



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



***Brassica napus L.* BİTKİSİNDE GABA
RESEPTÖRÜ MODÜLATÖRLERİNİN
GABA YOLU ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

İrem ÇETİNKAYA

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir
2025

T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

***Brassica napus L.* BİTKİSİNDE GABA
RESEPTÖRÜ MODÜLATÖRLERİNİN
GABA YOLU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

İrem ÇETİNKAYA

Danışman : Prof. Dr. Melike BOR

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji Yüksek Lisans Programı

İZMİR

2025

İrem ÇETİNKAYA tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “*Brassica napus* L. bitkisinde GABA reseptörü modölatörlerinin GABA yolu üzerindeki etkilerinin incelenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 11 / 02 / 2025 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. Melike BOR	
Raportör Üye	: Doç Dr. Rengin ÖZGÜR UZILDAY	
Üye	: Prof. Dr. Çağlar KARAKAYA	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Brassica napus* L. BİTKİSİNDE GABA RESEPTÖRÜ MODÜLATÖRLERİNİN GABA YOLU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

11 /02 / 2025

İmzası

Adı-Soyadı

İrem ÇETİNKAYA

ÖZET***Brassica napus* L. BİTKİSİNDE GABA RESEPTÖRÜ
MODÜLATÖRLERİNİN GABA YOLU ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

ÇETİNKAYA, İrem

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Melike BOR

Şubat 2025; 97 Sayfa

Canlılar dünyasının üyeleri, yaşam döngüleri süresince, büyüme ve gelişmelerini tamamlama ve genetik materyallerini gelecek nesillere aktarma yolunda, çevreleri ve birbirileri arasında birçok mücadele içindedirler. Hayvanlar aleminde yaşanan tür içi veya türler arası rekabette, besin yetersizliği gibi durumlarda bireyler, savaşıma ya da kaçma veya bulundukları ortamı değiştirerek göç etme kabiliyetine ve inisiyatifine sahiptirler. Bitkiler ise kökleri ile bağlı olduğu topraktaki immobile doğaları gereği, bulundukları ortam içerisinde savunma yanıtı geliştirmek mecburiyetindedirler. Geliştirdikleri bu savunma yanıtının oluşumunda rol oynayan moleküllerden biri olarak, protein yapısına katılmayan, abiyotik veya abiyotik stres koşulları karşısında hücre içi konsantrasyonunu ani bir şekilde arttıran, dört karbonlu gamma aminobütirik asit (GABA) öne çıkmaktadır. Prokaryotlarda ve ökaryotlarda da bulunan GABA'nın biyosentez süreci, GABA yolu olarak isimlendirilir ve bu yolun enzimleri evrimsel olarak korunmuştur.

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda GABA'nın bitkilerde çok çeşitli fizyolojik süreçlerde yer aldığı gösterilmiştir. Çalışmalarda çoğu süreç moleküler düzeyde detaylı olarak araştırılmış olsa dahi, GABA'nın sinyal molekülü olarak rolünün mekanizması halen aydınlatılmaya muhtaçtır. Memelilerde GABA reseptörlerini pozitif ve negatif olarak düzenleyen modülatör moleküllerin, bitki hücrelerinde nasıl bir etkileşim içinde olduğu bilinmemektedir ve bu etkileşimin belirlenebilmesi GABA'nın sinyal molekülü olarak rolünün anlaşılmasında büyük önem taşımaktadır. Literatürdeki bu bilgi ihtiyacı çalışmamızın çıkış kaynağı olmuştur.

Bu bağlamda, tez projemizde *Brassica napus* L. bitkilerine agonist etkiye sahip gallik asit ve antagonist etkiye sahip pikrotoksin moleküllerini uyguladık ve bu moleküllerin GABA yolu ile nasıl konuştuklarını incelemeyi hedefledik. Hedef doğrultusunda glutamat dekarboksilaz (GAD), GABA transaminaz (GABA-T) ve suksinit semialdehit dehidrogenaz (SSADH) enzim analizleri ve GABA miktar tayini gerçekleştirdik. *GAD2*, *GABA-T(POP2)*, *SSADH*, *GABA-P(BAT1)* genlerindeki transkript miktarındaki değişimleri inceledik.

Anahtar Sözcükler: *Brassica napus* L., GABA, pikrotoksin, gallik asit, modölatör molekül



ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF GABA RECEPTOR MODULATORS ON GABA-SHUNT IN *Brassica napus* L.**

ÇETİNKAYA, İrem

MSc. Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Melike BOR

February 2025, 97 pages

Members of the living world are in many struggles with their environment and each other during their life cycles, in order to complete their growth and development and to transfer their genetic material to future generations. In the intra- or inter-species competition experienced in the animal kingdom, individuals have the ability and initiative to fight or flee or to migrate by changing their environment in cases such as nutritional deficiency. Plants, on the other hand, are obliged to develop a defensive response in their environment due to their immobile nature in the soil to which they are attached with their roots. One of the molecules that plays a role in the formation of this defensive response they develop is the four-carbon gamma aminobutyric acid (GABA), which does not participate in the protein structure and suddenly increases its intracellular concentration in the face of abiotic or abiotic stress conditions. The biosynthesis process of GABA, which is also found in prokaryotes and eukaryotes, is called the GABA pathway and the enzymes of this pathway are evolutionarily conserved.

In recent years, studies have shown that GABA is involved in a wide range of physiological processes in plants. Although most processes have been investigated in detail at the molecular level in studies, the mechanism of GABA's role as a signaling molecule still needs to be elucidated. It is not known how modulatory molecules that positively and negatively regulate GABA receptors in mammals interact in plant cells, and determining this interaction is of great importance in understanding the role of GABA as a signaling molecule. This need for information in the literature was the source of our study. In this context, in our thesis project, we applied agonist gallic acid and antagonist picrotoxin molecules to *Brassica napus* L. plants and aimed to examine how these molecules communicate with the GABA pathway.

In line with this goal, we performed enzyme analyses of glutamate decarboxylase (GAD), GABA transaminase (GABA-T) and succinate semialdehyde dehydrogenase (SSADH) and GABA quantity determination. We examined the changes in transcript amounts in the *GAD2*, *GABA-T* (*POP2*), *SSADH*, *GABA-P* (*BAT1*) genes.

Keywords: *Brassica napus* L., GABA, picrotoxin, gallic acid, modulator molecule.



ÖNSÖZ

Önerilen proje kapsamında GABA reseptörlerinin aktivasyonu ve inhibisyonu yoluyla, GABA seviyelerini düzenleyen modölatör moleküllerin bitki hücrelerindeki fonksiyonları ve GABA yolu ile nasıl etkileştiğini incelemeyi hedefledik. Bu etkileşimin incelenmesi stres koşulları altında bitki hücrelerinde hızla değişen GABA içeriğinin, memelilerdeki gibi bir düzenleme süreci ile benzer bir sürece sahip olup olmadığının anlaşılması açısından önem arz etmektedir.

Bu açıdan planlanan ve yöntemler bölümünde detayları verilen analizlerle bitkilerde GABA reseptörü modölatörlerinin GABA yolu üzerindeki etkilerini ayrıntılı olarak araştırmayı amaçladık. Projemiz süresince çeşitli fizyolojik, biyokimyasal, transkriptomik ve metabolomik analizler aracılığıyla bu interaksyonu inceledik. Elde edeceğimiz sonuçların GABA'nın bitkilerdeki sinyal molekülü olarak rolü hakkındaki literatür bilgisine katkı sağlayacağını ve günden güne ciddileşerek küresel bir sorun haline gelen iklim krizine karşı toleranslı bitkilerin geliştirilmesi konusundaki tarımsal çabalara yardımcı olacağını ön görmekteyiz.

İZMİR

11 /02 /2025

Adı-Soyadı

İrem ÇETİNKAYA



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK.....	İİ
KABUL ONAY SAYFASI.....	İİİ
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	V
ÖZET.....	Vİİ
ABSTRACT.....	İX
ÖNSÖZ	Xİ
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	Xİİİ
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVII
TABLolar DİZİNİ.....	XXI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XXIII
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 GABA.....	2
2.2 CANLILARDA GABA’nın BİYOSENTEZ YOLU.....	3
2.3 GABA’nın BİTKİLERDEKİ GÖREVLERİ.....	6
2.3.1 Karbon,Azot Dengesinde GABA’nın Rolü.....	6
2.3.2 GABA’nın pH Dengesindeki Rolü.....	7
2.3.3 ROS’ların Uzaklaştırılması ve GABA.....	9

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4 GABA ve ABİYOTİK STRES.....	11
2.4.1 GABA ve Kuraklık Stresi.....	12
2.4.2 GABA ve Tuz Stresi.....	13
2.4.3 GABA ve Ağır Metal Stresi.....	14
2.4.4 GABA ve Düşük Sıcaklık Stresi.....	15
2.4.5 GABA ve Yüksek Sıcaklık Stresi.....	16
2.5 GABA'nın SİNYAL MOLEKÜLÜ OLARAK ROLÜ.....	17
2.6 GABA RESEPTÖRÜ.....	20
2.6.1 Memelilerde GABA _A Reseptörü.....	21
2.6.2 Pikrotoksin; Bir GABA _A Reseptör Antagonisti.....	22
2.6.3 Gallik asit; Bir GABA _A Reseptör Agonisti.....	23
2.7 KOLZA (<i>Brassica napus</i> L.).....	25
2.8 TEZ PROJESİNİN HİPOTEZİ.....	26
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1 Bitki Materyali ve Yetiştirme Koşulları.....	27
3.2 Modülatör Moleküllerin Uygulanması.....	27
3.3 GABA Miktarının Belirlenmesi.....	27
3.4 Fizyolojik Parametreler.....	28
3.5 Total Protein Miktarının Belirlenmesi.....	29
3.6 Lipid Peroksidasyon(TBARS) Miktarının Belirlenmesi.....	29
3.7 Enzimatik Analizler ve Homojenizasyon.....	30
3.8 RNA Ekstraksiyonu.....	31

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.9 cDNA Sentezi.....	31
3.10 Kantitatif PCR Analizi	32
4.BULGULAR.....	34
4.1 Fizyolojik Parametreler	34
4.2 Total Protein Miktarının Belirlenmesi.....	43
4.3 Lipid Peroksidasyon (TBARS) Miktarının Belirlenmesi.....	45
4.4 GABA Miktarının Belirlenmesi.....	46
4.5 GAD Aktivitesinin Belirlenmesi.....	48
4.6 GABA-T Aktivitesinin Belirlenmesi	49
4.7 SSADH Aktivitesinin Belirlenmesi.....	50
4.8 Kantitatif PCR Analizi.....	52
5. TARTIŞMA.....	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	69
TEŞEKKÜR.....	96
ÖZGEÇMİŞ.....	97



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil

Sayfa

2.1 Bitkilerde GABA'nın çeşitli görevleri.....	3
2.2 Bitkilerde GABA'nın metabolik yolu	5
2.3.1 Karbon ve azot metabolizmasının düzenlenmesinde GABA'nın rolünün şematik gösterimi.....	7
2.3.3 GABA tarafından temizlenen ROS'un şematik gösterimi.....	10
2.5.1 GABA raportörü ve bitkilerdeki potansiyel kullanımları.....	18
2.5.2 Bitkilerdeki GABA sinyal mekanizması.....	19
2.6.1 GABA reseptörünün şematik gösterimi.....	22
2.6.3 Gallik asit ve türevlerinin genel sınıflandırması.....	24
2.7 Tez projemiz kapsamında yetiştirilen <i>Brassica napus</i> L. bitkileri.....	25
4.1.a <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplardaki ozmotik potansiyel değişimi.....	34
4.1.b: <i>Brassica napus</i> L. 'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplardaki ozmotik potansiyel değişimi.....	35
4.1.c <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplardaki Fv/Fm oranlarındaki değişim.....	35
4.1.d <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulanan gruplardaki Fv/Fm oranlarındaki değişim.....	36
4.1.e <i>Brassica napus</i> L. 'de kontrol ve pikrotoksin uygulanan gruplarda, RWC miktarındaki değişim.....	37
4.1.f <i>Brassica napus</i> L. 'de kontrol ve gallik asit uygulanan gruplarda, RWC miktarındaki değişim.....	37
4.1.g <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulanan gruplarda, yaprak yaş ağırlığındaki değişim.....	38

ŞekilSayfa

4.1.h <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, yaprak yaş ağırlıktaki değişim.....	39
4.1.ı <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, yaprak kuru ağırlıktaki değişim.	40
4.1.i <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, yaprak kuru ağırlıktaki değişim.....	40
4.1.j <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlıktaki değişim.....	41
4.1.k <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlıktaki değişim.....	42
4.1.l <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda,kök kuru ağırlıktaki değişim.....	42
4.1.m <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda,kök kuru ağırlıktaki değişim.....	43
4.2.a <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde, kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki total protein miktarı üzerindeki etkileri.....	44
4.2.b <i>Brassica napus</i> L.bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki total protein miktarı üzerindeki etkileri.....	44
4.3.a <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde, kontrol grubu ve pikrotoksin uygulaması yapılan yaprak örneklerinde lipid peroksidasyon miktarındaki değişim.....	45
4.3.b <i>Brassica napus</i> L.bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulaması yapılan yaprak örneklerinde lipid peroksidasyon miktarındaki değişim.....	46
4.4.a <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA miktarı üzerindeki etkileri.....	47
4.4.b <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA miktarı üzerindeki etkileri.....	47
4.5.a <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki GAD aktivitesi üzerindeki etkileri.....	48
4.5.b <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki GAD aktivitesi üzerindeki etkileri.....	49

4.6.a <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA-T aktivitesi üzerindeki etkileri.....	49
4.6.b <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA-T aktivitesi üzerindeki etkileri.....	50
4.7.a <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki SSADH aktivitesi üzerindeki etkileri.....	51
4.7.b <i>Brassica napus</i> L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki SSADH aktivitesi üzerindeki etkileri.....	52
4.8.a <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, <i>GAD2</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	53
4.8.b <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, <i>GAD2</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	54
4.8.c <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, <i>POP2</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	55
4.8.d <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, <i>POP2</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	56
4.8.e <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, <i>SSADH</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	57
4.8.f <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, <i>SSADH</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	58
4.8.g <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, <i>BAT1</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	59
4.8.h <i>Brassica napus</i> L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, <i>BAT1</i> genindeki transkript miktarındaki değişim.....	60



TABLÖLAR DİZİNİTabloSayfa

3.10 qPCR analizlerinde kullanılan primerlerin listesi 33





SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
GABA	Gamma-aminobütirik asit
GA	Gallik asit
GABA-T	GABA-Transaminaz
GABA-TP	GABA-Transaminaz Pirüvat
GABA-TK	GABA-Transaminaz α -ketoglutarat
GAD	Glutamat dekarboksilaz
GDH	Glutamat dehidrogenaz
SSA	Süksinik semialdehit
SSADH	Süksinik semialdehit dehidrogenaz
PTX	Pikrotoksin
ROS	Reaktif oksijen türleri
ALMT	Alüminyum ile aktiveleşen malat taşıyıcılar
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
TCA	Trikarboksilik asit döngüsü
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
cDNA	Complimentary DNA
<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
μ	Mikro
B	Beta
γ	Gamma



1. GİRİŞ

Yapılan araştırmalar 2050 yılına kadar dünya nüfusunun 10 milyar kişiye ulaşacağını ve artan nüfusa bağlı olarak tarımsal gıda üretiminin, küresel çapta %60-%110'luk bir artışa ihtiyaç duyacağını ön görmektedir (Rockstörn et al.,2017; Shelp et al.,2021). Hızla artan nüfus ve günden güne ciddileşen iklim krizi tarımsal üretimi zora sokarak, tarımda yenilikçi uygulamaların geliştirilmesini acil hale getirmiştir (Fang et al.,2021; Mirzaei et al.,2024).

Bitkiler, yetişmekte oldukları ortamlarda abiyotik ve biyotik stres gibi büyüme ve gelişimlerini kısıtlayıcı birçok çevresel faktöre maruz kalırlar. Bitkilerin bu zorlu koşullara adaptasyonu, çevresel uyarınları algılama ve savunmayı optimize etme prensibine dayanan, sinyal üretme yetenekleriyle sağlanır. Hayvanlarda olduğu gibi, bitkiler de çeşitli hücre içi ve hücrelerarası sinyale sahip olup, bu sinyaller arasında nörotransmitter benzeri sinyal moleküllerinin oluşu, araştırmacılar için dikkat çekici bir çalışma alanı doğurmuştur. Bu moleküllerden olan gamma aminobütirik asit (GABA), yaklaşık elli yıl önce bitkilerde belirlenmesinden bu yana üzerinde çeşitli çalışmalar yapılan bir amino asittir. Stres tepkileri açısından GABA'nın rolü detaylı olarak çalışılmış olsa da sinyal molekülü olarak görevi yeni ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, GABA'nın sinyal molekülü olarak rolünün çeşitli yönleri belirsizliğini korumaktadır ve üzerinde daha detaylı çalışmaların yapılması gereklidir (Fromm,2020).

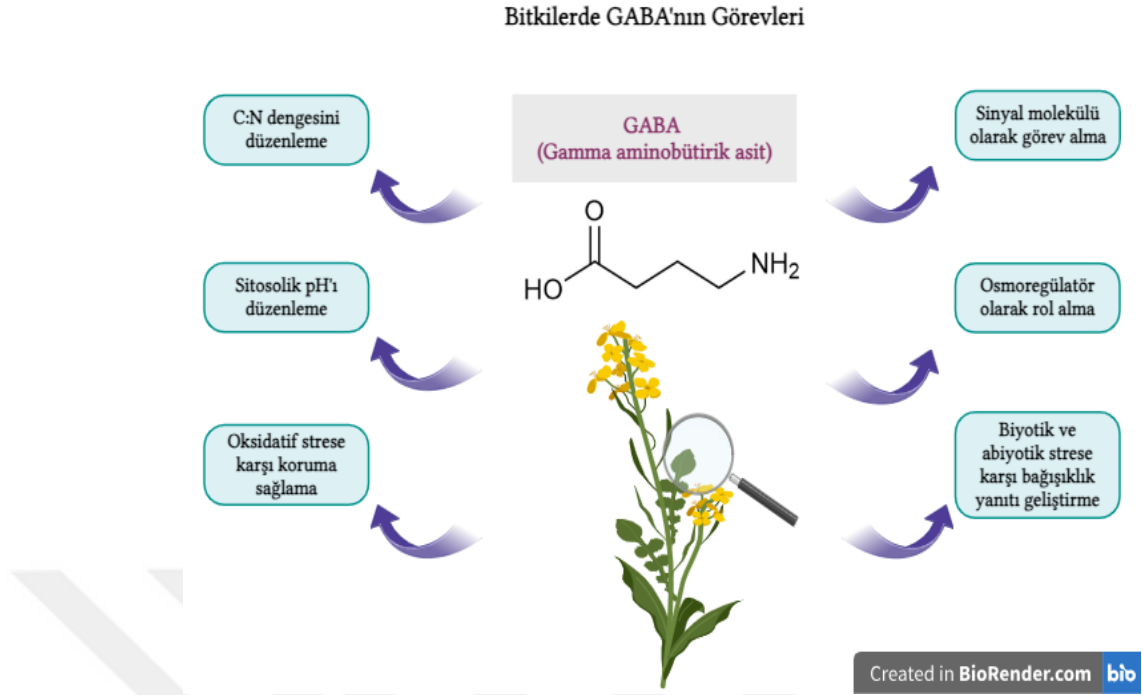
Bu bilgiler doğrultusunda tez çalışmamızda, hayvanlarda GABA reseptörleri üzerinde pozitif ve negatif modölatör olarak etki gösteren pikrotoksin ve gallik asit moleküllerinin bitkilerdeki etkisini incelemeyi amaçladık. *Brassica napus* L. bitkisine, farklı konsantrasyonlarda pikrotoksin ve gallik asit uyguladıktan sonra alınan örneklerde fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde analizler gerçekleştirdik. Elde edeceğimiz sonuçların, GABA'nın sinyal molekülü olarak rolünü anlama ve detaylandırmaya yönelik çabalara fayda sağlayacağını ön görmekteyiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 GABA

Gamma amino bütirik asit (GABA) protein yapısına katılmayan, dört karbonlu, moleküler formülü $C_4H_9NO_2$ (Dahiya et al., 2021) olan ve 103.12 moleküler ağırlığa sahip, serbest amino asit havuzunun önemli bir bileşenidir (Milon et al.,2024). Varlığı ilk olarak Steward ve arkadaşları tarafından 1949 yılında patates yumrularından izole edilerek keşfedilen GABA, bakteriler, mantarlar, bitkiler ve hayvanlar dahil olmak üzere bilinen hemen hemen tüm prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunmaktadır (Cao et al.,2024; Yang et al.,2023; Liu et al.,2021). Biyolojik olarak aktif hale geldiğinde, amino grubundan kaynaklanan pozitif yüke ve diğer moleküllerle etkileşime girip, fizyolojik süreçlere katılmasını sağlayan karboksil gruplu (-COOH) negatif yüke sahip olmasından dolayı Zwitterion formunda bulunur (Ahmad ve Fariduddin, 2024).

