



## BİTKİLERİN YÜKSEK SICAKLIK STRESİNE TOLERANSININ HÜCRE CANLILIĞI VE FOTOSENTETİK PİGMENTASYON TESTLERİ İLE BELİRLENMESİ

**Mustafa YILDIZ\*, Hakan TERZİ**

*Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Afyonkarahisar, TÜRKİYE*

### ÖZET

Stres, olumsuz çevresel faktörlerin üstesinden gelebilmek için bitkinin mücadelesini kapsayan stres toleransı ile yakından ilişkilidir. Yüksek sıcaklık stresi, bitki büyüme ve verimliliğini olumsuz etkileyen bir seri fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olmaktadır. Yüksek sıcaklık koşullarında, birçok organizmanın hayatta kalma ve iyileşme yeteneği “kalıtsal termal tolerans” ve “kazanılan termal tolerans” tarafından belirlenmektedir. Bitki çeşitleri yüksek sıcaklıklara karşı farklı düzeyde tolerans kazanabilirler. Bitki genotiplerinin yüksek sıcaklığa cevap mekanizmaları ve yüksek sıcaklık toleransında bu mekanizmaların rollerinin belirlenmesi önemlidir. Türler ya da çeşitler arasında yüksek sıcaklık toleransı açısından genotipik çeşitliliğin belirlenmesinde, fotosentetik pigment (klorofil a+b ve karotenoidler) birikimi testi ile tetrazolium tuzlarının canlı hücreler tarafından indirgenmesine bağlı hücre canlılığı testi gibi spektrofotometrik-temelli testler kullanılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Bitki, Yüksek sıcaklık stresi, Tolerans, Hücre canlılığı, Fotosentetik pigmentasyon.

## DETERMINATION OF TOLERANCE TO HIGH TEMPERATURE STRESS OF PLANTS WITH CELL VIABILITY AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTATION TESTS

### ABSTRACT

The concept of stress is intimately associated with that of stress tolerance, which is the plant's fitness to cope with an unfavorable environmental factor. High temperature stress leads to a series of physiological and biochemical changes that adversely affect plant growth and productivity. Under high temperature conditions, the survival and recovery capability of most organisms are detected by “inherent thermal tolerance” and “acquired thermal tolerance”. Plant cultivars can acquire different degree of tolerance to high temperatures. The response mechanisms of plant genotypes to high temperature and determination of roles of these mechanisms in high temperature tolerance are important. The spectrophotometric-based tests such as photosynthetic pigment (chlorophyll a+b and carotenoids) accumulation test, and cell viability test which is related to reduction of tetrazolium salts by viable cells were used in determination of genetic variability in point of high temperature tolerance among species or cultivars.

**Keywords:** Plant, High temperature stress, Tolerance, Cell viability, Photosynthetic pigmentation

\* E-posta: [mustafa\\_yildizus@yahoo.com](mailto:mustafa_yildizus@yahoo.com)

## 1. GİRİŞ

Yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk ve kimyasal toksisite gibi abiyotik stres koşulları ve oksidatif stres, dünyanın birçok alanında tarımı ve tarım alanlarını tehdit etmektedir [1]. Bitkilerin ortalama veriminin %50'den fazla azalmasına neden olan abiyotik stres, dünyadaki tarımsal ürün kaybının birincil nedenidir [2]. Abiyotik stres morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimlere neden olarak bitki büyüme ve verimliliğini olumsuz etkilemektedir [3]. Yüksek sıcaklık birçok önemli tarımsal bitkinin verimliliğini sınırlamaktadır [4, 5]. Toprak yüzey sıcaklıklarının 50°C'yi aştığı kurak ve yarı kurak bölgelerde, yüksek toprak sıcaklığı bitki popülasyonlarını önemli düzeyde azaltmaktadır [6]. Artan sıcaklık bitki gelişiminin farklı evrelerini inhibe etmektedir [5]. Bir genotipin yüksek sıcaklıkta hayatta kalma yeteneği bitkinin tür ya da çeşidine, bitki gelişim evresine, hücre tiplerinin hassasiyetine, yüksek sıcaklığın derecesi ve süresine bağlıdır [2].

Bitkilerin yüksek sıcaklığa cevap mekanizmaları ve kazanılan yüksek sıcaklık toleransında bu mekanizmaların rollerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, bitki genotiplerinde stres toleransının geliştirilmesini kısıtlayan önemli nedenler bulunmaktadır. Bunlar, genotipler arasında morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri içeren kompleks olaylar ve tüm agronomik parametreler kullanılarak yapılan seleksiyonun etkinliğinin artırılmasındaki bazı eksiklikler [7] ve ıslah programlarında genotiplerin taranması için etkili değerlendirme metodlarının azlığıdır [6].

Bitki çeşitleri artan sıcaklıklara farklı tepki göstermeleri ile birbirinden ayrılırlar [8]. Bu genotipik farklılıklar, çevresel stresler açısından ıslah çalışmalarında oldukça önemlidir [9]. Uygun ve hızlı test sistemlerinin geliştirilmesi, genotiplerin yüksek sıcaklığa toleranslarının değerlendirilmesi için gereklidir. Tür veya çeşitler arasında yüksek sıcaklık toleransı açısından genotipik çeşitliliğin belirlenmesinde, TTC indirgenme [10, 11] ve membran kararlılığı-iyon sızıntısı [12, 13] gibi hücre canlılığı testlerinin yanı sıra klorofil birikimi [14], fotosentez [15] ve klorofil a fluoresansı [16] gibi test sistemleri kullanılmaktadır.

Bu derlemede, fotosentetik pigment birikimi (klorofil a+b ve karotenoidler) testi ile özellikle 2,3,5-trifeniltetrazolium klorürün indirgenmesine bağlı hücre canlılığı testi kullanılarak bitkilerde yüksek sıcaklık stresine karşı termal toleransta belirlenen genotipik farklılıklar değerlendirilmiştir.

## 2. STRES TERMİNOLOJİSİ VE STRESE TEPKİ

Stres, biyotik ve abiyotik faktörlerin ayrı ayrı ya da birlikte fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda belli değişimleri meydana getirmesi veya organizmada hasar oluşturma kapasitesi olarak tanımlanabilir [17]. Başka bir deyişle, büyüme, gelişme ve üretim için genetik potansiyelin ifadesini olumsuz şekilde etkileyen herhangi bir çevresel faktörü veya bunların etkileşimlerini içermektedir [18].

Bitkilerin strese verdikleri cevaplar farklı şekillerde tanımlanmaktadır [19, 20]:

**Kaçış (escape):** Sadece koşulların uygun olduğu dönemde büyümedir. Örneğin, kuraklıktan önce yağışlı mevsimde yaşam döngülerini tamamlayan bitkilerin davranışlarıdır.

**Sakınım (avoidance):** Bitkilerin stres faktörlerinin olumsuz etkilerini azaltması veya engellemesidir. Dış çevrede stres oluşturabilecek koşullar olmasına rağmen bitki hücrelerinin stresten uzak bir iç ortam oluşturmalarıdır.

**Tolerans (tolerance) veya direnç (resistance):** Literatürde “stres toleransı” terimi sıklıkla “stres direnci” ile birlikte kullanılmasına rağmen, “tolerans” terimi tercih edilmektedir. Tolerans, karmaşık bir fizyolojik olay olup, organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek derecede stresin (subletal) uygulanmasını takiben uygulanan öldürücü strese (letal) organizmanın dayanma yeteneğidir. Diğer taraftan, stres faktörlerinin etkisinin elimine edilmesi, azaltılması veya onarılmasıdır. Bitkilerin çevresel streslere karşı reaksiyonları oldukça karmaşık olup, basit kimyasal ya da biyokimyasal direkt cevaplar, karışık hormonal veya gelişim cevapları ile genetiksel olarak ortaya çıkan kalıtsal etkilere kadar birçok fizyolojik cevapla ilgilidir. Bununla birlikte, bir tür için stres oluşturan koşul veya koşullar başka bir bitki türü için stres oluşturmayabilir. Örneğin, sırasıyla 20°C ve 30°C'de optimum büyüme gösteren bezelye ve soya fasulyesi bitkilerinden, sıcaklığın artması ile birlikte daha erken zarar gören bezelye bitkisidir. Yani, soya fasulyesi daha fazla termal toleransa sahiptir.

**Uyum (acclimation) ve adaptasyon (adaptation):** Sırasıyla kalıtılmayan ve kalıtlabilir stres cevaplarını ifade etmektedir. Öncül bir strese maruz kalmanın sonucu olarak tolerans artmışsa, bitki uyumlanmış (veya hardened) olarak kabul edilir. Uyum genellikle nesiller boyunca seleksiyon işlevleriyle kazanılan direncin genetik olarak belirlenmiş seviyesi olarak ifade edilen adaptasyondan ayrılmaktadır. Bununla birlikte, adaptasyon terimi bazen uyum kavramı yerine kullanılmıştır. Diğer taraftan, gen ifadesi uyumda önemli bir rol oynamaktadır. Çevresel streslere adaptasyon ve uyum, anatomik ve morfolojik seviyeden hücresel, biyokimyasal ve moleküler seviyeye kadar aralanan organizasyonun tüm seviyelerinde meydana gelen birbirleriyle ilişkili olaylarla sağlanmaktadır.

