</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 200 mmol/L)	Agüero et al. 2005
<i>Zea mays</i> L.	Maïs	<i>AtNHX1</i> , <i>OsNHX1</i>	Tolérance à la salinité (NaCl, 200 mmol/L); rendement en grains en conditions contrôlées (masse de 100 grains, 34 g)	Chen et al. 2007; Yin et al. 2004

Nota : Le terme surexpression employé signifie toute forme d'expression (constitutive, spécifique à un tissu, ou en réponse à un éliciteur) supplémentaire et additionnelle au niveau d'expression du gène d'origine. Ae, chiendent allongé (*Agropyron elongatum* (Host) Beauv.); Ag, arroche de Gmelin (*Atriplex gmelini* Mey); Al, éloupe du littoral (*Aeluropus littoralis* (Gouan) Parl.); At, *Arabidopsis thaliana*; Bn, *Brassica napus*; Hb, *Hordeum brevisubulatum* (Trin.) Link; Os, *Oryza sativa*; Pg, *Polygonum glaucum* Nutt.; T, *Triticum* spp.

Fig. 2. Profil d'expression des six isoformes du gène *AtNHX* au niveau de différents tissus de l'*Arabidopsis thaliana*.



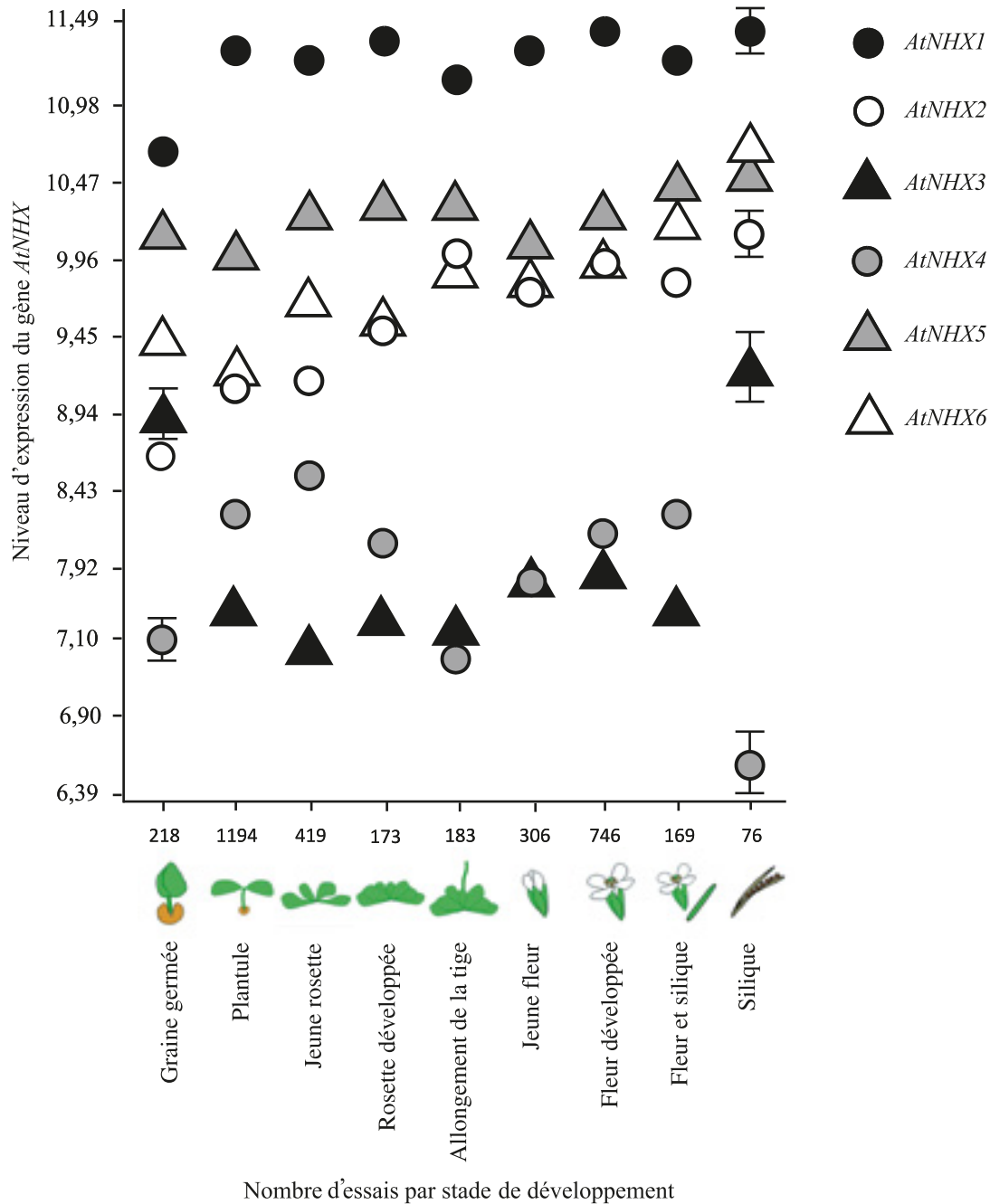
d'expression élevé et constitutif chez la plante. *AtNHX5* vient en deuxième lieu, et son profil suit globalement celui d'*AtNHX1*, mais avec un niveau d'expression légèrement plus bas. Par contre *AtNHX3* et *AtNHX4* affichent les niveaux d'expression les plus bas. De plus, au cours du temps et du développement de la plante, ces derniers semblent toujours avoir un profil d'expression diamétralement opposé. En effet, au niveau de la graine germée et de la silique, *AtNHX4* est très faiblement exprimé alors qu'*AtNHX3* présente un niveau d'expression beaucoup plus élevé. De même, lorsque c'est *AtNHX3* qui est très peu exprimé au cours des stades plantule, rosette et floraison, paradoxale-

ment *AtNHX4* s'exprime beaucoup plus (fig. 3). *AtNHX3* et *AtNHX4* semblent donc être mutuellement exclusifs et répressifs. *AtNHX2* et *AtNHX6* suivent la même allure et sont pratiquement voisins, ils affichent un niveau d'expression intermédiaire moyen entre les couples *AtNHX1-AtNHX5* et *AtNHX3-AtNHX4*.

Fonctions et rôles des antiports vacuolaires NHX

Transport et activité d'échange cation-H⁺

Le principal rôle attribué à l'antiport vacuolaire NHX est

Fig. 3. Profil d'expression des six isoformes du gène *AtNHX* au cours de différents stades du développement chez l'*Arabidopsis thaliana*.