Memelilerde GABA, beyinde yüksek oranlarda bulunur ve merkezi sinir sisteminde birincil nörotransmitter inhibitörüdür ve sinyal molekülü olarak işlev görür (Ahmad ve Fariduddin, 2024; Roberts,2007; Milon et al.,2024; Cao et al.,2024). Anksiyete ve depresyon gibi mental rahatsızlıklarda doğal bir sakinleştirici ve yatıştırıcı olarak etkileri vardır (Cao et al.,2024). Bitkilerde GABA'nın işlevi memelilere kıyasla halen daha az aydınlatılmış olmasına rağmen yapılan çalışmalarda görevlerinin büyük bir bölümü ortaya konulmuştur (Bor ve Türkan,2019). GABA, bitkilerde büyüme ve gelişimi teşvik etmenin yanı sıra karbon azot dengesinin korunması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) süpürülmesi, hücre içi pH'ın düzenlenmesi, osmoregülasyonun sağlanması ve yüksek sıcaklık, tuz, kuraklık, düşük sıcaklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarında bitki dokularında yüksek düzeyde birikmesi ile koruyucu role sahiptir (Yuan et al.,2023;Suhel et al.,2022) .



Şekil 2.1 : Bitkilerde GABA'nın çeşitli görevleri (Biorender.com kullanılarak hazırlanmıştır)

2.2 Canlılarda GABA'nın Biyosentez Yolu

Herhangi bir metabolitin, ana düzenleyici enzimleri ile birlikte biyosentez yolunun belirlenmesi, o metabolitin muhtemel rolleri hakkında bilgi sahibi olunması açısından oldukça önem taşımaktadır (Khan et al., 2021). Prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunan GABA'nın, biyosentezi ve katabolizması GABA yolu adı verilen özel bir metabolik süreç ile ilişkilidir (Roberts, 2007). GABA yolunun ve ilgili enzimlerin tüm canlılarda evrimsel olarak korunmuş olması GABA'nın canlılar açısından önemini göstermektedir (Suhel et al.,2022; Michaeli ve Fromm 2015).

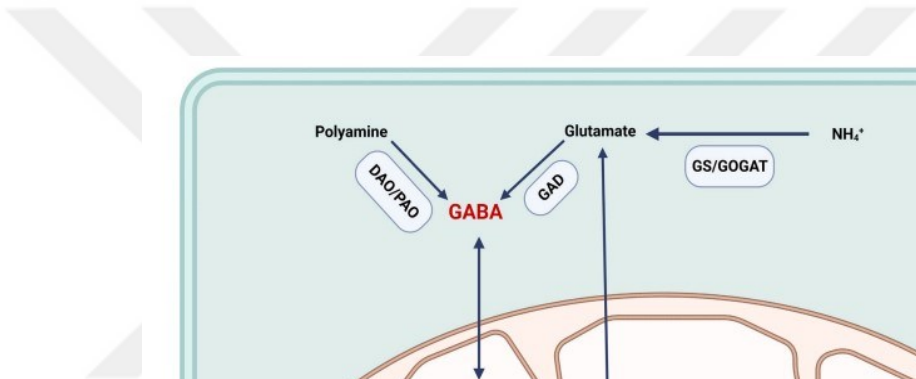
GABA yolunda GABA'nın biyosentezinde etkin rol oynayan, glutamatın gamma aminobütirik asite çevirimi katalize eden sitozolik enzim glutamat dekarboksilaz (GAD; EC 4.1.1.15), gamma aminobütirik asitin süksinik semialdehide (SSA) ardından süksinata dönüşümünde görev alan mitokondriyal enzim olan süksinik semialdehid dehidrogenaz (SSADH; EC 1.2.1.16) ve GABA-T (EC 2.6.1.19) olmak üzere dört temel enzim görev almaktadır (Khan et al.,2021; Hasan et al.,2021).

GAD'ın fonksiyonunu anlamak için yapılan araştırmalardan ilkinde petunyadaki GAD geni klonlanarak, kodlanan enzimin Ca^{2+} bağımlı kalmodulin (CaM) bağlayıcı bir protein olduğu gösterilmiştir (Baum et al., 1993; Bouche ve Fromm, 2004). Çeşitli bitki türleri ile yapılan sonraki çalışmalarda Ca^{2+} -CaM'ın GAD aktivitesini modüle ettiği tespit edilmiştir (Bouche ve Fromm,2004). Genom dizilemesinin tamamlanmasından sonra, *Arabidopsis*'te beş farklı GAD geni tespit edilmiştir (Shelp et al.,1999;Bouche ve Fromm,2004). Lokalizasyonları farklılık gösteren GAD geni izoformlarından GAD2'nin tüm organlarda ifade edilirken, GAD1'in yalnızca köke özgü olduğu görülmüştür (Zik et al.,1998;Turano ve Fang,1998;Bouche ve Fromm,2004). Bu bilgiler ele alındığında, değişik GAD izoformlarının dokuya bağlı olarak ifade edildiği ve çok özel fonksiyonlarının olabileceği anlamı çıkmaktadır (Bouche ve Fromm,2004). Amino asit alıcıları olan alfa ketoglutarat (GABA-TK) veya pirüvat (GP-TP) kullanan iki tip GABA-T tarafından GABA, süksinik semialdehide dönüştürülür ve glutamat ile alanin üretimi sağlanır (Bouche ve Fromm,2004). Bitkilerde her iki tip GABA-T de tespit edilmişken, memelilerde yalnızca GABA-TK mevcut gözükmemektedir (Shelp et al.,1999; Bouche ve Fromm,2004).

Farklı organizmalarda SSADH mitokondri lokasyonuna sahiptir ancak mayalarda sitosolde de bulunur (Coleman et al.,2001; Bouche ve Fromm,2004). Yapılan in vitro deneylerde SSADH'ın SSA'ya spesifik olduğu ve sadece NAD^+ kullanarak NADH ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca, enzim aktivitesi hem NADH hem de ATP tarafından negatif yönde düzenlenmektedir. SSADH ile katalize edilen reaksiyonun ürünleri olan NADH ve süksinat son ürün olarak ATPnin üretildiği mitokondriyal solunum zinciri substratlarıdır (Bouche ve Fromm,2004).

Bitkilerde GABA biyosentezi için üç farklı yol bulunmaktadır ancak bunlardan iki tanesi temel yoldur. İlk biyosentez yolu sitoplazmada glutamatın (Glu), GAD enzimi aracılığıyla GABA'ya dönüşümüdür. İkinci yol ise GABA'nın poliaminlerin katabolizması ile sentezlendiği yoldur (bkz. Şekil 2.2) (Ahmad ve Fariduddin,2024). Bitkilerde, GABA biyosentezi bu iki yola ek olarak, oksidatif stres koşullarında $\Delta 1$ pirolin dehidrogenaz aktivitesi ile prolinin dekarboksasyonu sonucu gerçekleşmektedir (Signorelli et al.2015; Bor ve Türkan,2019).

The diagram illustrates the synthesis and release of GABA in a presynaptic terminal. Polyamine and Glutamate are precursors for GABA synthesis, catalyzed by DAO/PAO and GAD, respectively. Glutamate is also converted to NH_4^+ by GS/GOGAT. GABA is then released into the synaptic cleft, where it can be converted back to Glutamate by GAD. The diagram also shows the presence of a mitochondrion in the terminal.



The diagram illustrates the synthesis and release of GABA in a presynaptic terminal. Polyamine and Glutamate are precursors for GABA synthesis, catalyzed by DAO/PAO and GAD, respectively. Glutamate is also converted to NH_4^+ by GS/GOGAT. GABA is then released into the synaptic cleft, where it can be converted back to Glutamate by GAD. The diagram also shows the release of Glutamate into the synaptic cleft and the conversion of NH_4^+ to Glutamate by GS/GOGAT.

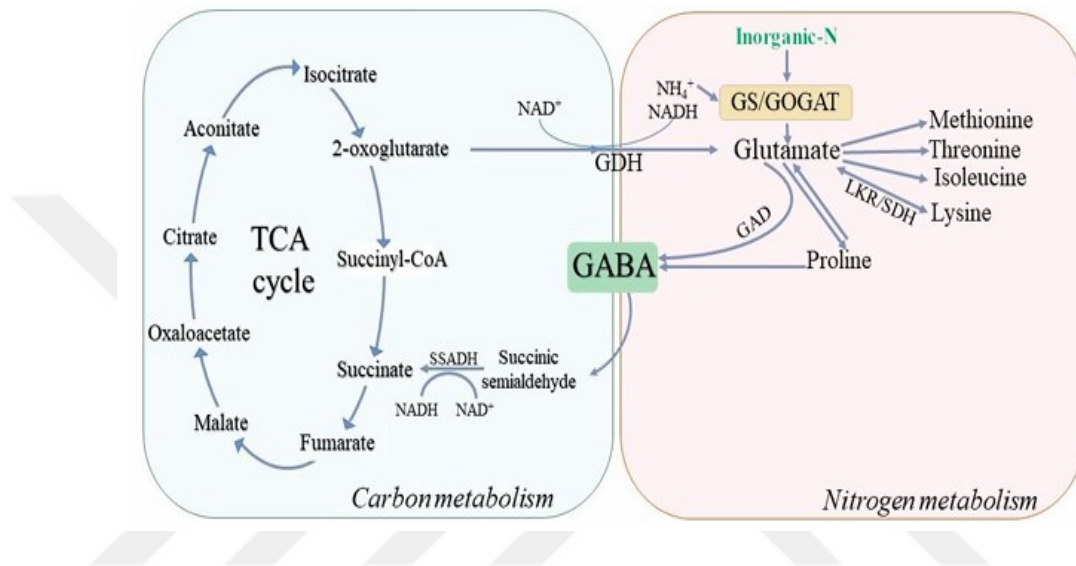
2.3 GABA'nın Bitkilerdeki Görevleri

2.3.1 Karbon, Azot Dengesinde GABA'nın Rolü

Hücresinin çevresinde meydana gelen değişiklikler beraberinde metabolik yolların adaptasyonunu ve farklılaşmasını da getirir (Andreasson et al., 2019; Guo et al.,2023). Bitkiler için azot ve karbon temel element olup, bitkilerin büyüme ve gelişmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Bu elementlerin verimli bir şekilde asimilasyonu, bitkinin verimi ve optimum gelişim için oldukça önemlidir (Stitt,1999; Li et al.,2021). Bitki hücrelerinde, karbon ve azot metabolizması iki temel metabolik süreçtir. Bu süreçte, karbon metabolizması için fotosentetik pigment ve enzimler sağlayan azot metabolizması ve azot metabolizması için enerji ve karbon kaynağı sağlayan karbon metabolizması birlikte rol üstlenir. Her iki metabolizma için de ortak indirgeyici güç, bir karbon iskeleti ve ATP'ye gereksinim duyulur. Bitki büyümesinde, gelişiminde ve strese karşı verilen yanıtta, C:N metabolizmasının düzenlenmesi ve dengesi oldukça önemlidir (Guo et al.,2023).

Karbonun trikarboksilik asit (TCA) döngüsüne katıldığı yollardan biri, GABA yoludur. Bitkilerde GABA aynı zamanda azot kaynağı olarak da kullanılabilir (Li et al., 2021; Ahmad ve Fariduddin, 2024). Örneğin; azot kaynağı olarak sadece GABA içeren bir kültür ortamında yetiştirilen *Arabidopsis thaliana* sağlıklı büyüme ve gelişme gösterir. Ayrıca nodülleri uzaklaştırılarak azot eksikliğine maruz bırakılan *Medicago truncatula* bitkisinin floeminde GABA konsantrasyonu, kontrol grubunun yaklaşık olarak üç katına çıkar (Li et al.,2021;Ahmad ve Fariduddin,2024). GABA geçici bir azot kaynağı olsa da çevresel stres koşulları altında protein ve glutamin sentezinin azalmasından ve protein degradasyonundan etkilenir (Breitkreuz et al., 1999; Hellmann et al, 2000; Ahmad ve Fariddun,2024). Yapılan çalışmalarda, ortamda azot kaynağı olarak GABA olduğunda bitkilerin düzgün bir büyüme sergilediği görülmüştür (Stitt et al.,2002; Ahmad ve Fariduddin,2024). Kavakta yapılan bir çalışmada, düşük azot koşullarında ekzojen olarak yapılan GABA uygulamasının, TCA ara maddelerini ve yapısal olmayan karbonhidratları arttırdığı gözlemlenmiştir (Chen et al.,2020;Li et al.,2021).

Ayrıca, stres koşullarında yapraklarda antioksidan enzim miktarındaki artış azot miktarını azaltır. Bu bağlamda, kavak bitkisinin büyümesinin desteklenmesi için, GABA'nın C:N dengesi açısından kullanıldığı ön görülebilir (Chen et al.,2020;Li et al.,2021). Bu veriler, GABA'nın biyosentetik süreçlerde önemli etkisi olan TCA döngüsünün çalışmasını kolaylaştırdığını ve azot metabolizmasında regülatör görevi olduğunu açıkça göstermektedir (Wang et al.,2023; Ahmad ve Fariddudin , 2024).



Şekil 2.3.1: Karbon ve azot metabolizmasının düzenlenmesinde GABA'nın rolünün şematik gösterimi. TCA döngüsü: trikarboksilik asit döngüsü; GABA: γ aminobütirik asit; GAD: glutamat dekarboksilaz; SSADH: süksinat semialdehit dehidrogenaz; GDH: glutamat dehidrogenaz; GS/GOGAT: glutamin sentaz/glutamat sentaz; LKR/SDH: lizin-ketoglutarat redüktaz/sakaropin dehidrogenaz (Guo et al., 2023'ten alınmıştır).

2.3.2 GABA'nın pH dengesindeki Rolü

Bitki hücrelerinde, kuraklık, tuzluluk, mantar enfeksiyonu, herbivor saldırısı, ektomikorizal simbiyoz gibi stres faktörlerinin yanı sıra, ışığın algılanması, yerçekimi tepkileri ve stoma açılması gibi süreçler hücre pH'ında dinamik farklılıkları tetikler (Guo et al.,2023). Kuraklık ve tuz stresi koşullarında ABA, stoma hareketlerini, sitoplazma alkalizasyonu ile regüle edebilir (Geilfus,2017;Guo et al.,2023). Patojen enfeksiyonu koşullarında pH'taki azalma hücre duvarının bozunmasına yol açan enzimleri aktive eder (Kesten et al.,2019; Guo et al.,2023).

Stres tepkisi ve bitki büyümesinde, dengeli bir pH zorunludur ve genellikle bitki hücreleri için uygun olan pH değeri 7.0-7.5 aralığındadır (Pittman,2012; Wegner et al.,2020; Guo et al.,2023).

Sitoplazmik pH düzenlemesi, bitkilerde iki farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bunlardan ilki; fosfat ve karbonat gibi iyonları pH tamponu olarak kullanan biyokimyasal düzenlenme mekanizmasıdır. Diğer ise, ekzositoz veya vakuolden sitoplazmaya transmembran yoluyla H^+ 'nin taşınımının düzenlenmesidir. Bu ikinci süreç membran üzerindeki H^+ pompaları ile gerçekleştirilir. Zar boyunca elektrokimyasal potansiyelin korunumu için iyonları, H^+ ve eşlenmiş iyon taşıyıcılarını bünyesinde barındırır (Sakano et al.,2001; Zhan et al.,2015; Guo et al.,2023).

Bitkilerdeki GABA hücre içi pH'nın düzenlenmesinde ve korunmasında önemli bir görev üstlenir (Snedden et al.,1992; Ahmad ve Fariduddin,2023). H^+ iyonlarını kullanan GAD enziminin aktivitesi asidik koşullarda artış gösterir sonucunda GABA biyosentezi de artar (Snedden et al.,1992; Carroll et al.,1994; Ahmad ve Fariduddin, 2023). Kuşkonmaz bitkisinde zayıf asit uygulaması sonrasında sitosolik pH'ın azalması ile GABA miktarının %300 oranında arttığı görülmüştür (Rashmi et al.,2018; Ahmad ve Fariduddin,2023). Havuçta yapılan bir çalışmada da asidik ortamda GAD aktivitesinin artması ile GABA konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Rashmi et al.,2018; Ahmad ve Fariduddin,2023).

Bitki rizosfer hücrelerinin, hipoksi stresi koşullarında sitoplazmik pH'ı azalır. Sonrasında, GAD enziminin aktivasyonu ile GABA sentezi önemli ölçüde artar ve H^+ tüketimi gerçekleşerek bitki hücrelerindeki hipoksi nedeniyle oluşan hasar azaltılır (Guo et al.,2011; Yin et al.,2018; Guo et al.,2023). Meng ve ark. (2023), GABA ve alüminyum tarafından aktive olan malat taşıyıcı proteinlerin (ALMT'ler) pH ile düzenlenmesini incelemiştir. Mitokondride gerçekleşen GABA katabolizmasının son basamağında proton üretilirken, sitosoldeki GABA biyosentezi için proton tüketimi gereklidir (Meng et al.,2023; Ahmad ve Fariduddin,2023). Bu bağlamda, GABA metabolizması ile hücre içi pH regüle edilerek ALMT'lerin aktivitesi de düzenlenebilir. Bu düzenleme, karboksilat iyonlarının zarlar boyunca taşınımına aracılık eden ALTM'lerin, GABA tarafından inhibisyonu yoluyla gerçekleşebilir (Meng et al.,2023;Ahmad ve Fariduddin,2023).