Hücrelerin stres toleransının artmasına neden olan hücresel cevaplar; hücre siklusu, hücre bölünmesi, hücrelerin endomembran sistemi ve vakuolleşmesi ile hücre duvarının yapısındaki değişiklikleri kapsamaktadır. Biyokimyasal seviyede, bitkiler prolin ve glisin betain gibi ozmodüzenleyici bileşiklerin üretimini içeren metabolizmada bazı değişiklikler yaparak çevresel streslerin üstesinden gelmektedir. Bir stres sinyalinin algılanması ile ilgili moleküler olaylar ise toleransa neden olan genomik tepkilerdir [19].

### 3. BİTKİLERDE YÜKSEK SICAKLIK STRESİ VE TERMAL TOLERANS

Yüksek sıcaklık stresi, özellikle optimum büyüme sıcaklığındaki 1.5-6°C'lik artış [21] ile fotosentezin inhibisyonuna [15], hücre membranlarının zararına [22] ve senesense bağlı hücre ölümüne [23] neden olarak büyüme ve gelişmeyi sınırlayan abiyotik stres koşullarından biridir [24, 25]. Bununla birlikte, hayat döngülerinin bazı evrelerinde birçok tarımsal ürün yüksek sıcaklık stresine maruz kalmaktadır [26]. Bu noktada, bir genotipin yüksek sıcaklıkta canlılığını sürdürmesi ya da göreceği zarar, yüksek sıcaklık stresinin şiddeti ve süresi, bitkinin çeşit ve gelişim evresi ile yakından ilişkilidir [2, 27]. Yüksek sıcaklık stresi, bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal işlevlere zarar vererek büyüme, ürün ve kalitede azalmaya neden olmaktadır. Her bitki türünün optimum fonksiyon gösterdiği optimum sıcaklık aralığı vardır ve bu aralığın dışında hücresel metabolizma ve dolayısıyla bitki büyümesi olumsuz etkilenmektedir [28]. Türe özgü olan bu sıcaklık aralığı "termal kinetik pencere" olarak tanımlanmaktadır [29]. Optimum sıcaklık aralığının üzerindeki sıcaklıklar fotosentez, membran bütünlüğü ve enzim kararlılığını içeren birçok fizyolojik işlevde değişikliklere neden olmaktadır [30].

Termal tolerans (termotolerans) karmaşık bir fizyolojik olay olup; organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek bir sıcaklık (subletal sıcaklık) uygulanırsa, ardından uygulanan öldürücü sıcaklığa (letal sıcaklık) organizmanın dayanma yeteneğidir [31]. Birçok organizmanın yüksek sıcaklık koşullarında hayatta kalma ve iyileşme yeteneği "kalıtsal termal tolerans" ve "kazanılan termal tolerans" tarafından belirlenmektedir. Yüksek sıcaklık cevabı, hücre ve organizmanın artan sıcaklıklara (yüksek sıcaklık stresi veya şoku) karşı korunma reaksiyonudur. Aşırı yüksek sıcaklık stresi hücresel zarara ve hücre ölümüne neden olmasına rağmen, yüksek sıcaklık stresinin subletal dozları, hücre veya organizmayı zarardan koruyan, normal hücresel ve fizyolojik aktivitelerin devamını sağlayan ve termal toleransın daha yüksek seviyesine neden olan hücresel cevabı (yüksek sıcaklık cevabı) teşvik etmektedir [32, 33]. Yüksek sıcaklığa uyumu kapsayan işlevler, sıcaklık sinyallerinin iletimi ve yüksek sıcaklık toleransının gelişimini sağlayan biyokimyasal işlevlere bu sinyallerin dönüştürülmesi ile başlamaktadır [34].

Tahıllarda yüksek sıcaklık toleransı tek bir "termotolerant" genle kontrol edilmemektedir [35]. Genlerin farklı setleri tarafından belirlenmiş toleransın farklı bileşenleri, çeşitli dokularda ve hayat döngüsünün farklı evrelerinde yüksek sıcaklık toleransı için önemlidir [35]. Bitkiler membran bütünlüğünün devam ettirilmesi ve yüksek sıcaklık şoku proteinlerinin sentezi gibi birkaç fizyolojik ve biyokimyasal mekanizma ile yüksek sıcaklık stresinin üstesinden gelmektedir. Yüksek sıcaklığa cevap olarak gen ifadesindeki değişimler yüksek sıcaklık toleransı ile ilişkilidir. Tipik olarak, birçok genin ifadesi yüksek sıcaklık stresi ile azalırken, yüksek sıcaklık şoku genleri olarak adlandırılan genlerin spesifik bir grubu hızlı bir şekilde teşvik edilmektedir [36].

#### 3.1. Membranlar ve Yüksek Sıcaklık Stresi

Hücresel membranlar, bitkilerde yüksek sıcaklık tarafından oluşan fizyolojik zararın meydana geldiği ilk bölgeler olarak düşünülmektedir [37]. Membranlar, kompartımanlaşma ve konsantrasyon gradientinin devamı için yarı geçirgen bariyerler olup, fotosentez ve solunum gibi membran ilişkili reaksiyonlar için bir alan sağlamaktadır [37]. Bitkilerin normal büyüme sıcaklıklarının üzerindeki sıcaklıklara maruz kalması membran yapısında geri dönüşümsüz değişikliklere ve membran kararsızlığına neden olmaktadır [30]. Yüksek sıcaklık stresi sırasında membran akışkanlığındaki değişiklikler, membran bileşenlerinin yeniden düzenlenmesi veya lipid içeriğindeki

değişimlerden kaynaklanmaktadır [38]. Yüksek sıcaklık stresinin neden olduğu hücresel membran bozulması fotosentetik veya mitokondriyal aktiviteyi etkileyebilmekte ve hatta plazma zarının çözünenleri tutma yeteneğini azaltmaktadır [39]. Yüksek sıcaklık stresi, lipitler arasındaki hidrojen bağlarını ve membranların akıcı fazı içerisindeki proteinlerin polar grupları arasındaki elektrostatik etkileşimi zayıflatarak hücre membranlarının bileşenlerini ve yapısını modifiye etmektedir. Diğer taraftan, yüksek sıcaklık stresi sırasında hücre membran sistemlerinin fonksiyonunu korumasının, bitkilerin yüksek sıcaklığa adaptasyonu ile ilgili olabileceği bildirilmiştir [40]. Ayrıca, yüksek sıcaklık stresinde zarar gören kısımlar sadece hücrelerin membranları değil, aynı zamanda vakuol etrafını saran tonoplast yüksek sıcaklıktan etkilenmektedir. Fotosentetik membranlar ile mukayese edildiğinde tonoplastın yüksek sıcaklıkta kısmen daha kararlı olduğu [41], ancak yüksek sıcaklık şokunun tonoplast bütünlüğünü olumsuz etkilediği ve geçirgenliğini arttırdığı bildirilmiştir [42].

Membran lipit doygunluğu, yüksek sıcaklık toleransında önemli bir element olarak düşünülmektedir. Yüksek sıcaklık stresi hem tilakooid hem de plazma membranlarının doymuş yağ asidi seviyesinde artışa neden olmaktadır [43]. Yüksek sıcaklık toleransının kazanılmasında bu membranların önemli olduğu ileri sürülmüştür [44]. Yüksek sıcaklık uyumu sırasında lipit değişimleri birçok türde bildirilirken [44-46], termotoleransın kazanılmasında bu tür membran değişimlerinin etkisi açıklama gerektirmektedir [47]. Birkaç çalışmada, lipit doygunluğundaki değişimlerin yüksek sıcaklık stresi sırasında fotosentetik oranı etkilemediği bildirilmiştir [48-51]. Yüksek sıcaklık uygulamasında, yabancı tip buğdaya göre yüksek sıcaklığa dirençli mutant buğday hattında galaktolipitlerden linolenik asidin ve fosfolipitlerden trans- $\Delta$ -3 heksaldekanoyik asidin miktarının arttığı saptanmıştır [52]. Buğdayın (*Triticum aestivum* L.) yüksek sıcaklığa hassas çeşitlerine göre toleranslı çeşitleri önemli derecede daha fazla doymuş yağ asitli membranlara sahiptir [53]. Tütün (*Nicotiana tabacum* L.) bitkisinde genetik modifikasyonların sonucu olarak doymamış yağ asitlerinin seviyesinde artış, yüksek sıcaklıklarda daha uzun süre hayatta kalmayı sağlamıştır [46]. Bununla birlikte, patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisinin yüksek sıcaklığa toleranslı çeşitlerinin linoleik and linolenik içerikleri (doymamış yağ asitleri) kontrole göre çok az artış gösterirken, oleik asit seviyesi toleranslı çeşitlerde daha düşüktür [54]. Sonuç olarak, yüksek veya düşük derecede membran lipit doygunluğunun yüksek sıcaklık toleransı için yararlı olup olmadığı açık değildir [47].

Yüksek sıcaklığa bitki cevabı olarak oluşan aktif oksijen türleri (singlet oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) membranlar ile tepkimeye girebilmekte ve bu yapıların fonksiyonunda değişikliklere neden olabilmektedir [55, 56]. Aktif oksijen türleri, normal hücresel koşullarda membran ilişkili oksidaz [57] ve elektron taşıma zinciri tarafından üretilmektedir [58]. Aktif oksijen türleri ile membran lipitlerinin otokatalitik peroksidasyonu membranların yarı geçirgen özelliğinde azalmaya neden olmaktadır [59].

### 3.1.1. Hücre Membranları ve Membran-Temelli Testler

Bitkilerde yüksek sıcaklık toleransının taranmasında membran-temelli işlevler ile ilişkili iki hücre canlılığı testi yaygın olarak kullanılmaktadır [37]: Plazmalemma (HMK, hücresel membran kararlılığı) ve mitokondriyal membranlar (TTC, tetrazolium tuzlarının indirgenmesine dayanan hücre canlılık testi).

