

DERLEME /REVIEW

YÜKSEK SICAKLIK STRESİNDE BİTKİ SICAKLIK ŞOKU PROTEİNLERİNİN ROLÜ

Mustafa YILDIZ¹, Serpil TERZİOĞLU²

ÖZ

Yüksek bitkiler birçok çevresel (biyotik ve abiyotik) strese maruz kalırlar. Yüksek sıcaklık stresi bitki büyüme ve verimini olumsuz etkileyen bazı morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere neden olmaktadır. Bitkiler yüksek sıcaklık stresine cevap olarak sıcaklık şoku protein(SŞP)lerini sentezler. Bitkileri içine alan ökaryotlar tarafından sentezlenen önemli SŞP'ler evrimsel olarak korunan şu sınıflara aittir: SŞP 110, SŞP 90, SŞP 70, SŞP 60, küçük SŞP'ler (kSŞP'ler, ~17 ila 30 kDa) ve ubikuitin (SŞP 8.5 kDa). SŞP'lerin sentezi ve birikimi, normal protein sentezinde bir azalmaya eşlik eder. Bitki sıcaklık şoku proteinlerinin ortaya çıkışı, "kazanılan termal tolerans" olarak ifade edilen bir durumun gelişimiyle çok sıkı ilişkilidir. Kazanılan termal tolerans subletal sıcaklıklar tarafından teşvik edilir ve takiben uygulanan yüksek sıcaklık ile uyarılan zarardan bitki hücrelerinin daha fazla korunmasını sağlar. Termal toleransın kazanılması sadece SŞP sentez ve birikimine değil, aynı zamanda SŞP'lerin hücrel lokalizasyonuna bağlıdır. SŞP'ler/moleküler şaperonlar; proteinleri ve membranları kararlı hale getiren birçok normal hücrel işlevde protein katlanması, bir araya gelmesi, translokasyonu ve parçalanmasından sorumludur ve yüksek sıcaklık stresi altında proteinin tekrar katlanmasına yardımcı olabilirler. Yüksek sıcaklık stresinde, birçok enzim ve yapısal protein zararlı yapısal ve fonksiyonel değişikliklere uğramaktadır. SŞP'ler/moleküler şaperonlar birçok normal hücrel işlevden sorumludur. İlaveten, SŞP'ler/moleküler şaperonlar stres koşullarında proteinler ve membranların kararlı hale gelmesinde ve proteinlerin tekrar katlanmasında fonksiyon görmektedir.

Anahtar Kelimeler : Bitkiler, Yüksek sıcaklık stresi, Sıcaklık şoku proteinleri, Termal tolerans, Moleküler şaperonlar

ROLE OF PLANT HEAT SHOCK PROTEINS IN HIGH TEMPERATURE STRESS

ABSTRACT

Higher plants are subjected to a large number of environmental (biotic and abiotic) stresses. High temperature stress lead to a series of morphological, physiological, biochemical and molecular changes that adversely affect plant growth and productivity. Plants synthesize heat-shock proteins (HSPs) in response to high temperature stress. The major HSPs synthesized by eukaryotes, including plants, belong to those evolutionary conserved classes: HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, small HSPs (smHSPs, ~17 to 30 kDa) and ubiquitin (HSP 8.5 kDa). The synthesis and accumulation of HSPs is accompanied by a decrease in normal protein synthesis. The appearance of plant heat-shock proteins is strongly correlated with the development of a condition termed "acquired thermotolerance". Acquired thermotolerance is induced by sublethal temperatures and leads to enhanced protection of plant cells from subsequent heat-induced injury. The acquisition of thermotolerance depends not only upon the synthesis and accumulation of HSPs but also on their cellular localization. During high temperature stress, many enzymes and structural proteins undergo deleterious structural and functional changes. HSPs/molecular chaperones are responsible for many normal cellular processes. In addition, HSPs/molecular chaperones function in the stabilization of proteins and membranes, and in assisting protein refolding under stress conditions.

Keywords: Plants, High temperature stress, Heat shock proteins, Thermal tolerance, Molecular chaperones.

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, AFYONKARAHİSAR.

Fax: 0 272 2281235, **e-posta:** mustafa_yildizus@yahoo.com

² Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe-ANKARA.

1. GİRİŞ

Bitkilerin normal büyüme ve gelişmesini engelleyen, tahıl bitkilerinde ürün kaybına ve besin kalitesinin düşmesine neden olan yüksek sıcaklık stresi abiyotik bir faktördür (Sachs ve Ho, 1986; Stone ve Nicolas, 1995; Wang vd., 2003). Yüksek sıcaklık stresine tepki; yüksek sıcaklığın derecesi, etki süresi ve bitkinin tür, çeşit ve gelişim evresi ile ilişkilidir (Mullarkey ve Jones, 2000). Tüm bitki işlevleri yüksek sıcaklığa duyarlıdır ve geri dönüşümsüz olarak zarar görebilir (Al-Khatib ve Paulsen, 1989). Protoplazmik akış, solunum, fotosentez, membran geçirgenliği, enzim inaktivasyonu, proteinler ve membranlar yüksek sıcaklıktan etkilenen yapılar veya fonksiyonlardır. Tohum oluşumuna kadar gerçekleşen tüm reproduktif evreler aşırı sıcaklıklara oldukça duyarlıdır (Gusta ve Chen, 1987).

Kültürü yapılan hücreler veya tüm organizmalar artan sıcaklıklara maruz kaldığında, sıcaklık şoku proteinleri (SSP'ler) olarak adlandırılan evrimsel olarak son derece korunan bazı proteinlerin sentezini gerçekleştirirler. Bu cevap evrenselidir ve öbakteriden arkebakteriye, fareden soya fasulyesine kadar her organizmada gözlenmiştir (Lindquist, 1986). SSP'ler monokotil ve dikotil bitkilerin genellikle kök ve yaprak dokularında çalışmasına rağmen (Lin vd., 1984; Kimpel ve Key, 1985a, b; Xiao ve Mascarenhas, 1985; Ougham ve Stoddart, 1986; Mansfield ve Key, 1987; Necchi vd., 1987; Holloway ve Arundal, 1988; Vierling ve Nguyen, 1990; Hendershot vd., 1992; Mariamma vd., 1997; Lee ve Vierling, 2000; Skylas vd., 2002; Simões-Araújo vd., 2003; Yıldız ve Terzioğlu, 2006a), farklı bitki dokularında da çalışmalara rastlanmıştır (Abernethy vd., 1989; Blumenthal vd., 1990; Yıldız ve Terzioğlu, 2006b). SSP'lerin sentezi genellikle normal büyüme sıcaklığının yaklaşık 8-10°C üstündeki sıcaklıklarda ilk olarak belirlenebilir (Kimpel ve Key, 1985a).

SSP'ler sitoplazma ve nukleus, mitokondri, kloroplast ve endoplazmik retikulum gibi organellerde lokalize olurlar (Vierling, 1991; Waters vd., 1996). Yüksek sıcaklık cevabı transkripsiyonal seviyede düzenlenmektedir (Schöffl vd., 1998). Stres toleransı için moleküler kontrol mekanizması, stresle ilişkili genlerin aktivasyonu ve regülasyonu temelindedir. Bu genler; sinyalin algılanması, transkripsiyonal kontrol, membranların ve proteinlerin korunması gibi strese verilen cevapların oluşturulmasından sorumludur (Wang vd., 2003). Bitkiye özgül SSP'lerin sentezi ile termal toleransın kazanılması arasında ilişki vardır. Termal tolerans kompleks bir fizyolojik olay olup; organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek bir sıcaklık (subletal sıcaklık) uygulanırsa, ardından uygulanan öldürücü sıcaklığa (letal sıcaklık) organizmanın dayanma yeteneğidir (Burke vd., 2000). Sıcaklık şoku proteinlerinin çoğu moleküler şaperon aktivitesi gösterir. Moleküler şaperonlar, optimum ve stres koşullarında hücrelerin homeostasisi için anahtar bileşenlerdir (Mishra vd., 2002). SSP'ler/moleküler şaperonlar; proteinleri ve membranları kararlı hale getiren birçok

normal hücresel işlevde protein katlanması, bir araya gelmesi, translokasyonu ve parçalanmasından sorumludur ve yüksek sıcaklık stresi altında proteinin tekrar katlanmasına yardımcı olabilir (Lindquist ve Craig, 1988; Wang vd., 2004).

Bitki gelişimini etkileyen fiziksel, kimyasal veya biyolojik streslerin çoğu bir noktada birbirleriyle ilişkilidir. Su stresi yüksek sıcaklık, soğuk, donma, osmotik ve tuz stresinden kaynaklanabilir. Bitkilerde oksidatif stres yüksek ve düşük sıcaklık, aşırı ışıklandırma, ağır metaller veya nitrat toksisitesi, su eksikliği, osmotik stres gibi faktörlerin sekonder etkisidir (Nover vd., 1989).

Bu derlemede, bitkilerde yüksek sıcaklık stresinin bitki büyüme ve gelişmesi üzerindeki etkilerinin yanı sıra moleküler düzeydeki stres cevabı olan sıcaklık şoku proteinlerinin sentezi, grupları, regülasyonu, lokalizasyonu, termal toleransın sağlanmasında ve moleküler şaperonlar olarak SSP'lerin rolleri hakkında bilgi verilmiştir.

2. YÜKSEK SICAKLIK STRESİ

Yüksek bitkiler çeşitli çevresel streslere (biyotik ve abiyotik) maruz kalmaktadır (Levitt, 1980). Abiyotik stres olan yüksek sıcaklık stresinde organizmanın işlevinde bir azalma ya da değişme söz konusudur. Stres koşulları normale döndüğünde, eğer organizmanın işlevleri optimum düzeye gelirse elastik biyolojik değişim, gelmez ise plastik biyolojik değişim söz konusudur. Donma, yüksek sıcaklık, yüksek tuz konsantrasyonları ve kuraklık gibi stresler plastik biyolojik değişim olarak kabul edilmektedir (Levitt, 1980). Bu stres koşulları, normal büyüme ve gelişmeyi engeller ve tahıl bitkilerinde ürün ve besin kalitesini düşürür (Sachs ve Ho, 1986).

Kurak arazi koşulları altında, yaprak sıcaklıkları genellikle stomaların kapanması ve azalan transpirasyonun bir sonucu olarak atmosfer sıcaklıklarının üzerine çıkar (Hatfield, 1979). Yüksek sıcaklık stresinin protein denatürasyonu, enzim inaktivasyonu, membran yapısının bozulması, su, iyon ve organik çözücülerin hareketinin azalması, metabolik hız dengesizliği, substratların solunumla tükenmesi ve kloroplast fotokimyasal aktivitesinde azalma gibi olumsuz yapısal ve biyokimyasal etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Levitt, 1980; Yucel vd. 1992; Smirnov, 1998).

Yüksek sıcaklık stresine tepki yüksek sıcaklığın derecesi, etki süresi ve bitkinin çeşit ve gelişim evresi ile ilişkilidir (Gusta ve Chen, 1987; Mullarkey ve Jones, 2000). Yüksek sıcaklık stresi bitki gelişiminin kritik evresine tesadüf ettiği zaman bitkinin adaptasyonunu ve verimini sınırlayan önemli bir faktördür. Bitki gelişiminin yüksek sıcaklık tarafından hızlandırılması genellikle ürün üzerinde olumsuz bir etki oluşturur. Buğdayın erken gelişim evresinde, yüksek sıcaklık başak oluşum süresini kısaltarak tahıl tanelerinin azalmasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra sıcaklık artışı, tane dolmuş süresi ve tane boyutlarında azalmaya

da neden olmaktadır. Yüksek sıcaklık tarafından bitki gelişiminin hızlandırılması ile erken yaşlanma görülmektedir (Gusta ve Chen, 1987).

2.1 Yüksek Sıcaklığın Bitki Büyümesi, Hücresel Yapı ve Fonksiyonları Üzerine Etkisi

Yüksek sıcaklık stresinin artması ile bitki büyümesi engellenmektedir. Yıldız ve Terzioğlu (2006a), >32 °C sıcaklıklarda bazı yabancı ve kültür buğday çeşitlerinin gövde uzunluklarının önemli düzeyde inhibe olduğunu ve 38°C'de kök ve gövdede sıcak boğmalarının meydana geldiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan, yüksek sıcaklık toleransının taranmasında yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak koleoptil uzunluğunun ölçülmesinin önemli bir parametre olduğu belirtilmiştir (Setimela vd., 2005). Lin vd. (1984), 28°C'de, karanlıkta çimlendirilmiş fide uzunluğu yaklaşık 1 cm olan 60 soya fasulyesi (*Glycine max* var. Wayne) fidesinin 30 tanesini 45°C'de 2 saat yüksek sıcaklık stresine maruz bıraktıktan sonra tekrar 28°C'ye almışlardır. Normal ve yüksek sıcaklık uygulanmış bütün fideleri, 28°C'de 72 saat büyütmüşlerdir. Bu sürede, 24 saatte bir fide uzunluklarını ölçmüşler ve 72.saatteki fide uzunluklarını <5 cm, 5-10 cm ve >10 cm şeklinde olmak üzere olarak sınıflandırmışlardır. Buna göre, 28°C'de büyütülen fidelerin uzunluklarının zamana bağlı olarak arttığını ve tüm fidelerin uzunluklarının >10 cm olduğunu saptamışlardır. Buna karşın, 45°C'de 2 saat yüksek sıcaklık uygulanmış olan fidelerin uzunluklarının zamana bağlı olarak önemli düzeyde (28°C'deki artış dikkate alındığında) artmadığını ve tüm fidelerin uzunluklarının <5 cm olduğunu belirlemişlerdir (Lin vd., 1984).

Yüksek sıcaklık tarafından etkilenen iki önemli yapı, proteinler ve membranlardır. Yüksek sıcaklık stresine ilişkin en çok çalışılan bitki fonksiyonları fotosentez, solunum, membran geçirgenliği ve enzim inaktivasyonudur (Gusta ve Chen, 1987).