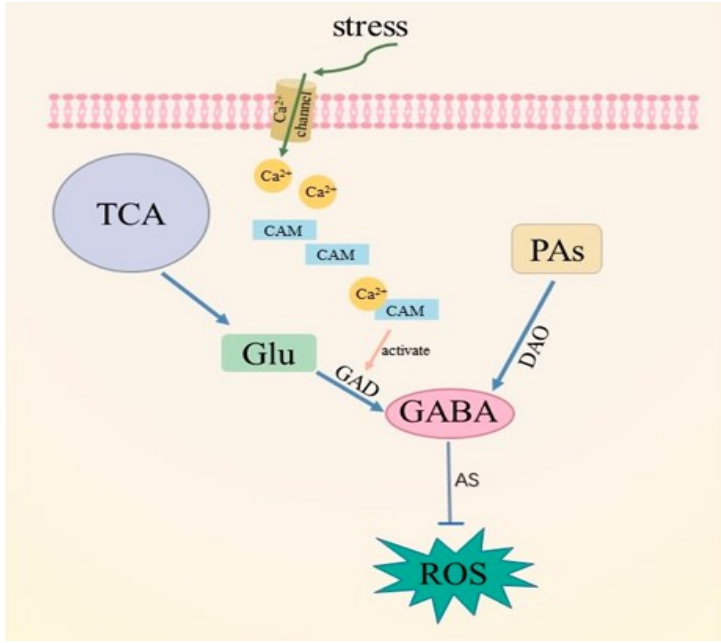
2.3.3 ROS'ların Uzaklaştırılması ve GABA

Aerobik metabolizmanın toksik yan ürünleri olan reaktif oksijen türleri (ROS), tek değerlikli oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit ($\bullet\text{O}_2^-$), hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) yüksek konsantrasyonlarda biriktiklerinde proteinlere, lipidlere, DNA ve RNA'ya zarar vermektedir (Mittler, 2017; Bor ve Türkan, 2019). Bununla birlikte, ROS'lar düşük konsantrasyonlarda, sinyal molekülü gibi davranarak çeşitli çevresel streslere karşı savunma yanıtını aktive edebilirler. Bitkiler, abiyotik stres koşullarına maruz kaldıklarında antioksidan savunma sistemleri ile ROS üretimi arasındaki denge bozulur ve aşırı ROS birikimi sonucunda oksidatif hasar meydana gelir (Hasanuzzaman et al., 2020; Guo et al., 2023). Evrimsel olarak diğer canlılardan farklı bir şekilde bitkilerde ROS'lar ile mücadele edebilmek için enzimatik antioksidan savunma sisteminin yanı sıra enzimatik olmayan antioksidan sistemi de gelişmiştir (Bor et al., 2009; Bor ve Türkan, 2019). Bitkilerde antioksidan savunma sistemi, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) gibi antioksidan enzimlerin yanı sıra flavanoidler, askorbik asit (AsA), fenoller ve karotenoidler gibi enzimatik olmayan bileşenleri de kapsar (Sachdev et al., 2021; Guo et al., 2023).

Hücrel homeostasisi sağlayabilmek için ROS düzeylerinin dengede tutulması oldukça önemlidir (Mittler, 2017; Bor ve Türkan, 2019). Başlıca ROS üretim bölgeleri, mitokondri, peroksizomlar, kloroplast, apoplast ve nükleus olup, bu lokasyonel dağılım ROS'ların sinyal rolünün düzenleyici değerini de gözler önüne sermektedir (Gleason et al., 2011; Bor ve Türkan, 2019). ROS'lar, sinyal iletimi süreçlerinde hormonlar, küçük peptidler, hücre duvarı bileşenleri gibi diğer sinyal yolları ile etkileşebilir (Mittler et al., 2011; Bor ve Türkan, 2019).

GABA yolu abiyotik streslere yanıt vermek için aktive olduğunda ROS'ların oluşumunu kısıtlama görevi üstlenir. GABA yolunun son basamağını katalize eden enzim, SSADH'dır (Li et al., 2023). SSADH'nin T-DNA insersiyon mutantları ile yapılan çalışmalar ROS ve GABA-yolunun ilişkisi açısından önemlidir. SSADH mutantlarının, nekrotik lezyon, düşük klorofil miktarı, daha az çiçek, kısa hipokotil, cücelik, UV ve sıcaklık streslerine karşı duyarlılık gibi çeşitli fenotipik

özelliklerinin yüksek düzeydeki ROS birikimi ile ilişkili olduğu öngörülmüştür (Bouche et al., 2003; Li et al., 2021). Yaban tipi *Arabidopsis* bitkileri ile karşılaştırıldığında, *ssadh* mutantlarında γ -hidroksibutirat (GHB) miktarının beş kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Fait et al., 2005; Li et al., 2021). *Arabidopsis ssadh* mutantlarına benzer şekilde, domates *ssadh* mutantlarında da aşırı ROS birikimi ve kıvrılmış yapraklar ile bodur gelişim fenotipi gözlenir (Bao et al., 2015; Li et al., 2021).



Şekil.2.3.3: GABA tarafından temizlenen ROS' un şematik gösterimi. Çeşitli çevresel uyaranlar etkisi ile poliamin aracılı GABA birikimini gerçekleştirir ve GABA antioksidan sistem aracılığıyla ROS'un uzaklaştırılmasında rol oynar. TCA: trikarboksilik asit döngüsü; PA'lar: poliaminler; Glu: glutamik asit; GAD: glutamik asit dekarboksilaz; DAO: diamin oksidaz; AS: antioksidan sistem; ROS: reaktif oksijen türleri (Guo et al., 2023 alınmıştır).

Yukarıda da belirtildiği gibi GABA yoluna ilave olarak poliamin (PA) metabolik yolu da bitki hücrelerinde GABA miktarını değiştirebilir. Soya fasulyesinde yapılan bir çalışmada, tuz stresi koşullarında köklerde yüksek oranlarda GABA birikimi görülürken, diamin oksidaz (DAO) aktivitesinin inhibisyonu ile kökteki GABA miktarı %40 oranında düştüğü, poliaminlerin ise %54 oranında arttığı gözlemlenmiştir.

Bu durum, GABA'nın öncü maddeleri olarak PA'ların bu süreçte yer aldığını gösterir (Xing et al.,2007; Guo et al.,2023). Bitkilerde PA metabolizması antiosidan enzimlerin aktivitesini düzenler ve oksidatif hasarın önüne geçmek için serbest prolin ve fenolik bileşiklerin birikimini de teşvik eder. Poliaminlerin degradasyon sürecinde, PA'ler ve GABA arasında gerçekleşen etkileşimler ROS'ların uzaklaştırılmasında rol oynayabilir. PA'ler ve ROS bir tür sinyal oluşturur ve bitkilerde stres savunması ile ilgili sinyal yollarını düzenler (Farooq et al., 2009; Pottosin et al., 2014; Guo et al., 2023). Poliaminlerin degradasyonu sonucu oluşan GABA, ROS'un uzaklaştırılmasında etkili olabilir böylece hücrenin normal redoks dengesi korunur ve ROS'un verdiği hasarın etkileri azaltılır (Guo et al.,2023).

2.4 GABA ve Abiyotik Stres

Doğada bitkiler kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklık, tuzluluk, ağır metaller gibi birçok çevresel stres faktörü ile mücadele içindedirler. Bitki üretkenliğini, gelişimini ve dağılımını sınırlayan bu etmenler abiyotik stres faktörleri başlığı altında toplanırlar (Zhang et al., 2022). Dünya genelindeki tarım yapılabilir arazilerin kullanımı ve ürün verimi için tehdit oluşturan abiyotik streslerin, bitkiler tarafından algılanması ve uyum mekanizmasının anlaşılması, global gıda güvenliği için oldukça önem taşımaktadır (Bailey-Serres et al., 2029; Zhang et al., 2022). Bitkilerin abiyotik stresler ile etkili bir şekilde mücadele edebilmesi için zamanında savunma yanıtını geliştirmesi ve adaptasyonu sağlaması gereklidir (Zhang et al.; 2022).

Savunma yanıtının oluşturulması bitkide fizyolojik değişiklikleri beraberinde getirir. Bitkilerde endojen modölatör olan ve stres koşullarında yüksek miktarda biriken GABA, abiyotik streslere karşı bitkiyi korumada oldukça önemli bir rol üstlenir (Xu et al., 2021; Islam et al., 2024). Abiyotik stres toleransının bitkilerde GABA yolunun pozitif regülasyonu ile arttığı ve dışarıdan GABA uygulamaları ile de hücre içi GABA miktarının da artış gösterdiği tespit edilmiştir (Bao et al., 2015; Bhattacharya et al., 2018; Islam et al., 2024). Dışardan GABA takviyesinin, bitkiyi oksidatif hasara karşı koruduğu ve ROS birikimini azalttığı, *Prunus persica* (şeftali) (Shang et al., 2011), *Cucumis* (misk kavunu) (Xiang vd., 2016) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Khan et al.,2021).

Priva ve ark. (2019) nın yaptığı çalışmada dışarıdan GABA uygulamasının malondialdehid (MDA) ve hidrojen peroksit H_2O_2 miktarlarını azalttığı ve antioksidan aktiviteleri arttırdığını gözlenmiştir (Khan et al.,2021).

2.4.1 GABA ve Kuraklık Stresi

Kuraklık stresi bitkilerin büyüme ve gelişimlerini sınırlayan, global bir abiyotik stres faktörüdür (Sehgal et al., 2018; Islam et al., 2024). Uzun süren kuraklık stresi bitkilerde metabolizmanın yavaşlamasına, fotosentetik etkinliğin ve bağıl su içeriğinin azalmasına neden olur (Yao et al., 2021; Nahar et al., 2016; Hayat et al. 2024). Bitkilerde GABA, biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri düzenleyen bir sinyal molekülü görevi üstlenerek, kuraklık stresine karşı bitki toleransının geliştirilmesinde büyük rol oynar (Xu et al., 2021; Yuan et al., 2023). GABA'nın kuraklık stresi koşullarındaki koruyucu etkisi, oksidatif hasarı azaltmak için antioksidanları teşvik etmesi ve yaprak turgorunu koruyacak biçimde ile ozmolit konsantrasyonunu arttırabilmesi ile ilişkilidir (Hayat et al., 2024). Kuraklık stresi toleransında stoma açıklığının büyük önemi vardır (Clark et al., 2009; Papanatsiou et al., 2019; Susmilch et al., 2019) ve stoma bekçi hücreleri, stoma hareketlerini sağlamada ana etmen olan ALMT proteinlerini yüksek miktarlarda bulundurlar (Renault et al.,2011; Ramesh et al.,2015; Yuan et al.,2023). Xu ve ark. (2021) yaptıkları çalışmalar ile GABA'nın ALMTleri düzenlediğini bildirmiştir (Xu et al., 2021; Yuan et al., 2023). Kuraklık stresine, su kullanım verimliliği arttırılarak ve terleme kaybı azaltılarak karşı koyulması GABA-ALMT9 interaksyonu ile sağlanabilir. Yong ve ark. (2017), bitkilerde kuraklık stresine karşı tolerans geliştirilmesinde dışarıdan GABA uygulamasının önemli olduğunu vurgulamıştır. Karabiber bitkisine dışarıdan GABA uygulaması yapıldığında, fotosentetik pigment miktarının, mitokondriyal aktivitenin arttırılması ve lipid peroksidasyonunun azaltılması yoluyla kuraklık stresine karşı tolerans sağlanmıştır (Viyayakumari ve Puthur, 2016; Islam et al. ,2024). Ekzojen GABA uygulamaları ile domates (Gramazio et al., 2020), elma (Liu et al., 2021) ve asma (Malabarba et al., 2019) gibi farklı bitki türlerinde kuraklık stresi toleransı geliştirilebilir. Maksimum kuraklık toleransı için, çevre şartları ve bitkinin türüne bağlı olarak GABA'nın uygulama yöntemi ve dozajı değişiklik gösterebilmektedir (Hayat et al.,2023).

2.4.2 GABA ve Tuz Stresi

Bitkilerin büyüme ve gelişimleri sırasında karşılaştıkları abiyotik stres faktörlerinden biri olan tuzluluk, dünyadaki arazilerin yaklaşık %7'sini etkileyen ciddi tarımsal bir sorundur (Aliniaefard et al. 2016; Li et al. 2016; Seifikalhor et al. 2019). Tahminlere göre, gelecek 25 yılda ekilebilir arazilerin %30 oranında kayba uğrayacağı ve topraktaki tuzluluğun giderek artması ile 2050 yılına gelindiğinde bu kaybın %50'ye ulaşacağı belirtilmektedir (Islam et al., 2024). Toprağın düşük ozmotik potansiyele sahip olması, spesifik iyonların etkisi ve besin yetersizliği gibi faktörler veya tüm bu faktörlerin kombinasyonu tuz stresinin bitkiler üzerindeki başlıca olumsuz etkileridir (Imran et al. 2021). Tuz stresi, bitkilerde kök uzunluğunun azalması, çimlenmenin gecikmesi, hücre hasarı, büyüme hızında azalma, yaprakların daha küçük ve az sayıda olması gibi çeşitli olumsuz etkilere neden olur (Hayat et al., 2023). Tuz stresi, peroksizomlarda, mitokondrilerde ve kloroplastlarda ROS'ların yüksek miktarda birikimini teşvik ederek biyomoleküllerin yapısal bozunmasını ve lipid peroksidasyonunu artırır (Singh, 2022; Hayat et al., 2023). Çeşitli çalışmalarda tuz stresi koşullarında ,bitki hücrelerinde Ca^{+2} sinyalinin temel yanıt olduğu gösterilmiştir (Islam et al., 2024). Bitkiler tuz stresine karşı çeşitli tolerans mekanizmalarını sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalar GABA-yolunun da bu süreçlerde rol aldığını göstermiştir (Seifikalhor et al., 2019). *Nicotiana sylvestris*'te yapılan bir çalışmada, tuz stresi koşullarında GAD geninin anlatımındaki değişim ile GABA birikiminin meydana geldiği ve bunun sonucunda da tuz toleransının arttığı görülmüştür (Akçay et al., 2012). *Medicago sativa* L. bitkisinde tuz stresi koşullarında nodül ve kök dokularında GABA birikimi bildirilmiştir (Fougere et al., 1991). Wang ve ark.(2017)'nin yaptığı çalışmada dışarıdan GABA uygulamasının, içsel GABA miktarını artırarak tuz stresine tolerans oluşturduğunu göstermiştir (Islam et al., 2024). Tuzluluk ETS etkinliğini azaltarak, fotosentez performansını olumsuz etkiler. Yapılan bir çalışmada dışarıdan GABA uygulamasının marul fidelerinde ve kavunda fotosentetik aktiviteyi olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Seifikalhor et al., 2019). Ji ve ark. (2020), tuz stresi koşullarında GAD ve GABA-T aktivitelerinin artmasıyla GABA yolunun TCA döngüsüne suksinat sağlamasının tuz toleransını teşvik ettiğini tespit etmişlerdir.

Bununla birlikte, tuz stresi koşullarında GABA'nın K^+ sızıntısını engellediği ve H^+ATPaz 'ı aktive edip membran potansiyelini koruduğu bildirilmiştir (Su et al.,2019). Wu ve ark. (2020) dışarıdan GABA uygulaması ile CAT, SOD, POD, GPX ve APX gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin arttığını buna karşılık MDA ve ROS miktarlarının azaldığını belirlemiştir (Wu et al., 2020; Yuan et al., 2023).

2.4.3 GABA ve Ağır Metal Stresi

Hızlı sanayileşme, kentleşme, endüstriyel atıkların uygun olmayan bertarafı, kanalizasyon atıkları ve gübre uygulamaları gibi birçok antropojenik faaliyet sebebi ile toprakta, bakır (Cu), çinko (Zn), civa (Hg), kadmiyum (Cd), demir (Fe),mangan (Mn) ve nikel (Ni) gibi ağır metallerin birikimi, ağır metal toksisitesi olarak adlandırılır (Rai 2019; Imran et al., 2021). Topraktaki önemli kirleticilerden olan ağır metaller, tarım ürünlerinin yenilebilir kısımlarında birikerek gıdaları kirletebilirler ve insan sağlığı için tehdit oluştururlar (Li et al.,2021). Ağır metaller biyolojik olarak parçalanamadıkları için, çevreden doğal yollarla uzaklaştırılamamaları ağır metal birikiminin temel sebeplerindendir (Imran et al., 2021). Ağır metal stresinde, iyon toksisitesinin yanında ROS birikimi de sıklıkla görülür (Gonzales et al., 2015 ;Li et al., 2021). Bitkiler, ağır metaller ile mücadele edebilmek için rizosfer pH'sını değiştirmek, oksalat ve malat gibi kök eksüdüatlarını salgılamak, taşıyıcı proteinler yardımıyla metalik iyonlarını simplastik bölgeden apoplastik bölgeye taşımak (Sanita ve Gabbrielli, 1999; Egiarte et al., 2008), fitoşelatinler ile floem ve ksilem boyunca metal iyonlarını taşımak gibi (Hossain et al.,2012) birçok yola başvururlar. Ağır metal stresi koşullarında GABA-yolunun aktivasyonunun koruyucu etkiye sahip olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. *Sesamum indicum*'da yapılan bir çalışmada, GABA birikimi sonucunda selenyum toksisitesine karşı toleransın arttığı gözlenmiştir (Bor et al., 2009). Bu durum, GABA yolunun antioksidan süreçte görev aldığını ve ağır metaller tarafından metal şelatlayıcı olarak üretilen ROS'ları detoksifiye etme rolü olduğunu göstermektedir (Seifikalhor et al.,2019). Yapılan metabolom analizlerinde, Cr uygulamasının pirinç köklerinde GABA miktarının arttırdığı bildirilmiştir (Gonzales et al., 2015; Li et al.,2021).

Soya fasülyesinde yapılan bir çalışmada, Cu ve Zn stresinde yüksek GABA miktarları olduğu gözlenmiştir (Dubey et al., 2010; Li et al., 2021). Elma fidelerinde dışarıdan GABA uygulamasının Cd toksisitesini karşı toleransı iyileştirdiği; Cd alınımı ve taşınımı ile ilgili genlerin ifadesini baskıladığı görülmüştür (Li et al., 2022; Hayat et al., 2023). Tüm bu bulgular, ağır metal kirliliğinin toksik etkilerini azaltma ve savunma toleransını iyileştirmede ve bitki gelişimini teşvik etmede GABA'nın rolünün önemini göstermektedir (Hayat et al., 2023).

2.4.4 GABA ve Düşük Sıcaklık Stresi

Düşük sıcaklık stresi bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan ve %15-20 oranında verimi azaltan bir abiyotik stres faktörüdür (Chaturvedi vd. 2009; Li et al., 2021; Islam et al., 2024). Bitkileri etkileyen soğuk stresi 0 ve 15 °C arasında değişiklik gösterir (Islam et al., 2024). Çeltik, muz, domates, mısır ve mango gibi tarımsal açıdan önemli ve sıklıkla tüketilen bitkilerin çoğu tropikal ya da subtropikal bölgelerde yetişmektedir ve soğuğa karşı çok duyarlıdırlar. Bu sebeple, soğuk stresinin bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak ve potansiyel tolerans iyileştirme mekanizmaları geliştirmek önemlidir (Imran et al., 2021). Strese maruz kalma süresi ve şiddeti, bitki üzerindeki soğuk stresinin etkisini belirleyici etkenler olup, genellikle fide aşamasında soğuğun tahrip edici etkisi daha fazladır (Imran et al., 2021). Soğuk stresine maruz kalan bitkilerde, klorofil kaybı, bozulmuş hücre zarı akışkanlığı, yaprak solgunluğu, bodur gelişim, düşen enzim aktivitesi ve metabolik aktivitenin bozulması gibi birçok olumsuz etki gözlemlenir (Ding et al., 2019; Hayat et al., 2023). Aynı zamanda soğuk stresi koşullarında, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve süper oksit radikali gibi çeşitli reaktif oksijen türlerinin birikimi gözlemlenir (Hayat et al. , 2023). Farklı bitki türlerinde yapılan birçok çalışmada, GABA uygulamasının düşük sıcaklık stresinin etkilerini iyileştirmede oldukça önemli bir rolde olduğunu göstermiştir (Hayat et al., 2023). Domates fidelerinde soğuk stresi koşullarında, GABA'nın antioksidan enzim aktivitelerini düzenleyerek ROSların giderilmesine katkı sağladığı bildirilmiştir (Malekzadeh et al. , 2014). Yapılan çeşitli çalışmalarda soğuk stresine maruz kalan bitkilerde GABA miktarının arttığı belirtilmiştir (Mazzucotelli ve ark. 2006; Wang ve ark. 2014; Suhel et al. , 2023).