Yüksek sıcaklıklarda zarar gören yaprak segmentlerinden difüze olan elektrolitlerin iletkenliğinin bir ölçümü olan hücresel membran kararlılığı testi, bitkilerde yüksek sıcaklık toleransının taranmasında uygun bir test olarak bildirilmiştir [60]. Elektriksel iletkenlik birçok tarım bitkisinin yüksek sıcaklığa toleranslı genotiplerinin belirlenmesinde membran kararlılık indeksi olarak kullanılmaktadır (11-13, 61-66).

TTC hücre canlılık testi, dehidrogenaz solunum enzimleri aracılığıyla tetrazolium tuzunun formazana indirgenmesi prensibine dayanmaktadır [67]. Bu nedenle, TTC testi mitokondriyal elektron transfer zincirini değerlendirmekte ve böylece solunum aktivitesi belirlenebilmektedir. TTC ile canlı hücrelerin boyanması, her bir hücrenin fizyolojik olarak aktif olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir. TTC indirgenmesi, mitokondrilerde tetrazolium tuzunun elektron taşıma zincirinden elektronları alması ile meydana gelmektedir [68]. Çevresel streslere toleranslı bitkiler yüksek süksinik asit aktivitesi gösterir ve çok miktarda TTC'yi formazana indirgeme yeteneğine sahiptir. Formazan spektrofotometrik olarak görüntülenebilen kırmızı renge sahiptir. TTC indirgenmesinin miktarı, nispi hücre canlılığını gösteren mitokondriyal solunum aktivitesinin bir göstergesidir. Canlı hücrelerin tetrazolium tuzunu formazana indirgeme yeteneği, yüksek sıcaklığa toleranslı genotiplerin seleksiyonunda kullanılabilir [69].

TTC testi, bitki hücrelerinin veya dokularının yüksek sıcaklıklarda canlılığını değerlendirmek için uzun süredir kullanılmaktadır [67]. Chen vd. [69], kazanılan yüksek sıcaklık toleransının teşvik edilmesinde genotipik farklılıkların bulunduğunu ve bu farklılıkların yüksek sıcaklık koşulları altında verim ile ilişkili olduğunu TTC testi ile belirlemişlerdir. Birçok çalışmada, TTC hücre canlılık testi kullanılarak bazı bitkilerin farklı gelişim evrelerinde termal tolerans açısından genotipik farklılıklar belirlenmiştir [10, 11, 67, 69-73].

Porter vd. [71], sert kırmızı kışlık buğdayda kazanılan termal toleranstaki çeşitler arası farklılıkları karakterize etmek için mitokondriyal aktivitenin bir göstergesi olan TTC indirgenme testini kullanmıştır. Altı buğday çeşidine (Arkan, Payne, Siouland, Sturdy, TAM W-101 ve TAM 108) ait 25°C'de büyütülmüş 7 günlük fideler, 37°C'de 24 sa uyum periyodunu takiben 50°C'ye 2 sa maruz bırakılmıştır. Sıcaklık uygulamalarını takiben TTC indirgenme testine göre kazanılan termal toleranstaki farklılıklar, Siouland çeşidinde %6 ile en düşük ve TAM 108 çeşidinde %72 ile en yüksek olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçları, kışlık buğdayda kazanılan termal toleranstaki farklılıkların ölçümünde TTC indirgenme testinin kullanılabilirliğini göstermiştir.

Fokar vd. [10], 56 yazlık buğday çeşidinin hücresel termotoleranstaki genetik çeşitliliğini, hücresel membran termal kararlılık (HMK) ve trifenil tetrazolium klorür (TTC) testleri ile fide evresinde değerlendirmiştir. Ayrıca, bu çeşitlerden sekiz tanesi aynı testler kullanılarak çiçeklenme evresinde değerlendirilmiştir. Çeşitlere ait 20-25°C'de büyütülmüş 10 günlük fideler 34°C'de 24 saat uyumlandıktan sonra 50°C'de 1 sa yüksek sıcaklık şokuna maruz bırakılmış ve TTC ve HMK testleri için değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, fide ve çiçeklenme evresinde her iki test için çeşitler arasında önemli farklılıkların bulunduğunu bildirmiştir. Fide ve çiçeklenme evreleri arasında tüm çeşitlerin TTC testi ile belirlenen termal tolerans değerlerinin ortalamaları arasında önemli fark bulunmazken, HMK testi için her iki büyüme evresi arasındaki fark önemli bulunmuştur. Ayrıca, fide ve çiçeklenme evresinde değerlendirilen 8 çeşit için TTC ve HMK sonuçları arasında korelasyon önemli bulunurken, fide evresindeki 56 çeşit için bu korelasyon düşük bulunmuştur. TTC ile termal tolerans değerleri oldukça kalıtılabilir ve HMK değerleri ile bazı boyutlarda ilişkili olmasına rağmen, TTC'nin yüksek sıcaklık stresi altında bitki performansının belirlenmesinde HMK kadar etkili olamayacağı sonucuna varılmıştır [10].

Mullarkey ve Jones [72], Guardian buğday çeşidinin termal toleranslı mutantlarını belirlemek için hücre canlılık (TTC indirgenme) testini kullanmıştır. Guardian buğday çeşidi ve mutantlarına ait seçilmiş tohumlar, 10 gün süreyle 18°C'de büyütüldükten sonra 2 saat için 25°C ve 50°C sıcaklık uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Yüksek sıcaklık uygulamasını takiben Guardian buğday çeşidinin TTC indirgenmesi kontrole göre %67 azalmıştır. TTC indirgenmesinde azalma, seçilmiş mutantlardan tht 13 mutantında Guardian çeşidine göre daha yüksek bulunmuştur. Yüksek sıcaklık uygulamasında TTC indirgenmesi, termal toleranslı olarak belirlenen tht 3, tht 5, tht 8 ve tht 9 mutantlarında Guardian çeşidine göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur [72].

Ibrahim ve Quick [11], HMK ve TTC hücre canlılık testleri kullanarak buğdayda yüksek sıcaklık toleransının genetik çeşitliliğini değerlendirmiş ve F3 ve F4 bitkileri kullanılarak kalıtılabilirlik belirlenmiştir. Buğday çeşitlerine (Kauz, Yuma, Arlin, Seri 82, Siete Cerros, TAM 107-R3, TAM 107, TAM 107-R2, TAM 108, CO910239, MTRWA 116, NE 92458 ve V5) ait 8-10 günlük fideler (20-22°C'de 4 gün ve 17°C'de 4-6 gün büyütülmüş) 39°C'de 48 sa uyumladıktan sonra 30 dakika için 49°C'ye maruz bırakılmıştır. Varyans analizi, HMK ve TTC redüksiyonu için 14 hat arasında oldukça önemli farklılığı göstermiştir. HMK değerlerinin ortalaması Arlin'de %28.4'den Kauz'da %76.4'e aralanırken, TTC değerleri MTRWA 116'da %20.4'den Kauz'da %82.2'ye aralanmıştır. Bu araştırmanın varyans analizi sonuçlarına göre, tüm çeşitlerin termal tolerans ortalaması (%58.5) dikkate alındığında 4 çeşidin aynı önemlilik düzeyinde yüksek termal tolerans seviyelerine (%80.8-82.2) ve bu çeşitlere göre 6 çeşidin aynı önemlilik düzeyinde düşük termal tolerans seviyelerine (%54.7-63.9) sahip oldukları belirlenirken, diğer 4 çeşidin ortalamasının altında daha düşük termal tolerans seviyelerine (%20.4-39.8) sahip oldukları belirlenmiştir. Her iki test ile Kauz, TAM 107-R3 ve TAM 107 çeşitlerinin yüksek termal tolerans değerlerine (çok toleranslı) sahip oldukları bildirilmiştir [11].

Yıldız ve Terzioğlu [73], erken fide evresinde ekmeclik (Bezostaya-1 ve Çukurova-86), makarnalık (Diyarbakır-81) buğday çeşitleri ve yabancı buğday türlerinin (*Aegilops biuncialis*, *Ae. triuncialis* ve *Ae. umbellulata*) termal toleransındaki genotipik farklılıkları belirlemiştir. Araştırmacılar, 23°C'de 3 gün süreyle büyütülen etiyole fideleri, 24 sa için 23, 35 ve 37°C'ye ve 35 ile 37°C'de 24 sa uyumlamaları takiben 50°C'ye 1 sa maruz bırakmışlardır. Koleoptil dokularında % kazanılan termal tolerans seviyelerini belirlemişlerdir. İki farklı uyum sıcaklığı (35 ve 37°C) ile uyumlanmış koleoptil dokularında kazanılan termal tolerans açısından çeşitler ve türler arasındaki

genotipik farklılıklar önemli düzeyde artmıştır. Buna ilaveten, iki uyum sıcaklığında da benzer durum gözlenmesine rağmen, 37°C'de kazanılan termal toleransın 35°C'ye göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, ekmeklik Bezostaya-1 buğday çeşidi oldukça termal toleranslı olarak belirlenirken, yabani buğday türü *Aegilops triuncialis* oldukça duyarlı bir genotip olarak belirlenmiştir [73].