Fotosentez için optimum sıcaklık 25-30°C'dir. Fotosentez solunuma göre yüksek sıcaklığa oldukça duyarlıdır. 23/18°C gündüz/gece sıcaklığında büyütülen *Atriplex lentiformis* (Torr.) Wats. bitkilerinin fotosentez hızlarının yüksek sıcaklıklarda sınırlandığı bildirilmiştir (Pearcy vd., 1977). Bu bitki için optimum sıcaklık 30.9°C olarak belirlenmiştir. Sıcaklığın 30.9°C'den 38°C'ye kadar kademeli olarak artması CO₂ alım hızının yavaş ve kararlı değişimine neden olmuştur. Bitki tekrar optimum sıcaklığa alındığı zaman CO₂ alım hızındaki değişiklikler genellikle geri dönüşümlüdür. 38°C'nin yukarıdaki sıcaklıklarda ise sıcaklığın artışı ile stimüle edilen CO₂ alımı zamana bağlı olarak azalmaktadır. Bu bitkilerde, yapraklar 46°C'ye maruz kaldığında CO₂ alım kapasitesindeki zarar dönüşümsüzdür (Pearcy vd., 1977). Aynı araştırmacılar, 23/18°C'de büyütülen bitkilerin yapraklarını yüksek sıcaklık (46°C) ile muamele ettikten sonra kloroplastların fotosistem II aktivitelerinde belirgin bir azalma belirlemişlerdir. Bitkinin optimum sıcaklıktan yüksek sıcaklığa alınmasıyla birlikte fotosistem II'de suyun fotolizi ile elektronların açığa çıkışı ve elektron-

ların akışı inhibe olmaktadır. Kloroplastların fotosistem I aktivitesi yüksek sıcaklıkta kararlıdır (Pearcy vd., 1977). 43/30°C gündüz/gece sıcaklığında büyütülen, fakat takiben 46°C'ye maruz bırakılmayan bitkilerin yapraklarından izole edilen kloroplastlarda fotosistem II aktivitesinin inhibe olmadığını ve bu bitkilerde büyüme sıcaklığının artması ile fotosistem II'nin sıcaklığa dayanıklılığının arttığını bildirmişlerdir (Pearcy vd., 1977). Bitkilerde fotosentetik aparatlar sıcaklığa karşı oldukça hassastır (Crafts-Brandner ve Law, 2000; Camejo vd., 2005). Yüksek sıcaklık stresinde, kloroplastların yapısal ve fonksiyonel zarar görmeleri ve klorofil birikimindeki azalmalar fotosentez oranındaki azalmalara neden olmaktadır (Xu vd., 1995; Dekov vd., 2000). Fotosentezin ışık ve karanlık reaksiyonları yüksek sıcaklık tarafından inhibe edilmektedir (Berry ve Björkman, 1980). Yüksek sıcaklıkta fotosistem I (FSI) aktivitesinin fotosistem II (FSII)'ye göre daha kararlı olduğu bildirilmiştir (Sun vd., 2002). Fotosistem II kompleksinin yüksek sıcaklık ile inaktivasyonu, suyun moleküler oksijene oksidasyonunu katalizleyen manganez kümelerinin yıkımı ile başlamaktadır (Enami vd., 1994). Fotosistem II'de yüksek sıcaklığa bağlı olarak tilakoid lümenin hacmindeki artış, grana tilakoidlerinin kademeli olarak ayrılması ve yeniden düzenlenmesi (Xu vd., 1995), fonksiyonel proteinlerin denatürasyonu (Thompson vd., 1989), ışık toplayan klorofil a/b-bağlama proteinlerinin FSII kompleksi merkezinden ayrılması (Xu vd., 1995) ve akseptör bölgesindeki plastokinon molekülleri (QA ve QB) arasında elektron transferinin inhibisyonu meydana gelmektedir (Cao ve Govindjee, 1990). Yüksek sıcaklık stresi, CO₂ fiksasyonunun ilk basamağını katalizleyen ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisco) enziminin inhibisyonunun bir sonucu olarak CO₂ fiksasyonunu azaltmaktadır (Bernacchi vd., 2002). Işıktaki Rubisco aktivasyonunu sağlayan stroma enzimi Rubisco aktivaz (Portis, 2003), yüksek sıcaklıklarda inaktive olmakta ve CO₂ fiksasyonunun azalmasına neden olmaktadır (Feller vd., 1998). Sıcaklığa bağlı olarak Rubisco aktivasyonu ve dolayısıyla fotosentezdeki azalma, Rubisco aktivaz aktivitesinin yetersiz kalmasıyla Rubisco'nun daha hızlı inaktivasyonundan kaynaklanmaktadır (Crafts-Brandner ve Law, 2000; Salvucci ve Crafts-Brandner, 2004; Cui vd., 2006).

Yüksek sıcaklık stresi sırasında ve sonrasında solunumda elektron transportu olumsuz etkilenmektedir. Bununla birlikte, stres durumlarında elektron transportunun sürdürülmesi için küçük sıcaklık şoku proteinlerinin önemli olduğu belirtilmiştir (Heckathorn vd., 1999). Mitokondriyal küçük sıcaklık şoku proteinlerinin birikiminin mitokondriyal termal toleransı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Chou vd., 1989; Sanmiya vd., 2004).

Yüksek sıcaklık stresi, proteinlerin yapısal değişimlerine yol açar. Böylece proteinler denatüre olur, fonksiyonları bozulur, proteolitik enzimler duyarlı hale gelir ve bu enzimlere karşı proteinlerin duyarlılığı artar. Proteinlerdeki bağlarla ilgili olarak proteinlerin yapısal esnekliğinin fazla olması, onların enzimatik

denatürasyona duyarlı ve yüksek sıcaklıkta zarar görmelerine neden olur. Yüksek sıcaklığa adaptasyonun gelişmesi muhtemelen belli amino asitlerin birbirine göre yer değiştirmesine bağlı olarak yapısal adaptasyonun meydana gelmesi ile sağlanmaktadır. Proteinlerin denatürasyonu genellikle farklı hücresel çözeltiler (şekerler, organik asitler) tarafından korunmaktadır (Levitt, 1980).

Yüksek sıcaklık stresi biyolojik membranların yapısı ve fonksiyonunu etkiler. Membranların termal kararlılığı membranların su, lipid ve protein bileşenlerinin özellikleri ve birbirleriyle ilişkilerinin bir fonksiyonudur. Yaprak dokusu yüksek sıcaklıktan zarar gördüğü zaman membran geçirgenliği artar ve elektrolitler hücre dışına difüze olur (Martineau vd., 1979). Membran lipid doyunluğu, yüksek sıcaklık toleransında önemli bir element olarak düşünülmektedir. Yüksek sıcaklık stresi hem tilakoid hem de plazma membranlarının doymuş yağ asidi seviyesinde artışa neden olmaktadır (Vigh vd., 1993). Yüksek sıcaklık uyumu sırasında lipid değişimleri birçok türde bildirilirken (Whitaker vd., 1997; Horvath vd., 1998; Grover vd., 2000), yüksek veya düşük derecede membran lipid doyunluğunun yüksek sıcaklık toleransı için yararlı olup olmadığı açık değildir (Klueva vd., 2001). Birkaç çalışmada, lipid doyunluğundaki değişimlerin yüksek sıcaklık stresi sırasında fotosentetik oranı etkilemediği bildirilmiştir (McCourt vd., 1987; Kunst vd., 1989a, b). Yüksek sıcaklığa toleranslı ekmeklik buğday çeşitleri hassas çeşitlere göre daha fazla doymuş yağ asitli membranlara sahiptir (Yang vd., 1984). Tütün bitkisinde genetik modifikasyonların sonucu olarak doymuş yağ asitlerinin seviyesinde artışın yüksek sıcaklıklarda daha uzun süre hayatta kalmayı sağladığı bildirilmiştir (Grover vd., 2000). Diğer taraftan, patates bitkisinin yüksek sıcaklığa toleranslı çeşitlerinin linoleik and linolenik gibi doymamış yağ asitleri kontrolüne göre çok az artış gösterirken, oleik asit seviyesi toleranslı çeşitlerde daha düşüktür (Diepenbrock vd., 1989). Hücresel lipid veziküllerinin sık sık oluşması membran bozulmasının bir sonucudur. Bu noktada hücre ölümü meydana gelir. Sıcaklığın artması ile hücresel membran fonksiyonunun kaybı, hücre ölmedikçe kademeli olarak onarılmakta ve geri dönüştürülmektedir. Plazma membranlarının kalıcı zararı letal sıcaklıklarda meydana gelir. Plazma membranları fotosentez sıcaklığından daha yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (Levitt, 1980).

2.2 Yüksek Sıcaklığın Reprodüktif Dokulara Zararı

Bitkilerin reprodüktif büyüme ve gelişme evresinin tohum oluşumu basamakları sıcaklığa duyarlıdır (Gusta ve Chen, 1987). Saini ve Aspinall (1982), buğday bitkilerini polen ana hücrelerinde mayozun başlamasından anthesis'e (çiçek açılımdan meyve tutmaya kadar olan süre) kadar olan sürede 20 ve 30°C'de ve yüksek nispi nemde bırakmışlardır. Üç gün 30°C'ye maruz kalan bitkilerin tamamen steril stamenli çiçekçikler (% 80) oluşturduğu bildirilmiştir. Buna ilaveten, 30°C'de 20°C'ye göre % 68 daha az tahıl tanesinin

oluşturduğu belirtilmiştir. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalmamış sağlıklı polen ile yüksek sıcaklıkta tutulmuş pistillerin polinizasyonu, tane oluşumunda % 21 azalmayla sonuçlanmıştır. Saini vd. (1983), anthesisden önce yüksek sıcaklık stresine uğramış ovaryumlardan alınan seri kesitlerde, ovaryumların yaklaşık 1/3'ünün anormal embriyo keseleri içerdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca yüksek sıcaklık stresi uygulanmış ve uygulanmamış stigmalar ile verimli polenlerin polinizasyonunu takiben çimlenmiş polenlerin sayılarının aynı olmasına karşılık yüksek sıcaklık stresinde birkaç polen tüpünün ovaryuma ulaştığı bildirilmiştir (Saini vd., 1983). Polen tüplerinin büyümesinin engellenmesinin, yüksek sıcaklık stresinin pistil gelişimini veya embriyo kesesi çekim gücünü zayıflatmasına bağlanabileceği bildirilmiştir (Gusta ve Chen, 1987). Buğdayda da içeren tahıllarda, 12.2-27.5°C aralığının üzerindeki sıcaklıktaki her bir derecelik artışın ürünü % 4 azalttığı bildirilmiştir (Kumar vd., 1999). Yüksek sıcaklık stresi hem erkek hem de dişi organ sterilitesine neden olurken su stresi buğdayda sadece erkek organın sterilitesine neden olmaktadır (Gusta ve Chen, 1987).

3. BİTKİLERDE SICAKLIK ŞOKU PROTEİNLERİ

Yüksek sıcaklığa tepki tüm prokaryot ve ökaryotlarda her zaman mevcut bir olaydır (Kimpel ve Key, 1985a). Yüksek sıcaklık şoku (YSS) bitkilerde (Sachs ve Ho, 1986) ve diğer organizmalarda (Lindquist, 1986) sıcaklık şoku proteinlerinin (SSP) sentezini sağlamaktadır. Bununla birlikte, bitkiler aşırı sulama, yüksek tuz konsantrasyonları veya şiddetli UV ışığına maruz kalma gibi diğer stres koşullarında farklı protein gruplarını sentezler (Sachs ve Ho, 1986). Bitkilerde YSS'ye tepkinin özellikleri mısır, domates, ayçiçeği, pamuk, tütün, havuç, arpa, pirinç, soya fasulyesi, çavdar, bezelye, darı, buğday ve *Tradescantia* gibi birçok bitki türünün çeşitli dokularında incelenmiştir (Lin vd., 1984; Kimpel ve Key, 1985a, b; Xiao ve Mascarenhas, 1985; Ougham ve Stoddart, 1986; Mansfield ve Key, 1987; Necchi vd., 1987; Holloway ve Arundal, 1988; Vierling ve Nguyen, 1990; Hendershot vd., 1992; Mariamma vd., 1997; Lee ve Vierling, 2000; Skylas vd., 2002; Simões-Araújo vd., 2003; Yıldız ve Terzioğlu, 2006a). SSP'ler genellikle bitkilerin kök ve yapraklarında çalışılmıştır. Bunun yanı sıra, SSP'lerin buğday çeşitlerinin şişmiş embriyolarında (Abernethy vd., 1989), koleoptil, bayrak yaprak, glume, çiçek brakteleleri, embriyo ve endospermde oluştuğu bildirilmiştir

Bitkilerin YSS'ye tepkisi, prokaryotlardan ökaryotlara kadar birçok organizma için belirlenen birkaç parametrede aynıdır (Kimpel ve Key, 1985a):

1. Normal büyüme sıcaklığının 8-10°C yukarısında ani bir sıcaklık değişimini takiben SSP'ler adı verilen yeni bir grup sentezlenirken normal protein sentezinde bir azalma vardır.
2. SSP'lerin sentezi, genlerin yeni bir grubunun (YSS genleri) transkripsiyonundan dolayıdır. Bu gen-

lerin 5'-ucundaki 15 baz çiftlik (bp) sekans, bu genlerin yüksek sıcaklık ile teşvik edilmesinde kritiktir. SŞP'lerin 83-85 kDa sınıfı için genler hariç, diğer genlerin hiçbiri 15 bp'lik sekanslarında intron içermez.

3. Dokular normal büyüme sıcaklıklarına tekrar alındığı zaman SŞP'lerin sentezi durur. Normal protein sentezi dereceli olarak yeniden başlar. YSS mRNA'ları 2 saatten daha az yarılanma ömrü ile uygun bir şekilde çabucak bozulur.

4. SŞP sentezini sağlayan yüksek sıcaklık (YS) uygulamaları termal toleransın gelişimine yol açar.

Böylece, çalışılan tüm organizmalarda YSS tepkisinin genel fenotipi yüksek oranda korunur.