Soğuk depolama koşulları sırasında şeftali ve muz meyvelerinin dışarıdan GABA uygulamasının soğğun olumsuz etkilerini hafiflettiği gözlemlenmiştir (Shang et al. , 2011; Yang et al., 2011; Wang et al., 2014; Suhel et al., 2023). Buğdayda, GABA uygulamasının prolin miktarını arttırarak düşük sıcaklık stresine karşı toleransta rol oynadığı görülmüştür (Malekzadeh et al, 2012). Muz, çay, domates ve antoryum bitkilerinde dışarıdan GABA uygulamasının, içsel GABA miktarını arttırarak düşük sıcaklık toleransını sağladığı gösterilmiştir (Li et al., 2021).

2.4.5 GABA ve Yüksek Sıcaklık Stresi

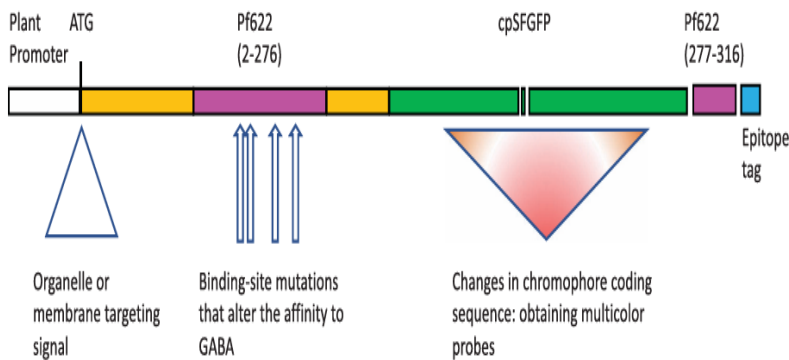
Yüksek sıcaklık stresi, küresel ölçekte bitkilerin gelişimini ve verimini olumsuz yönde etkileyen bir abiyotik stres faktörüdür (Hayat et al., 2023). Gaz emisyonları ve insan faaliyetleri nedeniyle her geçen gün artış gösteren sera gazı etkisi ve dolayısıyla küresel ısınma tehdidi bitki bilimcilerin en ciddi sorunlardan biri haline gelmiştir (Imran et al., 2021). Hükümetler arası İklim Değişikliği Paneli (IPCC) raporuna göre, dünya genelinde ortalama sıcaklığın 10 yılda 0.3 °C oranında artış göstereceği bildirilmiştir (Jones et al.,1999; Imran et al., 2021). 2025 yılına kadar global sıcaklıkta bu oranın yaklaşık 1°C artış göstereceği beklenmekte olup, 2050 yılına gelindiğinde yaklaşık 9 milyarlık nüfusun beslenme talebine karşılık verilmesi gerektiği düşünüldüğünde, bu sıcaklık değişiklikleri oldukça endişe vericidir (Imran et al., 2021). Wahid ve ark. (2007) bitkilerde yüksek sıcaklık stresini, bitkilerin sağlığını geri dönüşümü olmayacak şekilde olumsuz etkileyebilecek bir süre boyunca, belli bir düzeyin üzerindeki sıcaklığa maruz kalma olarak ifade etmiştir. Yüksek sıcaklık stresi koşullarında bitkilerde, klorofil yapısının bozulması, fotoinhibisyon ve oksidatif hasar gibi belirtiler gözlenir (Imran et al.,2021). Bitkiler yüksek sıcaklık stresi ile mücadele edebilmek için, fitohormon miktarlarının regülasyonu, ısı şoku proteinlerinin sentezi, ozmolitler, antioksidanlar ve koruyucu bileşiklerin birikimi gibi çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Semenov ve Halford 2009; Krasensky ve Jonak 2012; Seifikalhor et al., 2019). Yüksek sıcaklık stresine karşı tolerans geliştirilmesinde GABA'nın düzenleyici rolü hakkında birçok çalışma yapılmıştır (Hayat et al.,2023).

Dışarıdan GABA uygulamasının, yüksek sıcaklık stresine karşı toleransın güçlendirilmesinde, antioksidan savunma sistemlerini iyileştirme yolu ile fideleri sıcaklık stresinden koruduğu bildirilmiştir (Li et al., 2016). Dışarıdan GABA uygulamasının 10 gün süre ile 35 °C gündüz/30°C gece yüksek sıcaklığa maruz kalan pirinç bitkisinde SOD, GR, CAT ve APX enzimlerinin aktivitesini arttırdığını ve oksidatif hasara karşı bitkiyi koruduğunu gözlenmiştir (Nayyar et al., 2014; Seifikalhor et al., 2019). Yine bu çalışmada, GABA uygulaması sonrasında aynı koşullarda (35 °C gündüz/30°C gece) daha uzun süre (28 gün) sıcaklığa maruz kalan bitkilerde enzimatik olan ve olmayan tüm antioksidanların miktarları artmış, lipid peroksidasyonu ve ROS miktarları da buna bağlı olarak azalmıştır (Nayyar et al., 2014; Seifikalhor et al., 2019).

2.5 GABA'nın Sinyal Molekülü olarak Rolü

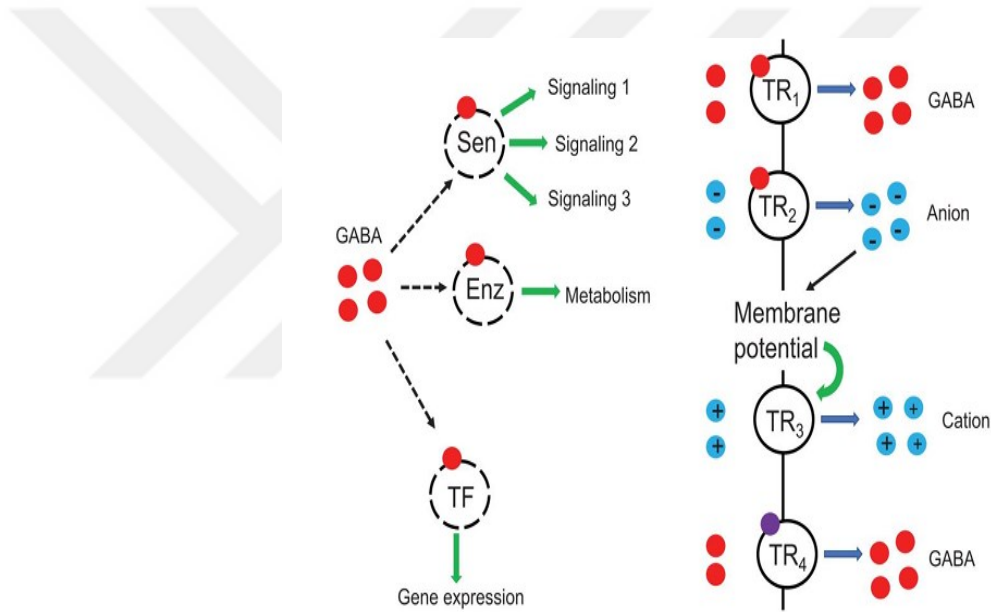
Hayvanlarda GABA ile ilgili yapılan araştırmaların temelinde GABA'nın sinir sisteminde nörotransmisyonadaki sinyal rolü ve farklı GABA reseptörlerinin çalışma mekanizmasının anlaşılmasına dayanmaktadır (Fromm, 2020). GABA'nın bakterilerde sinyalleme rolü olduğu da bildirilmiştir (Chevrot ve ark., 2006). Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, GABA'nın bitkilerdeki sinyal molekülü olarak rolü hakkında çeşitli spekülasyonlara yol açmıştır. Palanivelu ve arkadaşları (2003), GABA'nın bitkilerde üreme sürecinde polen tüpünün yönlendirilmesinde görev aldığını belirlemişlerdir. GABA'nın bir sinyal molekülü olarak rolünün aydınlatılmasına yönelik yapılan bir çalışma, plazma membranında lokalize, GABA tarafından düzenlenen, voltaja bağlı anyon kanallarının, yani ALMT'ler yakın zamanda buğdayda keşfedilmesidir (Ramesh ve ark., 2017). Bu çalışma sonrasında Ramesh ve ark. (2015) arpada, asmada, *Arabidopsis* ve pirinçte de benzer taşıyıcıların varlığını tespit etmiştir. ALMT taşıyıcıları GABA hedefleri olarak tanımlanmış olsa da bu taşıyıcı ailesine dair güncel çalışmalar bazı ALMT'lerin GABA'nın taşınmasını kolaylaştırdığını göstermektedir (Ramesh ve ark., 2017). Ayrıca, GABA'nın TaALMT1'e bağlanmasını bozan mutasyonların GABA taşınımını da bozduğu tespit edilmiştir (Ramesh ve ark., 2017). Bu gibi sebeplerden dolayı, GABA'nın ALMT'lere bağlanan bir sinyal molekülü olarak fizyolojik görevlerini, ALMT'ler aracılığıyla taşınan bir metabolit olarak görevlerinden ayırmak zordur ve belki de bu özellikler birbirinden ayrılamaz niteliktedir (Fromm, 2020).

Bir sinyal sistemini açıklığa kavuşturulmasında önemli bir faktör, hücre dışından gelen bir uyarana verilen fizyolojik tepki ile ilişkili gerçek zamanlı konsantrasyon değişikliklerini in vivo da gözlemek ve ölçmek ile ilişkilidir. Bununla birlikte, böyle moleküllerin belirlenmesinde reseptörlerinin tespit edilmesi de özel önem arz etmektedir. Bitkilerde GABA seviyesinin stres koşullarında çok hızlı bir şekilde artış göstermesi sinyal molekülü olarak görev alabileceğinin en önemli ipuçlarından biridir. Ancak ALMT'ler dışında etkileştiği bir reseptör molekül henüz tespit edilmemiştir. Bitkilerde GABA ile olası etkileşimi en çok mümkün görülen Glu reseptörleri ile de etkileşime girmemektedir. Kuraklık koşulları altında stoma hareketlerinin düzenlenmesi (Mekonnen ve ark., 2016) ve ROS seviyelerinin kontrol edilmesi (Bouché ve ark., 2003; Fromm,2020) GABA'nın sinyal molekülü olarak rolünü destekleyen diğer bulgulardır. ALMT anyon taşıyıcıları GABA'nın günümüzde, tek karakterize edilmiş hedefleri olmakla birlikte GABA'nın farklı iyonların akışını da etkilediği ileri sürülmüştür. Tütünde GABA uygulamasından sonra polen tüplerine lokalize kanallar aracılığıyla Ca^{2+} girişinin arttığı ve bu Ca^{2+} girişinin polen tüpünün yumurtalığa yönlendirilmesinde görev aldığı yapılan çalışmalar ile bildirilmiştir (Yu ve ark., 2014). Bu tür bir düzenlemenin GABA'nın Ca^{2+} taşıyıcılarına doğrudan bağlanmasıyla mı yoksa taşıyıcıların regülatörlere bağlanması ile olup olmadığı açık değildir. Çünkü ALMT anyon taşıyıcılarının GABA ile düzenlemesi, membran potansiyelinde değişikliklere neden olarak Ca^{2+} ve diğer katyon kanalı aktivitelerini etkileyebilir (Gilliam ve Tyerman, 2016). Bitkilere dışarıdan GABA uygulaması, bitki transkriptomunu önemli ölçüde etkiliyor olmasına rağmen gen ifadesini direkt etkileyen bilinen bir GABA sinyal yolu şu an yoktur (Fromm,2020).



Şekil 2.5.1: Marvin ve arkadaşları (2019) tarafından geliştirilen GABA raportörü ve bitkilerdeki potansiyel kullanımları. (Fromm 2020'den alınmıştır).

Bununla birlikte, GABA'nın hücre içinde tespit edilmesine yönelik GABA raportörünün geliştirilmesi de konunun aydınlatılması açısından önem taşımaktadır. Marvin ve ark. (2019) bitki patojeni *Agrobacterium tumefaciens*'te virülans ve GABA taşınmasında rol oynayan bir bakteri proteininde (Atu2422), GABA bağlanma bölgesi esas alınarak tasarlanmış bir floresan GABA raportörü geliştirmiştir (Şekil 2.5.1) (Fromm,2020). Araştırmacılar yapıya yönlendirilmiş mutagenesi ve kütüphane taramasından yararlanarak, GABA'ya olan afiniteleri bakımından farklılık gösteren ve dolayısıyla bir dizi GABA konsantrasyonu için uygun bir raportör sistemi sağlayan yoğunluk tabanlı GABA algılayan floresan raportör (iGABASnFR) varyantları elde ettiler. Bu GABA raportör sistemi, belki de belirli değişiklikler yapılarak bitkilerde uygulanabilir (Fromm,2020)



Şekil 2.5.2: Bitkilerdeki GABA sinyal mekanizması: gerçekler ve varsayımsal yollar (Fromm,2020'den alınmıştır).

İlginç bir şekilde, bakterilerde (*Bacillus subtilis*) transkripsiyonel düzenleyici GabR (Frezza ve ark., 2019), N-terminal wing-helix-turn-sarmal DNA bağlama alanının ve piridoksal 5'-fosfat (PLP) bağımlı aspartat aminotransferaz olarak katlanmış bir C-terminal alanının varlığı ile karakterize edilir. İki alan bir peptit köprüsü ile birbirine bağlanır. GabR, PLP ve GABA'nın bağlanması üzerine GABA bozunmasında yer alan genlerin transkripsiyonunu aktive eder.

PLP'ye bağımlı enzimler GAD (Facchini ve ark., 2000) dahil olmak üzere bitkilerde mevcut olduğundan, benzer bir protein motifinin bitki transkripsiyon faktörlerinde veya GABA sinyalini iletebilen diğer proteinlerde olası oluşumunu incelemek ilgi çekici olacaktır (Fromm,2020). Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, memelilerdeki GABA sinyalleşmesinin agonist ve antagonistlerinin bitkilerde de benzer etkilere sahip olduğu gösterimiyle tutarlıdır (Kinnersley ve Turano, 2000; Fromm,2020). Örnek olarak Lemna'da GABA agonisti olan baklofen uyguladığında GABA ile büyüme teşviki önemli ölçüde artarken, GABA antagonistleri bikukulin ve pikrotoksin uygulandığında GABA'nın büyüme teşvik edici etkilerinin tümüyle ortadan kalktığı görülmüştür (Kinnersley ve Turano, 2000;Fromm,2020).

2.6 GABA Reseptörü

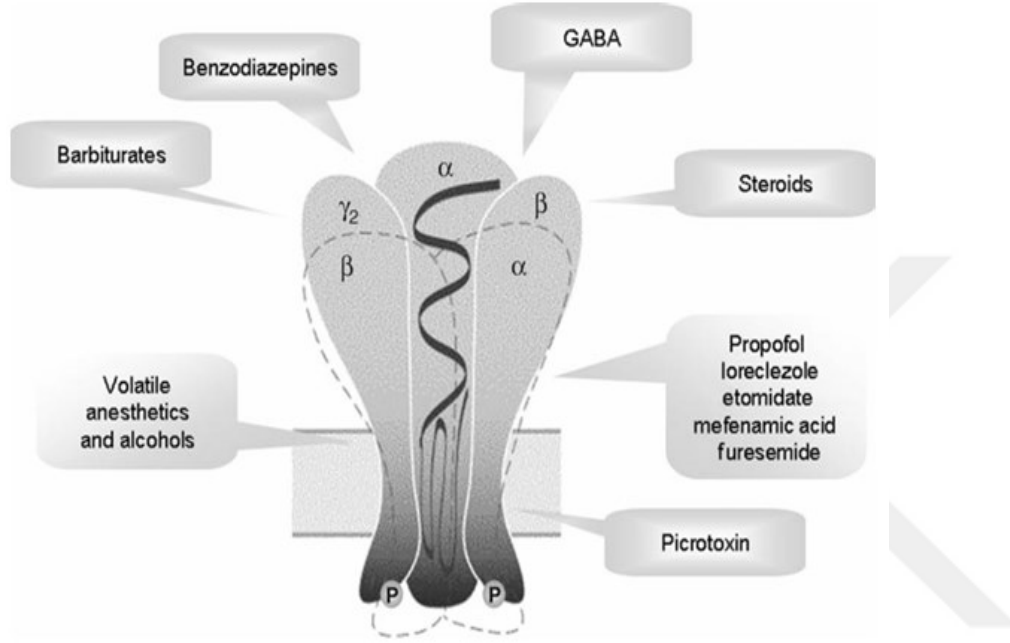
GABA, memelilerde merkezi sinir sistemindeki (CNS) post ve presinaptik zarlarda yerleşim gösteren reseptörlere bağlanarak inhibitör sinaptik akımları iletme görevi olan bir nörotransmitter inhibitörüdür (Bouche ve Fromm,2004). Bouche ve ark.(2003) ile Kinnersley ve Turano (2000)'nın yaptığı çalışmalarda, bitkilerde sinyal molekülü olarak GABA'nın görevine aracılık edebilecek olası GABA reseptörlerinin mevcudiyetini incelemişlerdir. Kinnersley ve Lin'in (2000) yaptığı denemede, memeli GABA reseptörlerinin antagonist ve agonist modülatörlerinin *Lemna minör*'ün (su mercimeği) büyümesi üzerinde zıt etkiye sahip olduğunu gözlemleyerek bitkilerde GABA'ya karşı yanıt verebilen reseptörlerin muhtemel varlığını önermiştir. *Arabidopsis* genomunda, memeli GABA reseptörlerini kodlayan genlere benzerlik gösteren genlerin bulunamamış olmasına rağmen, memeli iyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR) ile *Arabidopsis* glutamat reseptörleri (AtGLR) benzerlik göstermektedir (Lacombe et al.,2001). Ca^{+2} 'un bitki hücrelerine girişi AtGLR'lerin glisin (Dubos et al.,2003) ya da glutamat (Kang ve Turano,2003) aracılığıyla uyarılması ile sağlanabilir. Ayrıca, AtGLR'ler glisin/glutamat bağlayıcı bölge haricinde, GABA_B reseptörlerinin de dahil olduğu farklı reseptörlerin bağlayıcı bölgeleri ile yapısal homoloji gösteren bir modülatör bağlayıcı bölge içerir (Bouche ve Fromm,2004).

Bundan dolayı, GABA'nın bu bölgelere bağlanarak AtGLR'lerin aktivitesini düzenleyebileceği varsayılabilir (Bouche ve Fromm,2004). Ancak yapılan denemeler GLR lerin GABA ile bağlantı kurmadıklarını göstermiştir (Fromm 2020).

2.6.1 Memelilerde GABA_A Reseptörleri

Memelilerde merkezi sinir sisteminin elemanı olan beyindeki GABAergic nöronların yaygın dağılımları ve sayısı dikkate alındığında, GABA'nın CNS'deki temel inhibitör nörotransmitter olduğu görülmektedir. Sinir sistemi etkileyen hastalıklara karşı ilaç geliştirilmesinin önündeki engel bu yaygınlıktır. Bunun sebebi CNS'de genel etkilere neden olan, seçici olmayan GABA reseptör antagonistleri ve agonistleridir (Enna ve Möhler,2007). Moleküler ve farmakolojik olarak bakıldığında, iki ana türde GABA reseptörü vardır: GABA_A ve GABA_C reseptörlerinin dahil olduğu iyonotropik ligand kapılı iyon kanalları ve metabotropik GABA_B reseptörleri (Solomon et al.,2019). GABA_A reseptörleri, moleküler olarak farklı alt birimlerden ve dört hidrofobik transmembran alanından (TM1-TM4) oluşan pentamerik ligand kapılı iyon kanallarıdır (pLGICs) (Şekil 2.5.1). Por etrafında kendisine dahil olan sekiz alt ailesi (α , β , γ , δ , ϵ , θ , π ve ρ) ile birlikte beş alt birim bir araya gelerek heteropentamerik klorür (Cl⁻) geçirgen bir kanal meydana getirir (Johnston, 2005; Çiçek,2018). Alt birimlerin heterojenliğine rağmen, memelilerde CNSdeki GABA_A reseptörleri iki β , iki α ve iki γ alt biriminden oluşur ve her alt birim çeşitli translasyon sonrası modifikasyonların yeri olan büyük bir hücre içi alana sahiptir (Jacop et al.,2008; Çiçek,2018).Alt birimlerin kompozisyonu, biyofiziksel, farmokolojik özellikleri ve lokalizasyonu belirleyici roldedir (Kim ve Hibbs,2021). CNS'deki temel inhibitör nörotransmittör olan GABA, bu reseptörün endojen ligantıdır ve aktivasyonun sağlanması ile klorürü (Cl⁻) porlardan seçici olarak iletip nöronun hiperpolarizasyonuna sebep olur. Böylelikle aksiyon potansiyelinin oluşma ihtimali düşürülerek, nörotransmisyonunda inhibitör etki yaratılır (Aktories et al.,2005; Kim ve Hibbs,2021). Reseptörün endojen ligandı olan GABA'nın etkisini barbitürat ve benzodiazepin gibi önemli terapötik ajanlar kuvvetlendirmektedir.