d'effectuer la séquestration du Na^+ au sein de la vacuole via un échange Na^+-H^+ à travers le tonoplaste (Blumwald et Poole 1985; Blumwald 1987; Blumwald et al. 2000; Hasegawa et al. 2000). Le mouvement des protons de la vacuole vers le cytoplasme est exergonique du fait du gradient de pH de 1,5 unités entre ces deux compartiments. Le taux d'accumulation de Na^+ dans la vacuole par rapport au cytoplasme peut donc être supérieur à 30 ($10^{1.5}$ plus exactement), en supposant un mécanisme d'antiport strict électro-neutre avec une stœchiométrie $\text{H}^+ : \text{Na}^+$ de 1 : 1; mais, en réalité, du fait de l'existence des autres cations dans la cellule, l'accumulation de Na^+ dans la vacuole est réalisable contre son gradient de concentration seulement 4 à 5 fois plus élevé. Ce transport suit un processus saturable en fonction de la

concentration cytoplasmique de Na^+ (Blumwald et al. 2000). Les études de caractérisation biochimique des différents antiports de type NHX ont prouvé que ces derniers étaient capables de transporter, en plus du Na^+ , d'autres cations monovalents tels que le K^+ , le Li^+ et le Rb^+ (Chauhan et al. 2000; Yamaguchi et al. 2001; Zhang et Blumwald 2001; Bañuelos et al. 2002; Shi et Zhu 2002; Venema et al. 2002; Xia et al. 2002; Yokoi et al. 2002a; Wang et al. 2003; Fukuda et al. 2004b; Qiu et al. 2004; Brini et al. 2005). L'affinité de l'antiport NHX pour ces cations est variable selon les espèces et les conditions d'analyse (Zhang et Blumwald 2001; Fukuda et al. 2004b; Yamaguchi et al. 2005). Les caractéristiques de ce transport chez *AtNHX1* sont généralement décrites comme suivant une cinétique de satura-

tion de type Michaelis–Menten. De plus, la modification d'une des parties N- ou C-terminale de la protéine altère les caractéristiques d'affinité (K_M , constante de Michaelis) et de cinétique de transport (V_{max} , vitesse maximale) (Yamaguchi et al. 2003). La partie C-terminale semble capitale pour la régulation de l'activité de transport et de sélectivité des ions (Yamaguchi et al. 2003). Une interaction entre cette partie et une protéine particulièrement importante au niveau du stress, la calmoduline, a été mise en évidence. Cette dernière exerce une régulation de l'activité d'AtNHX1 de manière dépendante du pH et de la concentration de Ca^{2+} vacuolaires (Yamaguchi et al. 2005). Ainsi, dans les conditions physiologiques (concentration élevée de Ca^{2+} libre dans la vacuole et pH vacuolaire acide), la calmoduline se fixerait au niveau d'un site de fixation situé dans la partie C-terminale et conférerait à AtNHX1 une meilleure affinité de transport pour le K^+ que le Na^+ (Yamaguchi et al. 2005).

Régulation du pH et osmorégulation

Une des façons de réaliser l'homéostasie cellulaire suite à une situation de stress est la détoxification par séquestration vacuolaire du Na^+ (Niu et al. 1995; Blumwald et al. 2000; Hasegawa et al. 2000). Ce mécanisme permet aussi le maintien d'un état hydrique favorable au grandissement de la cellule par élargissement de la vacuole, laquelle peut atteindre 100 fois sa taille après la division cellulaire (Lyndon 1990). Il s'avère ainsi que, dans les conditions normales, la régulation du pH est effectuée par un échange de K^+ plutôt que de Na^+ contre un proton. En effet, la vacuole occupe 80 à 90 % du volume cellulaire et constitue le lieu de stockage privilégié du K^+ (Leigh et Wyn Jones 1984; Taiz 1992; Maeshima 2001; Horie et Schroeder 2004). La capacité des antiports NHX à réaliser les échanges K^+-H^+ permet à la plante, en condition de croissance normale, d'effectuer la séquestration de K^+ (principalement) au sein de la vacuole, contribuant ainsi à la régulation osmotique et au contrôle de la pression de turgescence nécessaire à l'expansion et au grandissement cellulaire (Pardo et al. 2006). L'activité de l'antiport vacuolaire NHX aboutit à une acidification de la vacuole, protège les réactions enzymatiques contre la toxicité du Na^+ et contrôle la pression de turgescence (Glenn et al. 1999). Via ce mécanisme d'échange cation- H^+ à travers le tonoplaste, l'antiport NHX est impliqué simultanément dans la régulation intracellulaire du pH, le contrôle du volume cellulaire et l'osmorégulation (Padan et Schuldiner 1996; Orłowski et Grinstein 1997; Blumwald et al. 2000; Hasegawa et al. 2000). Or, le pH vacuolaire représente un facteur important dans le processus de coloration des fleurs (Davies et Schwinn 1997; Mol et al. 1998; Tanaka et al. 1998). L'importance de l'action de l'antiport NHX dans la régulation du pH est bien illustrée par l'évolution et la transition de la coloration des fleurs chez *Ipomoea nil*. Cette dernière varie du rouge-violet, au stade boutons floraux, au bleu, après l'ouverture de ces boutons. La couleur des pétales est due aux pigments anthocyanes accumulés dans la vacuole des cellules. Ces anthocyanes procurent une coloration bleue en conditions alcalines et une coloration rouge en conditions acides. Ainsi, au niveau des fleurs, la transition du rouge au bleu est accompagnée d'une augmentation du pH vacuolaire des cellules de 6,6 à 7,7, soit de 1,1 unité, rendant le milieu relativement basique (Yoshida et al. 1995). Parallèlement, au

cours de ce changement de coloration, des augmentations des teneurs en protéines InNHX1–InNHX2 ainsi que de leur activité ont été observées (Ohnishi et al. 2005; Yoshida et al. 2005). Par ailleurs, l'insertion d'un élément de transposition au niveau d'*InNHX1* chez *Ipomoea nil* a inhibé partiellement cette alcalinisation des vacuoles et, par conséquent, le changement de couleur des fleurs (Fukada-Tanaka et al. 2000; Yamaguchi et al. 2001).

Trafic vésiculaire et adressage des protéines

En plus de leur rôle dans la régulation du transport de cations monovalents, les antiports NHX apparaissent comme étant les régulateurs critiques de processus cellulaires de base tels que la régulation du trafic vésiculaire et le contrôle de l'adressage des protéines (Sottosanto et al. 2007). Les cellules eucaryotes contiennent un réseau membranaire interne servant au transport et à l'adressage des protéines vers leur site d'action, délimitant ainsi différents compartiments intracellulaires tels que le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, le réseau transgolgien, les endosomes et la vacuole. L'échange de matériel entre ces différents compartiments est effectué par le biais de vésicules bourgeonnant d'une membrane et fusionnant à une autre. Bien que ce trafic vésiculaire soit défectueux chez la levure mutante *nhx1*, il peut être plus ou moins rétabli par l'addition d'acides faibles, prouvant ainsi que la régulation du pH par ScNHX1 chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex Hansen est un facteur critique pour le bon déroulement de ce trafic vésiculaire (Brett et al. 2005b). Les antiports NHX peuvent également être impliqués dans l'adressage des protéines et les processus de transport vésiculaire car un mutant d'insertion *nhx1* chez *Arabidopsis thaliana* a présenté une réduction de la surface foliaire corrélée à la réduction de la taille des cellules épidermiques. Ce phénotype serait attribué non seulement à la perte de l'aptitude des cellules à maintenir leur propre homéostasie ionique au sein de la vacuole, ce qui conduirait à une perte de turgescence de celle-ci, mais également à un problème au niveau de la biogénèse de la vacuole elle-même (Bowers et al. 2000; Apse et al. 2003). Bien qu'aucune analyse directe n'ait été effectuée sur le trafic vésiculaire ni sur la biogénèse des vacuoles chez ces mutants, l'analyse transcriptomique des plantes sauvages et mutantes *nhx1* a mis en évidence des différences d'expression significatives au niveau des transcrits associés au trafic vésiculaire et à l'adressage des protéines (Apse et Blumwald 2007; Sottosanto et al. 2004, 2007).