SŞP'lerin sentezi genellikle normal büyüme sıcaklığının yaklaşık 8-10°C yukarısındaki sıcaklıklarda ilk olarak belirlenebilir (Kimpel ve Key, 1985a). Soya fasulyesi, bezelye, mısır ve buğday gibi tahıl bitkilerini içeren ılıman çevrelere uyum sağlamış bitki türleri, doku sıcaklıkları 32-33°C'yi aştığı zaman SŞP'leri sentez etmeye başladıkları bildirilmiştir (Vierling, 1991). Bitkilerde SŞP'lerin maksimum sentezlendiği sıcaklık derecesi, türe ve türün normal büyüme sıcaklığına bağlı olarak değişir. Örneğin, bezelyede (*Pisum sativum* L.) 36°C, soya fasulyesi (*Glycine max* L.), ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), buğday (*Triticum aestivum* L.), pirinç (*Oryza sativa* L.), mısırdaki (*Zea mays* L.) 40°C ve kum darısında (*Panicum miliaceum* L.) 46°C'dir (Mansfield ve Key, 1987). SŞP'ler belli bir yüksek sıcaklığa kadar artar. Belli bir optimum sıcaklık derecesinin üzerinde total normal protein sentezi çok hızla düşer; fakat bu yüksek sıcaklıklarda sentez edilen proteinlerin çoğu SŞP'lerdir (Kimpel ve Key, 1985a). Bununla birlikte, SŞP'nin teşviki geçici olarak meydana gelir. Yüksek sıcaklık şokunun devam etmesine karşın SŞP sadece birkaç saat için dayanır. Etiyole soya fasulyesi fidelerinde, 40°C'de ilk 15 dakika içinde SŞP'lerin sentezlendiği belirlenmiştir. Eğer bu fideler, 40°C'de 30 dakika-2 saat arasındaki bir süreden sonra normal büyüme sıcaklığına (28°C) alınırsa SŞP'lerin sentezi belirgin bir şekilde azalır. 28°C'ye alındıktan 3-4 saat sonra SŞP'lerin sentezi çoğu zaman belirlenemez. Bununla birlikte, Kimpel ve Key (1985b), araştırmalarında YSS süresince sentezlenen SŞP'lerin tamamen bozulmadığını ve çoğunluğunun en azından 20 saat için dokuda mevcut olduğunu bildirmişlerdir. Bitkilerin yüksek sıcaklık şokuna tepkisi, sentez edilen yeni polipeptidlerle gen ifadesini değiştirmektedir. Yeni protein sentezi "erken proteinler" ve sonra "geç proteinler" in sentezi olmak üzere bifaziktir. Mısır köklerinde uzatılmış yüksek sıcaklık (40°C) şokunda bir azalmaya rağmen 4 saate kadar SŞP'ler sentez edilir (Cooper ve Ho, 1983). 4 saat YSS'den sonra SŞP sentezi azalırken 50 ve 62 kDa büyüklüğünde iki ilave "geç protein" sentez edilmektedir (Cooper ve Ho, 1983). Geç proteinlerin, 4 saat YSS'den sonra ortaya çıktığı ve sentezinin en az 20 saat devam ettiği bildirilmiştir (Cooper ve Ho, 1983). Diğer taraftan, geç proteinlerin teşviki için erken SŞP'lerin sentezinin bir ön

koşul olup olmadığı bilinmemektedir (Sachs ve Ho, 1986).

Bitkilerle yapılan çalışmalarda SŞP'ler 3 farklı gruba ayrılmıştır (Sachs ve Ho, 1986):

1. 68 kDa'dan 104 kDa'a kadar aralanan büyük SŞP grubu: Bu grup bakteri, hayvan ve bitkileri içeren tüm organizmalarda sentezlenebilir.

2. 20 ve 23 kDa arasında orta büyüklükteki grup: Diğer ökaryotlara göre yüksek bitkilerde bol ve farklıdır (Waters vd., 1996).

3. Yaklaşık 15-18 kDa büyüklüğündeki küçük grup: Bu grup yüksek bitkilere özgüdür.

Bazı araştırmacılar, birinci gruptaki proteinleri yüksek moleküler ağırlıklı (YMA), ikinci ve üçüncü gruptakileri ise düşük moleküler ağırlıklı (DMA) SŞP'ler olarak kabaca iki gruba ayırmışlardır (Kimpel ve Key, 1985a; Krishnan vd., 1989; Vierling ve Nguyen, 1990; Hendershot vd., 1992). Bitkilerde çoğu SŞP'ler iki yönlü O'Farrell jel elektroforez sırasında 30 polipeptidden fazla parçaya ayrılan DMA'lı proteinlerin karmaşık bir grubudur. Bu DMA'lı proteinlerin çoğunluğu 15 kDa'dan 18 kDa'a kadar büyüklükteki aralıktadır; fakat 21, 24 ve 27 kDa'daki SŞP'ler de vardır. DMA'lı SŞP'lerin tam profili ve karmaşıklığı bitki türleri arasında değişmesine karşın yüksek miktarda tüm bitki türlerinde gözlemlendiği belirtilmiştir (Kimpel ve Key, 1985a). Bitkilerde DMA'lı SŞP'ler çok fazla ve karmaşık olması nedeniyle bu proteinler bitkilere özgü olabilir. Bununla birlikte, bitkilerin YMA'lı proteinleri DMA'lı proteinlerinden daha az komplekstir. Bir bitki türü için YMA'lı proteinler iki yönlü elektroforez sırasında 10 polipeptidden daha az parçaya ayrılır. En azından 90-110 kDa ağırlığında 1 polipeptid, 80-90 kDa ağırlığında 1 veya 2 polipeptid ve genellikle 68-75 kDa ağırlığında 2 veya 3 polipeptid vardır (Kimpel ve Key, 1985a). Bu proteinlerin tümü, doku yüksek sıcaklık stresine girdiği zaman düzenli olarak ifade edilir. Kademeli sıcaklık artışı tarlada meydana gelen koşullara uygun olarak saat başına 2.5°C ise SŞP sentezinin teşvik edilebildiği bildirilmiştir (Cooper ve Ho, 1983).

Soya fasulyesinde, YSS sırasında sadece SŞP'lerin sentezlendiği bildirilmiştir (Lin vd., 1984). Soya fasulyesindeki durumdan farklı olarak birçok normal proteinin sentezi YSS sırasında tahıl tanelerinde devam eder. Bununla birlikte, toplam protein sentez hızının değişmediği, yani SŞP'nin sentezindeki artışa karşılık birçok normal protein sentezinin baskılandığı ortaya çıkmaktadır (Cooper ve Ho, 1983).

Çimlenen mısır ve *Tradescantia* polenleri hariç bitkinin tüm dokularının YSS sırasında SŞP'lerin tam bir spektrumunu oluşturduğu bildirilmiştir (Cooper vd., 1984; Xiao ve Mascarenhas, 1985).

Bitkilerin kök ve yaprakları gibi somatik dokularında DMA'lı SŞP'lerin çok fazla (Mansfield ve Key,

1987) ve karmaşık (Sachs ve Ho, 1986) olduğu bildirilmiştir. Belli normal hücrel proteinler SŞP'ler ile homologdur ve YSS'ye tepki olarak artmazlar (Lindquist, 1986; Lindquist ve Craig, 1988). Farklı bitki türleri tarafından her bir türün optimum YSS sıcaklığında 3 saat YSS'den sonra sentez edilen DMA'lı SŞP'ler Tablo 1'de verilmiştir (Mansfield ve Key, 1987). Kontrol dokuda elde edilen polipeptidlerin miktarları YSS'ye maruz bırakılmış dokuda elde edilenden oldukça daha azdır. Monokotillere göre dikotillerin kontrol dokusunda daha fazla sayıda DMA'lı SŞP'ler belirlenmiştir (Tablo 1).

Kesilmiş doku zarar görmemiş olan dokuya göre YSS'ye aynı şekilde cevap verme yeteneğinde olmayabilir. Kesilmiş mısır dokularında birkaç DMA'lı SŞP belirlenirken (Cooper vd., 1984), zarar görmemiş mısır fidelerinin en azından 24 DMA'lı SŞP sentez ettiği ve biriktirdiği bildirilmiştir (Mansfield ve Key, 1987).

Diploid buğday (*Triticum monococcum* L.) çeşitlerinde SŞP'lerin sentez ve birikiminden kaynaklanan genotipik farklılıklar olduğu bildirilmiştir (Vierling ve Nguyen, 1990). Diploid buğday çeşitlerinde SŞP sentezinde genetik çeşitliliğin belirlenmesi, yüksek bitkilerde SŞP'ler ile ilgili genetik ve fizyolojik çalışmalar için kullanılır bir anahtar oluşturur (Vierling ve Nguyen, 1990). Çünkü diploid buğday, şiddetli seleksiyona maruz kalmaz ve SŞP'lerin hekzaploid buğdayın yüksek ploidi seviyesine katılmasını güçleştirmez. Zivy (1987), üç yaygın yazlık buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi arasında tür içi çeşitliliği saptamıştır.

Vierling ve Nguyen (1990), 37°C'ye maruz bırakılan *Triticum monococcum*'da 17, 18, 22, 27, 70, 84 ve 93 kDa'da büyük SŞP benekleri tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, SŞP'lerin kompleks grupları içinde moleküler ağırlığı ve izoelektrik noktası farklı olan 16-27 kDa ağırlığında SŞP'ler belirlemişlerdir.

3.1 Sıcaklık Şoku Proteinlerinin Grupları

Tüm organizmalar artan sıcaklıklara ve tuz, ağır metal, düşük sıcaklık gibi diğer streslere sıcaklık şoku proteinleri olarak adlandırılan, tanımlanmış bir grup proteinin üretilmesiyle tepki verirler (Vierling, 1991; Parsell ve Lindquist, 1993). Çoğu SŞP'ler ve homolog normal hücrel proteinlerin strese girmemiş hücrelerde önemli seviyede bulunduğu, hücre döngüsünün belli evrelerinde, gelişimsel kontrol altında veya doğal olarak birçok hücrede ifade edildiği bildirilmiştir (Lindquist, 1986; Lindquist ve Craig, 1988). Bu proteinler sitoplazma, mitokondri, nükleus, nükleolus, endoplazmik retikulum, iç ve dış membranları kapsayan hemen hemen her hücrel kısımda bulunmuştur (Sarto vd., 2000). Bitkileri de kapsayan ökaryotlar tarafından sentezlenen SŞP'ler şu gruplara aittir: SŞP 110, SŞP 90, SŞP 70, SŞP 60, küçük SŞP'leri (kSŞP, ~17 ila 30 kDa) ve ubikuitin (SŞP 8.5 kDa).

SŞP 110 grubu: Bitkileri de kapsayan birçok ökaryot, çözünebilir hücrel bileşen olarak ortaya çıkan yaklaşık 110 kDa yüksek moleküler ağırlıklı SŞP sentez eder (Cooper ve Ho, 1987). Bitkilerde SŞP 110 sentezi diğer SŞP'lerin sentezinden daha geçicidir. YSS'nin ilk saatlerinde sentezinin artması ile sınırlanmıştır. Bu büyüklükteki SŞP kodlayan ilk ökaryotik gen *Sachharomyces cerevisiae*'dan (SŞP 104) izole edilmiş ve bu proteinlerin termal toleransta rol oynadığı kanıtlanan ilk SŞP olmuştur (Sanchez ve Lindquist, 1990). Bitki hücreleri 96, 100- ve 110 kDa proteinleri oluşturur (Lindquist, 1986). Protein agregasyonunu ve hatalı katlanmasını önleyen normal şaperon fonksiyonunun aksine SŞP100 ailesi protein disagregasyonu ve/veya parçalanmasında (degradasyon) fonksiyona sahiptir. Hatalı katlanma, denatürasyon veya agregasyon sonucu oluşan ve fonksiyona sahip olmayan, fakat potansiyel olarak zararlı polipeptitlerin uzaklaştırılması, hücrel dengeyi sürdürülmesi için oldukça önemlidir (Wang vd., 2004).

Tablo 1. Yüksek sıcaklık şoku uygulamalarında farklı bitki türleri tarafından sentez edilen düşük moleküler ağırlıklı sıcaklık şoku proteinleri (Mansfield ve Key, 1987'den değiştirilerek alınmıştır)

Tür	Yeni oluşan polipeptidlerin sayısı	Kontrol dokuda ve YSS'den sonra da belirlenebilen polipeptidlerin sayısı	Toplam SŞP sayısı
Soya fasulyesi	21*	6**	27
Bezelye	13	9	22
Ayçiçeği	19	4	23
Buğday	11	1	12
Pirinç	13	2	15
Mısır	23	1	24
İnci darısı	16	1	17
Kum darısı	21	2	23

* Tablodaki değerler, 15-25 kDa DMA'lı SŞP'ler olarak karakterize edilen polipeptidlerin sayısını gösterir.

** Kontrol dokuda varolan proteinler yüksek sıcaklık şoku (YSS)'nden sonra artan boyanabilirlik ve radyoetiketlemeyle yeni oluşan polipeptidler ise yalnız YSS'den sonra belirlenebilir.

SŞP 90 grubu: Proteinlerin bu grubu yaklaşık olarak 80-90 kDa arasındaki proteinleri kapsar (Vierling, 1991). Bitkilerdeki SŞP 90 genlerinin DNA sekans analizinde, proteinler diğer ökaryotlardaki SŞP 90'a yaklaşık % 70 özdeşlik göstermektedir (Vierling, 1991). Bu proteinlerin karboksil ucu genellikle çok divergenttir; fakat en uç 4 amino asidi, glutamik asit-glutamik asit-valin-aspartik asit, tüm ökaryotik SŞP 90'da aynıdır (Lindquist ve Craig, 1988). Sekans analizleri bu proteinlerin son derece korunduğunu göstermektedir (Lindquist ve Craig, 1988). Hemen hemen bütün hücrelerde, SŞP 90 grubunun proteinleri normal büyüme sıcaklıklarında bulunur ve yüksek sıcaklıkta daha çok teşvik edilir (Vierling, 1991). SŞP 90, fonksiyon gösterebilmesi için ATP'ye gereksinim duyan moleküler şaperon türlerinden biridir. Ayrıca, toplam hücresel proteinin % 1-2'sini oluşturarak hücrede en fazla bulunan protein grubu olup, protein katlanmasının yönlendirilmesinin (Frydman, 2001) yanı sıra sinyal iletim ağlarında, hücre döngüsünün kontrolünde, protein parçalanmasında ve protein etkileşimlerinde de (Young vd., 2001) önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte, SŞP 70 ile birlikte multişaperon makinesi olarak görev yapmaktadır (Zhang vd., 2003). Sitol, endoplazmik retikulum ve plastidlerde lokalize olan SŞP 90 genleri birkaç bitki türünden izole edilmiş ve amino asit sekansının diğer ökaryotlarla % 63-71 özdeşlik gösterdiği bildirilmiştir (Krishna ve Gloor, 2001). SŞP 90 grubu proteinler birçok organizmada normal olarak eksprese olmasına rağmen, bu proteinlerin ekspresyonu hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda strese tepki olarak artmaktadır. *Arabidopsis*'de SŞP 90'ın ekspresyonu gelişimsel olarak düzenlenmekte ve yüksek sıcaklık, soğuk, tuz stresi, ağır metaller ve bitki hormonları gibi etmenlere tepki göstermektedir (Krishna ve Gloor, 2001).