Reseptörün heterooligometrik yapısına bakıldığında integral bir klorür iyon kanalı ve en az dört çeşitte çoklu allosterik bağlanma bölgesinden meydana geldiği görülmektedir. Tanımlanan allosterik bağlanma bölgeleri şu şekildedir: GABA antagonisti/agonisti bölgesi, barbitürat bölgesi, birçok konzülvan ajanın bağlandığı pikrotoksin bölgesi ve benzodiapin bölgesi (Kerr ve Ong,1992) (Şekil 2.6.1).



Şekil 2.6.1: Çeşitli modölatör moleküller ile etkileşime giren pentamerik GABA-A reseptörünün şematik görüntüsü;..P 'ler fosforilasyon bölgesini temsil eder (Enna,2007).

2.6.2 Pikrotoksin; bir GABA_A Reseptör Antagonisti

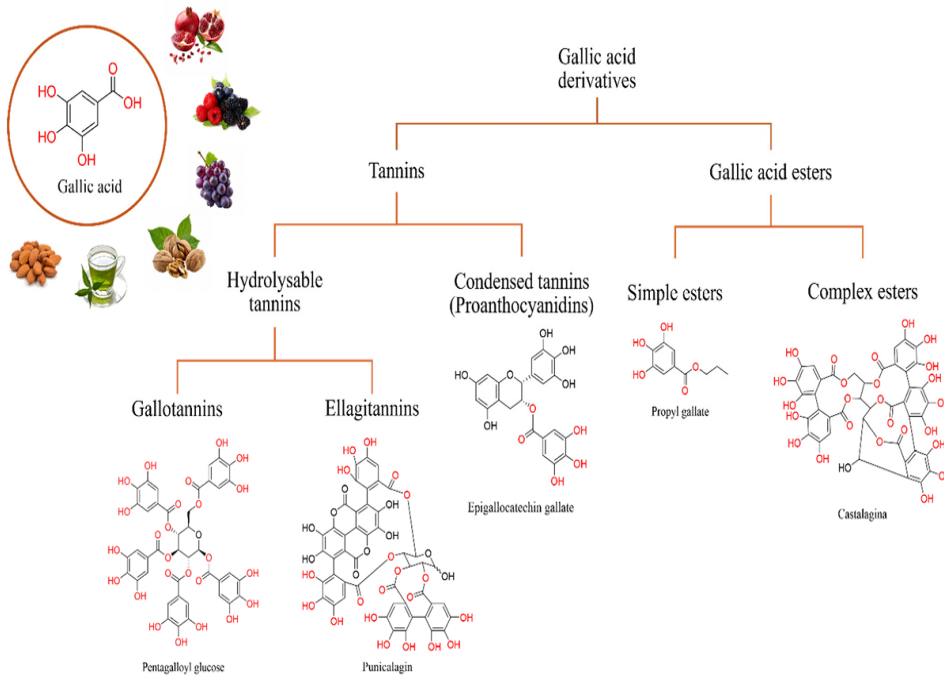
Pikrotoksin (PTX), Menispermaceae familyasına ait *Anamirta cocculus* bitkisinin tohumlarından izole edilen, toksik etkiye sahip bir bileşiktir (Olsen,2006; Kim ve Hibbs, 2021). PTX, GABA tip A reseptörleri (GABA_A) gibi ligand kapılı iyon kanalları (LGIC) için rekabetçi olmayan bir antagonisttir (Carpenter et al., 2013). Buna karşılık, PTX aracılı glisin reseptörlerinin (GlyR) inhibisyonu rekabetçidir (Lynch et al., 1995; Ramesh et al., 2022). PTX'in etki mekanizması, GABA bağlanması ile aktive olarak açılan GABA_A'lerdeki iyon akışını engelleme şeklindedir (Carpenter et al.,2013).

Tarihsel olarak bakıldığında, memelilerde GABA reseptörlerinin işlevleri, iyon kanallarının yapısı ve ligand etkileşimlerinin anlaşılmasına yönelik yapılan incelemelerde bitki kaynaklı farmakolojik ajanlar sıklıkla kullanılmış olup, bu ajanlardan olan pikrotoksin çalışmalarda kullanılan ilk modülatör moleküllerden biridir (Carpenter et al., 2013; Ramesh et al., 2022). In vitro olarak kerevit kasında ve nöronlarda yapılan çalışmalarda pikrotoksinin, GABA ile aktive olmuş inhibitör akımlarını engellediği bildirilmiştir (Olsen,2006). PTX, günümüzde de GABA reseptörlerinin kanal fizyolojisini karakterize etmek, reseptörlerinin fonksiyonlarının anlaşılması ve barbitürat doz aşımına karşı panzehir olması nedeni ile güçlü bir araç olarak kullanılmaktadır (Carpenter et al.,2013; Kim ve Hibbs, 2021).

2.6.3 Gallik asit; bir GABA_A Reseptör Agonisti

Gallik asit (GA), çay yaprakları, ananas, muz, böğürtlen, çilek, limon, üzüm ve elma gibi birçok sebze ve meyvede bol miktarda bulunan doğal bir fenolik bileşiktir. İlk kez 1786 yılında bilim insanı Carl Wilhelm Scheele tarafından tanımlanmıştır (Fischer, 1914; Hadidi et al., 2024). Yüksek antioksidan kapasitesi ile araştırmacıların ilgisini çekmiştir. 3,4,5-trihidroksi benzoik asit ismi ile de bilinir, kimyasal formülü $C_7H_6O_5$, molekül ağırlığı 170,12 olan GA, GABA_A reseptör agonistidir (Bhuial et al., 2023). Bitkisel besinler yoluyla insanlar tarafından tüketilmekte olan GA, antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve anti-inflamatuar etkileriyle de bilinir. Alzheimer hastalığı, felç, psikoz, depresyon, Parkinson hastalığı, anksiyete, hafıza kaybı ve nöroinflamasyon gibi çeşitli nörolojik hastalıkta terapötik ajan olarak kullanım potansiyeline sahiptir (Bhuial et al.,2023; Hadidi et al.,2024). Bu özelliklerinin yanı sıra antikanser aktivitelerden sorumlu temel antioksidan bileşen olarak kabul edilmiştir (Gonzalez-Abuin et al., 2014; Karas, 2017). GA kanser hücrelerinin invazivliğini ve çoğalmasını inhibe edebilir ve G2/M fazında hücre döngüsünü durdurarak (Hsu et al., 2011; Ou et al., 2010)ve çeşitli kinazları etkileyerek (Liang et al., 2012; Maurya et al., 2011) apoptozunu gerçekleştirebilir (Karas,2017).GA, lipid peroksidasyon sürecini engelleme ve serbest radikalleri temizleme fonksiyonları olan, soğuk stresi, ozmotik stres, ağır metal stresi gibi birçok abiyotik stres faktörüne karşı da stres toleransını indükleyici etkilere sahip bir bileşiktir (Babaeil et al.,2022).

Bitkilerde serbest, ester veya tanen formunda bulunan GA ve türevlerinin konsantrasyonları mikrobiyal enfeksiyon, UV radyasyonu gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin etkisi ile artış azalış gösterebilmektedir (Caballero-Hernandez et al., 2022; Hadidi et al., 2024). Son zamanlarda, GA ile ilgili çalışmalarda, bu bileşiğin bitkilerdeki abiyotik stres toleransını indükleme rolü üzerinde durulmuştur. *Oryza sativa*'da (çeltik) yapılan bir çalışmada, GA uygulamasının flavanoidlerin, fenollerin ve kallozun birikimini teşvik ederek bitki savunma yanıtını geliştirdiği bildirilmiştir (Singh et al., 2017). Soya fasülyesinde soğuk stresine karşı GA uygulamasının, peroksidaz ve katalaz aktivitelerini arttırarak toleransı teşvik ettiği gözlenmiştir (Ozfidan-Konakçı et al., 2021). *Solanum lycopersicum*'da (domates) GA uygulamasının flavonoid ve askorbat miktarını arttırarak kallusları bor stresine karşı koruduğu rapor edilmiştir (Farghaly et al., 2021). *Zea mays* (mısır) fidelerine yapılan dışarıdan GA uygulamasının bakırın oluşturduğu oksidatif stresin hasarını azalttığı bildirilmiştir (Yetişsin ve Kurt, 2020). Ayrıca, gallik asit türevlerinin tütünde (*Nicotiana tabacum*), bazı sinyal yollarını düzenleyerek bitki bağışıklığını indükledikleri belirlenmiştir (Goupil et al., 2017; Zhang et al., 2022).



Şekil 2.6.3: Gallik asit (GA) ve türevlerinin genel sınıflandırılması (Hadidi et al., 2024'ten alınmıştır.)

2.7 Kolza (*Brassica napus* L.)

Kolza (rapeseed, oil seed rape), Brassicaceae (Cruciferae) familyası *Brassica* genusuna ait olan, ekonomik olarak öneme sahip tek yıllık yağlı tohumlu bir bitkidir. Kromozom sayısı $2n=38$ olan bu tarımsal bitkinin amfidiploid bir tür olduğu ve doğada *Brassica oleraceae* (lahana) ile *Brassica rapa*'nın kendiliğinden melezlenmesi ile meydana gelmiş olduğu bildirilmiştir. Yaşlık ve kışlık formlara sahip kolzanın morfolojik kök özelliklerine bakıldığında, 100-120 cm derinliklere inebilen bir kazık köke ve 50-80 cm'lik bir alana yayılabilen yan köklere sahip olduğu bilinmektedir (Doğru, 2020).

Brassica napus, yüksek miktarlarda omega-3 ve tekli doymamış yağ asitlerini bulundurması nedeniyle 53 ülkede tarımı yapılmaktadır. Avrupa, Doğu Kanada, Asya ve ABD'de kışlık ürün olarak yetiştirilirken, enlem ve boylam artışını takiben ciddileşen kış koşulları sebebi ile Kanada'da yazlık çeşitlerinin üretimi tercih edilmektedir (Sevilmiş et al.,2022; Doğru 2020). Kolza, yüksek omega (%40-50) içeriğine sahip olmakla birlikte triaçilgliseroller tohum ağırlığının yaklaşık %30-60'ını oluşturmaktadır. Yağ kalitesinin belirlenmesindeki ana etmen olan yağ asiti bileşeni hedeflenen kullanım alanına göre farklılık göstermektedir. Endüstriyel yağ hammaddesi için FA karbon zinciri uzunluğu önemliken, yenilebilir yağ için yağın besin değeri, kararlılığı doymuş veya doymamış bağların dağılımı ön plana çıkmaktadır. Bu açıdan kolza, yenilebilir bitkisel yağ, biyoyakıt ve hayvan yemi olarak kullanılabilme özelliklerine sahiptir ve bu nedenle dünya genelinde ekonomik önemi olan tarımsal bir türdür (Secchii et al.,2023).



Şekil 2.7: Tez projemiz kapsamında yetiştirilen 60 günlük *Brassica napus* L. bitkileri.

2.8 Tez Projesinin Hipotezi

Çalışmamızda, GABA reseptörlerinde pozitif ve negatif modölatör etkileri olan molekülleri kullanarak, bu moleküllerin GABA yolu ile nasıl etkileştiğini incelemeyi hedefledik. Memelilerin sahip olduğu GABA reseptörlerinin bitki hücrelerindeki birebir benzerleri bulunamamış olması sebebi ile GABA seviyelerini düzenlemede etkin rol oynayan modölatör moleküllerin, bitkilerdeki GABA yolu ile etkileşimi ve görevleri net olarak aydınlatılamamıştır. Bitkilerde özellikle abiyotik ve biyotik stres koşullarında ani bir hızla artan GABA miktarındaki değişiklik, memelilerdeki gibi benzer bir düzenleme süreci ile ilgili olabilir. Bu amaç doğrultusunda, modölatör moleküller ile GABA yolu etkileşimini aydınlatabilmek için *Brassica napus* L. bitkisine agonist modölatör molekülü olarak galik asit; antagonist modölatör molekülü olarak ta pikrotoksini dışarıdan uyguladık. Uygulamamızın ardından 1., 5. ve 7.günlerde yapraklardan örnek aldık ve aldığımız örneklerde GABA miktarı, GABA yolunda yer alan GABA-T, GAD ve SSADH enzim aktiviteleri belirlendik. *GAD*, *GABA-T (POP2)*, *SSADH* ve *GABA-P (BAT1)* kodlayan genlerin transkript profillerini inceledik. Çalışmamızdan elde edeceğimiz sonuçlar ile birlikte, modölatör moleküllerin GABA yolu ile etkileşimini inceleyerek GABA'nın sinyal molekülü olarak rolü hakkındaki bilgi birikimine katkı sağlayacağını ve bitkilerdeki olası GABA reseptörlerinin tanımlanabilmesi adına yapılan çalışmalara yardımcı olacağını ön görmekteyiz.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali ve Yetiştirme Koşulları

Çalışmamızda kolza (*Brassica napus L.*) bitkisi çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonunun gerçekleştirilebilmesi için, kolza tohumları 10 dakika %10'luk hipoklorit çözeltisinde bekletildi. Bekleme süresi sonrasında tohumlar üç kere deiyonize su (dI-H₂O) ile yıkanılarak sterilizasyon işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemin ardından tohumlar gece karanlık ortamda ve steril deiyonize su içerisinde bekletildi. Steril edilen ve şişen tohumlar daha sonra perlit ortamına ekildi ve ½ oranında seyreltilmiş Hoagland ile sulama yapıldı. Bitkiler 350 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğu, 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyot, 25 °C sıcaklık ve %75-80 nem oranı olacak şekilde kontrollü koşullarda altında yetiştirildi. Bitkiler 60 günlük büyüklüğe ulaştıklarında kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılacak gruplar olmak üzere eşit sayıda bitki ayrıldı ve uygulama yapıldı.

3.2 Modülatör Moleküllerin Uygulaması

Bitkiler, kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulama grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Pikrotoksin uygulanacak olan gruba 0.1 µM ve 1 µM ve gallik asit uygulanacak olan gruba 0.5mM ve 1mM olmak üzere iki farklı konsantrasyonda uygulama yapıldı. Uygulama bitki saksılarına sulama yöntemi ile dışarıdan olacak şekilde yapıldı. Örnekleme modülatör moleküllerin uygulamasının 1., 5., ve 7. günlerinde gerçekleştirildi. Tüm gruplardan yaprak örnekleri alınarak sıvı azot içerisinde donduruldu ve analiz süresine kadar -20°C'de saklandı.

3.3 GABA Miktarının Belirlenmesi

Kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan bitkilerden alınan yaprak örneklerinin GABA miktarı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), Shimadzu-VP101, Japonya cihazı ile belirlendi. GABA ekstraksiyonu Baum et al. (1996)'ya göre, HPLC analizi ise Bor et al. (2009)'a göre gerçekleştirildi.

Yaprak örnekleri (0.5 g) sıvı azot içinde ezilerek toz hale getirildikten sonra 1 mL su: kloroform:metanol (3:5:12 v/v/v) solüsyonu ile homojenize edildi. Bu işlemin ardından 10.000 rpm'de 4°C'de iki dakika santrifüj yapıldıktan sonra süpernatantlar yeni tüplere aktarılıp etüvde kurutuldu. Analizin gerçekleştirileceği gün kurutulan örneklerin üzerine ilk olarak deiyonize su (100 µl) pipetlenerek çözüldü ve sonrasında türevlendirme işlemi gerçekleştirildi. Türevlendirme işlemi için boraks tamponu- pH 8.0 (150 µl) ve 2-Hidroksinaftaldehit (HN) (metanol içinde %0,3 w/v) içeren reaktif (250 µl) örneklerin üzerine eklenerek karışım vorktekslendi ve 80°C'de 20 dakika bekletildi. Süre sonunda örnekler oda sıcaklığına ulaşana kadar bekletildi ve 0.45 µm'lik örnek filtresinden geçirilerek yeni ependorfa aktarıldı. Şırınga yardımı ile HPLC kolonuna (Supelco LC18; 250 x 4.6 mm, 2.5 µm) yüklenen örnekler (20 µL) akış hızı 1 mL/dk olan, metanol: su (62:38 v/v) mobil faz kullanılarak UV dedektörü yardımıyla 330 nm'de belirlendi. Örneklerdeki GABA miktarları, GABA standartlarıyla hazırlanan standart eğri kullanılarak hesaplandı.

3.4. Fizyolojik parametreler

3.4.1 Bağıl Su İçeriği (RWC)

Kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan yaprakların bağıl su içeriğinin incelenebilmesi için amacıyla, uygulama sonrası 1., 5. ve 7. günlerde alınan yaprak örneklerinin ilk olarak yaş ağırlıkları (YA) tartıldı. Ardından yaprak örnekleri beş saat süresince deiyonize su içerisinde bekletildi. Beş saatlik süre sonunda turgorlu ağırlıkları (TA) belirlenen yaprak örneklerinin kuru ağırlıklarının belirlenebilmesi için örnekler dört gün boyunca 80 °C'de etüvde kurutuldu. Kurutma işleminin sonrasında ağırlıkları tartılarak kaydedildi. Bağıl su içeriği değerleri Smart ve Bingham'a (1974) göre aşağıda yer alan formül kullanılarak hesaplandı;

$$RWC \% = [(YA-KA) / (TA-KA)] \times 100$$

3.4.2 Klorofil Floresans Ölçümleri

Bitkilerde fotosentetik verim ile ilişkili olarak yapılan klorofil floresan ölçümleri uygulamanın 1., 5. ve 7. gününde gerçekleştirildi.

Klorofil floresan ölçümleri, rastgele örneklemeler yapılarak, farklı bitkilerin yaprakları ile gerçekleştirildi. Ölçüm için yapraklar 1 cm² lik bir alana sahip olan yaprak klipsi ile 30 dk karanlıkta tutulduktan sonra Plant Efficiency Analyser (Hansatech) cihazı kullanılarak, yaprakların maksimum floresan uyarım (F_m), bazal klorofil floresan (F₀), değişken floresan (F_v) ve fotosentez etkinliği değerleri ölçüldü ve F_v/F_m oranları belirlendi.

3.4.3 Ozmotik Potansiyel Ölçümü

0,5g yaprak örneği, ozmotik potansiyelin belirlenebilmesi amacıyla tüp içerisinde yapılan homojenizasyonun ardından 10.000g 'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatantlar alındı. Ölçüm WESCOR Vapro Vapor Pressure Osmometer 5520 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.5 Total Protein Miktarının Belirlenmesi

0,2 g yaprak örneği sıvı azot ile havanda toz haline getirildikten sonra 50mM Sodyum-fosfat tamponu (Na-P) (pH:7.8), %1 (w/v) polivinilpolipirrolidon (PVPP) ve 1mM ethylenediaminetetracetic acid disodium (EDTA Na₂) içeren homojenizasyon tamponu (1mL) ile homojenize edildi. Örnekler 4 °C'de 40 dakika 13.000g'de santrifüj edilip, süpernatantlar alındı. Toplam protein miktarı, Bradforda (1976) göre bovin serum albümin (BSA) standartları kullanılarak belirlendi. Örnekler (50 µL) gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra, Bradford reaktifi (950 µL) ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Absorbans ölçümleri Shimadzu UV-1600 (Shimadzu, Japonya) spektrofotometre cihazı ile 595 nm; de yapıldı. BSA standartlarıyla hazırlanan standart eğri kullanılarak, örneklerdeki protein miktarları hesaplandı.