Chen vd. [69], yüksek sıcaklık şoku uygulamalarından önce fidelerin 30°C üzerindeki sıcaklıklarda 24 sa uyumlamanın hücre canlılığının sürdürülmesi için gerekli olduğunu bildirmiştir. Yüksek sıcaklık şoku uygulamasına bağlı olarak TTC indirgenmesi ve dolayısıyla hücre canlılığındaki azalmanın, mitokondrilerin iç membranındaki bozulma ve/veya solunum enzimlerinin inaktivasyonundan dolayı elektron transfer zincirindeki düzensizlikten kaynaklandığı bildirilmiştir [71]. Bazı araştırmacılar, fidelerin subletal sıcaklıklarda uyumlanmasına bağlı olarak termal toleransın kazanıldığı ve incelenen genotipler arasında önemli farklılıkların oluştuğunu saptamıştır [71, 73]. Aynı araştırmacılar, uyumlanmamış fidelerde termal toleransın kazanılmadığı ve değerlerin negatif olduğunu belirtmişlerdir.

Aynı subletal ve letal sıcaklık derecesi ve süresi uygulamalarına maruz bırakılan bir genotip, farklı büyüme ve gelişme evrelerinde TTC indirgenmesine bağlı olarak farklı termal tolerans göstermektedir. Bu bağlamda, Yıldız and Terzioğlu [73], Bezostaya-1 ekmeklik buğday çeşidinin termal tolerans değerini koleoptil dokusunda %37.82 olarak belirlerken, Terzi [74] aynı çeşidin ilk yaprak dokusunda %54.90 olarak belirlemiştir. Bu sonuç, erken fide evresindeki koleoptil dokusunun ilk yaprak dokusuna göre yüksek sıcaklığa daha fazla duyarlı olduğunu göstermektedir [74].

Farklı sıcaklık derecesi ve sürelerinde uyumlanan ve uyumu takiben yüksek sıcaklık şoku uygulanan aynı buğday çeşitlerinin fide evresindeki ilk yaprak dokularında yapılan TTC indirgenme testine göre belirlenen termal tolerans değerleri arasında farklılıklar mevcuttur. İbrahim ve Quick [11], 39°C'de 48 sa uyum ve uyumu takiben 49°C'de 30 dakika yüksek sıcaklık şoku uygulamalarında TTC indirgenmesine bağlı olarak Kauz buğday çeşidinde termal tolerans değerini %82.2 olarak bildirirken, Fokar vd. [10], 34°C'de 24 sa uyum ve uyumu takiben 50°C'de 1 sa yüksek sıcaklık şoku uygulamalarında Kauz buğday çeşidinin termal tolerans değerini %18.7 gibi oldukça düşük bir değer olduğunu bildirmiştir. Buna ilaveten, bu iki ayrı çalışmada test edilen Seri 82, V5, Siete Cerros ve Deberia buğday çeşitlerinde termal tolerans seviyeleri [10, 11] arasında da farklılıklar bulunmaktadır. Diğer taraftan, İbrahim ve Quick [11], 39°C'de 48 sa uyum ve uyumu takiben 49°C'de 30 dakika yüksek sıcaklık şoku uygulamalarına maruz kalan kışlık TAM 108 buğday çeşidinin termal tolerans değerini %63.9 olarak bildirirken, Porter vd. [71], daha düşük sıcaklıkta (37°C) ve kısa sürede (24 sa) uyumlanan ve uyumu takiben daha yüksek sıcaklıkta (50°C) ve uzun sürede (2 sa) şoklanan TAM 108 buğday çeşidinin termal tolerans seviyesinin %72.8 olduğunu bildirmiştir. Bu veriler ışığında, TTC hücre canlılık testi yüksek sıcaklık zararının belirlenmesinde önemli bir testtir. Ancak, termal tolerans açısından genotipler arasındaki farkın bitki gelişiminin hemen hemen aynı evrelerinde çok farklı sonuçlara neden olması uygulanan uyum ve uyumu takiben yüksek sıcaklık şokunun derece ve sürelerinden kaynaklanabilir. Diğer taraftan, test edilen bitki genotiplerinin farklı gelişim evrelerinde hücre canlılığı bakımından değerlendirilmesi belirlenen termal toleransın hassasiyetini artırabilir.

### 3.2. Fotosentez ve Yüksek Sıcaklık Stresi

Bitkilerde fotosentetik aparatlar sıcaklığa hassas olup; genellikle yüksek sıcaklık semptomlarının görünür hale gelmesinden önce oldukça fazla zarar görmektedirler [75, 76]. Yüksek sıcaklık stresi altındaki bitkilerde fotosentez oranındaki azalmalar, kloroplastların yapısal ve fonksiyonel olarak zarar görmeleri ve klorofil birikimindeki azalmadan kaynaklanmaktadır [77].

Kloroplastı kuşatan iç ve dış membranlar [78, 79] ile tilakoid membranları [80] yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilenmektedir. Tilakoid membranların geçirgenliğindeki artış, membran lipid matriksinin aşırı akışkanlığı ve lipid-protein etkileşimindeki değişimlerin fotosistem II (FSII) termal kararlılığındaki değişimler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [81-84]. Fotosentezin ışık (FSII aktivitesi ve fotofosforilasyon kapasitesi) ve karanlık (karbondioksit fiksasyonu) reaksiyonları yüksek sıcaklık tarafından inhibe edilmektedir [81]. FSII, suyun moleküler oksijene oksidasyonu ve ışık enerjisinin elektronların transportu için kullanıldığı pigment-protein kompleksidir. FSII kompleksinin yüksek sıcaklık ile inaktivasyonu, suyun moleküler oksijene oksidasyonunu katalizleyen mangan kükümlerinin yıkımı ile başlamaktadır [84-87]. FSII'de yüksek sıcaklığa bağlı olarak tilakoid lümeninin hacmindeki artış, grana tilakoidlerinin kademeli olarak ayrılması ve yeniden düzenlenmesi [77], fonksiyonel proteinlerin

denatürasyonu [86], ışık toplayan klorofil a/b-bağlama proteinlerinin FSII kompleksi merkezinden ayrılması [77, 80, 82, 88] ve akseptör bölgesindeki plastokinon molekülleri (QA ve QB) arasında elektron transferindeki inhibisyon da meydana gelmektedir [89]. Bunun yanı sıra, tilakoid membranların zarar görmesi ile öncelikle FSII’de suyun fotolizi inaktive olmakta, tilakoid kanala H<sup>+</sup> alınımında değişiklikler ve fotofosforilasyon ile ATP oluşumunda aksamalar meydana gelmektedir [90]. ATP üretimi 35°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda kademeli olarak inhibe olmaktadır [91]. İlimli yüksek sıcaklık, karanlıkta plastokinonun azalmasını ve ışıkta siklik elektron akışını stimüle etmektedir [92] Diğer taraftan, kloroplastların fotosistem I (FSI) aktivitesi yüksek sıcaklıkta FSII’ye göre daha karardır [93].

Kloroplast membranlarına uygulanan kısa süreli yüksek sıcaklık, su ve stroma enzimlerini içeren kloroplast içeriğinin kaybına neden olmaktadır [78, 79]. Yüksek sıcaklık stresi, CO<sub>2</sub> fiksasyonunun ilk basamağını katalizleyen ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisco) enziminin inhibisyonunun bir sonucu olarak CO<sub>2</sub> fiksasyonunu azaltmaktadır [94-96]. Işıktaki Rubisco aktivasyonunu sağlayan stroma enzimi Rubisco aktivaz [97], yüksek sıcaklıklarda inaktive olmakta ve CO<sub>2</sub> fiksasyonunun azalmasına neden olmaktadır [94]. Sıcaklığa bağlı olarak Rubisco aktivasyonu ve dolayısıyla fotosentezdeki azalma, Rubisco aktivaz aktivitesinin yetersiz kalmasıyla Rubisco’nun daha hızlı inaktivasyonundan kaynaklanmaktadır [75, 98]. Pamuk (*Gossypium hirsutum*), buğday (*Triticum aestivum*), tütün (*Nicotiana tabacum*) ve mısır (*Zea mays*) bitkilerinde ilimli yüksek sıcaklık koşulları altında Rubisco aktivasyonundaki azalışın net fotosentez oranındaki azalış ile ilişkili olduğu saptanmıştır [92, 95, 99, 100].

Yüksek sıcaklık stresi altında FSII inaktivasyon mekanizması genç bitkilere göre olgun bitkilerde oldukça karışıktır, çünkü yaşlı yapraklarda yüksek sıcaklık zararı yaşlanma işlevine eklenmektedir. Harding vd. [101], olgunlaşan buğday yapraklarında sıcaklığın tilakoid bileşenlerinin bozulmasını hızlandırdığını ve bileşenlerin reaksiyon oranları arasındaki dengesizliği teşvik ettiğini bulmuştur. Bununla birlikte, artan sıcaklıklar ışık toplayan aparatların organizasyonunda bozulmalara, grana kümelerinde değişikliklere, membran partiküllerinin boyutunda ve yayılışında değişimlere ve tilakoid membranların geçirgenliğinde artışa neden olmaktadır [82, 102]. Artan sıcaklıklar senesensi hızlandırmakta, yaprak alanının canlı kalma süresini ve fotosentetik aktiviteyi azaltmaktadır [101]. Al-Khatib ve Paulsen [103], buğday çeşitlerinde ekimden 14 gün sonra 2 hafta için veya çiçeklenmeden olgunlaşmaya kadar geçen sürelerde 32/27°C’lik yüksek sıcaklık uygulamasının fotosentetik oranı azalttığını bildirmiştir. Yüksek sıcaklık stresinin bir sonucu olarak C<sub>3</sub> bitkilerinde fotosentezdeki azalmanın, tilakoid membranlarında FSII kompleksinin inaktivasyonuna bağlı olarak elektron transfer aktivitesindeki azalmadan kaynaklandığı bildirilmiştir [83, 104].