Croissance et fructification

En réalisant les échanges Na^+-H^+ et K^+-H^+ (Zhang et Blumwald 2001; Venema et al. 2002) AtNHX1 joue un rôle primordial dans le contrôle de l'homéostasie ionique. Or, cette osmorégulation est capitale pour la croissance et le développement de toutes les espèces végétales, que celles-ci soient tolérantes ou sensibles à la salinité. Une baisse de vigueur, un retard de floraison et de montée en graines ainsi qu'une réduction de la surface foliaire ont été constatés chez un mutant *nhx1* d'*Arabidopsis thaliana* par rapport au phénotype sauvage (Apse et al. 1999). Les niveaux d'expression de 83 gènes ont significativement augmenté chez ce mutant de *Arabidopsis thaliana*, alors que 98 autres gènes ont vu leurs niveaux d'expression s'abaisser, comparati-

vement à ceux des plants sauvages, en conditions normales et optimales de culture. Aucun des transcrits dont l'accumulation est augmentée ne correspond à un gène impliqué dans les mécanismes de production ou de consommation d'énergie, ou de synthèse des protéines. Dans leur ensemble, ces transcrits concernent plutôt des facteurs de transcription liés aux processus de développement ainsi que des fonctions de transport, signalisation et (ou) métabolisme cellulaires (Sottosanto et al. 2004). La surexpression d'un gène impliqué dans la date et la période de floraison a également été constatée, ce qui pourrait expliquer le phénotype de floraison précoce obtenu chez ce mutant *nhx1* (Sottosanto et al. 2004). Quant aux gènes réprimés, ils représentent également des facteurs de transcription liés au développement, au processus de transcription, des gènes associés à la division, au trafic vésiculaire et à la croissance cellulaire qui pourraient expliquer la réduction de la surface foliaire chez ce mutant. D'autre part, chez la vigne *Vitis vinifera* L., *VvNHX1* semble étroitement associé au processus de maturation de la baie de raisin, ce qui suggère un rôle physiologique supplémentaire à ceux précédemment évoqués (Hanana et al. 2007). En effet, ce gène est exprimé de manière quasi exclusive et spécifique au niveau de la baie de raisin au stade de la véraison et par le biais des échanges K^+-H^+ ; il contrôle la régulation du volume cellulaire au cours de la biogénèse de la vacuole et de la différenciation cellulaire.

Tolérance à la salinité

L'analyse du phénotype de plantes transgéniques a montré que la surexpression de gènes de l'antiport NHX était responsable d'une amélioration de la tolérance à la salinité (tableau 1). Plusieurs études réalisées sur la tolérance à la salinité de plantes transgéniques surexprimant des gènes de type NHX ont révélé que les phénotypes tolérants étaient associés à des concentrations foliaires élevées en K^+ (Zhang et Blumwald 2001; Wu et al. 2004; Xue et al. 2004; Leidi et al. 2005; Brini et al. 2007). Étant donné que les antiports NHX sont capables d'échanger le K^+ ou le Na^+ contre un proton de la vacuole à travers le tonoplaste, la surexpression de ces gènes pourrait affecter le contenu cytoplasmique en K^+ en permettant le stockage de ce cation au sein de la vacuole, surtout lorsque le K^+ est disponible pour la cellule (Walker et al. 1996). Ainsi, les antiports NHX, en réalisant le stockage du K^+ dans la vacuole, pourraient contribuer à la nutrition potassique au même degré que les canaux potassiques (Leigh et Wyn Jones 1984; Hsiao et Läuchli 1986), en plus de jouer un rôle de protection et d'adaptation dans les conditions de stress osmotiques et salins (Nass et Rao 1999; Blumwald 2000). La diminution de la surface foliaire constatée chez le mutant *nhx1* (Apse et al. 2003) pourrait être expliquée par le rôle qu'aurait joué NHX1 dans le transport de K^+ et la turgescence des cellules nécessaires à la croissance (Mengel 1996). Une activation des antiports Na^+-H^+ a été obtenue suite à l'application d'un stress salin chez les espèces glycophytes et halophytes (Blumwald et Poole 1985; Barkla et al. 1995; Ballesteros et al. 1997; Hamada et al. 2001; Parks et al. 2002; Yokoi et al. 2002b; Fukuda et al. 2004a; Brini et al. 2005). Cependant, chez certaines espèces sensibles, tel le plantain moyen (*Plantago media* L.), aucune activité d'antiport NHX n'a pu être enregistrée après l'application d'un stress salin ($NaCl$, 50 mmol/L) (Staal et al.

1991). D'autre part, une activité d'échange (Na^+ , K^+)– H^+ a pu être détectée chez certaines espèces glycophytes telles que le coton (*Gossypium hirsutum* L.) et le soja (*Glycine max* (L.) Merr.), même en absence de stress salin (Hassidim et al. 1990; Ballesteros et al. 1997). Par ailleurs, la surexpression des gènes d'antiports NHX a été utilisée afin d'améliorer la tolérance à la salinité chez diverses espèces végétales (Apse et al. 1999; Zhang et Blumwald 2001; Zhang et al. 2001; Ohta et al. 2002; Fukuda et al. 2004b; Wu et al. 2004, 2005; Xue et al. 2004; Brini et al. 2007). Les plants transformés surexprimant les gènes de l'antiport NHX ont affiché un meilleur comportement et une meilleure croissance que les plants sauvages sous stress salin. Des tomates transgéniques surexprimant *AtNHX1* et cultivées en présence de $NaCl$ à 200 mmol/L parviennent à croître, fleurir et produire des fruits. Bien que les feuilles aient accumulé des quantités élevées de Na^+ , les fruits en ont présenté de faibles teneurs (Zhang et Blumwald 2001). Des plants d'*Arabidopsis thaliana* surexprimant *AtNHX1* affichent une meilleure croissance que les plants sauvages et accumulent le Na^+ au niveau de leurs tiges en condition de stress salin, ce qui confirme le rôle de cet antiport dans la tolérance à la salinité (Apse et al. 1999). D'autre part, des mutants d'insertion *nhx1* chez l'*Arabidopsis thaliana* ont affiché un niveau d'échange Na^+-H^+ réduit et une plus grande sensibilité à la salinité que les plants sauvages (Apse et al. 2003). La surexpression d'*AgNHX1* chez le riz permet d'obtenir un meilleur taux de survie sur un milieu contenant du $NaCl$ à 300 mmol/L (Ohta et al. 2002), alors que la surexpression d'*OsNHX1* chez cette même espèce conduit à des teneurs foliaires en Na^+ et K^+ identiques (Fukuda et al. 2004b). Par ailleurs, des plants de seigle (*Secale cereale* L.) surexprimant *OsNHX1* ont montré des teneurs foliaires en K^+ , Na^+ et proline supérieures à celles des plants témoins (Wu et al. 2005). Toutefois, des feuilles de blé surexprimant *AtNHX1* ont accumulé moins de Na^+ mais plus de K^+ que celles des plants sauvages (Wu et al. 2005). Ces résultats contradictoires proviendraient probablement du fait que l'expression hétérologue de protéines NHX pourrait causer une modification de l'affinité ionique de ce transporteur, en particulier si celle-ci dépend des conditions physiologiques de la plante (Pardo et al. 2006). En effet, Hirschi (1999) avait remarqué que l'expression hétérologue d'autres échangeurs d'ions a souvent engendré des perturbations de l'homéostasie ionique. Frommer et al. (1999) ont suggéré que la surexpression de gènes de type NHX pouvait entraîner un mécanisme de débordement (*spillover*), c'est-à-dire une colonisation de la membrane plasmique par des antiports NHX conduisant à une meilleure exclusion du Na^+ et, par conséquent, à une meilleure tolérance à la salinité. La surexpression de gènes de type NHX issus d'espèces glycophytes ou halophytes améliore au même degré la tolérance à la salinité chez les plantes, ce qui signifie que le gène en soi n'est pas l'unique explication à l'obtention d'une différence de comportement face à la salinité (Li et al. 2008).