SŞP 70 grubu: Klonlanmış ökaryotik genlerden biri olup; birçok organizmada geniş ölçüde çalışmıştır (Lindquist, 1986; Lindquist ve Craig, 1988). Evrimsel olarak son derece korunan SŞP 70, amino asit sekansı açısından prokaryotlar ve ökaryotlar arasında % 50 özdeşlik gösterir (Waters vd., 1996). Yüksek sıcaklık stresi ile regüle edilen SŞP 70 genlerine ilaveten, ökaryotların içerdikleri ilgili genlerin tamamı yüksek sıcaklık stresi sırasında artan ifade göstermezler. Bu grup proteinlerin özgülüğü, kritik ve önemli hücresel fonksiyonları yerine getirmesi olarak ileri sürülmüştür (Vierling, 1991). Yüksek sıcaklık stresi sırasında oluşan SŞP 70'in toplam miktarı tipik olarak hücrede önceden varolan miktardan daha azdır (Pelham, 1986). SŞP 70 grubu üyeleri yüksek sıcaklık şokundan hücreleri ve dokuları korur (Sarto vd., 2000). SŞP 70'in ATP hidrolizi ile protein katlanmasını veya tekrar bir araya gelmesini kolaylaştırdığı, yüksek sıcaklık stresi sırasında ayrışan veya denatüre olan proteinlere bağlandığı ve öncül ribozomları denatürasyondan koruduğu ileri sürülmüştür (Pelham, 1986). Tüm türlerde mitokondrial SŞP 70 proteinleri normal koşullar altında belirlenmiştir. Bu nedenle, zorunlu bir protein olduğu tahmin edilmektedir. Kloroplast ve mitokondride prokaryotik tip

SŞP 70'lerin varlığı bu organellerin endosimbiyotik oluşumunu destekler yöndedir (Vierling, 1991).

Normal ve stres koşulları altında agregasyonun önlenmesi ve doğal yapısı bozulmuş (non-native) proteinlerin tekrar katlanmasında zorunlu fonksiyona sahiptir (Frydman, 2001). Protein transportu ve translokasyon işlevlerinde ve kararsız proteinleri lizozom veya proteazomlara hedef göstererek bu proteinlerin proteolitik parçalanmasını kolaylaştırmada fonksiyon göstermektedir (Hartl, 1996). Ek olarak, SŞP70 proteinlerinin bazı üyeleri, katlanmış düzenleyici proteinlerin biyolojik aktivitesinin kontrol edilmesini sağlamakta ve transkripsiyon ile ilişkili sıcaklık şoku faktörünün (SŞF) negatif baskılayıcısı olarak fonksiyon gösterebilmektedir (Hartl, 1996; Morimoto, 1998). Kim ve Schöffl (2002), SŞP70 ve SŞF arasındaki etkileşimin SŞF'nin sıcaklık şoku elementine (SŞE) trimerizasyonunu ve bağlanmasını engellediğini ve böylelikle sıcaklık şoku genlerinin SŞF'leri tarafından aktivasyonunun bloke olduğunu bildirmiştir. *Arabidopsis* genomu, SŞP 70 üyelerini kodlayan en az 18 gene sahiptir ve en az 12 SŞP üyesi ıspanak genomunda bulunmuştur (Guy ve Li, 1998). *Arabidopsis* ve ıspanak SŞP 70 genlerinin ekspresyon profil analizleri, SŞP 70 üyelerinin yüksek sıcaklık, soğuk, kuraklık ve kimyasal kirlenme gibi çevresel koşullara cevap olarak eksprese edildiğini göstermiştir (Lin vd., 2001). SŞP 70 genlerinin ekspresyonu termal toleransın kazanılması ile pozitif olarak ilişkilidir (Lee ve Schöffl, 1996) ve tuz, su ve yüksek sıcaklık stresine karşı artan tolerans ile sonuçlanmaktadır (Sung vd., 2003).

SŞP 60 grubu: SŞP 60 grubu genetik ve biyokimyasal çalışmalarla desteklenen rolü "moleküler şaperonlar" olarak ifade edilen ilk SŞP'lerdir (Ellis, 1987). Şaperoninler olarak da adlandırılan bu grup, prokaryotlarda ve ökaryotların mitokondri ve plastidlerinde bulunmaktadır (Boston vd., 1996). Şaperoninler ileri bir sınıflandırma ile iki alt gruba ayrılmaktadır: GroE (Grup I) şaperoninler bakteri, mitokondri ve kloroplastlarda bulunurken, Grup II şaperoninler Archea'da ve ökaryotların sitozolünde bulunmaktadır (Ranson vd., 1998). Şaperoninler, yeni sentez edilen ve yeni transloke olmuş proteinlerin doğal formlarının kazanılmasına yardımcı olarak önemli bir rol oynamaktadır (Boston vd., 1996). Şişme ve erken fide büyüme evresinde toplam proteinin yüksek bir kısmını SŞP 60'ların oluşturması çimlenme veya diğer aktif mitokondrial bölünme ve gelişim periyotları sırasında muhtemelen bu proteinlerin gerekli olduğunu göstermektedir (Vierling, 1991). Nukleusta kodlanan, kloroplastlarda SŞP 60 homologu olarak bilinen "kloroplast şaperonin 60" Rubisco alt ünitelerini bağlayan proteindir (Vierling, 1991). Kloroplast şaperonin 60'ın Rubisco holoenzim topluluğunu içerdiği ileri sürülmüştür. Bitki Rubisco holoenzimi iki tip 16 alt ünitelerden oluşur. Sekizi kloroplastta kodlanan büyük alt üniteler ve sekizi nukleusta kodlanan küçük alt ünitelerdir (Roy, 1989). Bezelyede protein bağlayan Rubisco alt ünitesi, yaklaşık 61 kDa (α) ve 60 kDa (β) alt birimlerinin bir

araya gelmesiyle 720 kDa'luk bir kompleks olarak bulunmuştur (Hemmingsen ve Ellis, 1986).

Küçük sıcaklık şoku proteinleri (kSSP): Prokaryot ve ökaryotlarda korunan küçük sıcaklık şok proteinleri (kSSP) diğer ökaryotlara göre yüksek bitkilerde bol ve farklıdır (Waters vd., 1996; Lee ve Vierling, 2000). Yaklaşık 17 kDa'dan 30 kDa'a kadar aralanan düşük moleküler ağırlıklı (DMA) kSSP'lerin korunan C-ucu bölgesi tüm ökaryotik canlılarda ortaktır. Bitki kSSP'lerin yüksek özdeşlik gösteren karboksil ucu "yüksek sıcaklık şok bölgesi" olarak ifade edilir. Oysa amino ucu bölgeleri sınıflar arasında tamamen farklıdır. kSSP'ler amino asit sekansı açısından prokaryotlar ve ökaryotlar arasında çok az sekans benzerliği göstermektedir. Yüksek bitkilerde kSSP'leri kodlayan nuklear gen grupları belirlenmiştir. Gen grupları sitozol, kloroplast, ER ve mitokondriye özgü olan proteinleri kodlar. kSSP gen gruplarının angiospermilerin radyasyonlanması ile gen duplikasyonu (bir kromozom, parça değişimi sırasında karşısındaki kromozoma belli genleri vermez ve sadece alırsa o gen bakımından diploid olur) ve divergensi (aynı kökenden gelen; fakat fizyolojik ve yapısal özellikleri farklı olan birçok yeni kSSP gen gruplarının ortaya çıkması) ile ortaya çıktığı evrimsel analizler ile ileri sürülmüştür (Waters vd., 1996). kSSP'ler, yüksek sıcaklık stresi uygulanan vejetatif dokularda yüksek seviyelerde birikirken stres uygulanmayan vejetatif dokularda genellikle bulunmamıştır. Özgül kSSP'ler bitki gelişiminin farklı evrelerinde ifade edilir (Chen vd., 1990). Bu nedenle, kSSP'ler her ne kadar SŞP 90, SŞP 70 ve SŞP 60 gibi yüksek moleküler ağırlıklı SŞP'ler gibi temel hücre fonksiyonları için zorunlu değilse de kSSP'lerin fonksiyonları hem özgül gelişim basamakları hem de yüksek sıcaklık şokundan sonra canlılığı tekrar kazanmak ve sürdürmek için muhtemelen kritiktir. Biyokimyasal analizler, multiple kSSP alt ünitelerinin 200-400 kDa arasındaki protein komplekslerini oluşturduğunu ve kSSP'lerin büyük olasılıkla bu komplekslerde bulunduğunu göstermektedir (Waters vd., 1996).

kSSP'ler yüksek sıcaklık stresi sırasında birçok bitkinin protein sentez profilinde baskındır. Belli kSSP'ler belli yüksek sıcaklık stresi koşullarında toplam yaprak veya kök hücre proteininin % 1'inin üzerinde birikebilir (DeRocher vd., 1991). Bitkiler kSSP'leri kodlayan en azından 6 nuklear gen grubuna sahipken diğer ökaryotlar tipik olarak kSSP'ler için 1 ila 4 basit gene sahiptir (Vierling, 1991). kSSP'lerin farklılaşması tamamen bitkilere özgüdür ve bitkiler kSSP'lerin organellerde lokalize olduğu belirlenen tek ökaryottur (Waters vd., 1996).

Glaczinski ve Kloppstech (1988), stres sırasında fotosistem II'nin onarılması veya korunması için kloroplast kSSP'sinin fonksiyon gördüğünü ileri sürmüşlerdir. Bu proteinin tilakoid lokalizasyonu sadece nispi olarak yüksek ışık yoğunluklarında, 38°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda meydana gelmiştir. 38°C'nin altında protein membran ilişkisi zayıflar (Glaczinski

ve Kloppstech, 1988). Kloroplast SŞP'si sadece fotosentetik organellerde değil, kök dokularında da önemli seviyelerde oluşur ve kloroplast SŞP'si tüm plastid tiplerinde fonksiyoneldir (Chen vd., 1990). Chen vd. (1990), kloroplast SŞP'si fotosentezi korursa, fotosistem II ile direkt ilişkisinden ziyade genel yapısal veya enzimatik özelliklerinin bir sonucu olarak koruduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu hipotezi, kloroplast SŞP'sinin fotosentetik olmayan plastidlerde de varolması ve bu proteinin sitoplazmik ve endomembran DMA SŞP'leri ile homoloji göstermesi destekler.

kSSP'lerin doğal yapısı bozulmuş (non-native) proteinleri tekrar katlayamadığı bildirilmiştir (Lee ve Vierling 2000). Ancak, kısmen katlanmış veya denatüre olmuş proteinlere bağlanarak agregasyonunu engellediği ve diğer şaperonlar ile doğru katlanmaya yardımcı olduğu ileri sürülmektedir (Sun vd., 2002). In vitro koşullar altında sırasıyla *Pisum sativum*'dan ve *Synechocystis* sp. PCC6803'ten izole edilen kSSP18.1 ve 16.6'nın denatüre proteinlere bağlandığı ve SŞP70/SŞP100 kompleksleri tarafından bu proteinlerin yeniden katlanmasının sağlandığı bildirilmiştir (Mogk vd., 1999).

Bitkilerde kSSP'lerin bol miktarda bulunuşu ve denatüre proteinlere bağlanma ve stabilize etme gibi fonksiyonel özellikleri, bu proteinlerin bitkilerde stres toleransının kazanılmasında önemli role sahip olduğu fikrini ileri sürmektedir (Sun vd., 2002; Wang vd., 2003; Simões-Araújo vd., 2003). Bununla birlikte, kSSP'lerin toplam proteinin %1'inden fazlasını oluşturması, evrimsel olarak bitkilere özgü farklılaşmasının yanı sıra diğer ökaryotlar sadece birkaç kSSP'ye sahipken, bitkiler en az altı farklı gen grubuna ayrılan 30-60 gene sahiptir (Waters vd., 1996). Bununla birlikte, kSSP'lerin stres koşulları sırasında moleküler şaperonlar olarak rol oynadığı ileri sürülmektedir (Sun vd., 2002). Diğer taraftan, Zhang vd. (2005), kSSP'lerin normal hücre fonksiyonları için gerekli olup olmadığı hakkında kanıt bulunmadığını bildirmiştir. Araştırmacı, stres olmayan koşullarda *Festuca* genotiplerinde kSSP geninin eksprese edilmediğini ve yüksek sıcaklık stresi altında daha fazla eksprese edildiğini bildirmiştir.

Heckathorn vd. (1998), kloroplast kSSP'lerinin yüksek sıcaklık stresi sırasında fotosistem II oksijen-çıkış proteinlerinin kararlı halde kalmasında direkt rol oynadığını ve böylelikle fotosistem II elektron taşıma sisteminin devam ettirildiğini bildirmiştir. Kloroplast kSSP'lerinin oksijen çıkışını sağlayan (OEC) proteinleri yüksek sıcaklık stresinin denatürasyon etkisinden koruduğu, ancak kSSP'lerin denatüre olmuş proteinleri tekrar aktive edemediği bildirilmiştir (Heckathorn vd., 1999). Kloroplastta lokalize olmuş 24 kDa molekül ağırlığındaki kloroplast küçük sıcaklık şoku proteininin FSII'yi yüksek sıcaklık stresine karşı koruduğunu ve bu proteinin sentezindeki fenotipik varyasyonun FSII termal toleransı ile pozitif olarak ilişkili olduğu bildirilmiştir (Preczewski vd., 2000).

Ubikuitin (SŞP 8.5) grubu: Yüksek sıcaklık stresi birçok ökaryotta ubikuitin transkripsiyonunu artırır (Lindquist ve Craig, 1988). Ubikuitin 76 amino asitlik, son derece korunan bir proteindir (Hershko, 1988). Yüksek sıcaklık stresi sırasında artan ubikuitin oluşumu, stresten zarar gören proteinlerin taşınması için artan isteği gösterir. Bitkilerde ubikuitin, multi-gen grupları ile kodlanır ve yüksek sıcaklık stresine bu genlerin tepkisi komplekstir (Burke vd., 1988). 42°C'ye maruz bırakılan buğday kökleri serbest ubikuitinde % 30 azalma ve diğer proteinlere konjuge olmuş ubikuitinde uygun bir artış göstermiştir (Ferguson vd., 1990). Ubikuitin stres toleransı ve geri dönüşüm için önemli bir fonksiyona sahip olabilir. Maya poliubikuitin geninin delesyonunun yüksek sıcaklık şoku veya ileri düzeyde açık koşullarında strese son derece duyarlı soyların yaşamını sürdürmemesine sebep olduğu bildirilmiştir (Finley vd., 1987).