Fotosentetik aparatlar yüksek sıcaklık stresine hassas olmasına rağmen, termal tolerans subletal sıcaklıklara maruz kalma ile kazanılabilmektedir [105]. Araştırmacı, patates bitkisinin 20 dakika için 35°C’lik sıcaklık uygulamasına maruz kalmasının fotosistem II kararlılığında önemli artışa neden olduğunu bildirmiştir. Bu hızlı uyum, tilakoid membranlarının lipit fazını stabilize eden [106] ksantofil zeaksantininin yapraklarda birikimine bağlanmaktadır [104].

### 3.2.1. Fotosentetik Pigmentlerin Birikimi ve Termal Tolerans

Bitkiler yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında klorofil biyosentezi etkilenmektedir [105, 106]. Yüksek sıcaklıklar, klorofil biyosentezinde klorofilin iki öncü molekülü olan 5-aminolevulinik asit ve protoklorofilin sentezinden sorumlu enzimlerin inhibisyonuna neden olmaktadır [106]. Bu enzimler, yüksek sıcaklık stresinin sonucu olarak zarar gören veya translasyon sonrası modifiye edilen 5-aminolevulinik asit dehidrataz ve porfobilinojen deaminaz enzimleridir [109]. Yüksek sıcaklıkta klorofil biyosentezinin inhibe olması nedeniyle fotosentetik aktivite azalmaktadır [110]. Diğer taraftan, buğdayın klorofil biriktirme yeteneğinin 35°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda zarar gördüğü bildirilmiştir [111].

Sıcaklık stresine toleranslı varyetelerin geliştirilmesinde klorofil biyosentezi ve birikimindeki farklılıklar büyük öneme sahiptir. Bu bağlamda, letal sıcaklıklara maruz bırakıldıktan sonra ışığa alınan etiyole dokularda klorofil birikimindeki inhibisyona ve letal olmayan yüksek sıcaklıklarda ön-uygulama ile bu inhibisyonun önlenmesi temeline dayanan basit, türe özgü olmayan, güvenilir ve doğru bir protokol geliştirilmiştir [112].

Yüksek sıcaklık teşvikli zararın belirlenmesi için klorofil biyoassayı, birçok tarımsal üründe ve *Arabidopsis thaliana* bitkisinde kazanılan termotoleransın değerlendirilmesinde kullanılmıştır [15, 17, 31, 111, 112]. Klorofil inhibisyon testi kullanılarak kazanılan termotoleransın doğru teşhisi için uygun sıcaklık parametrelerinin belirlenmesinin gerektiği bildirilmiştir [113]. Bu parametreler, klorofil birikimi, klorofil birikiminde maksimum azalmaya neden

olan minimum letal sıcaklığı ve letal sıcaklığından önce maksimum klorofil birikimini sağlayan ön-uygulama sıcaklığı için “optimum sıcaklıkları” kapsamaktadır [113].

Hekzaploid buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi Chinese Spring’in ditelosomik (bir koldan yoksun telosentrik kromozoma sahip bitki) serilerinde kazanılan termal toleransı için klorofil birikimindeki inhibisyon değerlendirilmiştir [111]. Maksimum klorofil birikimi için optimum sıcaklığın belirlenmesi için etiyole yaprak segmentleri 10-45°C’ye maruz bırakılmış ve optimum sıcaklık olarak 30°C belirlenmiştir. Letal sıcaklığın belirlenmesi için etiyole yaprak segmentleri 30 dakika için 44-56°C arasındaki sıcaklıklara maruz bırakılmış; 48°C ve üzerinde klorofil birikimi %95’den fazla azalmıştır. Termal toleransın kazanılması, 48°C’de 30 dakika muameleden önce yaprak segmentlerinin 4 sa 34-46°C’de ön muamelesi ile değerlendirilmiş ve 40°C’lik ön muamele sıcaklığı klorofil birikiminde maksimum koruma sağlamıştır. Her bir ditelosomik hat 40°C’de 4 sa için uyumlanmış, 30 dakika için 48°C’ye maruz bırakılmış ve 20 saat için 30°C ve ışık uygulamasını takiben klorofil birikimi için değerlendirilmiştir. İlk taramadan sonra 32 hattan 9’u yüksek sıcaklık analizleri için seçilmiştir. Chinese Spring kontrol (WT, yabani tip), letal sıcaklığa maruz kalmamış Chinese Spring fidelerinde gözlenen klorofil birikiminden yaklaşık %50 daha az birikim göstermiştir. 9 hattın 7’si yabani tip kontrolle benzer klorofil birikimi göstermiştir. Diğer iki hat ise yabani tip kontrole göre farklı klorofil birikimine sahiptir. Bu hatlardan biri, ön-uyum ve letal sıcaklığı takiben klorofil birikiminde sadece %10-20 azalma göstererek yabani tipe göre daha yüksek klorofil seviyesine sahiptir. Bununla birlikte, diğer hattın yabani tipe gözlenen klorofil birikiminin sadece %7’si kadar klorofil biriktirdiği bildirilmiştir [111].

Kazanılan yüksek sıcaklık toleransının belirlenmesinde klorofil birikimi inhibisyon testinin kullanılabilirliği, soya fasulyesinde (*Glycine max* cv. Mitchell 450) değerlendirilmiştir [15]. Araştırmacı, 32°C’de 7 ila 14 gün süresince yetiştirilen etiyole soya fasulyesi fidelerini 32, 42, 44, 46, 48, 50, 52 veya 56°C sıcaklıklara 30 dakika süreyle maruz bırakmıştır. Karanlıkta yüksek sıcaklık uygulamalarını takiben optimum sıcaklığa (32°C) alınan fideler klorofil birikimi için 24 saat sürekli ışığa maruz bırakılmıştır. Sonuçlar, 50°C ve üzerindeki sıcaklıklarda kotiledonlardaki klorofil birikiminin önemli derecede engellendiğini göstermektedir. Diğer bir uygulamada, etiyole fideler farklı sıcaklık (32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 veya 46°C) ve sürelerde (0, 15, 30, 45, 60, 120, 180 ve 240 dakika) ön-uygulamayı takiben yüksek sıcaklık şokuna (50°C, 30 dakika) maruz bırakılmıştır. Etiyole soya fasulyesi kotiledonlarının 50°C’lik sıcaklık uygulamasından önce 38 veya 40°C’de 240 dakika için ön-uygulamanın yüksek sıcaklık şokunda klorofil birikiminin inhibisyonuna karşı maksimum koruma sağladığını göstermiştir. Sonuç olarak, yüksek sıcaklık toleransının belirlenmesinde klorofil birikimindeki inhibisyona dayanan bu testin etkili olduğu bildirilmiştir [15].

Burke vd. [31], mutantların kazanılan termal tolerans açısından seleksiyonunu ve *Arabidopsis*’in sıcaklık hassasiyetini klorofil birikimi testi ile karakterize etmiştir. *Arabidopsis*’in C24, Columbia ve RLD ekotiplerine ait fideler 4°C’de 6 ila 7 gün tutulduktan sonra 23 ila 25°C’de 48 saat için karanlıkta büyütülmüştür. Etiyole *Arabidopsis* fideleri, 25 (kontrol), 42, 44, 46, 48, 50, 52 veya 54°C sıcaklıklara farklı süreler (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240 ve 1200 dakika) için maruz bırakılmıştır. Daha sonra etiyole *Arabidopsis* fideleri 25°C’de 24, 48 ve 72 saat için sürekli ışığa maruz bırakılmıştır. Etiyole *Arabidopsis* fidelerinin 48 veya 50°C’ye 30 dakika için maruz kalması klorofil birikimini tamamen inhibe etmiştir. Daha sonraki denemelerde, 72 saatlik ışık periyodu süresince klorofil birikimini engelleyen 50°C’de 30 dakika uygulaması letal sıcaklık olarak kullanılmıştır. Etiyole fideler, 28, 34, 36, 38, 40, 42 veya 44°C sıcaklıklarda 0, 15, 30, 60, 120, 180 ve 240 dakika ön-uygulamaları takiben letal sıcaklık uygulamasına maruz bırakılmış ve sonra etiyole fideler 16 saat sürekli ışığa maruz bırakılmıştır. Maksimum klorofil birikimini sağlayan 38°C’de 240 dakika uygulaması “optimum ön-uygulama sıcaklığı” olarak belirlenmiştir. Koruyucu bir ön-uygulama olan 44°C’de 30 dakika uygulaması kullanılarak kazanılan termotolerans bileşenlerinden yoksun mutantlar izole edilmiştir. İzole edilen ve termotoleransa sahip olmadığı varsayılan mutantların klorofil seviyeleri, 38°C’de 240 dakika uyumlama ve 50°C’de letal sıcaklık uygulamalarını takiben %10’dan %98’e aralanmıştır. Yüksek sıcaklık şoku uygulamasından önce maksimum kazanılan termotolerans için optimum ön-uygulama sıcaklığı AtTS02 ve RLD fideleri için aynı olmasına rağmen AtTS02 mutantının mutlak klorofil birikimi seviyesi azalmıştır [31].