3.6 Lipid Peroksidasyon (TBARS) Miktarının Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA içeriğine bakılacaktır (Madhava Rao and Sresty, 2000). İçeriğin belirlenebilmesi amacıyla tiobarbitürik asit reaksiyonu kullanılmıştır. 532 nm'deki absorbansa göre MDA konsantrasyonu hesaplanmıştır. Non-spesifik türbidite 600 nm'de ölçülmüş ardından 532 nm'deki absorbanstan çıkartılarak hesaplanmıştır. 155 mM⁻¹ cm⁻¹ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak MDA konsantrasyonu hesaplaması yapılmıştır.

3.7 Enzimatik Analizler ve Homojenizasyon

Yaprak örnekleri (0.5 g), sıvı azot ile toz haline getirildikten sonra 100 mM Trisaminometan hidroklorür (Tris-HCl) (pH 8.0), 1.5 mM ditiyotritol (DTT), 5 mM Etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 0.5 mM fenilmetilsülfonil florür (PMSF), %10 gliserol ve %1 polivinilpirolidon (PVP) içeren ekstraksiyon tamponu (1 mL) ile homojenize edildi.

Örnekler 4 °C'de 40 dakika 10.000g'de santrifüj edildi ve sonrasında süpernatantlar temiz tüplere aktarıldı. Süpernatantlar, protein miktarı, GAD ve GABA-T aktivitelerinin belirlenmesi için kullanıldı.

Yaprak örnekleri (0,5 g) ,5 mM EDTA, 0,1 mM Tris-HCl, 10 mM ditiotritol (DTT), 1 mM piridoksal-5-fosfat hidrat ve 1% PVPP içeren (pH 7.8) homojenizasyon tamponu ile homojenize edildi. Homojenatlar ependorf tüplerine aktarılacak ve +40C'de 10000 g'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar alındı. Süpernatantlar, SSADH aktivitelerinin belirlenmesi için kullanıldı.

3.7.1 Glutamat Dekarboksilaz (GAD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

GAD enzim aktivitesinin belirlenmesi Bartyzel et al. (2003)'na göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi. Dekarboksilasyon işlemi için 20 µM piridoksal fosfat (PLP), 50 mM (pH 5.8) K-fosfat tamponu, 3 mM L-glutamat içeren reaksiyon karışımı hazırlandı. Örnekler (100 µL) önce glutamat içermeyen reaksiyon karışımı ile 10 dk 30 °C'de inkübe edildi ve reaksiyon, karışıma glutamat eklenerek başlatıldı. Bir saat sonunda reaksiyon, tüplere 0.5M HCl (100 µL) eklenerek durduruldu. Örnekler 12.500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemi bittikten sonra karışıma 1:5 oranında ninhidrin eklenmiş ve ardından 80 °C'de 10 dakika inkübe edilerek türevlendirme yapıldı. Oda sıcaklığına geldikten sonra örneklerin absorbans değerleri Shimadzu UV-1600 (Shimadzu, Japonya) spektrofotometrede 570 nm'de ölçüldü. GAD aktivitesinin hesaplanması (µmol min mg protein-1) ninhidrin ile türevlendirilen GABA standartları ile hazırlanan, standart eğri kullanılarak gerçekleştirildi.

3.7.2 GABA Transaminaz (GABA-T) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Miyashita et al. (2008) ve Jalil et al. (2017) tarafından kullanılan yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak, GABA-T aktivitesinin belirlenmesi gerçekleştirildi. (GABA-T aktivitesi belirlenirken pürivata bağımlı yol kullanıldığı için bundan sonra GABA-TP olarak adlandırılacaktır). Örnek (100 μ l), önce 50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.75 mM EDTA, 1.5 mM DTT, 0.1 mM piridoksal 5'-fosfat, %10 gliserol, 16 mM GABA ve 4 mM pirüvik asit içeren reaksiyon karışımı (300 μ l) ile karıştırıldı ve 30 °C'de 1 saat bekletildi. Karışım 97 °C'de 7 dk bekletilerek reaksiyon durduruldu ve örneklerin oda sıcaklığına gelmesi için beklenildi.

Oda sıcaklığına gelen örneklerde analizin ikinci aşaması olan alanin dehidrogenaz (AlaDH) aktivitesinin belirlenmesi aşamasına geçildi. AlaDH aktivitesinin ölçülmesi için 50 Mm sodyum karbonat tamponu (pH 10.0), 1 mM β -NAD ve 0.02 ünite *Bacillus subtilis* AlaDH (Sigma-Aldrich) içeren reaksiyon karışımına örnek eklendikten sonra 340 nm'deki absorbans artışı Shimadzu UV-1600 (Shimadzu, Japonya) spektrofotometrede incelendi ve kaydedildi. GABA-TP aktivitesi, reaksiyon sonrası örneklerde ortaya çıkan L-alanin miktarı belirlenerek hesaplandı (ünite mg protein-1).

3.7.3 Süksinik Semialdehit Dehidrogenaz (SSADH) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

0,1mM SSA, 0,5mM NAD ve pH:9 Na-P içeren reaksiyon karışımı hazırlanarak, SSADH enzim aktivitesinin belirlenebilmesi için kullanıldı. Reaksiyon karışımına örnek eklendikten sonra kuvarz küvetlerde 340 nm'de 2 dakika boyunca absorbans artışı Shimadzu UV-1600 (Shimadzu, Japonya) spektrofotometrede incelendi ve kaydedildi.

3.8 RNA Ekstraksiyonu

RNA ekstraksiyonu Norgen Plant/Fungi RNA Purification Kit, (Canada) ile yapılmıştır. 0,1g yaprak örneği sıvı azot yardımı ile toz haline getirildikten sonra üzerine 600 μ L Lysis Buffer ve β -merkaptetanol eklendi. Örnekler 1,5mL'lik tüplere geçirildikten sonra 55°C'de 5 dakika inkübe edildi. Ardından örnekler clear O-ring filtre içeren ependorflara aktarılarak 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.

Süpernatantlar temiz tüpe aktarıldıktan sonra üzerine %96 etanol eklendi. Örnekler Spin colon-grey- O-ring içeren filtre tüplerine aktarıldı ve 6.000 rpm’de santrifüj edildikten sonra tüpte kalan kısım atıldı. Yıkama işlemi için wash solution A (400µL) eklenen kolonlar 14.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilerek, bu işlem 3 kere tekrarlandı ve son olarak 2 dakika santrifüj edilerek membran kurutuldu. Sonrasında, elution solution A (50µL) eklenen örnekler 14.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Bio photometre cihazı kullanılarak örneklerdeki RNA miktarlarının belirlendi. Jel elektroforezi yapılarak ekstrakte edilen RNA’ların bütünlüğünü ve kalitesinin kontrolü sağlandı.

3.9 cDNA Sentezi

cDNA sentezi Grisp Research Solutions Xpert cDNA Synthesis Kit ile yapıldı. Üretici firma protokolüne göre 2µL RNA örneğine; 4µL Buffer, 1µL dNTP, 1µL oligo primer, 1µL enzim ve 11µL dH₂O karışımı eklendi. Örnekler 55°C’de 50 dakika, 85°C’de 5 dakika inkübe edilerek cDNA sentezi gerçekleştirildi. PCR sonrası örnekler 1:10 seyreltilerek qPCR analizlerinde kullanılabilecek kadar -20°C’de saklandı.

3.10 Kantitatif PCR (qPCR) Analizi

GABA yolu ile ilişkili *GAD2*, *GABA-T (POP2)*, *SSADH*, *GABAP (BAT1)* ve referans geni olan *AKTİN* genlerine ait primerlerin tasarımı Primer-Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) üzerinden yapıldı ve primerlere ait dizi ve aksesyon numarası Tablo 3.8’de verildi. Real-time PCR (qPCR) kullanılarak, örneklerle ait cDNA’lar ile hedef genlerin transkript değişimleri belirlendi. Applied Biosystems (ABI) Step One Plus Real time PCR sistemi ve Roche FastStart Essential DNA Green Master kiti kullanıldı. Reaksiyon toplam hacim 10 µL (2 µL of cDNA, 8 µL PCR master mix) ve PCR koşulları: 95 °C’de 10dk sonrasında, 40 döngü 95 °C’de 15s, 60 °C’de 1dk ve 72 °C’de 1dk olacak şekilde yürütüldü. Reaksiyon tamamlandıktan sonra elde edilen Ct verileri kullanılarak transkript miktarındaki değişiklik standart eğri metodu kullanılarak hesaplandı.

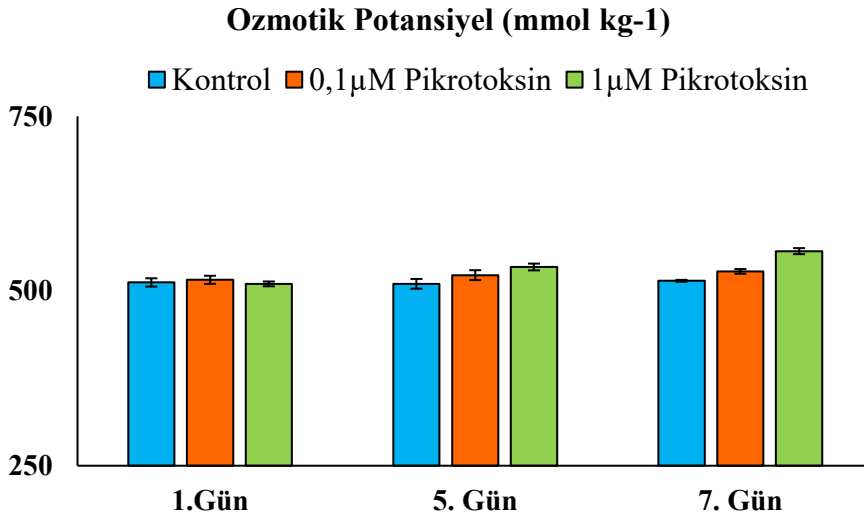
Gen	Düz primer dizisi	Ters primer dizisi
<i>GAD2</i>	GAGATGCTACGTCGTTTTGG	TGATGACAACACGC AGAACC
<i>GABA-T</i>	TGTCTCCACCGCTCATTATCTCAC	TTCCGTTGCCTTCAA TGCTTTCC
<i>SSADH</i>	GGGGGCACTTAATGTGGTCA	TCCCAACTGCTGTTG ATCCC
<i>GABAP</i>	GGGTATGCCATTGCTGAGAT	ATCGCTCCA TCTCTCGAAAA
<i>ACT</i>	TCAGCACTTTCCAGCAGATG	ATGCCTGGACCTGCT TCAT

Tablo 3.10: qPCR analizlerinde kullanılan primerlerin listesi

4. BULGULAR

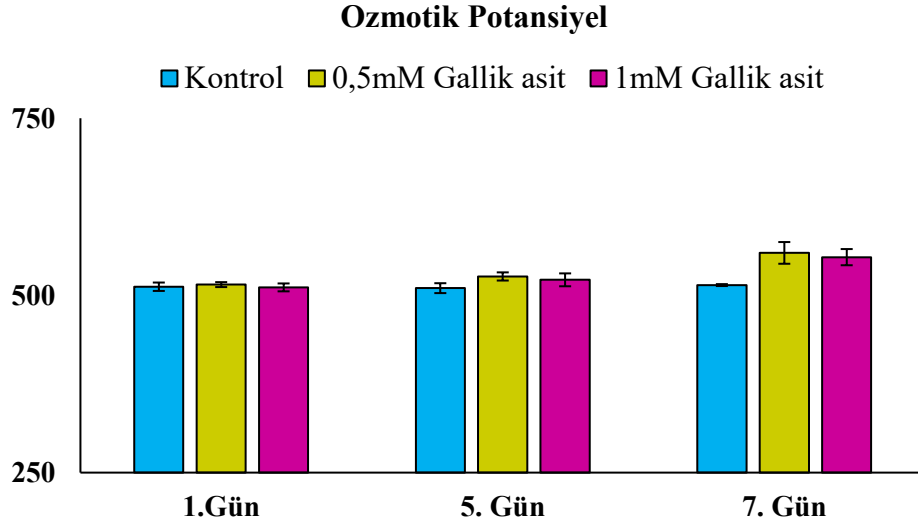
4.1 Fizyolojik Parametreler

Brassica napus L. bitkilerine modölatör moleküller olan pikrotoksin ve gallik asit uygulamasının ardından, 1., 5. ve 7. günlerde hasat edilen yaprak örneklerinde ozmotik potansiyel, Fv/Fm, RWC, yaprak yaş-kuru ağırlık ve kök yaş kuru ağırlık olmak üzere çeşitli fizyolojik parametrelerin analizi yapıldı. Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1 μ M ve 1 μ M) pikrotoksin uygulanan gruplarda örnekleme 1. ve 5. günlerinde ozmotik potansiyel değişiminde belirgin bir farklılık gözlenmezken, örnekleme 7. gününde 1 μ M pikrotoksin uygulanan grubun (557 mmol kg⁻¹), kontrol grubunun ozmotik potansiyel değerine (514 mmol kg⁻¹) göre %8,36 fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1.a).



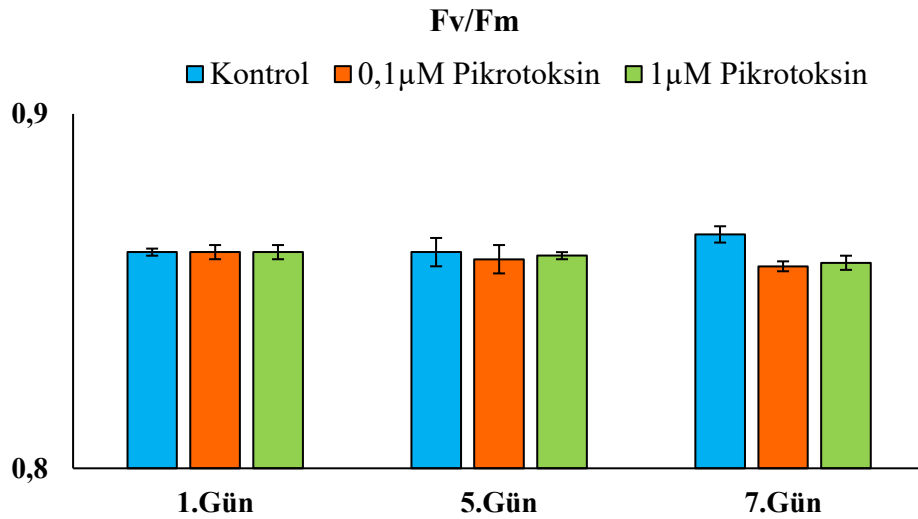
Şekil 4.1.a: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplardaki ozmotik potansiyel değişimi.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda örnekleme 1. ve 5. günlerinde ozmotik potansiyel değişiminde belirgin bir farklılık gözlenmezken, örnekleme 7. gününde 0.5mM gallik asit uygulanan grubun (526 mmol kg⁻¹), kontrol grubu değerine göre %3,14 artış gösterdiği ve 1mM gallik asit uygulanan grubun (554 mmol kg⁻¹) kontrol grubu değerine göre %7,78 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.1.b).



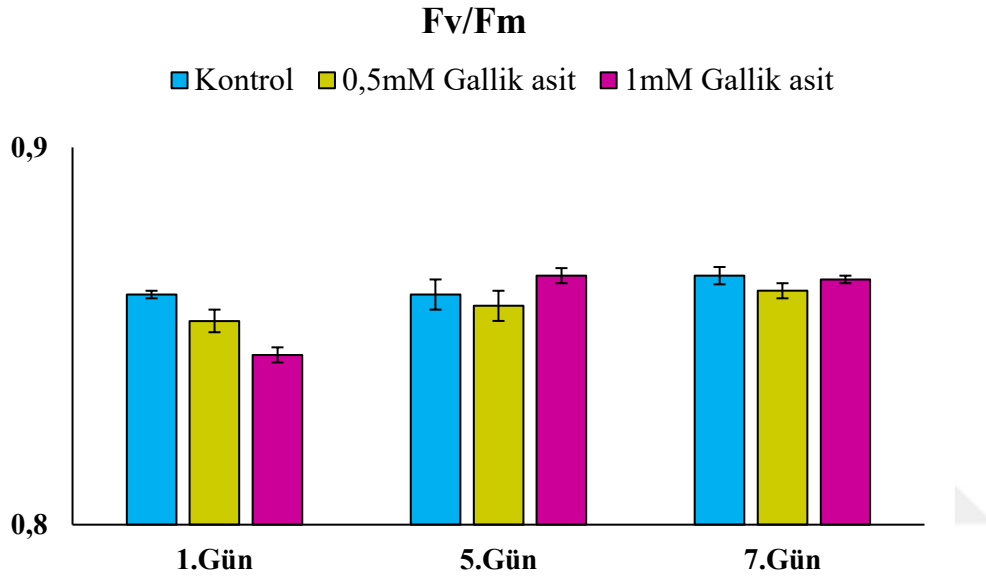
Şekil 4.1.b: *Brassica napus* L. 'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplardaki ozmotik potansiyel değişimi.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda ($0.1\mu\text{M}$ ve $1\mu\text{M}$) pikrotoksin uygulanan gruplarda, Fotosistem 2'deki maksimum kuantum verimliliğini temsil eden F_v/F_m oranlarındaki değişim incelenmiştir. Örneklemenin 1.ve 5. Günlerinde F_v/F_m değerlerinde kontrol ve uygulama gruplarında belirgin bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.1.c). Örneklemenin 7. gününe gelindiğinde, uygulama grubunun F_v/F_m değerlerinin kontrol grubundan kıyasla %0,93 oranında azaldığı belirlenmiştir.



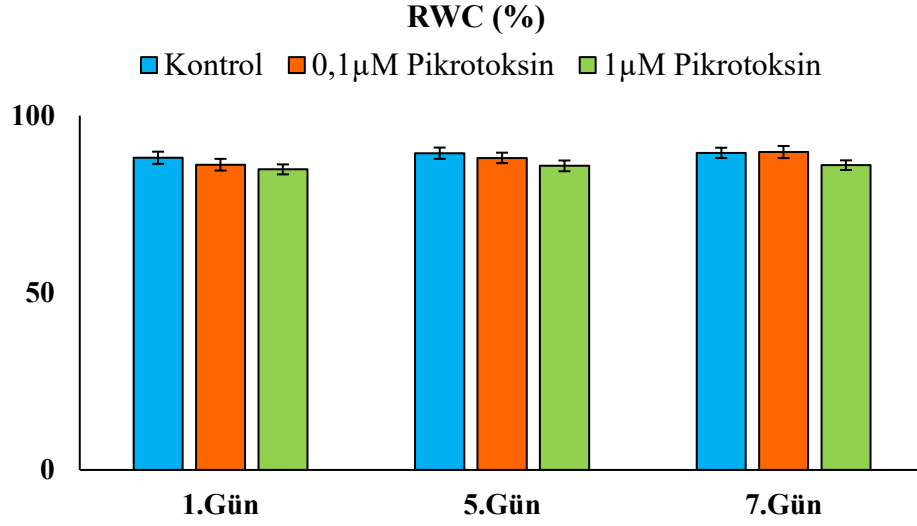
Şekil 4.1.c: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplardaki F_v/F_m oranlarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulanan gruplarda, F_v/F_m değerleri örnekleme gününün 1.günü, uygulama gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla %0,82 ve %1,89 oranında azalmıştır (Şekil 4.1.d). Örnekleme gününün 5. ve 7.günlerinde kontrol ve uygulama gruplarında F_v/F_m oranları açısından belirgin bir farklılık görülmemekle birlikte, en yüksek F_v/F_m oranı uygulamanın 5.gününde 1mM gallik asit uygulanan grupta tespit edilmiştir.