3.2 Sıcaklık Şoku Proteinlerinin Hücresel Lokalizasyonu

Yüksek sıcaklık koşulları altında bitki hücrelerinde sentezlenen SŞP'ler sitoplazmada sıcaklık şoku granülleri olarak bilinen kümeler oluşturur. Farklı bitki hücrelerinde, sıcaklık şoku granüllerinin büyük kümeler oluşturması, SŞP'lerin bir fonksiyonunun da yapısal olabileceğini göstermektedir. Hücredeki bu büyük kümeler, farklı hücresel organeller ve kısımlarda tutulduğunda geçici hücresel matrisler oluşturur. Böyle matrisler yalnızca YSS sırasında sürdürülür. Hücre sıcaklığı normale geri döndüğünde bu kümeler, normal hücresel fonksiyonun hızla eski haline dönmesi için kaybolur (Nover vd., 1989).

SŞP'ler YSS sırasında özgül organellerle ilişkili hale gelir. SŞP'lerin seçici lokalizasyonu YSS'ye bağlıdır. Farklı kSSP gen familyaları tarafından kodlanmış proteinler sitoplazmaya ve kloroplast, mitokondri ve endoplazmik retikulumu içeren farklı hücresel organellere yerleşir (Vierling, 1991). YSS sırasında bazı soya fasulyesi SŞP'leri nükleus, mitokondri ve ribozomlarda lokalize olmuşlardır. YSS sırasında organellerde lokalize olan SŞP'ler, fideler normal büyüme sıcaklığına alındığında kademeli olarak organellerden uzaklaşmışlardır. Ancak fideler tekrar YSS'ye maruz kaldıklarında SŞP'ler hızla tekrar organellerde lokalize olmuşlardır (Lin vd., 1984). 15-18 kDa SŞP'leri ve yaklaşık 22 ve 24 kDa SŞP'leri YSS sırasında mitokondri ile ilişkili hale gelir; fakat YSS'den sonra fideler normal büyüme sıcaklığına geri alındığında 15-18 kDa SŞP'leri mitokondrial fraksiyondan ayrılırken 22 ve 24 kDa proteinleri mitokondri ile ilişkide kalır (Lin vd., 1984). 27, 84 ve 92 kDa SŞP'leri postribozomal supernatantta bulunduğu; fakat ribozomal fraksiyonda lokalize olmadığı belirtilmiştir (Lin vd., 1984). Mısır, bezelye ve soya fasulyesi kloroplastları 23 ve 25 kDa arasında ve ilave olarak soya fasulyesi, 27 kDa kSSP'lere sahiptir (Kimpel ve Key, 1985a).

SŞP 60 familyası proteinleri, nükleusta kodlanan mitokondri ve kloroplastların yaygın bileşenleridir. Yüksek sıcaklık stresi yokluğunda bile bu organellerin bol bileşenleridir (Vierling, 1991). SŞP 70, stres varlığında ve/veya yokluğunda kloroplast ve mitokondride lokalize olduğu ve muhtemelen nükleusta kodlandığı tespit edilmiştir (Vierling, 1991). Bitkileri de kapsayan tüm yüksek ökaryotlarda, yüksek sıcaklık stresi sırasında oluşan SŞP 70 nükleolusta lokalize olur ve sonra geri dönüşüm sırasında sitoplazmaya dağılır (Lindquist, 1986). SŞP 70 genlerinin farklılığı sitoplazmada, endoplazmik retikulum (ER) lümeninde ve mitokondrinin matrisinde farklı SŞP 70 homologlarının varlığı ile kısmen açıklanır. ER'de lokalize olmuş SŞP 70 homologları "bağlayıcı protein" veya "glukozla düzenlenmiş protein" olarak adlandırılır. Bitkilerde SŞP 70 proteinleri keza kloroplast stromasında da bulunmaktadır (Vierling, 1991). Cooper ve Ho (1987), mısırdaki SŞP 29'un mitokondri, SŞP 18 ve 70'in plazma membranlarıyla, SŞP 25 ve 72'nin ER ve SŞP 79-83 gibi yüksek moleküler ağırlıklı SŞP'lerin çözünebilir fraksiyonlarda bulunduğunu belirtmişlerdir. SŞP 90 grubunun üyeleri sitoplazmik fosfoproteinlerdir (Nover ve Scharf, 1984). SŞP 110 grubunun 100-kDa proteinleri golgide, 110- kDa proteinleri nükleolusta ya da çevresinde lokalize olur ve normal hücrelerin bileşenleridir (Lindquist, 1986).

3.3 Yüksek Sıcaklık Şokuna Tepkinin Moleküler Seviyede Regülasyonu

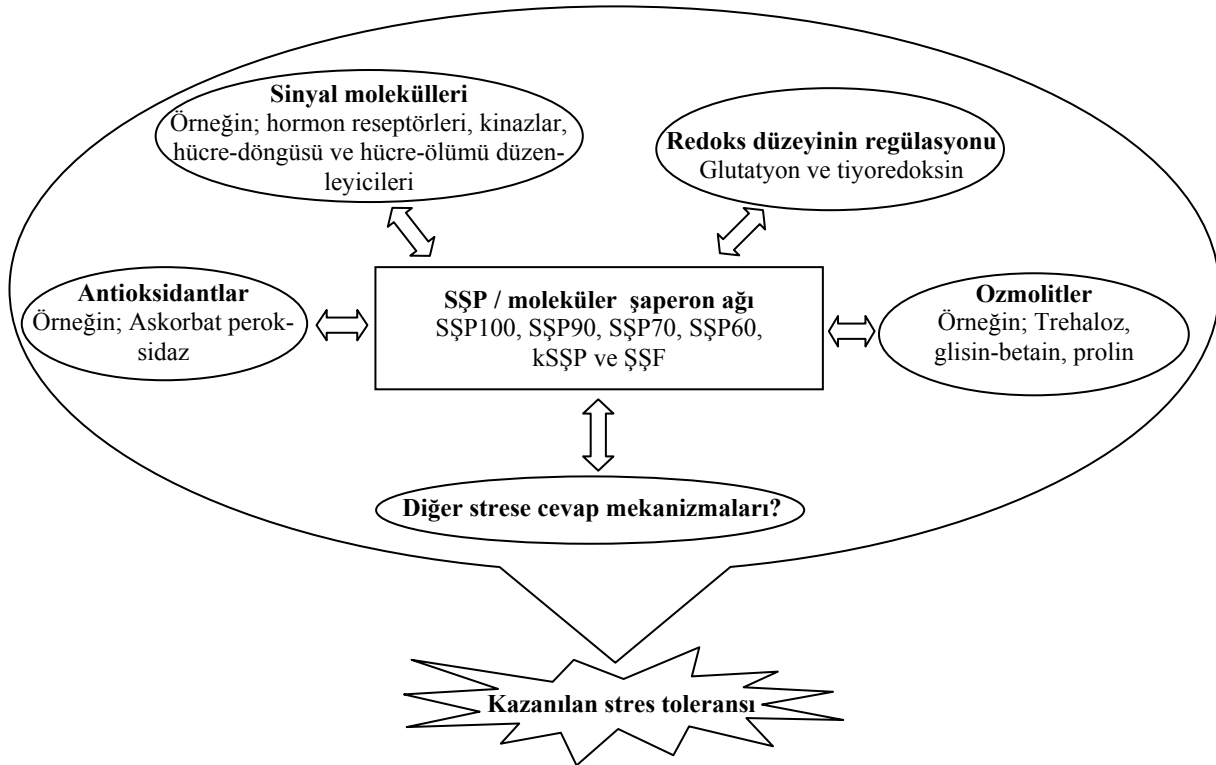
Bitkilerde YSS tepkisinin birçok parametrede incelenmesine karşın tepkinin transkripsiyon ve translasyon mekanizmaları üzerinde çok az bilgi vardır. Bitkilerde translasyon mekanizmasının fonksiyonel olarak maya ve hayvanlarla benzer olduğu; fakat stres sırasında bitkilerde translasyonel seviyede önemli farklılıkların gözlemlendiği bildirilmiştir (Gallie vd., 1997). Bununla birlikte, bitkilerin yüksek sıcaklık şokuna translasyonel cevabı, mekanizmadaki başlama faktörlerinin yanı sıra diğer bileşenlerle sınırlanabileceği de vurgulanmıştır. YSS süresince SŞP'ler için kodlanan mesajlar 10-1000 kat teşvik edilmektedir. Yüksek sıcaklık şokuna uğramış hücrelerde yüksek seviyelerde biriken ve fonksiyonu henüz bilinmeyen birkaç RNA vardır. Bu RNA'lar birkaç organizmada karakterize edilmiştir (Lindquist, 1986; Kimpel vd., 1990). Yüksek sıcaklık şoku mRNA'larının mevcut seviyesinin sıcaklığın şiddetinin artmasıyla artmaktadır. Direkt uygulanan yüksek sıcaklık uygulaması transkripsiyonal ve translasyonel seviyede kuvvetli bir cevabı tetiklerken, eğer doku ön uyum sıcaklığına maruz bırakılmışsa cevabın hemen aktive olmadığı bildirilmiştir (Kimpel vd., 1990). Soya fasulyesi ve diğer organizmalardan elde edilen sonuçlara göre YSS sırasında normal hücresel mRNA'lar hücrelerde devamlıdır; fakat çok yetersiz olarak translasyona uğrar. Dokular YSS'den sonra normal sıcaklığa alındığı zaman normal hücresel mRNA'lar bu kez tekrar yeteri kadar translasyona uğrar. Uzun YSS uygulaması altında soya fasulyesi fidelerindeki, YSS mRNA'larının yaklaşık 6 saat

sonra translasyonu durur ve normal mRNA'ların translasyonu tekrar başlar. Vierling ve Key (1985), YSS sırasında sentezi % 80 baskılanan ribuloz-1,5-bifosfat karboksilazın nukleus genomunda kodlanmış küçük alt ünitelerine ait mRNA seviyelerinin azaldığını, kloroplast genomunda kodlanan büyük alt birime ait mRNA seviyelerinin ise nispeten değişmeden kaldığını bildirmişlerdir. Bunun muhtemelen küçük alt birime ait gen ifadesinin YSS sırasında baskılanmasından veya parçalanmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (Vierling ve Key, 1985). Translasyonel regülasyon için moleküler temeller bilinmemektedir. YSS uygulanmamış dokularda YSS mRNA'larının yokluğu, YSS tepkisinin indüklenmesinin zorunlu olarak transkripsiyon seviyesinde düzenlendiğini göstermektedir. YSS genlerinin transkripsiyonunu sağlamak için YSS genlerinin düzenleyici bölgelerinde özgül sekanslar ve/veya RNA polimeraz II ile etkileşen faktörler belirlenmiştir (Parker ve Topol, 1984; Wu, 1984).

3.4 Termal Tolerans ve Moleküler Şaperonlar

Kazanılan termal tolerans kompleks ve fizyolojik bir olay olup; organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek bir sıcaklık (subletal sıcaklık) uygulanırsa, ardından uygulanan öldürücü sıcaklığa (letal sıcaklık) organizmanın dayanma yeteneğidir (Burke vd., 2000). Chen vd. (1982), fasulye, patates, soya fasulyesi ve domatesin duyarlı ve toleranslı birer genotipine ait bitkilere 20/15°C gündüz/gece sıcaklığında büyümeyi takiben yüksek sıcaklık şoku (50°C) uygulamışlardır. Bu bitkiler için belirlenen letal sürenin türlerin duyarlı ve toleranslı genotipleri için aynı (örneğin, soya fasulyesinin duyarlı ve toleranslı genotipi için 30 dakika) olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, aynı araştırmacılar, bitkileri 24 saat için 30°C'nin üzerindeki uyum sıcaklıklarına maruz bıraktıktan sonra yüksek sıcaklık şok uygulamasında, belirlenen öldürücü zaman bakımından türlerin genotipleri arasında önemli farklılıklar (örneğin, soya fasulyesinin toleranslı genotipinde 122 dakika, duyarlı genotipinde 90 dakika) olduğunu saptamışlardır (Chen vd., 1982). Çalışılan genotiplerde, yüksek seviyede yüksek sıcaklık toleransının elde edilmesi için ön-uyum sıcaklık uygulamasının gerekli olduğunu da göstermişlerdir (Chen vd., 1982). Aynı araştırmada, çalışılan genotiplerin erken büyüme evresinde test edilen yaprak dokularının uyum sıcaklığına (örneğin, 12 ile 24 saat için 35°C) maruz kalmaları ile yüksek sıcaklığa uyum sağladıkları gösterilmiştir. Heterojen bir populasyonun gen ifadesindeki genetik çeşitlilik, şiddetli letal stres uygulamasından önce uygulanan subletal stresin canlılığı sürdürme ve zarardan kurtulma farklılığını ortaya koymasından kaynaklanır (Kumar vd., 1999). Optimum sıcaklığın üzerindeki sıcaklıklarda üründe azalmayı engellemek için yüksek sıcaklığa toleranslı varyetelerin ıslah edilmesi zorunludur. Sıcaklık toleransı ile ilgili ıslah çalışmalarında germplazm ve ayrılan populasyonları araştırmak için uygun tekniklerin olmayışı en büyük zordur (Kumar vd., 1999). Doğal koşullarda bitkiye zarar vermeyen stres genellikle kademeli olarak cereyan