Dash ve Mohanty [16], bazı buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinin (HD-2307, HD-2327, HD-2402, HD-2643, HD-1553, C306 ve PBN51) termotolerans ve iyileşme (recovery) potansiyelini klorofil birikimi testi kullanarak değerlendirmiştir. 25°C’de büyütülmüş 4 günlük etiyole fideler, 60 saatlik ışık periyodu süresince 25°C (kontrol) veya 40°C (yüksek sıcaklık stresi) sıcaklık uygulamasına maruz bırakılmıştır. Yüksek sıcaklık stresini takiben



fideler, 25°C'de 24 saat daha büyütülmüştür. Yaprak pigmentasyon analizleri, maksimum klorofil inhibisyonunun HD-2643 çeşidinde (%76) ve minimum inhibisyonun ise HD-2327 ve HD-2307 çeşitlerinde (%50-57) olduğunu göstermiştir. Çeşitlerin yüksek sıcaklığa maruz kalmış fidelerinde karotenoid birikiminin inhibisyonu %30-50 arasında olduğu belirlenmiştir. Klorofillere göre karotenoid pigmentasyonunun yüksek sıcaklığa daha az hassas olduğu bulunmuştur. Yüksek sıcaklığa maruz kalan fidelerin stres sonrası iyileşme periyodundaki pigmentasyonu çeşitler arasında önemli farklılıklar göstermiştir. İyileşme periyodundaki klorofil seviyesi incelendiğinde, HD-2327 çeşidinde klorofil seviyesinin maksimuma (%63) çıktığı gözlenmiştir. Buna ilaveten, karotenoidler çeşitler arasında farklı düzeylerde artış göstermiştir. Pigmentasyondaki inhibisyon ve çeşitli fizyolojik parametreler ile sekiz buğday çeşidi, yüksek sıcaklığa toleranslı (HD-2307 ve HD-2327), orta derecede termal toleranslı (HD-2329, HD-2402 ve C306), termal toleransı eksik (HD-1553 ve HD-2643) ve termal duyarlı (PBN51) olarak dört gruba ayrılmıştır [16].

Camejo vd. [76], domatesin (*Lycopersicon esculentum* L.) yüksek sıcaklığa duyarlı (Campbell-28) ve toleranslı (yabani Nagcarlang) birer genotipinde sıcaklık stresinin fotosentetik aktivite üzerine etkisini belirlemiştir. Bitkiler, 16:8 fotoperiyotta (350  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) ve 25/20°C sıcaklık rejiminde yetiştirilmiş ve dördüncü yaprak evresinde iken 45°C'ye 2 saat için maruz bırakılmıştır. Yüksek sıcaklık stresi termal toleranslı genotipte klorofil ve karotenoid içeriğini değiştirmiştir. Yüksek sıcaklık Nagcarlang genotipinde klorofil a miktarını artırırken klorofil b miktarını azaltmıştır. Yüksek sıcaklık stresi sırasında Nagcarlang genotipinde karotenoid içeriğinin arttığı ve klorofil/karotenoid oranının kontrole göre önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir [76].

Tewari ve Tripathy [109], 25°C'de büyütülmüş 4 günlük etiyole kabak (*Cucumis sativus* L. cv. Poinsette) fidelerini 25°C (kontrol) ve 42°C (yüksek sıcaklık stresi) sıcaklık uygulamalarına transfer etmiş ve 6, 12, 24 ve 48 saat için flüoresan ışığına (30  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) maruz bırakmıştır. Maksimum klorofil birikimi 48 saatlik ışık uygulamasındaki kontrol fidelerinde elde edilmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında klorofil sentezi azalma %90 seviyesinde bulunmuştur [109].

Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan buğday çeşitleri arasında net fotosentez oranındaki farklılıkların düşük klorofil konsantrasyonu ve hızlı yaprak senesensinden dolayı klorofil a/b oranındaki değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir [101]. Bu bağlamda, yüksek sıcaklıktaki performansın fotosentez oranındaki değişikliklerle ilişkili olduğu soya fasulyesi [114], pamuk [115] ve pirinç [116] gibi bazı tarımsal ürünlerde bildirilmiştir.

Sonuç olarak, doğal koşullar altında strese adaptasyon bazı ekolojik avantajlara sahip olmasına rağmen, üründe kayıplar nedeniyle tarımsal açıdan bazı sınırlamalar getirmektedir. Bu nedenle, tarımsal bitkilerde abiyotik stres toleransının geliştirilmesi geleneksel ve moleküler ıslah çalışmalarının birleştirilmesi ile gerçekleştirilebilir [3, 117, 118]. Bu bağlamda, bitkilerin yüksek sıcaklık stresi gibi abiyotik streslere karşı toleranslarının belirlenmesinde kullanılan kapsamlı ıslah stratejileri için bazı kriterler şu şekilde sıralanmıştır [1]:

- (i) Özellikle genotiplerin yabani yakın akraba türlerinin geleneksel ıslahı ve germplazm seleksiyonu,
- (ii) Toleranslı ve duyarlı genotiplerde spesifik moleküler kontrol mekanizmalarının açıklanması,
- (iii) Fonksiyonel genomik analizleri aracılığıyla seleksiyon ve ıslah yöntemlerinin biyoteknolojik temelde geliştirilmesi, doğal ve ıslah edilmiş populasyonlar arasında seleksiyon için moleküler problemler ve markörlerin kullanımı ve spesifik genlerin transformasyonu,
- (iv) Mevcut tarımsal uygulamaların geliştirilmesi ve adaptasyonunu kapsamaktadır.

Bitki veriminin artırılması için gen kaynağı geliştirmede fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeydeki araştırmalarla bitki genotiplerinin yüksek sıcaklık toleranslarının belirlenmesi ve geliştirilmesi önemli olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Wang, W.X., et al., Plant Responses to Drought, Salinity and Extreme Temperatures: Towards Genetic Engineering for Stress Tolerance, *Planta*, 218, 1-14, 2003.
2. Bray, E.A., et al., Responses to Abiotic Stresses, In: Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, pp.1158-1203, Rockville, MD: ASPB, 2000.
3. Wang, W.X., et al., Biotechnology of Plant Osmotic Stress Tolerance: Physiological and Molecular Considerations, *Acta Hort.*, 560, 285-292, 2001.

4. Paulsen, G.M., High Temperature Responses of Crop Plants, In: Boote et al. (Eds.), Physiology and Determination of Crop Yield, pp.365-389, ASA, CSSA, and SSSA, Madison, 1994.
5. Ishag, H.M., Mohamed, A.B., Phasic Development of Spring Wheat and Stability of Yield and Its Components in Hot Environments, Field Crops Res., 46, 169-176, 1996.
6. Setimela, P.S., et al., Screening Sorghum Seedlings for Heat Tolerance using a Laboratory Method, Eur. J. Agron., 23, 103-107, 2005.
7. Reynolds, M.P., et al., Evaluating Physiological Traits to Complement Empirical Selection for Wheat in Warm Environments, Euphytica, 100, 84-95, 1998.
8. Batts, G.R., et al., Yield and Partitioning in Crops of Contrasting Cultivars of Winter Wheat in Response to CO<sub>2</sub> and Temperature in Field Studies using Temperature Gradient Tunnels, J. Agric. Sci., Cambridge, 130, 17-27, 1998.
9. Akkaya, A., Buğday Yetiştiriciliği, s. 225, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, 1994.
10. Fokar, M., et al., Heat Tolerance in Spring Wheat. I. Genetic Variability and Heritability of Cellular Thermotolerance, Euphytica, 104, 1-8, 1998.
11. Ibrahim, A.M.H., Quick, J.S., Heritability of Heat Tolerance in Winter and Spring Wheat, Crop Sci., 41, 1401-1405, 2001a.
12. Saadalla, M.M., et al., Heat Tolerance in Winter Wheat: I. Hardening and Genetic Effects on Membrane Thermostability, Crop Sci., 30, 1243-1247, 1990.
13. Ibrahim, A.M.H., Quick, J.S., Genetic Control of High Temperature Tolerance in Wheat as Measured Membrane Thermal Stability, Crop Sci., 41, 1405-1407, 2001b.
14. Burke, J.J., Characterization of Acquired Thermotolerance in Soybean Seedlings, Plant Physiol. Biochem., 36, 601-607, 1998.
15. Karim, M.A., et al., Photosynthetic Activity of Developing Leaves of *Zea mays* is Less Affected by Heat Stress than that of Developed Leaves, Physiol. Plant., 105, 685-693, 1999.
16. Dash, S., Mohanty, N., Evaluation of Assay for the Analysis of Thermotolerance and Recovery Potentials of Seedlings of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars, J. Plant Physiol., 158, 1153-1165, 2001.
17. Levitt, J., Responses of Plants to Environmental Stress, I. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses, pp.607, Academic Press, Inc., 2<sup>nd</sup> Edition, 1980.
18. Jones, R.A., Qualset, C.O., Breeding Crops for Environmental Stress Tolerance, In: Collins, G.B., Petolino, J.G. (Eds.), Application of Genetic Engineering to Crop Improvement, pp.305-340, Dordrecht, Netherlands, Nijhoff/Junk, 1984.
19. Taiz, L., Zeiger, E., Plant Physiology, 3<sup>th</sup> Edition, pp.602-611, Sinauer Associates, Inc., 2002.
20. <http://7.tamu-commerce.edu/agscience/clasnote/pls381/8.s>
21. Houghton, J.T., et al., (Eds.), Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 944 pp., Cambridge University Press, UK, 2001.
22. Marcum, K.B., Cell Membrane Thermostability and Whole-Plant Heat Tolerance of Kentucky Bluegrass, Crop Sci., 38, 1214-1218, 1998.
23. Abernethy, R.H., et al., Thermotolerance is Developmentally Dependent in Germinating Wheat Seed, Plant Physiol., 89, 569-576, 1989.
24. Huang, B., et al., Shoot Physiological Responses of Two Bentgrass Cultivars to High Temperature and Poor Soil Aeration, Crop Sci., 38, 1219-1225, 1998.
25. Larkindale, J., Huang, B., Changes of Lipid Composition and Saturation Level in Leaves and Roots for Heat-stressed and Heat-acclimated Creeping Bentgrass (*Agrostis stolonifera*), Environ. Exp. Bot., 51, 57-67, 2004.
26. Stone, P., The Effects of Heat Stress on Cereal Yield and Quality, In: Basra, A.S. (Ed.), Crop Responses and Adaptations to Temperature Stress, pp. 243-291, Food Products Press, Binghamton, NY, 2001.
27. Gusta, L.V., Chen, T.H.H., The Physiology of Water and Temperature Stress, In: Heyne, E.G. (Ed.), Wheat and Wheat Improvement (2<sup>nd</sup> ed.), pp.115-149, ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, 1987.
28. Burke, J.J., High Temperature Stress and Adaptation in Crops, In: Alscher, R.G., Cummings, J.R. (Eds.), Stress Response in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms, pp.295-309, WileyLiss, New York, 1990.
29. Burke, J.J., et al., Crop-Specific Thermal Kinetic Windows in Relation to Wheat and Cotton Biomass Production, Agron. J., 80, 553-556, 1988.