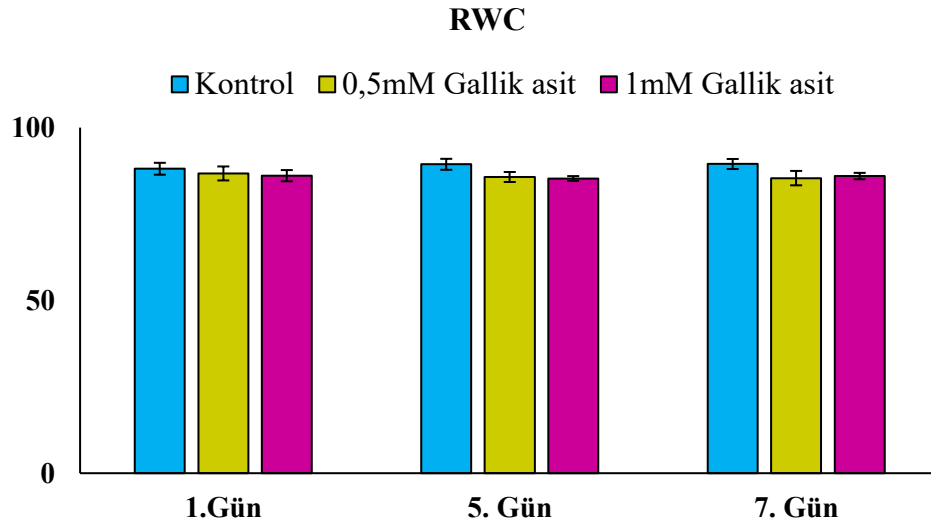
Şekil 4.1.d: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulanan gruplardaki F_v/F_m oranlarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1 μ M ve 1 μ M) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, yaprak su verimliliğini belirleme açısından bitkilerde önemli bir belirteç olan bağıl su içeriği (RWC) miktarları incelenmiştir (Şekil 4.1e). Kontrol ve uygulama grupları karşılaştırıldığında RWC miktarında belirgin bir fark gözlenmedi ve tüm örnekleme günlerindeki değerlere bakıldığında, RWC değerinin ortalama %87,56 oranında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.1.e: *Brassica napus* L.' de kontrol ve pikrotoksin uygulanan gruplarda, RWC miktarındaki değişim.

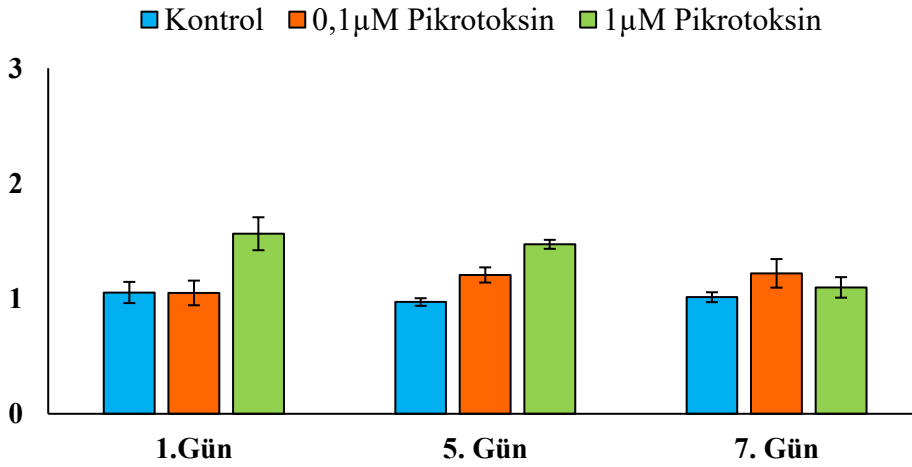
Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplardaki RWC değerlerinde de belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.1.f). Tüm örnekleme günlerindeki ortalama RWC değerinin %86,97 olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.1.f: *Brassica napus* L. 'de kontrol ve gallik asit uygulanan gruplarda, RWC miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1µM ve 1µM) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, yaprak yaş ağırlıktaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.1.g). 0.1 µM pikrotoksin uygulaması yapılan grup ve kontrol grubunun yaprak yaş ağırlık miktarındaki değişim karşılaştırıldığında, örnekleminin 1. günü aralarında belirgin bir fark olmadığı, örnekleminin 5. ve 7. günlerinde ise uygulama grubunun ağırlığının, kontrol grubuna göre sırasıyla %24,23 ve %20,45 oranında daha çok artış gösterdiği görülmüştür. 1µM pikrotoksin uygulaması yapılan grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, örnekleminin 1. günü uygulama grubunun kontrol grubuna göre %48,44 artış gösterdiği, örnekleminin 5. gününde uygulama grubunun ağırlığının, kontrol grubuna göre %51,16 daha fazla olduğu ve örnekleminin 7. gününde ise uygulama grubunun ağırlığının kontrol grubuna göre %8,39 daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

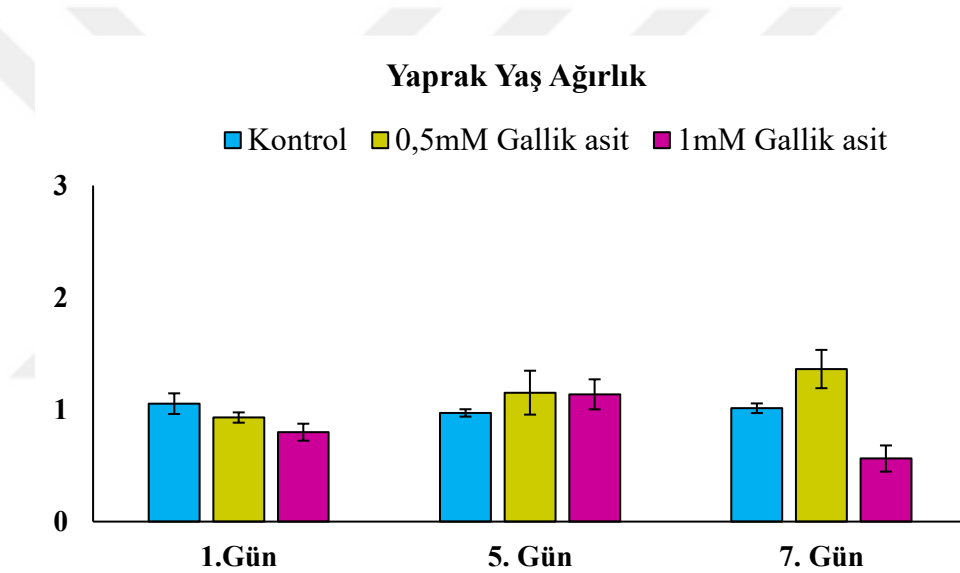
Yaprak Yaş Ağırlık



Şekil 4.1.g: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulanan gruplarda, yaprak yaş ağırlığındaki değişim.

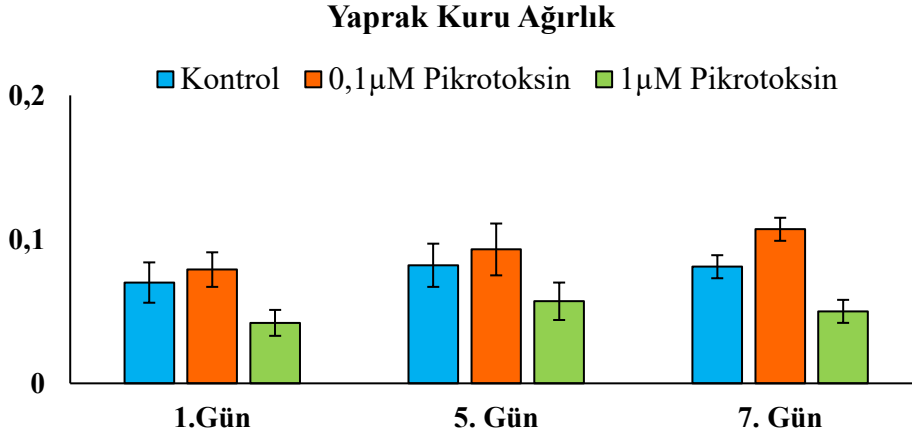
Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda yaprak yaş ağırlıktaki değişimi de incelenmiştir (Şekil 4.1h). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan grup ve kontrol grubunun yaprak yaş ağırlık miktarındaki değişim karşılaştırıldığında, örnekleminin 1. günü uygulama grubu değerinin kontrol değerine göre azaldığı belirlenmiştir.

Bununla birlikte, örnekleme günleri 5. ve 7. günlerinde uygulama gruplarının yaş ağırlığının değerinin kontrol grubundan sırasıyla %18,66 ve %34,58 oranında artış gösterdiği gözlemlenmiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan grup ile kontrol grubunun yaprak yaş ağırlık miktarındaki değişim karşılaştırıldığında, örnekleme günleri 1.günü uygulama grubu değeri kontrol grubu değerinden düşük olduğu, örnekleme günleri 5. günü uygulama grubu değerinin kontrol grubu değerinden %17,11 yüksek olduğu ve örnekleme günleri 7. gününde ise uygulama grubu değerinin kontrol grubu değerinden %44,37 oranında düşük olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek yaprak yaş ağırlık değeri, 0.5 mM gallik asit uygulamasının 7. gününde (1,362 g YA) ve en düşük yaprak yaş ağırlık değeri 1mM gallik asit uygulamasının 7. gününde (0,563 g YA) tespit edilmiştir.



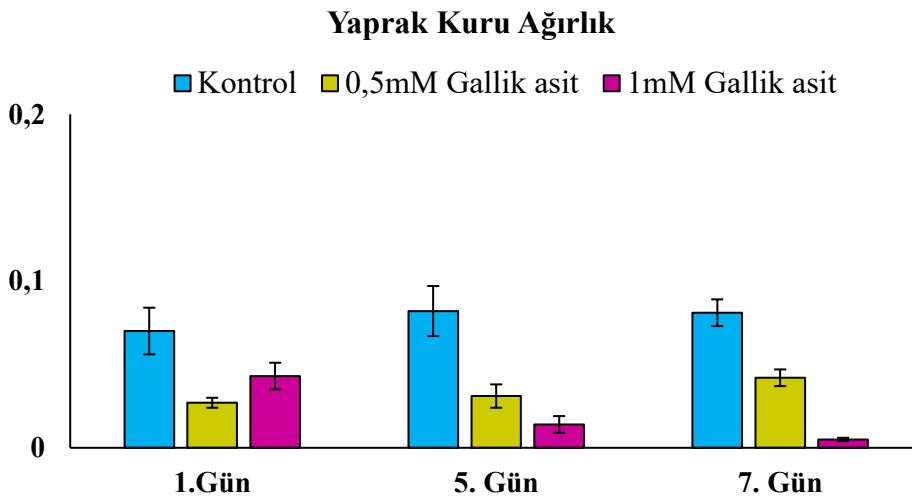
Şekil 4.1.h: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, yaprak yaş ağırlıktaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1µM ve 1µM) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, yaprak kuru ağırlıktaki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.1.ı). 0.1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda yaprak kuru ağırlık değeri tüm örnekleme günlerinde, kontrol değerinden yüksek olduğu görülmekle birlikte, en yüksek değer örnekleme günleri 7. gününde (0,107 g KA) gözlemlenmiştir. 1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda tüm örnekleme günlerinde, uygulama grubu değeri kontrol grubu değerlerine göre azalmıştır. Bu grupta en düşük değer örnekleme günleri 1. günü (0,042 g KA) ve en yüksek değer örnekleme günleri 5. günü (0,057 g KA) olarak tespit edilmiştir.



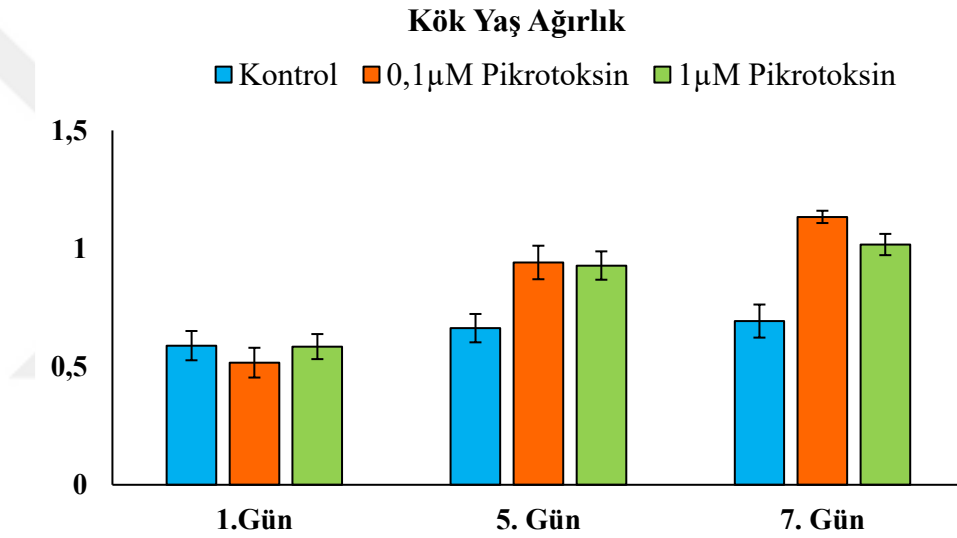
Şekil 4.1.1: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, yaprak kuru ağırlıktaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0,5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, tüm örnekleme günlerinde uygulama grubunun yaprak yaş ağırlık değerlerinin, kontrol grubu değerlerine göre azaldığı görülmüştür. 0,5mM gallik asit uygulanan gruplarda en yüksek yaprak kuru ağırlık değeri örnekleme gününün 7.gününde (0,042 g KA) ölçülmüştür (Şekil 4.1.i). 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda en yüksek yaprak kuru ağırlık değeri, örnekleme gününün 1. gününde (0,043 g KA) ve en düşük yaprak kuru ağırlık değeri örnekleme gününün 7. gününde (0,005 g KA) gözlenip, kontrol değerinden yaklaşık 16 kat daha düşük olduğu belirlenmiştir.



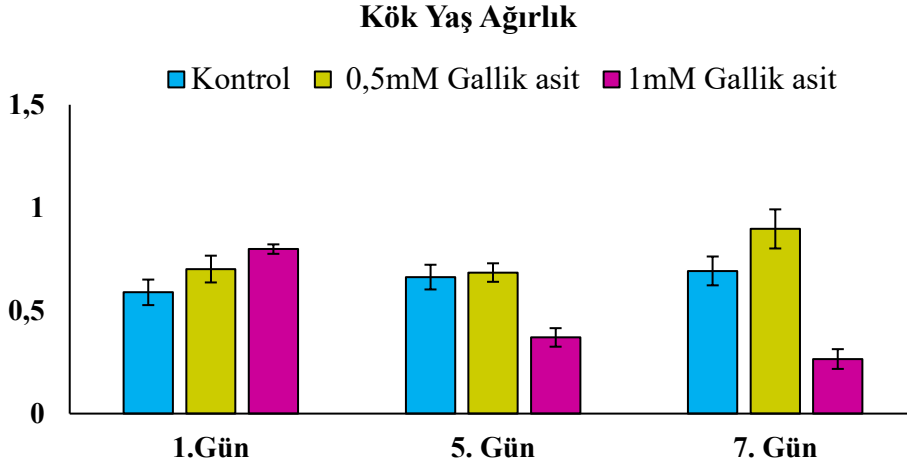
Şekil 4.1.i: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, yaprak kuru ağırlıktaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1 μ M ve 1 μ M) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlıktaki değişim incelenmiştir (Şekil4.1.j). 0.1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan grupta, örnekleme günlerinde kök yaş ağırlık değeri kontrol grubundan yüksek olduğu görülmüş olup, en yüksek değerin örnekleme gününde (1,134 g KA), kontrol değerinden %63,6 oranında yüksek olduğu gözlenmiştir. 1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan grupta, kök yaş ağırlık değerinin, örnekleme günlerinde kontrol değerinden yüksek olduğu görülmüş olup, en yüksek değerin örnekleme gününde (1,017 g KA), kontrol değerinden yaklaşık iki kat daha yüksek olduğu görülmüştür.



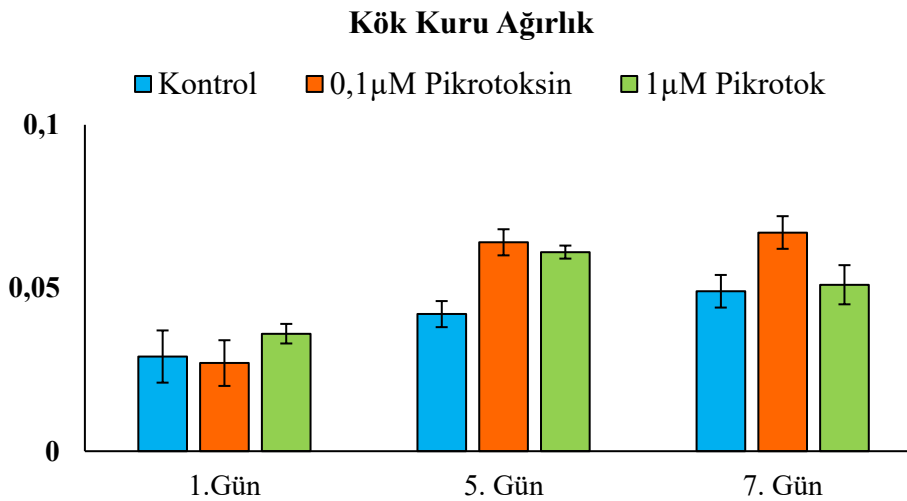
Şekil 4.1.j: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlıktaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda kök yaş ağırlık değişimi incelenmiştir (Şekil4.1k). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, tüm örnekleme günlerinde kök yaş ağırlık değerleri kontrol grubundan yüksek çıkmıştır ve en yüksek değer örnekleme gününde (0,897 g YA) tespit edilmiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlık değeri örnekleme günlerinde kontrol grubundan düşük olduğu görülmüştür.



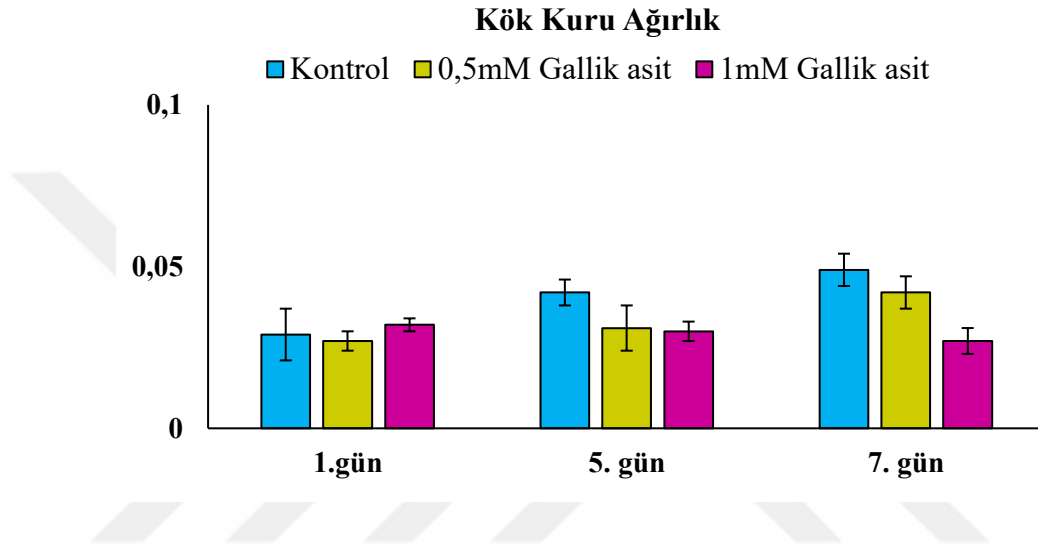
Şekil 4.1.k: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlıktaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda ($0,1\mu\text{M}$ ve $1\mu\text{M}$) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda kök kuru ağırlıktaki değişimler incelenmiştir (Şekil4.1.l). $0,1\mu\text{M}$ pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, kök kuru ağırlık değeri örnekleme 1. gününde kontrol değerinden düşük iken, örnekleme 5. ve 7. günlerinde kontrol değerinden yüksek çıkmıştır. En yüksek değer kontrol grubundan %36,7 oranında yüksek çıkan örnekleme 7.günü ($0,067\text{ g KA}$) tespit edilmiştir. $1\mu\text{M}$ pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, tüm örnekleme günlerinde kök kuru ağırlık değerinin kontrol grubu değerinden yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1.l: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, kök kuru ağırlıktaki değişim.