Conclusion et perspectives

Les antiports vacuolaires NHX sont des protéines qui catalysent l'échange de cations et de H^+ à travers la membrane vacuolaire. Cette activité d'échange contribue à la réalisa-

tion de plusieurs processus cellulaires vitaux pour la cellule et l'organisme entier : séquestration du Na^+ dans la vacuole, régulation du pH intracellulaire, homéostasie ionique et osmorégulation. D'autre part, les études de génomique fonctionnelle et de caractérisation biochimique ont démontré que ces antiports sont également capables de transporter des cations monovalents autres que le Na^+ , notamment le K^+ , le Li^+ et le Rb^+ . Ainsi, étant donné que les antiports NHX assurent le transport du Na^+ , lequel n'est pourtant pas un élément essentiel pour les plantes, et que les gènes de type NHX s'expriment de manière constitutive chez les cultivars tolérants et sensibles à la salinité en l'absence de stress salin et osmotique et en conditions normales de croissance, nous pouvons supposer que ces antiports pourraient avoir d'autres fonctions biologiques. Sachant également que le K^+ est un cation indispensable pour plusieurs processus physiologiques (tel la régulation du volume cellulaire et du pH intracellulaire, la synthèse des protéines et l'activation des enzymes) et étant donné la présence ubiquitaire des antiports NHX dans la plupart des tissus et organes de plantes ainsi que l'existence de plusieurs isoformes au sein d'un même génome, nous pouvons affirmer que ces antiports contrôlent et supervisent une large gamme de fonctions et une vaste panoplie de rôles biologiques et qu'ils interviennent à différents niveaux de la croissance et du développement des plantes. Ils pourraient donc constituer un moyen et une source moléculaire intéressante à exploiter dans les programmes d'amélioration génétique des espèces. Par leur action sur le pH vacuolaire, ces antiports interviendraient au niveau de la coloration des fleurs de certaines plantes ornementales. Il serait alors légitime de penser que cette caractéristique pourrait être appliquée à la coloration de fleurs d'autres espèces, mais aussi à celle des fruits (baies de raisin, cerise, myrte, etc.), ou encore à la production de coton de couleur pour l'industrie textile, dans le but de limiter l'utilisation des teintures, lesquelles contribuent à la pollution. Cette modification de pigmentation pourrait être également un moyen de protection contre les rayons ultraviolets. Cette action devrait être conduite en synergie avec les gènes impliqués dans la synthèse des flavonoïdes et des caroténoïdes, dont l'accumulation représente le facteur essentiel et principal de la coloration des fleurs et des fruits. Les antiports NHX jouent un rôle critique dans le grandissement et la croissance cellulaires, lequel leur confère des capacités d'amélioration des caractères organoleptiques ainsi que de ceux liés à la maturation des fruits (retard ou précocité de maturation, acidité, saveur et calibre). Leur aptitude à conférer une tolérance à la salinité, suite à leur surexpression, a été largement évoquée et démontrée sur diverses espèces végétales (céréales ainsi que cultures maraîchères, industrielles et arboricoles). Les technologies d'amélioration génétique par usage de la surexpression (en utilisant un promoteur inductible ou spécifique à un tissu ou à une phase particulière de développement, et en modifiant la partie C-terminale régulatrice de l'activité de l'antiport NHX) ou de l'extinction (cosuppression, suppression ou réduction de l'expression génétique, système ARN interférant, et transfert de gène avec construction antisens) de gènes de type NHX ouvriraient des perspectives stimulantes et la voie vers de nouveaux horizons quant à la possibilité d'amélioration de la tolérance aux stress osmotiques, des caractères qualitatifs et relatifs à

la maturité des fruits et à la modification de couleur des tissus. Cependant, il faut toujours tenir compte du fait que ces manipulations génétiques ne sont pas sans conséquences secondaires sur l'ensemble des métabolismes de la cellule.

Bibliographie

- Agüero, C.B., Hanana, M., Dandekar, A., et Blumwald, E. 2005. Analysis of salt tolerance in grapes expressing the vacuolar sodium antiporter AtNHX1. *Dans* Proceedings, 1st International Grape Genomics Symposium. *Sous la direction de* W. Qiu et L.G. Kovacs. Symposium tenu à St. Louis, Missouri, du 12 au 14 juillet 2005. Department of Fruit Science, Missouri State University, Mountain Grove, Missouri.
- Ali, R., Brett, C.L., Mukherjee, S., et Rao, R. 2004. Inhibition of sodium/proton exchange by a Rab-GTPase-activating protein regulates endosomal traffic in yeast. *J. Biol. Chem.* **279**(6) : 4498–4506. doi:10.1074/jbc.M307446200. PMID:14610088.
- Apse, M.P., et Blumwald, E. 2002. Engineering salt tolerance in plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**(2) : 146–150. doi:10.1016/S0958-1669(02)00298-7. PMID:11950567.
- Apse, M.P., et Blumwald, E. 2007. Na^+ transport in plants. *FEBS Lett.* **581**(12) : 2247–2254. doi:10.1016/j.febslet.2007.04.014. PMID:17459382.
- Apse, M.P., Aharon, G.S., Snedden, W.A., et Blumwald, E. 1999. Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, **285**(5431) : 1256–1258. doi:10.1126/science.285.5431.1256. PMID:10455050.
- Apse, M.P., Sottosanto, J.B., et Blumwald, E. 2003. Vacuolar cation/ H^+ exchange, ion homeostasis, and leaf development are altered in a T-DNA insertional mutant of *AtNHX1*, the *Arabidopsis* vacuolar Na^+/H^+ antiporter. *Plant J.* **36**(2) : 229–239. doi:10.1046/j.1365-313X.2003.01871.x. PMID:14535887.
- Ballesteros, E., Blumwald, E., Donaire, J.P., et Belver, A. 1997. Na^+/H^+ antiport activity in tonoplast vesicles isolated from sunflower roots induced by NaCl stress. *Physiol. Plant.* **99**(2) : 328–334. doi:10.1111/j.1399-3054.1997.tb05420.x.
- Bañuelos, M.A., Ruiz, M.C., Jiménez, A., Souciet, J.L., Potier, S., et Ramos, J. 2002. Role of the Nha1 antiporter in regulating K^+ influx in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, **19**(1) : 9–15. doi:10.1002/yea.799. PMID:11754478.
- Barkla, B.J., Zingarelli, L., Blumwald, E., et Smith, J.A.C. 1995. Tonoplast Na^+/H^+ antiport activity and its energization by the vacuolar H^+ -ATPase in the halophytic plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Physiol.* **109**(2) : 549–556. PMID:12228611.
- Blumwald, E. 1987. Tonoplast vesicles as a tool in the study of ion transport at the plant vacuole. *Physiol. Plant.* **69**(4) : 731–734. doi:10.1111/j.1399-3054.1987.tb01993.x.
- Blumwald, E. 2000. Sodium transport and salt tolerance in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* **12**(4) : 431–434. doi:10.1016/S0955-0674(00)00112-5. PMID:10873827.
- Blumwald, E., et Poole, R.J. 1985. Na^+/H^+ antiport in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* **78**(1) : 163–167. doi:10.1104/pp.78.1.163. PMID:16664191.
- Blumwald, E., Aharon, G.S., et Apse, M.P. 2000. Sodium transport in plant cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **1465**(1–2) : 140–151. doi:10.1016/S0005-2736(00)00135-8. PMID:10748251.
- Bowers, K., Levi, B.P., Patel, F.I., et Stevens, T.H. 2000. The sodium/proton exchanger Nhx1p is required for endosomal protein trafficking in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell*, **11**(12) : 4277–4294. PMID:11102523.
- Brett, C.L., Donowitz, M., et Rao, R. 2005a. Evolutionary origins