eder ve bitkiler şiddetli strese maruz kalmadan önce subletal bir strese maruz kalırlar. Bu olay, birçok araştırmacı tarafından 'termal tolerans' olarak ifade edilmiştir (Lin vd., 1984; Lindquist ve Craig, 1988; Blumenthal vd., 1990; Kumar vd., 1999). Subletal stres sırasında, stres toleransına ilişkin bazı fizyolojik ve biyokimyasal işlevleri başlatan birçok strese-tepki genleri ifade edilmektedir. Termal toleransta SŞP'lerin rolünü ortaya koymada genellikle yalnızca subletal stres sırasında meydana gelen sıcaklık şoku genlerinin optimum ifadesini belirlemek için bir ön uygulama şarttır (Kumar vd., 1999). Wang vd. (2003), kazanılan termal toleransın, SŞP'lerin yanı sıra diğer strese cevap mekanizmaları ile de ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (Şekil 1). Bitkilerde termal tolerans, hücrel zararın engellenmesi ve homeostasisin yeniden oluşumunu sağlayan strese cevap mekanizmalarının koordineli ve sinerjistik olarak çalışması ile kazanılmaktadır (Wang vd., 2003). Örneğin, moleküler şaperonlar olarak görev yapan SŞP'ler, hücrel redoks düzeyinin düzenlenmesinin yanı sıra stres sinyali transdüksiyon ve gen aktivasyonunda da rol oynamaktadırlar (Arrigo, 1998; Ellen vd., 2002). Bununla birlikte, ozmolitler (Viner ve Clegg, 2001) ve antioksidantlar (Rossel vd., 2002) gibi diğer stres cevap mekanizmaları ile de etkileşim halindedirler (Şekil 1). Bazı şiddetli stres uygulamaları, toleranslı olarak bilinen genotiplerde/türlerde optimum subletal stres uygulamaksızın direkt olarak şiddetli strese maruz kalan bitkilerde incelenmiştir (Lin vd., 1984; Krishnan vd., 1989; Blumenthal vd., 1990; Uma vd., 1995; Kumar vd., 1999). Krishnan vd. (1989), 37°C'de ön-uyum sıcaklığını (subletal) takiben 50°C'de (letal sıcaklık) sıcaklık toleransı açısından buğdayda genetik çeşitliliğin olduğunu göstermişlerdir. Darı ve pirinç genotiplerinin fidelerinde stres toleransı ve stres proteinleri arasındaki ilişki subletal stresi takiben letal stres uygulamasında belirlenmiştir (Jayaprakash vd., 1998). Strese tepkide genetik çeşitliliğin sadece subletal streste ifade edildiğini ve SŞP'lerin farklı birikiminin eşlik ettiği bildirilmiştir (Krishnan vd., 1989; Jorgensen vd., 1992). Bitki normal büyüme sıcaklığında bir süre bırakıldıktan sonra yüksek sıcaklığın kısa bir periyoduna [örneğin, fasulye bitkisinin 45°C'de birkaç dakika veya 50°C'ye 30 saniye maruz kalması (Yarwood, 1961)] maruz kaldıktan sonra öldürücü yüksek sıcaklık uygulamasından korunur. Kimpel ve Key (1985 b), 45°C'de 2-10 dakikalık yüksek sıcaklık şoku uygulamasının SŞP'lerin sentezini başlattığını bildirmişlerdir. 40°C'de YSS'den sonra bitkiler 28°C'ye tekrar alındığında SŞP'lerin sentezi azalmaz. SŞP'lerin sentezi 28°C'de yaklaşık 2-3 saat içinde yüksek seviyelerde devam eder ve 2-4 saatten sonra yavaş yavaş azalır. Kabul ettikleri hipotez ise bir kez YSS'ye tepki başlatıldığında SŞP'lerin birikimi bitki hücreleri tarafından kantitatif olarak kontrol edilir. Yeterli düzeyde SŞP'ler, bunların koruyucu fonksiyonlarını karşılamak için hücrede mevcut olduğu za-



Şekil 1. Bitkilerde stres toleransının kazanılmasında sıcaklık şoku proteini (SŞP)/şaperon ağı ve diğer strese cevap mekanizmaları arasındaki ilişki (Wang vd., 2004'den değiştirilerek alınmıştır).

man SŞP sentezi durur. Bu hipotezlerini, 40°C'de uzun süreli YSS uygulaması sırasında SŞP'lerin sentezinin 3-4 saat sonra azalması ve yaklaşık 6 saat sonra belirlenmemesi ile desteklemiştir.

Yüksek sıcaklığa hücrel dayanıklılık ile SŞP ifadesi arasındaki ilişki ile birlikte SŞP'lerin ve YSS tepkisinin evrimsel korunması uzun süredir varolan hipotezlere destek sağlar. Bu hipotezler, SŞP'ler yüksek sıcaklığın zararlı etkilerinden hücreleri korur ve SŞP'lerin birikimi termal toleransın artmasına neden olur. SŞP'lerin böyle koruma etkisi ile ilgili mekanizma detaylı olarak belirlenmemiştir; fakat önemli son veriler birçok SŞP'nin "moleküler şaperonlar" olarak fonksiyon gördüğünü göstermektedir. Birçok veri SŞP 100, 90, 70 ve 60'ın moleküler şaperon aktivitesine sahip olduğu ve kSŞP'lerin de şaperon modelinde etkili olabileceği hipotezini ortaya koymaktadır (Waters vd., 1996; Wang vd., 2004). Moleküler şaperonların strese karşı hücrel tepkide ve protein sentezinde, membranlardan protein transportu gibi hücrel homeostatik fonksiyonlarında önemli olduğu bildirilmiştir (Sarto vd., 2000; Wang vd., 2004). Aynı araştırmacılar, SŞP 90'ın stresten sonra sitoplazmik iskeletin (mikrotübül ve aktin filamentleri) korunmasında ve mitoz, transkripsiyon gibi farklı nükleus fonksiyonlarına katılan farklı proteinleri bağladıklarını bildirmişlerdir. Bitki kSŞP'lerinin yüksek sıcaklık şoku ile teşvik edilmiş kümelenmesinin proteinlerin korunmasını sağladığı ilk defa Lin vd. (1984) tarafından ileri sürülmüştür. kSŞP'lerin birçok bitki hücre organeline bulunması ve birçok substratla etkileşiminden dolayı çeşitli koruma etkilerinin olması bunların şaperon olabileceği fikrini vermiştir. Nover

vd. (1989), kSŞP'lerin yüksek sıcaklık sırasında translasyona uğramayan normal hücrel mRNA'ları koruduğunu ileri sürmüşlerdir. Sitoplazmik kSŞP moleküler şaperonlarının stres toleransı, hücre büyüme ve farklılaşması, mikrofilament organizasyonu ve kısmen denatüre olmuş polipeptidlerin renatürasyonunu arttırmada önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Sarto vd., 2000). Moleküler şaperonlar, kısmen katlanmış veya kısmen denatüre olmuş substrat proteinlerini bağlayan proteinlerdir ve bu suretle, dönüşümsüz kümelenme oluşumunu veya substratın direkt katlanmasını engeller (Hendrick ve Hartl, 1993; Lvery ve Gierasch, 1994; Hartl, 1996). Şaperonlara substratın bağlanması, membranları ve diğer metabolik basamakları geçerek protein translokasyonunu kolaylaştırmak için substratın katlanmamış bir yapıda kalmasını sağlayabilir. Yüksek sıcaklık stresi sırasında SŞP'lerin stresi takiben protein reaktivasyonunu kolaylaştırdığı veya yüksek sıcaklıkla denatüre olmuş protein kümelerinin birikimini önlediği düşünülmektedir. Her iki aktivite için kanıt birkaç sistemde elde edilmiştir (Parsell ve Lindquist, 1993; Parsell vd., 1994).

4. YÜKSEK SICAKLIK STRESİ İLE BAZI ÇEVRESEL STRESLER ARASINDAKİ İLİŞKİLER

Bitki gelişimini etkileyen fiziksel, kimyasal veya biyolojik streslerin çoğu bir noktada birbirleriyle ilişkilidir. Farklı stresler arasındaki sıkı ilişkiler, yaygın stres metabolitleri ve/veya proteinlerinin artan sentezinin yanı sıra olumsuz etkilenen ribozom biyosentezi, polizom bozulması ve tekrar oluşumu,

tilakoid membranların fonksiyonu, SH grubu içeren proteinler ve muhtemelen sitoiskelet sisteminde belirlenmiştir (Nover vd., 1989). Ağır metaller, birçok okside edici bileşikler, SH-reaktif kimyasallar (diamid, p-kloromerküri benzoat, N-etilmaleimid), YSS veya ultraviyole (UV) ışığı SH grubu içeren proteinlerin yapısı ve fonksiyonunu olumsuz etkiler. Bu sınıftaki birçok stres faktörü SŞP sentezinin teşvikçileri olarak karakterize edilmiştir (Nover vd., 1989).

Su stresi yüksek sıcaklık, üşütme, donma, osmotik ve tuz stresinden kaynaklanabilir. Absisik asit içeriğindeki artış, tüm su stresi durumlarında gözlenmiştir. Absisik asit, mısır mezokotillerinde SŞP 70 mRNA'nın sentezini artırır (Heikkila vd., 1984). YSS ve su stresinin etkisi, tarlada yetiştirilen veya deneysel olarak araştırılan pamuk ve soya fasulyesinde sıcaklık şoku genlerinin artan ifadesiyle belirlenmiştir (Burke vd., 1985; Kimpel ve Key, 1985b).

Bazı araştırmacılar yüksek sıcaklık ve soğuk uyum sıcaklığının farklı protein sentezine neden olduğu ileri sürerlerken (Guy vd., 1985; Ougham, 1987), diğer bir grup her iki stres sırasında sentezlenen proteinlerin elektroforetik olarak tamamen benzer olduğunu bildirmiştir (Yacoob ve Filion, 1986).

Bitkilerde oksidatif stres yüksek ve düşük sıcaklık, aşırı ışıklandırma, ağır metaller veya nitrat toksisitesi, su eksikliği, osmotik stres gibi faktörlerin sekonder etkisidir. Tüm organizmalarda yaygın koruyucu mekanizmalar, enzimatik antioksidant (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, alkil hidroperoksit redüktaz gibi enzimlerin sentezi) ve non-enzimatik antioksidant (glutatyon vs.) savunma sistemleri ile sağlanmaktadır (Nieto-Sotelo ve Ho, 1986; Omar vd., 1987). Bitkilerde örneğin, stomanın kapanması nedeniyle ışıkla teşvik edilmiş yüksek enerjinin normal kullanımı bloklandığı zaman tüm koşullarda kloroplastlarda oksidatif stres artar. Benzer etkilere sahip diğer okside ajanlar 1-kloro-2,4-dinitrobenzen, diamid, t-bütül hidroperoksit, N-etilmaleimid, iyodoasetamid, kadmiyum klorid ve kinon çeşitleridir. Bitkilerde yüksek sıcaklık şoku ve oksidatif stres arasındaki ilişki her iki streste SŞP'lerin gözlenmesinden ileri gelir. SŞP teşviki anaerobik koşullar altında da devam eder.

Poliaminlerin artan oksidatif taşınımı, hidrojen peroksit ve aldehitlerin toksik seviyelerde birikmesine ve glutatyonun tükenmesine neden olur. Dışsal spermin veya spermidin ilavesiyle yüksek sıcaklık şoku koşullarındaki hücrelerin canlılığını sürdürme yeteneği azalır (Gerner vd., 1980).

Bitkiler hücre içi metallerin optimum düzeylerini korumak için henüz tam olarak anlaşılmayan homeostatik mekanizmalara sahiptir. Metallerle karşı toleransın artmasına ilişkin mekanizmalardan biri, bitki sistemlerinde bakır, çinko ve kadmiyum tarafından teşvik edilen ve bitki şelatınları olarak adlandırılan

glutatyonun düz zincir polimerlerinin oluşumu olabilir. Bitki şelatınları (fitoşelatınler), metal iyonları için birden çok bağlama bölgelerine sahip olan hücre içi şelatörlerdir. Metallerin uzaklaştırılmasında bitki şelatınlarının fonksiyonu metal-tiyolatların koordinasyonları yoluyla (Grill vd., 1985). Termal olarak kazanılmış metal toleransını kapsayan bir koruyucu sistem olarak görev yapan bitki şelatınları, yüksek sıcaklık şok uygulaması ile sentezlenmiş olabilir. Organizmalar bir mikro besin maddesi olarak kadmiyuma gereksinim duymamalarına rağmen hücreyi korumak için kadmiyum bağlı proteinler (Cd-protein) oluşturma yeteneğine sahiptirler (Rausser, 1990). Termal olarak kazanılmış metal toleransı için bir diğer mekanizma, düşük moleküler ağırlıklı sıcaklık şoku proteinlerinin sentezlenmesinde özgül metallerin rol alması ile ilişkili olabilir (Schöffl vd., 1986). Czarnačka vd. (1984), etiyole soya fasulyesi dokusu-nun kadmiyum ile inkübasyonu sonucu özgül düşük moleküler ağırlıklı sıcaklık şoku proteinleri için mRNA sentezlendiğini göstermişlerdir. Arsenit, bakır gibi metaller de benzer bir etkiye neden olmaktadır. Diğer ökaryotik sistemlerde de yüksek sıcaklık ile teşvik edilen proteinlerin çinko, civa, bakır ve kadmiyum ön uygulaması ile teşvik edilen proteinler ile benzer elektroforetik davranışlar gösterdikleri bildirilmiştir (Rausser, 1990). Orzech ve Burke (1988), yüksek sıcaklık şokuna maruz kalan ekmeklik buğday çeşidinin yaprak segmentlerinde metal toksisitesine karşı toleransta önceden uygulanan sıcaklık uygulamalarının olumlu bir etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Anaerobik stres ile teşvik edilmiş proteinler, SŞP'ler ile ilişkili değildir (Kelley ve Freeling, 1982). Fakat yüksek sıcaklık şokuna benzer olarak anaerobik tepki, soya fasulyesi köklerindeki polizomların oluşumlarının geciktirilmesi ile belirlenmiştir (Lin ve Key, 1967).

Sıcak çevre koşullarında, gen kaynağı geliştirmede fizyolojik ve biyokimyasal seçim kriterlerinin potansiyel kullanımı ve özellikle kalıtılabilir termal toleransta sıcaklık şoku genleri ve proteinlerinin belirlenmesi ve karakterize edilmesi, yani genomik ve proteomik çalışmaların yapılması zorunludur. Genomlar bir hücrenin proteomik potansiyelini ifade eder (Newton vd., 2004). Proteomik çalışmalar, bir genom tarafından ifade edilen proteinlerin primer amino asit sekanslarının karakterize edilmesinden proteinlerin nispi miktarlarının belirlenmesi, diğer proteinlerle veya farklı tip moleküllerle ilişkisi ve proteinlerin modifikasyon durumlarına kadar olan sistemik analizlerini kapsamaktadır (Barbier-Brygoo ve Joyard, 2004). Her hücrenin metabolik durumunun ve hücre-içi ve hücre-dışı sinyal moleküllerinin algılamasının değişmesi ve ekspresye edilen birçok proteinin translasyon sonrası değişimlere uğraması nedeniyle bir hücrenin proteomunun karakterize edilmesi oldukça uzun zaman almaktadır (Newton vd., 2004). Bir proteomik analiz çalışmasında, abiyotik streslere toleranslı ve duyarlı bitki çeşitlerinde yüksek sıcaklık stresinin sonucu olarak eks-

prese edilen proteinlerin iki-yönlü poliakrilamid jel elektroforez (2D-PAGE) ile profilendirilmesi ve ilginç olan protein beneklerinin karakterize edilmesi kütle spektrometresi (MS, mass spectrometry) kullanılarak yapılmış ve elde edilen protein sekans verileri mevcut veri tabanları ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, yüksek sıcaklık toleransından sorumlu proteinler karakterize edilmiş ve bu proteinlerin ıslah programlarında potansiyel markörler olarak kullanılacakları bildirilmiştir (Süle vd., 2004). Sonuç olarak, bitki sistemlerinin stres toleranslarının tanımlanmasında çok önemli bilgiler sağlayacak olan proteomik çalışmalara ağırlık verilmesi kaçınılmazdır.