30. Nguyen, H.T., Joshi, P.C., Molecular Strategies for The Genetic Dissection of Water and High Temperature Stress Adaptation in Cereal Crops, Proceedings of an International Symposium on the Adaptation of Food Crops to Temperature and Water Stress, , Taiwan, 119, 13-18 August, 1992.
31. Burke, J.J., et al., Isolation of *Arabidopsis* Mutants Lacking Components of Acquired Thermotolerance, Plant Physiol., 123, 575-587, 2000.
32. Vierling, E., The Roles of Heat Shock Proteins in Plants, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 42, 579-620, 1991.
33. Hatice, G., Atilla, E., Some Physiological Changes in Strawberry (*Fragaria × ananassa* ‘Camarosa’) Plants Under Heat Stress, J. Hort. Sci. Biotech., 78, 894-898, 2003.
34. Sangwan, V., et al., Opposite Changes in Membrane Fluidity Mimic Cold and Heat Stress Activation of Distinct Plant MAP Kinase Pathways, Plant J., 31, 629-638, 2002.
35. Maestri, E., et al., Molecular Genetics of Heat Tolerance and Heat Shock Proteins in Cereals, Plant Mol. Biol., 48, 667-681, 2002.
36. Schlesinger, M.J., et al., Heat Shock from Bacteria to Man, Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1982.
37. Blum, A., Plant Breeding for Stress Environments, 223 pp., CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1988.
38. Suss, K.H., Yordanov, I.T., Biosynthetic Causes of In Vivo Acquired Thermotolerance of Photosynthetic Light Reactions and Metabolic Responses of Chloroplast to Heat Stress, Plant Physiol., 81, 192-199, 1986.
39. Lin CY., et al., Solute Leakage in Soybean Seedlings under Various Heat Shock Regimes, Plant Cell Physiol., 26, 1493-1498, 1985.
40. Raison J.K., et al., Membrane Properties in Relation to The Adaptation of Plants to High and Low Temperature Stress, In: Turner, N.C., Kramer, P.J. (Eds.), Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress, pp.261-273, Wiley, New York, USA, 1980.
41. Weigel, H.J., The Effect of High Temperatures on Leaf Cells of Valerianella: Relative Heat Stability of the Tonoplast Membrane of Mesophyll Vacuoles, Planta, 159, 398-403, 1983.
42. Santarius, K.A., et al., Effects of High Temperature on the Photosynthetic Apparatus in Isolated Mesophyll Protoplasts of *Valerianella locusta* (L.) Betcke, Photosynthetica, 25, 17-26, 1991.
43. Vigh, L., et al., 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, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 9090-9094, 1993.
44. Horvath, I., et al., Membrane Physical State Controls the Signaling Mechanism of the Heat Shock Response in *Synechocystis* PCC 6803: Identification of hsp17 as a Fluidity Gene, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 3513-3518, 1998.
45. Whitaker, B.D., et al., Influence of Pre-storage Heat and Calcium Pre-treatments on Lipid Metabolism in Golden Delicious Apples, Phytochemistry, 45, 465-472, 1997.
46. Grover, A., et al., Production of High Temperature Tolerant Transgenic Plants through Manipulation of Membrane Lipids, Curr. Sci., 79, 557-559, 2000.
47. Klueva, N.Y., et al., Mechanisms of Thermotolerance in Crops, In: Basra, A.S. (Ed.), Crop Responses and Adaptations to Temperature Stress, pp.177-217, Food Products Press, Binghamton, NY, 2001.
48. Santarius, K.S., Muller, M., Investigations on Heat Resistance on Spinach Leaves, Planta, 146, 529-538, 1979.
49. McCourt, P., et al., The Effects of Reduced Amounts of Lipid Unsaturation on Chloroplast Ultrastructure and Photosynthesis in a Mutant of *Arabidopsis*, Plant Physiol., 84, 353-360, 1987.
50. Kunst, L., et al., Enhanced Thermal Tolerance in a Mutant of *Arabidopsis* Deficient in Palmitic Acid Unsaturation, Plant Physiol., 91, 401-408, 1989a.
51. Kunst, L., et al., A Mutant of *Arabidopsis* Deficient in Desaturation of Palmitic Acid in Leaf Lipids, Plant Physiol., 90, 943-947, 1989b.
52. Behl, R.K., et al., High Temperature Tolerance in Relation to Changes in Lipids in Mutant Wheat, Tropenlandwirt, 97, 131-135, 1996.
53. Yang, J.F., et al., Influence of High Temperature and Low Humidity on the Fatty Acid Composition of Membrane Lipids in Wheat, Acta Bot. Sin., 26, 386-391, 1984.
54. Diepenbrock, W., et al., FA Composition of Root Membrane Lipids from 2 Potatoes (*S. tuberosum* L.) Genotypes Differing in Heat Tolerance as Affected by Supraoptimal Rootzone Temperature, Agrochimica, 33, 478-486, 1989.

55. Francisco, J.P., et al., Ascorbic Acid and Flavonoidperoxidase Reaction as a Detoxifying System of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Grapevine Leaves, *Phytochemistry*, 60, 573-580, 2002.
56. Diego, A.M., et al., Photosynthesis and Activity of Superoxide Dismutase, Peroxidase and Glutathione Reductase in Cotton under Salt Stress, *Environ. Exp. Bot.*, 49, 69-76, 2003.
57. Desikan, R., et al., Generation of Active Oxygen in Elicited Cells of *Arabidopsis thaliana* is Mediated by a NADPH Oxidaselike Enzyme, *FEBS Lett.*, 382, 213-217, 1996.
58. Shewfelt, R.L., Purvis, A.C., Toward a Compherensive Model for Lipid Peroxidation in Plant Tissue Disorders, *Hort. Sci.*, 30, 213-218, 1995.
59. Foyer, C.H., et al., Protection Against Oxygen Radicals: An Important Defense Mechanism Studied in Transgenic Plants, *Plant Cell Environ.*, 17, 507-523, 1994.
60. Sullivan, C.Y., Mechanisms of Heat and Drought Resistance in Grain Sorghum and Methods of Measurement, In: Rao, N.G.P., House, L.R. (Eds.), *Sorghum in the Seventies*, Oxford and IPH Publishing Co., New Delhi, India, 1972.
61. Shanahan, J.F., et al., Membrane Thermostability and Heat Tolerance of Spring Wheat. *Crop Sci.*, 30, 247-251, 1990.
62. Ismail, A.M., Hall, A.E., Reproductive-stage Heat Tolerance, Leaf Membrane Thermostability and Plant Morphology in Cowpea, *Crop Sci.*, 39, 1762-1768, 1999.
63. Blum, A., et al., Wheat Cellular Thermotolerance is Related to Yield under Heat Stress, *Euphytica*, 117, 117-123, 2001.
64. Yeh, D.M., Hsu, P.Y., Heat Tolerance in English Ivy as Measured by an Electrolyte Leakage Technique, *J. Hort. Sci. Biotech.*, 79, 298-302, 2004.
65. Rahman, H., et al., Heat Tolerance of Upland Cotton During the Fruiting Stage Evaluated using Cellular Membrane Thermostability, *Field Crops Res.*, 85, 149-158, 2004.
66. Azhar, M.T., et al., Combining Ability Analysis of Heat Tolerance in *Gossypium hirsutum* L., *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 41, 23-28, 2005.
67. Towill, L.E., Mazur, P., Studies on the Reduction of 2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride as a Viability Assay for Plant Tissue Cultures, *Can. J. Bot.*, 53, 1097-1102, 1975.
68. Nachlas, M., et al., The Determination of Lactic Dehydrogenase with a Tetrazolium Salt, *Anal. Biochem.*, 1, 317, 1960.
69. Chen, H.H., et al., Adaptability of Crop Plants to High Temperature Stress, *Crop Sci.*, 22, 719-725, 1982.
70. Krishnan, M., et al., Heat Shock Protein Synthesis and Thermotolerance in Wheat, *Plant Physiol.*, 90, 140-145, 1989.
71. Porter, D.R., et al., Quantifying Acquired Thermal Tolerance in Winter Wheat, *Crop Sci.*, 34, 1686-1689, 1994.
72. Mullarkey, M., Jones, P., Isolation and Analysis of Thermotolerant Mutants of Wheat, *J. Exp. Bot.*, 51, 139-146, 2000.
73. Yıldız, M., Terzioğlu, S., Heat Shock of Cultivated and Wild Wheat During Early Seedling Stage: Growth, Cell Viability and Heat Shock Proteins, *Acta Biol. Hung.*, 57, 231-246, 2006.
74. Terzi, H., *Triticum aestivum* L. ve *Triticum durum* Desf.'un Bazı Çeşitlerinde Fotosentetik Pigment Birikimi, Hücre Canlılığı ve Yüksek Sıcaklık Şoku Proteinlerinin Sentezi Üzerine Yüksek Sıcaklığın Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar, 2006.
75. Crafts-Brandner, S.J., Salvucci, M.E., Rubisco Activase Constrains the Photosynthetic Potential of Leaves at High Temperature and CO<sub>2</sub>, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 13430-13435, 2000.
76. Camejo, D., et al., High Temperature Effects on Photosynthetic Activity of Two Tomato Cultivars with Different Heat Susceptibility, *J. Plant Physiol.*, 162, 281-289, 2005.
77. Xu, Q., et al., Structural Organization of Photosystem I, In: Mathis, P. (Ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, pp.87-90, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 1995.
78. Bauer, H., Senger, M., Photosynthesis of Ivy (*Hedera helix* L.) after Heat Stress. II. Activity of Ribulose Biphosphate Carboxylase, Hill Reaction, and Chloroplast Ultrastructure, *Z. Pflanzenphysiol*, 91, 359-369, 1979.
79. McCain, D.C., et al., Thermal Damage of Chloroplasts Envelope Membranes, *Plant Physiol.*, 90, 606-609, 1989.
80. Armond, P.A., et al., Dissociation of Supramolecular Complexes in Chloroplast Membranes a Manifestation of Heat Damage to the Photosynthetic Apparatus, *Biochim. Biophys. Acta*, 601, 433-442, 1980.