- of eukaryotic sodium/proton exchangers. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **288**(2) : C223–C239. doi:10.1152/ajpcell.00360.2004.
- Brett, C.L., Tukaye, D.N., Mukherjee, S., et Rao, R. 2005b. The yeast endosomal Na⁺K⁺/H⁺ exchanger Nhx1 regulates cellular pH to control vesicle trafficking. *Mol. Biol. Cell*, **16**(3) : 1396–1405. doi:10.1091/mbc.E04-11-0999. PMID:15635088.
- Brini, F., Gaxiola, R.A., Berkowitz, G.A., et Masmoudi, K. 2005. Cloning and characterization of a wheat vacuolar cation/proton antiporter and pyrophosphatase proton pump. *Plant Physiol. Biochem.* **43**(4) : 347–354. PMID:15907686.
- Brini, F., Hanin, M., Mezghani, I., Berkowitz, G.A., et Masmoudi, K. 2007. Overexpression of wheat Na⁺/H⁺ antiporter *TNXX1* and H⁺-pyrophosphatase *TVPI* improve salt- and drought-stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* plants. *J. Exp. Bot.* **58**(2) : 301–308. doi:10.1093/jxb/erl251. PMID:17229760.
- Buckel, W. 2001. Sodium ion-translocating decarboxylases. *Biochim. Biophys. Acta*, **1505**(1) : 15–27. doi:10.1016/S0005-2728(00)00273-5. PMID:11248185.
- Chang, A., Lin, R., Studley, W.K., Tran, C., et Saier, M., Jr. 2004. Phylogeny as a guide to structure and function of membrane transport proteins. *Mol. Membr. Biol.* **21**(3) : 171–181. doi:10.1080/09687680410001720830. PMID:15204625.
- Chauhan, S., Forsthoefel, N., Ran, Y., Quigley, F., Nelson, D.E., et Bohnert, H.J. 2000. Na⁺/myo-inositol symporters and Na⁺/H⁺-antiport in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant J.* **24**(4) : 511–522. doi:10.1046/j.1365-313x.2000.00903.x. PMID:11115132.
- Chen, M., Chen, Q.J., Niu, X.G., Zhang, R., Lin, H.K., Xu, C.Y., Wang, X.C., Wang, G.Y., et Chen, J. 2007. Expression of *OsNHX1* gene in maize confers salt tolerance and promotes plant growth in the field. *Plant Soil Environ.* **53** : 490–498.
- Chérouati, N. 2005. Expression hétérologue de récepteurs couplés aux protéines G dans la levure *Pichia pastoris*. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en biologie moléculaire et cellulaire, Université Louis-Pasteur, Strasbourg, France.
- Chrispeels, M.J., Crawford, N.M., et Schroeder, J.I. 1999. Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells. *Plant Cell*, **11**(4) : 661–676. doi:10.1105/tpc.11.4.661. PMID:10213785.
- Davies, K.M., et Schwinn, K.E. 1997. Flower colour. *Dans* Biotechnology of ornamental plants. *Sous la direction de* R.L. Geneva, J.E. Preece et S.A. Merkle. CAB International Oxon, Royaume-Uni. p. 259–294.
- Duan, S. 2001. Cloning and characterization of an *Arabidopsis thaliana* vacuolar Na⁺/H⁺ antiport-AtNHX3. Maîtrise en sciences, Graduate Department of Botany, University of Toronto, Ontario.
- Fox, T.C., et Guerinot, M.L. 1998. Molecular biology of cation transport in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**(1) : 669–696. doi:10.1146/annurev.arplant.49.1.669. PMID:15012250.
- Frommer, W.B., Ludewig, U., et Rentsch, D. 1999. Taking transgenic plants with a pinch of salt. *Science*, **285**(5431) : 1222–1223. doi:10.1126/science.285.5431.1222. PMID:10484731.
- Fukuda, A., Nakamura, A., et Tanaka, Y. 1999. Molecular cloning and expression of the Na⁺/H⁺ exchanger gene in *Oryza sativa*. *Biochim. Biophys. Acta*, **1446**(1–2) : 149–155. PMID:10395929.
- Fukuda, A., Chiba, K., Maeda, M., Nakamura, A., Maeshima, M., et Tanaka, Y. 2004a. Effect of salt and osmotic stresses on the expression of genes for the vacuolar H⁺-pyrophosphatase, H⁺-ATPase subunit A, and Na⁺/H⁺ antiporter from barley. *J. Exp. Bot.* **55**(397) : 585–594. doi:10.1093/jxb/erh070. PMID:14754922.
- Fukuda, A., Nakamura, A., Tagiri, A., Tanaka, H., Miyao, A., Hirochika, H., et Tanaka, Y. 2004b. Function, intracellular localization and the importance in salt tolerance of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter from rice. *Plant Cell Physiol.* **45**(2) : 146–159. doi:10.1093/pcp/pch014.
- Fukuda-Tanaka, S., Inagaki, Y., Yamaguchi, T., Saito, N., et Iida, S. 2000. Colour-enhancing protein in blue petals. *Nature*, **407**(6804) : 581. doi:10.1038/35036683. PMID:11034195.
- Gaxiola, R.A., Rao, R., Sherman, A., Grisafi, P., Alper, S.L., et Fink, G.R. 1999. The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **96**(4) : 1480–1485. doi:10.1073/pnas.96.4.1480. PMID:9990049.
- Glenn, E., Brown, J.J., et Blumwald, E. 1999. Salt-tolerant mechanisms and crop potential of halophytes. *Crit. Rev. Plant Sci.* **18**(2) : 227–255. doi:10.1016/S0735-2689(99)00388-3.
- Hamada, A., Shono, M., Xia, T., Ohta, M., Hayashi, Y., Tanaka, A., et Hayakawa, T. 2001. Isolation and characterization of a Na⁺/H⁺ antiporter gene from the halophyte *Atriplex gmelini*. *Plant Mol. Biol.* **46**(1) : 35–42. doi:10.1023/A:1010603222673. PMID:11437248.
- Hanana, M., Cagnac, O., Yamaguchi, T., Hamdi, S., Ghorbel, A., et Blumwald, E. 2007. A grape berry (*Vitis vinifera* L.) cation/proton antiporter is associated with berry ripening. *Plant Cell Physiol.* **48**(6) : 804–811. doi:10.1093/pcp/pcm048. PMID:17463051.
- Harris, C., et Fliedel, L. 1999. Amiloride and the Na⁺/H⁺ exchanger protein: mechanism and significance of inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger. *Int. J. Mol. Med.* **3**(3) : 315–321. PMID:10028059.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., et Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **51**(1) : 463–499. doi:10.1146/annurev.arplant.51.1.463. PMID:15012199.
- Hassidim, M., Braun, Y., Lerner, H.R., et Reinhold, L. 1990. Na⁺/H⁺ and K⁺/H⁺ antiport in root membrane vesicles isolated from the halophyte *Atriplex* and the glycophyte cotton. *Plant Physiol.* **94**(4) : 1795–1801. doi:10.1104/pp.94.4.1795. PMID:16667918.
- He, C., Yan, J., Shen, G., Fu, L., Holaday, A.S., Auld, D., Blumwald, E., et Zhang, H. 2005. Expression of an *Arabidopsis* vacuolar sodium/proton antiporter gene in cotton improves photosynthetic performance under salt conditions and increases fiber yield in the field. *Plant Cell Physiol.* **46**(11) : 1848–1854. doi:10.1093/pcp/pci201. PMID:16179357.
- Hirschi, K.D. 1999. Expression of *Arabidopsis* CAX1 in tobacco: altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell*, **11**(11) : 2113–2122. doi:10.1105/tpc.11.11.2113. PMID:10559438.
- Horie, T., et Schroeder, J.I. 2004. Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions. *Plant Physiol.* **136**(1) : 2457–2462. doi:10.1104/pp.104.046664. PMID:15375202.
- Hruz, T., Laule, O., Szabo, G., Wessendorp, F., Bleuler, S., Oertle, L., Widmayer, P., Gruissem, W., et Zimmermann, P. 2008. Genevestigator V3: a reference expression database for the meta-analysis of transcriptomes. *Advances in Bioinformatics [revue en ligne]*, **2008** : article n° 420747. Disponible au www.hindawi.com/journals/abi/2008/420747.abs.html. doi:10.1155/2008/420747.
- Hsiao, T.C., et Läuchli, A. 1986. Role of potassium in plant–water relations. *Dans* Advances in plant nutrition. Vol. II. *Sous la direction de* B. Tinker et A. Läuchli. Praeger, New York. p. 281–311.
- Institut fédéral suisse de technologie de Zürich et Nebion. 2008. Genevestigator. Shaping biological discovery [base de données]. Institut fédéral suisse de technologie de Zürich et Nebion,