KAYNAKÇA

- Abernethy, R.H., Thiel, D.S., Petersen, N.S. ve Helm, K. (1989). Thermotolerance is developmentally dependent in germinating wheat seed. *Plant Physiology* 89, 569-576.
- Al-Khatib, K. ve Paulsen, G.M. (1989). Enhancement of thermal injury to photosynthesis in wheat plants and thylakoids in high light intensity. *Plant Physiology* 90, 1041-1048.
- Arrigo, A.P. (1998). Small stress proteins: chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death. *Biological Chemistry* 379, 19-26.
- Barbier-Brygoo, H. ve Joyard, J. (2004). Focus on plant proteomics. *Plant Physiology and Biochemistry* 42, 913-917.
- Bernacchi, C.J., Portis, A.R., Nakano, H., von Caemmerer, S. ve Long, S.P. (2002). Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis in vivo. *Plant Physiology* 130, 1992-1998.
- Berry, J. ve Björkman, O. (1980). Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 31, 491-543.
- Blumenthal, C., Bekes, F., Wrigley, C.W. ve Barlow, E.W.R. (1990). The acquisition and maintenance of thermotolerance in Australian wheats. *Australian Journal of Plant Physiology* 17, 37-47.
- Boston, R.S., Viitanen, P.V. ve Vierling, E. (1996). Molecular chaperones and protein folding in plants. *Plant Molecular Biology* 32, 191-222.
- Burke, J.J., Hatfield, J.L., Klein, R.R. ve Mullet, J.E. (1985). Accumulation of heat shock proteins in field-grown cotton. *Plant Physiology* 78, 394-398.
- Burke, J.J., Mahan, J.R. ve Hatfield, J.L. (1988). Crop-specific thermal kinetic windows in relation to wheat and cotton biomass production. *Agronomy Journal* 80(4), 553-556.
- Burke, J.J., O'Mahony, P.J. ve Oliver, M.J. (2000). Isolation of Arabidopsis mutants lacking components of acquired thermotolerance. *Plant Physiology* 123, 575-587.
- Camejo, D., Rodriguez, P., Morales, M.A., Dell'Amico, J.M., Torrecillas, A. ve Alarcon, J.J. (2005). High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *Journal of Plant Physiology* 162, 281-289.
- Cao, J. ve Govindjee (1990). Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1015, 180-188.
- Chen, H-H., Shen, Z-Y. ve Li, P.H. (1982). Adaptability of crop plants to high temperature stress. *Crop Science* 22, 719-725.
- Chen, Q., Lauzon, L.M., DeRocher, A.E. ve Vierling, E. (1990). Accumulation, stability, and localization of a major chloroplast heat-shock protein. *The Journal of Cell Biology* 110, 1873-1883.
- Chou, M., Chen, Y.M. ve Lin, C.Y. (1989). Thermotolerance of isolated mitochondria associated with heat shock proteins. *Plant Physiology* 89, 617-621.
- Cooper, P. ve Ho, T-H.D. (1983). Heat shock proteins in maize. *Plant Physiology* 71, 215-222.
- Cooper, P., Ho, T-H.D. ve Hauptmann, R.M. (1984). Tissue specificity of the heat-shock response in maize. *Plant Physiology* 75, 431-441.
- Cooper, P. ve Ho, T-H.D. (1987). Intracellular localization of heat-shock proteins in maize. *Plant Physiology* 84, 1997-1203.
- Crafts-Brandner, S.J. ve Law, R.D. (2000). Effect of heat stress on the inhibition and recovery of the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase activation state. *Planta* 212, 67-74.
- Cui, L., Jianlong, L.I., Fan, Y., Xu, S. ve Zhang, Z. (2006). High temperature effects on photosynthesis, PSII functionality and antioxidant activity of two Festuca arundinaceae cultivars with different heat susceptibility. *Botanical Studies* 47, 61-69.
- Czarnecka, E., Edelman, L., Schöffl, F. ve Key, J.L. (1984). Comparative analysis of physical stress responses in soybean seedlings using cloned

- heat shock cDNAs. *Plant Molecular Biology* 3, 45-58.
- Dekov, I., Tsonev, T. ve Yordanov, I. (2000). Effects of water stress and high-temperature stress on the structure and activity of photosynthetic apparatus of *Zea mays* and *Helianthus annuus*. *Photosynthetica* 38(3), 361-366.
- DeRocher, A.E., Helm, K.W., Lauzon, L.M. ve Vierling, E. (1991). Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat shock proteins during heat stress and recovery. *Plant Physiology* 96, 1038-1047.
- Diepenbrock, W., Muller-Rehbehn, A. ve Sattelmacher, B. (1989). FA composition of root membrane lipids from 2 potatoes (*S. tuberosum* L.) genotypes differing in heat tolerance as affected by supraoptimal root-zone temperature. *Agrochimica* 33, 478-486.
- Ellen, A.A., Nollen, E.A. ve Morimoto, R.I. (2002). Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing 'heat-shock' proteins. *Journal of Cell Science* 115, 2809-2816.
- Ellis, J. (1987). Proteins as molecular chaperones. *Nature* 328, 378-379.
- Enami, I., Kitamura, M., Tomo, T., Isokawa, Y., Ohta, H. ve Katch, S. (1994). Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PS II membranes release of the extrinsic 33 kDa protein or of Mn?. *Biochimica et Biophysica Acta* 1186, 52-58.
- Feller, U., Crafts-Brandner, S.J. ve Salvucci, M.E. (1998). Moderately high temperatures inhibit ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase (Rubisco) activase-mediated activation of Rubisco. *Plant Physiology* 116, 539-546.
- Ferguson, D.L., Guikema, J.A. ve Paulsen, G.M. (1990). Ubiquitin pool modulation and protein degradation in wheat roots during high temperature stress. *Plant Physiology* 92, 740-746.
- Finley, D., Ozkaynak, E. ve Varshavsky, A. (1987). The yeast polyubiquitin gene is essential for resistance to high temperatures, starvation and other stresses. *Cell* 48, 1035-1046.
- Frydman, J. (2001). Folding of newly translated proteins in vivo: the role of molecular chaperones. *Annual Review of Biochemistry* 70, 603-647.
- Gallie, D.R., Le, H., Caldwell, C., Tanguay, R.L., Hoang, N.X. ve Browning, K.S. (1997). The phosphorylation state of translation initiation factors is regulated developmentally and following heat shock in wheat. *The Journal of Biological Chemistry* 272(2), 1046-1053.
- Gerner, E.W., Holmes, D.K., Stickney, D.G., Noterman, J.A. ve Fuller, D.J.M. (1980). Enhancement of hyperthermia-induced cytotoxicity by polyamines. *Cancer Research* 40, 432-438.
- Glaczinski, H. ve Kloppstech, K. (1988). Temperature-dependent binding to the thylakoid membranes of nuclear-coded chloroplast heat-shock proteins. *European Journal of Biochemistry* 173, 579-583.
- Grill, E., Winnacker, E.L. ve Zenk, M.H. (1985). Phytochelatins: The principal heavy metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230, 674-676.
- Grover, A., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Sahi, C. ve Agarwal, S. (2000). Production of high temperature tolerant transgenic plants through manipulation of membrane lipids. *Current Science* 79(5), 557-559.
- Gusta, L.V. ve Chen, T.H.H. (1987). The physiology of water and temperature stress. Wheat and Wheat Improvement, Ed: E.G. Heyne, 2nd ed., Agron. Monogr. 13. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, ss.115-151.
- Guy, C.L., Niemi, K.J. ve Brambl, R. (1985). Altered gene expression during cold acclimation of spinach. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 82, 3673-3677.
- Guy, C.L. ve Li, Q.B. (1998). The organization and evolution of the spinach stress 70 molecular chaperone gene family. *The Plant Cell* 10, 539-556.
- Hartl, F.U. (1996). Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 381, 571-580.
- Hatfield, J.L. (1979). Canopy temperatures: The usefulness and reliability of remote measurements. *Agronomy Journal* 71, 889-892.
- Heckathorn, S.A., Downs, C.A., Sharkey, T.D. ve Coleman, J.S. (1998). The small, methionine-rich chloroplast heat-shock protein protects photosystem II electron transport during heat stress. *Plant Physiology* 116, 439-444.
- Heckathorn, S.A., Downs, C.A. ve Coleman, J.S. (1999). Small heat shock proteins protect electron transport in chloroplasts and mitochondria during stress. *American Zoologist* 39, 865-876.
- Heikkila, J.J., Papp, J.E., Schultz, G.A. ve Bewley, J.D. (1984). Induction of heat shock protein messenger RNA in maize mesocotyls by water stress, abscisic acid, and wounding. *Plant Physiology* 76, 270-274.

- Hemmingsen, S.M. ve Ellis, R.J. (1986). Purification and properties of ribulosebiphosphate carboxylase large subunit binding protein. *Plant Physiology* 80, 269-276.
- Hendershot, K.L., Weng, J. ve Nguyen, H.T. (1992). Induction temperature of heat-shock protein synthesis in wheat. *Crop Science* 32, 256-261.
- Hendrick, J.P. ve Hartl, F-U. (1993). Molecular chaperone functions of heat shock proteins. *Annual Review of Biochemistry* 62, 349-384.
- Hershko, A. (1988). Ubiquitin-mediated protein degradation. *Journal of Biological Chemistry* 263, 15237-15240.
- Holloway, P.J. ve Arundel, P.H. (1988). High-resolution two-dimensional electrophoresis of plant proteins. *Analytical Biochemistry* 172, 8-15.
- Horvath, I., Glatz, A., Varvasovszki, V., Torok, Z., Pali, T., Balogh, G., Kovacs, E., Nadasdi, L., Benko, S. ve Joo, F. (1998). Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: identification of hsp17 as a fluidity gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 95, 3513-3518.
- Jayaprakash, T.L., Ramamohan, G., Krishna Prasad, B.T., Ganesh Kumar Prasad, T.G. ve Udayakumar, M. (1998). Genotypic variation in differential expression of LEA2 and LEA3 genes and proteins in finger millet and rice seedlings systems. *Annals of Botany* 83, 513-522.
- Jorgensen, J.A., Weng, J., Ho, T-H.D. ve Nguyen, H.T. (1992). Genotypic-specific heat-shock proteins in two maize inbreds. *Plant Cell Reports* 11, 576-580.
- Kelley, P.M. ve Freeling, M. (1982). A preliminary comparison of maize anaerobic and heat shock proteins. ss. 315-319. In: MJ Schlesinger vd., (eds.), *Heat Shock from Human to Bacteria*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Kim, B.H. ve Schöffl, F. (2002). Interaction between *Arabidopsis* heat shock transcription factor 1 and 70 kDa heat shock proteins. *Journal of Experimental Botany* 53, 371-375.
- Kimpel, J.A. ve Key, J.L. (1985a). Heat shock in plants. *Trends in Biochemical Sciences* 11, 353-357.
- Kimpel, J.A. ve Key, J.L. (1985b). Presence of heat shock mRNAs in field grown soybeans. *Plant Physiology* 79, 672-678.
- Kimpel, J.A., Nagao, R.T., Goekjian, V. ve Key, J.L. (1990). Regulation of the heat shock response in soybean seedlings. *Plant Physiology* 94, 988-995.
- Klueva, N.Y., Maestri, E., Marmiroli, N. ve Nguyen, H.T. (2001). Mechanisms of thermotolerance in crops. *Crop Responses and Adaptations to Temperature Stress*, Ed: A.S. Basra, ss.177-217, Food Products Press, Binghamton, NY.
- Krishna, P. ve Gloor, G. (2001). The Hsp90 family of proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress Chaperones* 6, 238-246.
- Krishnan, M., Nguyen, H.T. ve Burke, J.J. (1989). Heat shock protein synthesis and thermal tolerance in wheat. *Plant Physiology* 90, 140-145.
- Kumar, G., Krishnaprasad, B.T., Savitha, M., Gopalakrishna, R., Mukhopadhyay, K., Ramamohan, G. ve Udayakumar, M. (1999). Enhanced expression of heat-shock proteins in thermotolerant lines of sunflower and their progenies selected on the basis of temperature-induction response. *Theoretical and Applied Genetics* 99, 359-367.
- Kunst, L., Browse, J. ve Somerville, C. (1989a). Enhanced thermal tolerance in a mutant of *Arabidopsis* deficient in palmitic acid unsaturation. *Plant Physiology* 91, 401-408.
- Kunst, L., Browse, J. ve Somerville, C. (1989b). A mutant of *Arabidopsis* deficient in desaturation of palmitic acid in leaf lipids. *Plant Physiology* 90, 943-947.
- Lee, J.H. ve Schöffl, F. (1996). An Hsp70 antisense gene affects the expression of HSP70/HSC70, the regulation of HSF and the acquisition of thermotolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Molecular and General Genetics* 252, 11-19.
- Lee, G.J. ve Vierling, E. (2000). A small heat shock proteins cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein. *Plant Physiology* 122, 189-197.
- Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stress. Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses, Vol I, 497 s, 2nd Ed., Academic Press, New York.
- Lin, C-Y. ve Key, J.L. (1967). Dissociation and reassembly of polyribosomes in relation to protein synthesis in the soybean root. *Journal of Molecular Biology* 26, 237-247.
- Lin, C-Y., Roberts, J.K. ve Key, J.L. (1984). Acquisition of thermotolerance in soybean seedlings.