81. Berry, J., Björkman, O., Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 31, 491-543, 1980.
82. Gounaris, K., et al., Structural Reorganisation of Chloroplast Thylakoid Membranes in Response to Heat Stress, *Biochim. Biophys. Acta*, 766, 198-208, 1984.
83. Mishra, R.K., Singhal, G.S., Function of Photosynthetic Apparatus of Intact Wheat Leaves under High Light and Heat Stress and Its Relationship with Peroxidation of Thylakoid Lipids, *Plant Physiol.*, 98, 1-6, 1992.
84. Mamedov, M., et al., Effects of Glycine-Betaine and Unsaturation of Membrane Lipids on Heat Stability of Photosynthetic Electron-Transport and Phosphorylation Reactions in *Synechocystis* PCC6803, *Biochim. Biophys. Acta*, 1142, 1-5, 1993.
85. Nash, D., et al., Heat Inactivation of Oxygen Evolution in Photosystem II from Spinach Chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, 807, 127-133, 1985.
86. Thompson, L.K., et al., Molecular Basis of Heat Denaturation of Photosystem II, *Biochemistry*, 28, 6686-6696, 1989.
87. Enami, I., et al., 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<sup>2+</sup>, *Biochim. Biophys. Acta*, 1186, 52-58, 1994.
88. Sundby, C., et al., Temperature Dependent Changes in the Antenna Size of Photosystem II. Reversible Conversion of Photosystem II Alpha to Photosystem II Beta, *Biochim. Biophys. Acta*, 851, 475-483, 1986.
89. Cao, J., Govindjee, Chlorophyll a Fluorescence Transient as an Indicator of Active and Inactive Photosystem II in Thylakoid Membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, 1015, 180-188, 1990.
90. Al-Khatib, K., Paulsen, G.M., Enhancement of Thermal Injury to Photosynthesis in Wheat Plants and Thylakoids by High Light Intensity, *Plant Physiol.*, 90, 1041-1048, 1989.
91. Stidham, M.A., et al., Temperature Dependence of Photosynthesis in *Agropyron smithii* Rydb. II. Contribution from Electron Transport and Photophosphorylation, *Plant Physiol.*, 69, 929-934, 1982.
92. Sharkey, T.D., et al., Increased Heat Sensitivity of Photosynthesis in Tobacco Plants with Reduced Rubisco Activase, *Photosynth. Res.*, 67, 147-156, 2001.
93. Percy, R.W., Effects of Growth Temperature on the Thermal Stability of the Photosynthetic Apparatus of *Atriplex lentiformis* (Torr.) Wats, *Plant Physiol.*, 59, 873-878, 1977.
94. Feller, U., et al., Moderately High Temperatures Inhibit Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) Activase-mediated Activation of Rubisco, *Plant Physiol.*, 116, 539-546, 1998.
95. Law, R.D., Crafts-Brandner, S.J., Inhibition and Acclimation of Photosynthesis to Heat Stress is Closely Correlated with Activation of Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase, *Plant Physiol.*, 120, 173-181, 1999.
96. Bernacchi, C.J., et al., Temperature Response of Mesophyll Conductance. Implications for the Determination of Rubisco Enzyme Kinetics and for Limitations to Photosynthesis In Vivo, *Plant Physiol.*, 130, 1992-1998, 2002.
97. Portis, A.R., Rubisco Activase: Rubisco's Catalytic Chaperone, *Photosynth. Res.*, 75, 11-27, 2003.
98. Salvucci, M.E., Crafts-Brandner, S.J., Mechanism for Deactivation of Rubisco under Moderate Heat Stress, *Plant Physiol.*, 122, 513-519, 2004.
99. Crafts-Brandner, S.J., Law, R.D., Effect of Heat Stress on the Inhibition and Recovery of the Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Activation State, *Planta*, 212, 67-74, 2000.
100. Crafts-Brandner, S.J., Salvucci, M.E., Sensitivity of Photosynthesis in a C4 Plant, Maize, to Heat Stress, *Plant Physiol.*, 129, 1773-1780, 2002.
101. Harding, S.A., et al., Photosynthetic Decline from High Temperature Stress during Maturation of Wheat. I. Interaction with Senescence Process, *Plant Physiol.*, 92, 648-653, 1990.
102. Murakami, Y., et al., Trienoic Fatty Acids and Plant Tolerance of High Temperature, *Science*, 287, 475-479, 2000.
103. Al-Khatib, K., Paulsen, G.M., Photosynthesis and Productivity during High Temperature Stress of Wheat Cultivars from Major World Regions, *Crop Sci.*, 30, 1127-1132, 1990.
104. Havaux, M., Tardy, F., Temperature-dependent Adjustment of the Thermal Stability of Photosystem II In Vivo: Possible Involvement of Xanthophyll-cycle Pigments, *Planta*, 198, 324-333, 1996.
105. Havaux, M., Rapid Photosynthetic Adaptation to Heat Stress Triggered in Potato Leaves by Moderately Elevated Temperatures, *Plant Cell Environ.*, 16, 461-467, 1993.
106. Havaux, M., Carotenoids as Membrane Stabilizers in Chloroplasts, *Trends Plant Sci.*, 3, 147-151, 1998.
107. van Hasselt, P.R., Strikwerda, J.T., Pigment Degradation in Discs of the Thermophilic *Cucumis sativus* as Affected by Light, Temperature, Sugar Application and Inhibitors, *Plant Physiol.*, 37, 253-257, 1976.

108. Feierabend, J., Capacity for Chlorophyll Synthesis in Heat-bleached 70S Ribosome-deficient Rye Leaves, *Planta*, 135, 83-88, 1977.
109. Tewari, A.K., Tripathy, B.C., Temperature Stress-induced Impairment of Chlorophyll Biosynthetic Reactions in Cucumber and Wheat, *Plant Physiol.*, 117, 851-858, 1998.
110. Hodgins, R., van Huystee, R.B., Porphyrin Metabolism in Chill Stressed Maize (*Zea mays* L.), *J. Plant Physiol.* 126, 257-268, 1986.
111. O'Mahony, P, et al., Identification of Acquired Thermotolerance Deficiency within Ditelosomic Series of 'Chinese Spring' Wheat, *Plant Physiol. Biochem.*, 38, 243-252, 2000.
112. Burke, J.J., Integration of Acquired Thermotolerance within the Developmental Program of Seed Reserve Mobilization, In: Cherry, J.H. (Ed.), *Biochemical and Cellular Mechanisms of Stress Tolerance in Plants*, pp.191-200, Springer-Verlag, Berlin, 1994.
113. Burke, J.J., Identification of Genetic Diversity and Mutations in Higher Plant Acquired Thermotolerance, *Physiol. Plant.*, 112, 167-170, 2001.
114. Wells, R., et al., Cultivar Differences in Canopy Apparent Photosynthesis and Their Relationship to Seed Yield in Soybeans, *Crop Sci.*, 22, 886-890, 1982.
115. Cornish, K., et al., Enhanced Photosynthesis and Stomatal Conductance of Pima Cotton (*Gossypium barbadense* L.) Bred for Increased Yield, *Plant Physiol.*, 97, 484-489, 1991.
116. Sasaki, H., Ishii, R., Cultivar Differences in Leaf Photosynthesis of Rice Bred in Japan, *Photosynth. Res.*, 32, 139-146, 1992.
117. Kasuga, M., et al., Improving Plant Drought, Salt, and Freezing Tolerance by Gene Transfer of a Single Stress-inducible Transcription Factor, *Nature Biotechnol.*, 17, 287-291, 1999.
118. Dunwell, J.M., Transgenic Approaches to Crop Improvement, *J. Exp. Bot.*, 51, 487-496, 2000.