- Zürich, Suisse. Disponible au www.geneinvestigator.com/gv/index.jsp [cité le 4 juin 2009].
- Leidi, E.O., Barragán, V., Cubero, B., Quintero, F.J., et Pardo, J.M. 2005. Function of endosomal NHX antiporters on plant K nutrition. *Dans* Society of Experimental Biology Annual Main Meeting, Barcelone, Italie, 11–15 juillet 2005. *Comp. Biochem. Physiol. — Part A*, **141** : S342.
- Leigh, R.A., et Wyn Jones, R.G. 1984. A hypothesis relating critical potassium concentrations for growth to the distributions and functions of this ion in the plant cell. *New Phytol.* **97**(1) : 1–13. doi:10.1111/j.1469-8137.1984.tb04103.x.
- Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P., et Casse-Delbart, F. 1995. Les plantes face au stress salin. *Cah. agric.* **4** : 263–273.
- Li, J.Y., He, X.W., Xu, L., Zhou, J., Wu, P., Shou, H.X., et Zhang, F.C. 2008. Molecular and functional comparisons of the vacuolar Na⁺/H⁺ exchangers originated from glycophytic and halophytic species. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, **9**(2) : 132–140. doi:10.1631/jzus.B0710445. PMID:18257135.
- Liu, H., Wang, Q., Yu, M., Zhang, Y., Wu, Y., et Zhang, H. 2008. Transgenic salt-tolerant sugar beet (*Beta vulgaris* L.) constitutively expressing an *Arabidopsis thaliana* vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene, *AtNHX3*, accumulates more soluble sugar but less salt in storage roots. *Plant Cell Environ.* **31**(9) : 1325–1334. doi:10.1111/j.1365-3040.2008.01838.x. PMID:18518917.
- Lü, S.-Y., Jing, Y.-X., Shen, S.-H., Zhao, H.-Y., Ma, L.-O., Zhou, X.-J., Ren, Q., et Li, Y.-F. 2005. Antiporter gene from *Hordium [sic] brevisubulatum* (Trin.) Link and its overexpression in transgenic tobaccos. *J. Integr. Plant Biol.* **47**(3) : 343–349. doi:10.1111/j.1744-7909.2005.00027.x.
- Lyndon, R.F. 1990. Plant development: the cellular basis. *Dans* Topics in plant physiology. *Sous la direction de* M. Black et J. Chapman. Unwin-Hyman Ltd., Londres, Royaume-uni. p. 165–189.
- Maeshima, M. 2001. Tonoplast transporters: organization and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **52**(1) : 469–497. doi:10.1146/annurev.arplant.52.1.469. PMID:11337406.
- Mäser, P., Thomine, S., Schroeder, J.I., Ward, J.M., Hirschi, K., Sze, H., Talke, I.N., Amtmann, A., Maathuis, F.J., Sanders, D., Harper, J.F., Tchieu, J., Gribskov, M., Persans, M.W., Salt, D.E., Kim, S.A., et Gueriot, M.L. 2001. Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **126**(4) : 1646–1667. doi:10.1104/pp.126.4.1646. PMID:11500563.
- Mengel, K. 1996. Integration of functions and involvement of potassium metabolism at the whole plant level. *Dans* Frontiers in potassium nutrition: new perspectives on the effects of potassium on physiology of plants. *Sous la direction de* D.M. Oosterhuis et G.A. Berkowitz. Potash & Phosphate Institute, Norcross, Géorgie. p. 1–11.
- Michel, H. 2006. Membrane proteins of known structure [en ligne]. Max Planck Institute of Biophysics, Francfort-sur-le-main, Allemagne. Disponible au www.mpibp-frankfurt.mpg.de/michel/public/mempstruct.html [mis à jour le 30 mars 2006; cité le 19 octobre 2009].
- Moffat, A.S. 2002. Plant genetics. Finding new ways to protect drought-stricken plants. *Science*, **296**(5571) : 1226–1229. doi:10.1126/science.296.5571.1226. PMID:12016289.
- Mol, J., Grotewold, E., et Koes, R. 1998. How genes paint flowers and seeds. *Trends Plant Sci.* **3**(6) : 212–217. doi:10.1016/S1360-1385(98)01242-4.
- Nass, R., et Rao, R. 1999. The yeast endosomal Na⁺/H⁺ exchanger, Nhx1, confers osmotolerance following acute hypertonic shock. *Microbiology*, **145**(11) : 3221–3228. PMID:10589731.
- Niu, X., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., et Pardo, J.M. 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol.* **109**(3) : 735–742. PMID:12228628.
- Ohnishi, M., Fukada-Tanaka, S., Hoshino, A., Takada, J., Inagaki, Y., et Iida, S. 2005. Characterization of a novel Na⁺/H⁺ antiporter gene *InNHX2* and comparison of *InNHX2* with *InNHX1*, which is responsible for blue flower coloration by increasing the vacuolar pH in the Japanese morning glory. *Plant Cell Physiol.* **46**(2) : 259–267. doi:10.1093/pcp/pci028. PMID:15695437.
- Ohta, M., Hayashi, Y., Nakashima, A., Hamada, A., Tanaka, A., Nakamura, T., et Hayakawa, T. 2002. Introduction of a Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Atriplex gmelini* confers salt tolerance to rice. *FEBS Lett.* **532**(3) : 279–282. doi:10.1016/S0014-5793(02)03679-7. PMID:12482579.
- Orlowski, J., et Grinstein, S. 1997. Na⁺/H⁺ exchangers of mammalian cells. *J. Biol. Chem.* **272**(36) : 22 373 – 22 376. doi:10.1074/jbc.272.36.22373. PMID:9278382.
- Orlowski, J., et Grinstein, S. 2004. Diversity of the mammalian sodium/proton exchanger SLC9 gene family. *Pflugers Arch.* **447**(5) : 549–565. doi:10.1007/s00424-003-1110-3. PMID:12845533.
- Padan, E., et Schuldiner, S. 1996. Bacterial Na⁺/H⁺ antiporters: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Dans* Handbook of biological physics. Vol. 2. *Sous la direction de* W.N. Konings, H.R. Kaback et J.S. Lolkema. Elsevier Science, Amsterdam, Pays-Bas. p. 501–531.
- Padan, E., Venturi, M., Gerchman, Y., et Dover, N. 2001. Na⁺/H⁺ antiporters. *Biochim. Biophys. Acta*, **1505**(1) : 144–157. doi:10.1016/S0005-2728(00)00284-X. PMID:11248196.
- Pardo, J.M., Cubero, B., Leidi, E.O., et Quintero, F.J. 2006. Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance. *Dans* Plant and salinity [numéro spécial]. *J. Exp. Bot.* **57**(5) : 1181–1199. doi:10.1093/jxb/erj114. PMID:16513813.
- Parks, G.E., Dietrich, M.A., et Schumaker, K.S. 2002. Increased vacuolar Na⁺/H⁺ exchange activity in *Salicornia bigelovii* Torr. in response to NaCl. *J. Exp. Bot.* **53**(371) : 1055–1065. doi:10.1093/jexbot/53.371.1055. PMID:11971917.
- Pouyssegur, J., Sardet, C., Franchi, A., L'Allemain, G., et Paris, S.A. 1984. A specific mutation abolishing Na⁺/H⁺ antiport activity in hamster fibroblasts precludes growth at neutral and acidic pH. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **81**(15) : 4833–4837. doi:10.1073/pnas.81.15.4833. PMID:6087349.
- Putney, L.K., et Barber, D.L. 2003. Na–H exchange-dependent increase in intracellular pH times G₂/M entry and transition. *J. Biol. Chem.* **278**(45) : 44 645 – 44 649. doi:10.1074/jbc.M308099200. PMID:12947095.
- Putney, L.K., Denker, S.P., et Barber, D.L. 2002. The changing face of the Na⁺/H⁺ exchanger, NHE1: structure, regulation, and cellular actions. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **42**(1) : 527–552. doi:10.1146/annurev.pharmtox.42.092001.143801. PMID:11807182.
- Qiao, W.H., Zhao, X.Y., Li, W., Luo, Y., et Zhang, X.S. 2007. Overexpression of *AeNHX1*, a root-specific vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter from *Agropyron elongatum*, confers salt tolerance to *Arabidopsis* and *Festuca* plants. *Plant Cell Rep.* **26**(9) : 1663–1672. doi:10.1007/s00299-007-0354-3. PMID:17437113.
- Qiu, Q.S., Guo, Y., Quintero, F.J., Pardo, J.M., Schumaker, K.S., et Zhu, J.K. 2004. Regulation of vacuolar Na⁺/H⁺ exchange in *Arabidopsis thaliana* by the salt-overly-sensitive (SOS) pathway. *J. Biol. Chem.* **279**(1) : 207–215. doi:10.1074/jbc.M307982200. PMID:14570921.
- Quintero, F.J., Blatt, M.R., et Pardo, J.M. 2000. Functional conservation between yeast and plant endosomal Na⁺/H⁺ antiporters.