- Synthesis and accumulation of heat shock proteins and their cellular localization. *Plant Physiology* 74, 152-160.
- Lin, B.L., Wang, J.S., Liu, H.C., Chen, R.W., Meyer, Y., Barakat, A. ve Delseny, M. (2001). Genomic analysis of the Hsp70 superfamily in *Arabidopsis thaliana*. *Cell Stress Chaperones* 6, 201-208.
- Lindquist, S. (1986). The heat-shock response. *Annual Review of Biochemistry* 55, 1151-1191.
- Lindquist, S. ve Craig, E.A. (1988). The heat-shock proteins. *Annual Review of Genetics* 22, 631-637.
- Lvery, S.J. ve Gierasch, L.M. (1994). Polypeptide interactions with molecular chaperones and their relationship to in vivo protein folding. *Plant Physiology* 122, 189-197.
- Mansfield, M.A. ve Key, J.L. (1987). Synthesis of the low molecular weight heat shock proteins in plants. *Plant Physiology* 84, 1007-1017.
- Mariamamma, M., Muthukumar, B., Veluthambi, K., ve Gnanam, A. (1997). Effects of high temperature stress on the expression of low molecular weight heat shock proteins in rice leaves. *Journal of Plant Physiology* 151, 763-765.
- Martineau, J.R., Specht, J.E., Williams, J.H., ve Sullivan, C.Y. (1979). Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability. *Crop Science* 19, 75-78.
- McCourt, P., Kunst, L., Browse, J. ve Somerville, C.R. (1987). The effects of reduced amounts of lipid unsaturation on chloroplast ultrastructure and photosynthesis in a mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 84, 353-360.
- Mishra, S.K., Tripp, J., Winkelhaus, S., Tschiersch, B., Theres, K., Nover, L. ve Scharf, K.D. (2002). In the complex family of stress transcription factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato. *Genes and Development* 16, 1555-1567.
- Mogk, A., Tomoyasu, T., Goloubinoff, P., Rüdiger, S., Röder, D., Langen, H. ve Bukau, B. (1999). Identification of thermolabile *Escherichia coli* proteins: prevention and reversion of aggregation by DnaK and ClpB. *EMBO Journal* 18(24), 6934-6949.
- Morimoto, R.I. (1998). Regulation of the heat shock transcriptional response: Cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes and Development* 12, 3788-3796.
- Mullarkey, M. ve Jones, P. (2000). Isolation and analysis of thermotolerant mutants of wheat. *Journal of Experimental Botany* 51(342), 139-149.
- Necchi, A., Pogna, N.E. ve Mapelli, S. (1987). Early and late heat shock proteins in wheats and other cereal species. *Plant Physiology* 84, 1378-1384.
- Newton, R.P., Brenton, A.G., Smith, C.J. ve Dudley, E. (2004). Plant proteome analysis by mass spectrometry: principles, problems, pitfalls and recent developments. *Phytochemistry* 65, 1449-1485.
- Nieto-Sotelo, J. ve Ho, T-H.D. (1986). Effect of heat shock on the metabolism of glutathione in maize roots. *Plant Physiology* 82, 1031-1035.
- Nover, L. ve Scharf, K-D. (1984). Synthesis, modification and structural binding of heat-shock proteins in tomato cell cultures. *European Journal of Biochemistry* 139, 303-313.
- Nover, L., Neumann, D. ve Scharf, K-D. (1989). Heat shock and other stress response systems of plants. Results and Problems in Cell Differentiation. Vol.16, ss. 1-155, Springer-Verlag.
- Omar, R.A., Yano, S. ve Kikkawa, Y. (1987). Antioxidant enzymes and survival of normal and Simian virus 40-trans-formed mouse embryo cells after hyperthermia. *Cancer Research* 47, 3473-3476.
- Orzech, K.A. ve Burke, J.J. (1988). Heat shock and the protection against metal toxicity in wheat leaves. *Plant, Cell and Environment* 11, 711-714.
- Ougham, H.J. (1987). Gene expression during leaf development in *Lolium temulentum*: Patterns of protein synthesis in response to heat-shock and cold-shock. *Physiologia Plantarum* 70, 479-484.
- Ougham, H.J. ve Stoddart, J.L. (1986). Synthesis of heat-shock protein and acquisition of thermotolerance in high-temperature tolerant and high-temperature susceptible lines of Sorghum. *Plant Science* 44, 163-167.
- Parker, C.S. ve Topol, J. (1984). A *Drosophila* RNA polymerase II transcription factor binds to the regulatory site of an hsp 70 gene. *Cell* 37, 273-283.
- Parsell, D.A. ve Lindquist, S. (1993). The function of heat shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of proteins. *Annual Review of Genetics* 27, 437-496.

- Parsell, D.A., Kowal, A.S., Singer, M.A. ve Lindquist, S. (1994). Protein disaggregation mediated by heat-shock protein Hsp 104. *Nature* 372, 475-478.
- Pearcy, R.W., Berry, J.A. ve Fork, C. (1977). Effects of growth temperature on the thermal stability of the photosynthetic apparatus of *Atriplex lentiformis* (Torr.) Wats. *Plant Physiology* 59, 873-878.
- Pelham, H.R.B. (1986). Speculations on the functions of major heat shock and glucose regulated proteins. *Cell* 46, 959-961.
- Portis, A.R. (2003). Rubisco activase: Rubisco's catalytic chaperone. *Photosynthesis Research* 75, 11-27.
- Preczewski, P.J., Heckathorn, S.A., Downs, C.A. ve Coleman, J.S. (2000). Photosynthetic thermotolerance is quantitatively and positively correlated with production of specific heat-shock proteins among nine genotypes of *Lycopersicon* (tomato). *Photosynthetica* 38, 127-134.
- Ranson, N.A., White, H.E. ve Saibil, H.R. (1998). Chaperonins. *Biochemical Journal* 333, 233-242.
- Rausser, W.E. (1990). Phytochelatins. *Annual Review of Biochemistry* 59, 61-86.
- Rossel, J.B., Wilson, I.W. ve Pogson, B.J. (2002). Global changes in gene expression in response to high light in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 130, 1109-1120.
- Roy, H. (1989). Rubisco assembly: A model system for studying the mechanism of chaperonin action. *The Plant Cell* 1, 1035-1042.
- Sachs, M.M. ve Ho, T-H.D. (1986). Alteration of gene expression during environmental stress in plants. *Annual Review of Plant Physiology* 37, 363-376.
- Saini, H.S. ve Aspinall, D. (1982). Abnormal sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by short period of high temperature. *Annals of Botany* 49, 835-846.
- Saini, H.S., Sedgley, M. ve Aspinall, A. (1983). Effect of heat stress during floral development on pollen tube growth and ovary anatomy in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Plant Physiology* 10, 137-144.
- Salvucci, M.E. ve Crafts-Brandner, S.J. (2004). Mechanism for deactivation of rubisco under moderate heat stress. *Physiologia Plantarum* 122, 513-519.
- Sanchez, Y. ve Lindquist, S.L. (1990). HSP104 required for induced thermotolerance. *Science* 248, 1112-1115.
- Sanmiya, K., Suzuki, K., Egawa, Y. ve Shono, M. (2004). Mitochondrial small heat shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants. *Federation of European Biochemical Societies* 557, 265-268.
- Sarto, C., Binz, P-A. ve Mocarelli, P. (2000). Heat shock proteins in human cancer. *Electrophoresis* 21, 1218-1226.
- Schöffl, F., Baumann, G., Raschke, E. ve Bevan, M. (1986). The expression of heat shock genes in higher plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 314, 453-468.
- Schöffl, F., Prändl, R. ve Reindl, A. (1998). Regulation of the heat-shock response. *Plant Physiology* 117, 1135-1141.
- Setimela, P.S., Andrews, D.J., Partridge, J. ve Eskridge, K.M. (2005). Screening sorghum seedlings for heat tolerance using a laboratory method. *European Journal of Agronomy* 23, 103-107.
- Simões-Araújo, L.J., Rumjanek, N.G. ve Margis-Pinheiro, M. (2003). Small heat shock proteins genes are differentially expressed in distinct varieties of common bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 15, 33-41.
- Skylas, D.J., Cordwell, S.J., Hains, P.G., Larsen, M.R., Basseal, D.J., Walsh, B.J., Blumenthal, C.S., Rathmell, W., Copeland, L. ve Wrigley, C.W. (2002). Heat shock of wheat during grain filling: Proteins associated with heat-tolerance. *Journal of Cereal Science* 35, 175-188.
- Smirnoff, N. (1998). Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology* 9, 214-219.
- Stone, P.J. ve Nicolas, M.E. (1995). A survey of the effects of high temperature during grain filling on yield and quality of 75 wheat cultivars. *Australian Journal of Agricultural Research* 46, 475-492.
- Sun, W., Motangu, M.V. ve Verbruggen, N. (2002). Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. *Biochimica et Biophysica Acta* 1577, 1-9.
- Sung, D-Y., Kaplan, F., Lee, K-J. ve Guy, C.L. (2003). Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Sciences* 8, 179-187.

- Süle, A., Vanrobaeys, F., Hajos, Gy., Van Beeumen, J. ve Devreese, B. (2004). Proteomic analysis of small heat shock protein isoforms in barley shoots. *Phytochemistry* 65, 1853-1863.
- Thompson, L.K., Blaylock, R., Sturtevant, J.M. ve Brudvig, G.W. (1989). Molecular basis of heat denaturation of photosystem II. *Biochemistry* 28, 6686-6696.
- Uma, S., Prasad, T.G. ve Udaya Kumar, M. (1995). Genetic variability in recovery growth and synthesis of stress proteins in response to polyethylene glycol and salt stress in finger millet. *Annals of Botany* 76, 43-49.
- Vierling, E. ve Key, J.L. (1985). Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase synthesis during heat shock. *Plant Physiology* 78, 155-162.
- Vierling, R.A. ve Nguyen, H.T. (1990). Heat shock protein synthesis and accumulation in diploid wheat. *Crop Science* 30, 1337-1342.
- Vierling, E. (1991). The roles of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42, 579-620.
- Vigh, L., Los, D.A., Horváth, I. ve Murata, N. (1993). The primary signal in the biological perception of temperature: Pd-catalyzed hydrogenation of membrane lipids stimulated the expression of the desA gene in *Synechocystis* PCC6803. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 90, 9090-9094.
- Viner, R.I. ve Clegg, J.S. (2001). Influence of trehalose on the molecular chaperone activity of p26, a small heat shock/crystalline protein. *Cell Stress Chaperones* 6, 126-135.
- Wang, W., Vinocur, B. ve Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1-14.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O. ve Altman, A. (2004). Role of plant heat shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Plant Science* 9(5), 244-252.
- Waters, E.T., Lee, G.J. ve Vierling, E. (1996). Evaluation, structure and function of the small heat shock proteins in proteins. *Journal of Experimental Botany* 47(296), 325-338.
- Whitaker, B.D., Klein, J.D., Conway, W.S. ve Sams, C.E. (1997). Influence of pre-storage heat and calcium pre-treatments on lipid metabolism in Golden Delicious apples. *Phytochemistry* 45, 465-472.
- Wu, C. (1984). Activating protein factor binds in vitro to upstream control sequences in heat shock gene chromatin. *Nature* 311, 81-84.
- Xiao, C-M. ve Mascarenhas, J.P. (1985). High temperature-induced thermotolerance in pollen tubes of *Tradescantia* and heat-shock proteins. *Plant Physiology* 78, 887-890.
- Xu, Q., Chitnis, V.P., Ke, A. ve Chitnis, P.R. (1995). Structural organization of photosystem I. Photosynthesis: From Light to Biosphere, Eds: P. Mathis vd., ss. 87-90, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Yacoob, R.K. ve Filion, W.G. (1986). Temperature-stress response in maize: A comparison of several cultivars. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 28, 1125-1131.
- Yang, J.F., Cheng, B.S. ve Wang, H.C. (1984). Influence of high temperature and low humidity on the fatty acid composition of membrane lipids in wheat. *Acta Botanica Sinica* 26, 386-391.
- Yarwood, C.E. (1961). Acquired tolerance of leaves to heat. *Science* 134, 941-942.
- Yıldız, M. ve Terzioğlu, S. (2006a). Synthesis of soluble heat shock proteins in seminal root tissues of cultivated and wild wheat genotypes. *Acta Biologica Hungarica* 57, 81-95.
- Yıldız, M. ve Terzioğlu, S. (2006b). Heat shock of cultivated and wild wheat during early seedling stage: Growth, cell viability and heat shock proteins. *Acta Biologica Hungarica* 57, 231-246.
- Young, J.C., Moarefi, I. ve Hartl, F.U. (2001). Hsp90: A specialized but essential protein-folding tool. *Journal of Cell Biology* 154, 267-273.
- Yucel, M., Burke, J.J. ve Nguyen, H.T. (1992). Inhibition and recovery of photosystem II following exposure of wheat to heat shock. *Environmental and Experimental Botany* 32, 125-135.
- Zhang, Z., Quick, M.K., Kanelakis, K.C., Gijzen, M. ve Krishna, P. (2003). Characterization of a plant homolog of Hop, a co-chaperone of Hsp90. *Plant Physiology* 131, 525-535.
- Zhang, Y., Rouf Mian, M.A., Chekhovskiy, K., So, S., Kupfer, D., Lai, H. ve Roe, B.A. (2005). Differential gene expression in *Festuca* under heat stress conditions. *Journal of Experimental Botany* 56, 897-907.
- Zivy, M. (1987). Genetic variability for heat shock proteins in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 74, 209-213.



Mustafa YILDIZ, 1970 yılında Kırşehir’de doğdu. 1990 yılında Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nden mezun oldu. Aynı üniversitede yüksek lisansını 1994 yılında, doktorasını 2000 yılında tamamladı. Hacettepe Üniversitesi’nde araştırma görevlisi olarak görev yaptıktan sonra 2001 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi’ne Yardımcı Doçent olarak atandı. Halen aynı üniversitede görevine devam etmektedir.



Serpil TERZİOĞLU, 1945 yılında Ankara’da doğdu. 1967’de Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak İlmî Bölümü’nden mezun oldu. 1974’te Reading Üniversitesi’nde (İngiltere) doktorasını tamamladı. 1974-1977 yılları arasında Ankara Atom Enerjisi Kurumu’nda Uzman Araştırmacı olarak çalıştı. 1977’de Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümüne öğretim görevlisi olarak atandı. H.Ü.’de 1988’de Doçent, 1995’de Profesörlüğe yükseltildi. Halen aynı üniversitede Profesör olarak görev yapmaktadır.