- FEBS Lett. **471**(2–3) : 224–228. doi:10.1016/S0014-5793(00)01412-5. PMID:10767428.
- Ruiz, J.M., et Blumwald, E. 2002. Salinity-induced glutathione synthesis in *Brassica napus*. *Planta*, **214**(6) : 965–969. doi:10.1007/s00425-002-0748-y. PMID:11941474.
- Saier, M.H., Jr. 2000. A functional-phylogenetic classification system for transmembrane solute transporters. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**(2) : 354–411. doi:10.1128/MMBR.64.2.354-411.2000. PMID:10839820.
- Serrano, R., et Rodriguez-Navarro, A. 2001. Ion homeostasis during salt stress in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**(4) : 399–404. doi:10.1016/S0955-0674(00)00227-1. PMID:11454443.
- Shi, H., et Zhu, J.K. 2002. Regulation of expression of the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene *AtNHX1* by salt stress and abscisic acid. *Plant Mol. Biol.* **50**(3) : 543–550. doi:10.1023/A:1019859319617. PMID:12369629.
- Shi, H., Lee, B.H., Wu, S.J., et Zhu, J.K. 2003. Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Biotechnol.* **21**(1) : 81–85. doi:10.1038/nbt766. PMID:12469134.
- Sottosanto, J.B., Gelli, A., et Blumwald, E. 2004. DNA array analyses of *Arabidopsis thaliana* lacking a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter: impact of *AtNHX1* on gene expression. *Plant J.* **40**(5) : 752–771. doi:10.1111/j.1365-313X.2004.02253.x. PMID:15546358.
- Sottosanto, J.B., Saranga, Y., et Blumwald, E. 2007. Impact of *AtNHX1*, a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter, upon gene expression during short- and long-term salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol.* **7**(1) : 18. [Résumé.] doi:10.1186/1471-2229-7-18. PMID:17411438. Version intégrale disponible en ligne au www.biomedcentral.com/1741/2229/7/18.
- Staal, M., Maathuis, F.J.M., Elzenga, J.T.M., Overbeek, J.H.M., et Prins, H.B.A. 1991. Na⁺/H⁺ antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt-tolerant *Plantago maritima* and the salt sensitive *Plantago media*. *Physiol. Plant.* **82**(2) : 179–184. doi:10.1111/j.1399-3054.1991.tb00078.x.
- Sze, H., Padmanaban, S., Cellier, F., Honys, D., Cheng, N.-H., Bock, K.W., Conéjéro, G., Li, X., Twell, D., Ward, J.M., et Hirschi, K.D. 2004. Expression patterns of a novel *AtCHX* gene family highlight potential roles in osmotic adjustment and K⁺ homeostasis in pollen development. *Plant Physiol.* **136**(1) : 2532–2547. doi:10.1104/pp.104.046003.
- Taiz, L. 1992. The plant vacuole. *J. Exp. Biol.* **172**(Part 1) : 113–122. PMID:9874729.
- Tanaka, Y., Tsuda, S., et Kusumi, T. 1998. Metabolic engineering to modify flower color. *Plant Cell Physiol.* **39** : 1119–1126.
- Tester, M., et Davenport, R.J. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot. (Londres)*, **91**(5) : 503–527. doi:10.1093/aob/mcg058. PMID:12646496.
- Tian, L., Huang, C., Yu, R., Liang, R., Li, Z., Zhang, L., Wang, Y., Zhang, X., et Wu, Z. 2006. Overexpression *AtNHX1* confers salt-tolerance of transgenic tall fescue. *Afr. J. Biotechnol.* **5** : 1041–1044.
- Venema, K., Quintero, F.J., Pardo, J.M., et Donaire, J.P. 2002. The *Arabidopsis* Na⁺/H⁺ exchanger *AtNHX1* catalyzes low affinity Na⁺ and K⁺ transport in reconstituted liposomes. *J. Biol. Chem.* **277**(4) : 2413–2418. doi:10.1074/jbc.M105043200. PMID:11707435.
- Venema, K., Belver, A., Marín-Manzano, M.C., Rodríguez-Rosales, M.P., et Donaire, J.P. 2003. A novel intracellular K⁺/H⁺ antiporter related to Na⁺/H⁺ antiporters is important for K⁺ ion homeostasis in plants. *J. Biol. Chem.* **278** : 22 453 – 22 459. doi:10.1074/jbc.M210794200.
- Verma, D., Singla-Pareek, S.L., Rajagopal, D., Reddy, M.K., et Sopory, S.K. 2007. Functional validation of a novel isoform of Na⁺/H⁺ antiporter from *Pennisetum glaucum* for enhancing salinity tolerance in rice. *J. Biosci.* **32**(3) : 621–628. doi:10.1007/s12038-007-0061-9. PMID:17536181.
- Wakabayashi, S., Shigekawa, M., et Poyssesegur, J. 1997. Molecular physiology of vertebrate Na⁺/H⁺ exchangers. *Physiol. Rev.* **77**(1) : 51–74. PMID:9016300.
- Walker, D.J., Leigh, R.A., et Miller, A.J. 1996. Potassium homeostasis in vacuolate plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **93**(19) : 10 510 – 10 514. doi:10.1073/pnas.93.19.10510. PMID:11607707.
- Wang, J., Zuo, K., Wu, W., Song, J., Sun, X., Lin, J., Li, X., et Tang, K. 2003. Molecular cloning and characterization of a new Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Brassica napus*. *DNA Seq.* **14**(5) : 351–358. PMID:14756421.
- Wu, C.A., Yang, G.D., Meng, Q.W., et Zheng, C.C. 2004. The cotton *GhNHX1* gene encoding a novel putative tonoplast Na⁺/H⁺ antiporter plays an important role in salt stress. *Plant Cell Physiol.* **45**(5) : 600–607. doi:10.1093/pcp/pch071. PMID:15169942.
- Wu, Y.Y., Chen, Q.J., Chen, M., Chen, J., et Wang, X.C. 2005. Salt-tolerant transgenic perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene. *Plant Sci.* **169** : 65–73. doi:10.1016/j.plantsci.2005.02.030.
- Xia, T., Apse, M.P., Aharon, G.S., et Blumwald, E. 2002. Identification and characterization of a NaCl-inducible vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter in *Beta vulgaris*. *Physiol. Plant.* **116**(2) : 206–212. doi:10.1034/j.1399-3054.2002.1160210.x. PMID:12354197.
- Xue, Z.Y., Zhi, D.Y., Xue, G.P., Zhang, H., Zhao, Y.X., et Xia, G.M. 2004. Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na⁺. *Plant Sci.* **167**(4) : 849–859. doi:10.1016/j.plantsci.2004.05.034.
- Yamaguchi, T., Fukada-Tanaka, S., Inagaki, Y., Saito, N., Yonekura-Sakakibara, K., Tanaka, Y., Kusumi, T., et Iida, S. 2001. Genes encoding the vacuolar Na⁺/H⁺ exchanger and flower coloration. *Plant Cell Physiol.* **42**(5) : 451–461. doi:10.1093/pcp/pce080. PMID:11382810.
- Yamaguchi, T., Apse, M.P., Shi, H., et Blumwald, E. 2003. Topological analysis of a plant vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter reveals a luminal C terminus that regulates antiporter cation selectivity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100**(21) : 12 510 – 12 515. doi:10.1073/pnas.2034966100. PMID:14530406.
- Yamaguchi, T., Aharon, G.S., Sottosanto, J.B., et Blumwald, E. 2005. Vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter cation selectivity is regulated by calmodulin from within the vacuole in a Ca²⁺- and pH-dependent manner. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **102**(44) : 16 107 – 16 112. doi:10.1073/pnas.0504437102. PMID:16249341.
- Yin, X.Y., Yang, A.F., Zhang, K.W., et Zhang, J.R. 2004. Production and analysis of transgenic maize with improved salt tolerance by the introduction of *AtNHX1* gene. *Acta Bot. Sin.* **7** : 12–20.
- Yokoi, S., Bressan, R.A., et Hasegawa, P.M. 2002a. Salt stress tolerance of plants. *JIRCAS Working Report* 25-33.
- Yokoi, S., Quintero, F.J., Cubero, B., Ruiz, M.T., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M., et Pardo, J.M. 2002b. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. *Plant J.* **30**(5) : 529–539. doi:10.1046/j.1365-313X.2002.01309.x. PMID:12047628.
- Yoshida, K., Kondo, T., Okazaki, Y., et Katou, K. 1995. Cause of blue petal colour. *Nature*, **373**(6512) : 291. doi:10.1038/373291a0.
- Yoshida, K., Kawachi, M., Mori, M., Maeshima, M., Kondo, M.,

- Nishimura, M., et Kondo, T. 2005. The involvement of tonoplast proton pumps and Na⁺(K⁺)/H⁺ exchangers in the change of petal color during flower opening of Morning Glory, *Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue. *Plant Cell Physiol.* **46**(3) : 407–415. doi:10.1093/pcp/pci057. PMID:15695444.
- Yu, J.N., Huang, J., Wang, Z.N., Zhang, J.S., et Chen, S.Y. 2007. An Na⁺/H⁺ antiporter gene from wheat plays an important role in stress tolerance. *J. Biosci.* **32**(6) : 1153–1161. doi:10.1007/s12038-007-0117-x. PMID:17954976.
- Yun, C.H., Little, P.J., Nath, S.K., Levine, S.A., Pouyssegur, J., Tse, C.M., et Donowitz, M. 1993. Leu143 in the putative fourth membrane spanning domain is critical for amiloride inhibition of an epithelial Na⁺/H⁺ exchanger isoform (NHE-2). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **193**(2) : 532–539. doi:10.1006/bbrc.1993.1656. PMID:8512555.
- Zhang, H.X., et Blumwald, E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat. Biotechnol.* **19**(8) : 765–768. doi:10.1038/90824. PMID:11479571.
- Zhang, H.X., Hodson, J.N., Williams, J.P., et Blumwald, E. 2001. Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**(22) : 12 832 – 12 836. doi:10.1073/pnas.231476498. PMID:11606781.
- Zhang, G.-H., Su, Q., An, L.-J., et Wu, S. 2008. Characterization and expression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene from the monocot halophyte *Aeluropus litoralis*. *Plant Physiol. Biochem.* **46**(2) : 117–126. doi:10.1016/j.plaphy.2007.10.022. PMID:18061467.
- Zhao, J., Zhi, D., Xue, Z., Liu, H., et Xia, G. 2007. Enhanced salt tolerance of transgenic progeny of tall fescue (*Festuca arundinacea*) expressing a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Arabidopsis*. *J. Plant Physiol.* **164**(10) : 1377–1383. doi:10.1016/j.jplph.2007.04.001. PMID:17561307.
- Zhu, J.K. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* **6**(5) : 441–445. doi:10.1016/S1369-5266(03)00085-2. PMID:12972044.
- Zörb, C., Noll, A., Karl, S., Leib, K., Yan, F., et Schubert, S. 2005. Molecular characterization of Na⁺/H⁺ antiporters (ZmNHX) of maize (*Zea mays* L.) and their expression under salt stress. *J. Plant Physiol.* **162**(1) : 55–66. doi:10.1016/j.jplph.2004.03.010. PMID:15700421.