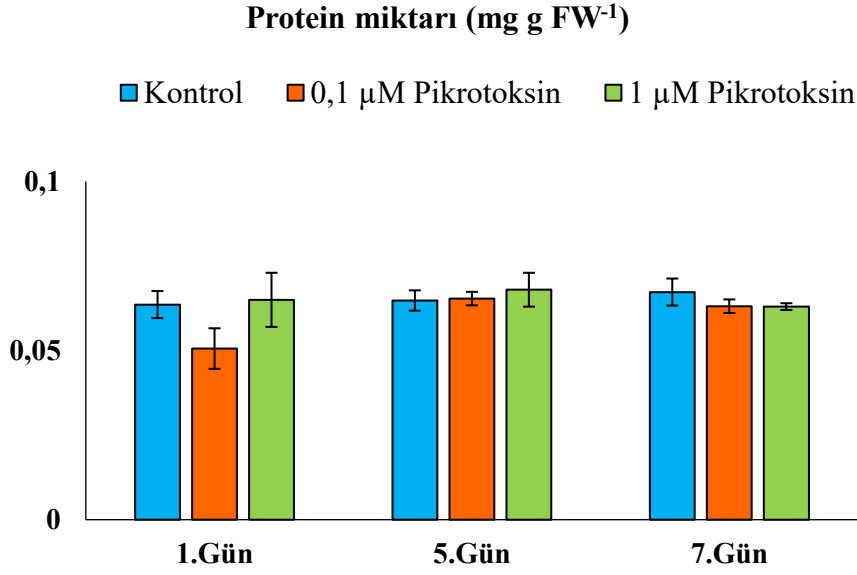
Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, kök kuru ağırlıktaki değişimler incelenmiştir (Şekil4.1.m). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, tüm örnekleme günlerinde kök kuru ağırlık değerleri kontrol grubundan düşük çıkmıştır. 1mM gallik asit uygulanan gruplarda, kök kuru ağırlık değeri örnekleme gününün 1. günü kontrol değerinden yüksek iken, örnekleme gününün 5. ve 7. günlerinde kontrol değerinden düşük olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1.m: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, kök kuru ağırlıktaki değişim.

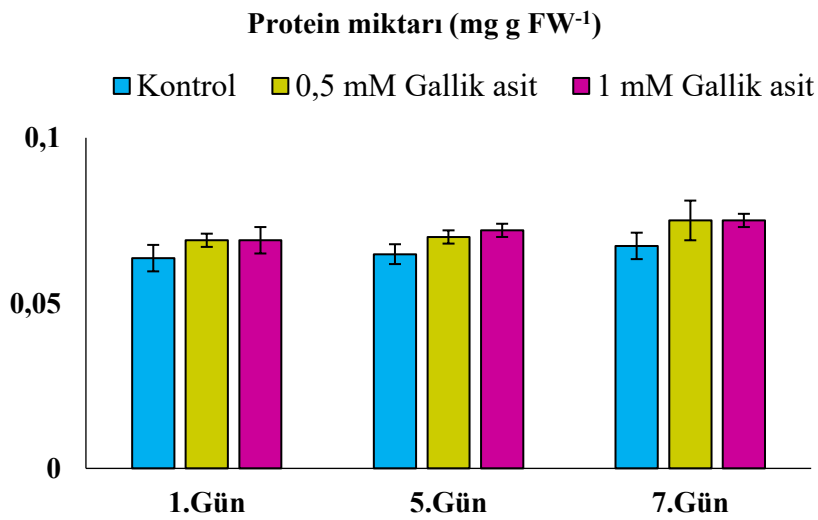
4.2 Total Protein Miktarının Belirlenmesi

Brassica napus L. bitkisinden alınan yaprak örneklerinde kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda protein miktarındaki değişimler belirlenmiştir (Şekil 4.2 a ve b). Kontrol ve pikrotoksin uygulanan gruplardaki yaprak total protein miktarında, 0,1 μ M pikrotoksin uygulamasının 1.günü haricindeki günlerde belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. 0,1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, en düşük total protein miktarı değeri, örnekleme gününün 1.günü (0,050 mg g FW⁻¹) kaydedilmiştir ve örnekleme gününün 5. gününe gelindiğinde %30'luk bir artış gözlenmiştir. En yüksek total protein miktarı kontrol grubunda örnekleme gününün 7. gününde (0,067 mg g FW⁻¹), 0,1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan grupta örnekleme gününün 5. gününde (0,065 mg g FW⁻¹) ve 1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan grupta örnekleme gününün 5. gününde (0,068 mg g FW⁻¹) tespit edilmiştir.



Şekil 4.2.a: *Brassica napus* L. bitkisinde, kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki total protein miktarı üzerindeki etkileri.

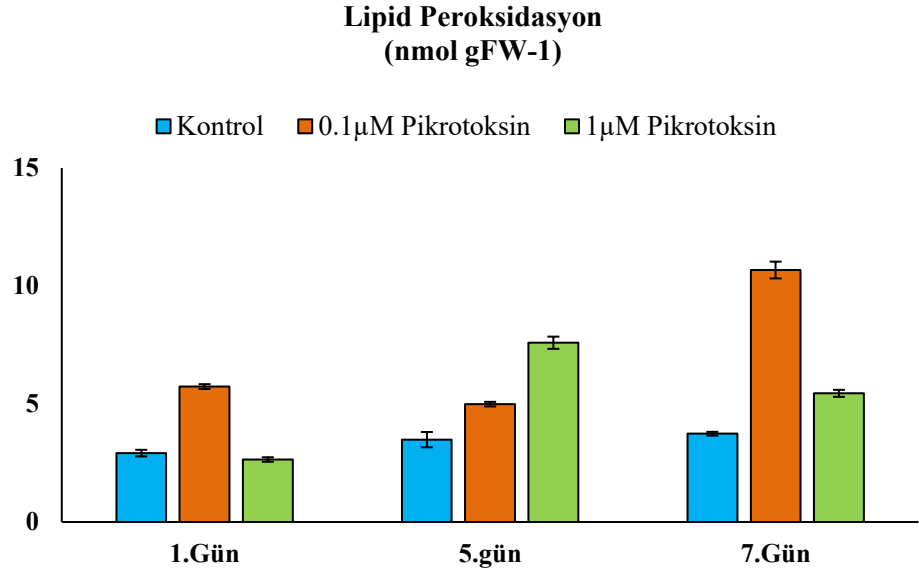
Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5 mM ve 1 mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplardaki tüm örnekleme günlerinde, total protein miktarında belirgin bir değişim gözlenmemekle birlikte, gallik asit uygulaması yapılan gruplardaki protein miktarı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. En yüksek total protein miktarları 0.5 mM gallik asit ve 1mM gallik asit uygulamasının 7. gününde, her iki grupta da 0,075 mg g FW⁻¹ kaydedilmiştir.



Şekil.4.2.b: *Brassica napus* L.bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki total protein miktarı üzerindeki etkileri.

4.3 Lipid Peroksidasyon (TBARS) Miktarı

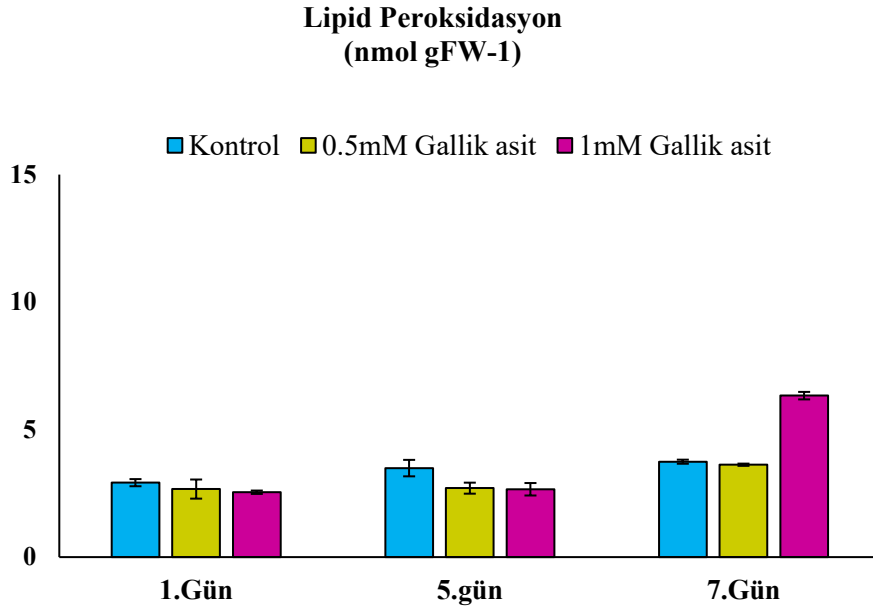
Brassica napus L. bitkisinden alınan yaprak örneklerinde kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda 1., 5. ve 7. günlerde alınan örneklerdeki lipid peroksidasyon miktarındaki değişimle belirlenmiştir (Şekil 4.3.a ve Şekil 4.3.b). 0.1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda lipid peroksidasyon miktarı, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında uygulamanın 1.günü %96.58 , uygulamanın 5.günü %43.11 ve uygulamanın 7.günü %185.47 oranında yüksek olduğu görülmüştür. 1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda lipid peroksidasyon miktarı, kontrol grupları ile kıyaslandığında uygulamanın 1.günü %9.28 düşük olduğu, uygulamanın 5.ve 7.gününde ise sırasıyla %117.7 ve %45.75 oranında yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3.a: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulaması yapılan yaprak örneklerinde, lipid peroksidasyon miktarındaki değişim.

Kontrol grubu ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda lipid peroksidasyon miktarı, 1mM gallik asit uygulamasının 7.günü haricinde kontrol değerinden düşük olduğu gözlemlenmiştir. 0.5mM konsantrasyonda gallik asit uygulaması yapılan gruplarda lipid peroksidasyon miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, uygulamanın 1.,5. ve 7. günlerinde sırasıyla %8.6, %22.56 ve %3.15 oranında düşük olduğu görülmüştür.

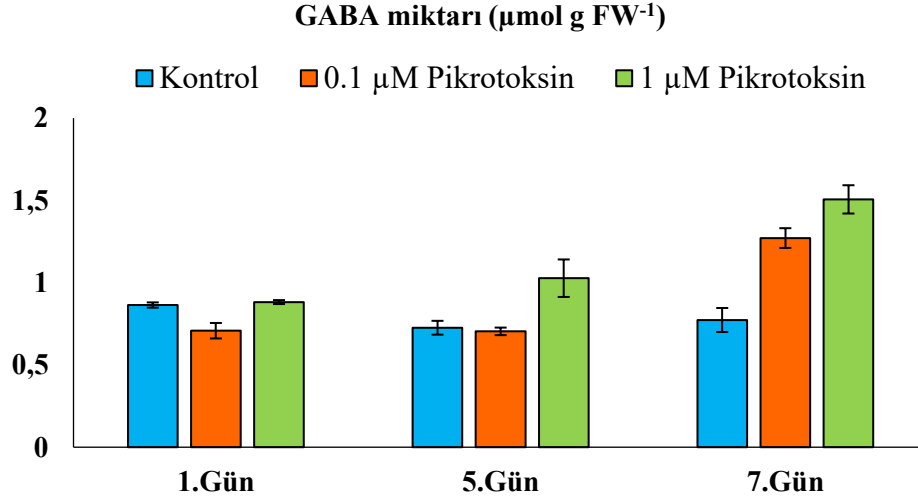
1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda lipid peroksidasyon miktarı kontrol ile kıyaslandığında uygulamanın 1.günü ve 5.günü sırasıyla %12.85 ve %23.81 oranında düşük olduğu, uygulamanın 7.gününde ise %69.2 oranında yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3.b: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulaması yapılan yaprak örneklerinde, lipid peroksidasyon miktarındaki değişim.

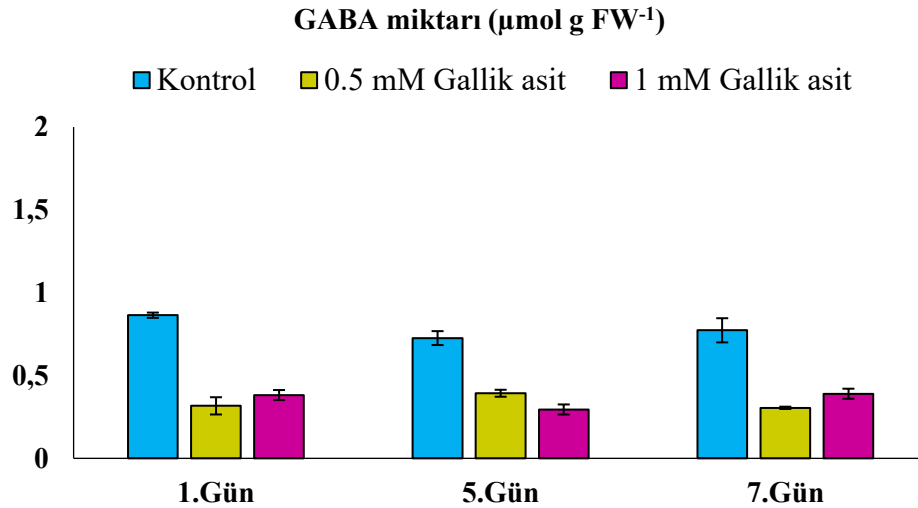
4.4 GABA Miktarının Belirlenmesi

Brassica napus L. bitkisinden alınan yaprak örneklerinde kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda 1., 5. ve 7. günlerde alınan örneklerdeki GABA miktarındaki değişimler belirlenmiştir (Şekil 4.4.a ve b). 0.1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda 1. ve 5. gün değerleri birbirlerine yakın değerler iken uygulamanın 7.gününe gelindiğinde, uygulamanın ilk gününe göre GABA miktarının %79,52 oranında arttığı ($1,271 \mu\text{mol g FW}^{-1}$) belirlenmiştir. 1 μ M pikrotoksin uygulamasında ise uygulamanın 5.günündeki GABA miktarı değerinin ($1,027 \mu\text{mol g FW}^{-1}$), uygulamanın ilk günündeki değere göre ($0,882 \mu\text{mol g FW}^{-1}$), %16,44 artış gösterdiği, uygulamanın 7.günündeki GABA miktarı değerinin ise uygulamanın ilk gününe göre %70,7 artış göstererek ($1,506 \mu\text{mol g FW}^{-1}$) tüm gruplardaki en yüksek GABA değerini verdiği görülmüştür.



Şekil 4.4.a: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA miktarı üzerindeki etkileri.

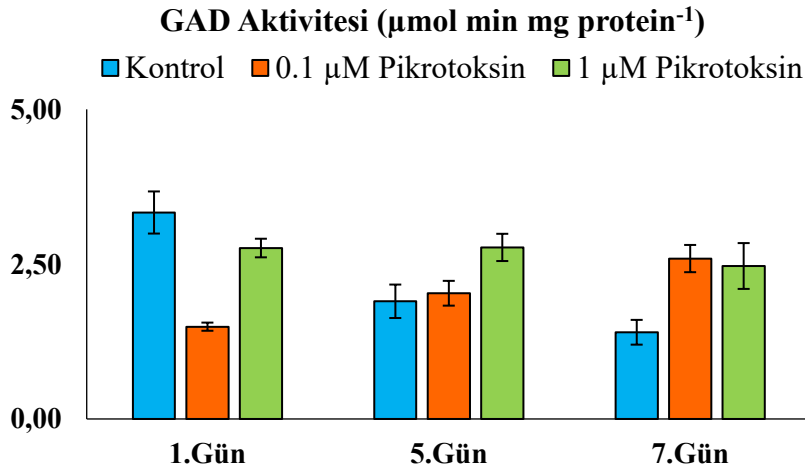
Kontrol grubu ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, gallik asit uygulamasının her iki konsantrasyonunda da GABA miktarı değerlerinin, kontrol grubu değerlerinin altında sonuç verdiği gözlemlenmiştir. 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda en yüksek GABA miktarı değeri örnekleme 5.gününde ($0,393 \mu\text{mol g FW}^{-1}$) belirlenirken, 1mM gallik asit uygulamasında ise en yüksek GABA miktarı değeri örnekleme 7.gününde ($0,390 \mu\text{mol g FW}^{-1}$) belirlenmiştir.



Şekil 4.4.b : *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA miktarı üzerindeki etkileri.

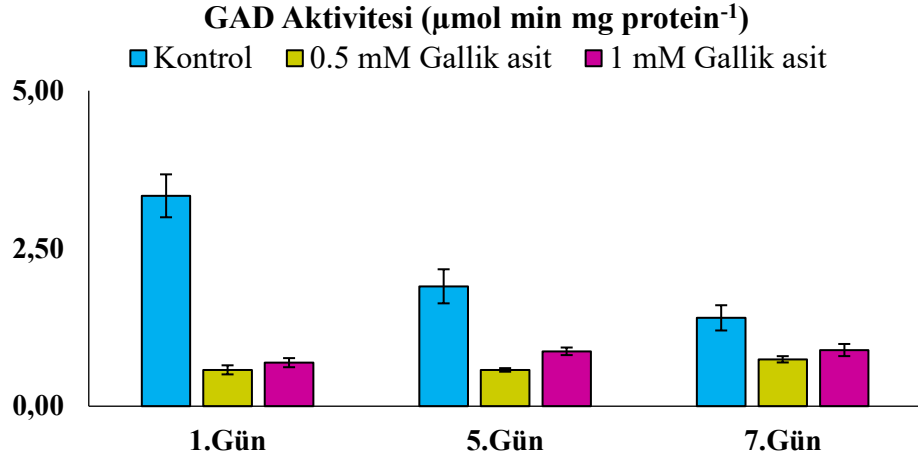
4.5 Glutamat Dekarboksilaz (GAD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Brassica napus L. bitkisinden alınan yaprak örneklerinde kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda glutamat dehidrogenaz (GAD) enzim aktivitesindeki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.5 a ve b). 0.1 μ M pikrotoksin uygulanan gruplarda uygulamanın 1. günü belirlenen GAD enzim aktivitesi (1,490 μ mol min mg protein⁻¹), uygulamanın 5. gününde %36,24 artış göstermiş (2,030 μ mol min mg protein⁻¹) ve uygulamanın 7. gününde, 5. gün uygulama değerinden %27,57 oranında yükseliş gösterdiği belirlenmiştir. 1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda uygulamanın 1.ve 5. günü belirlenen GAD enzim aktivite değerleri birbirilerine yakın değerler iken (sırasıyla 2,760 ve 2,770 mol min mg protein⁻¹), uygulamanın 7. gününde 5. gün uygulama değerine göre %10,83 düşüş gözlenmiştir.



Şekil 4.5.a: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki GAD aktivitesi üzerindeki etkileri.

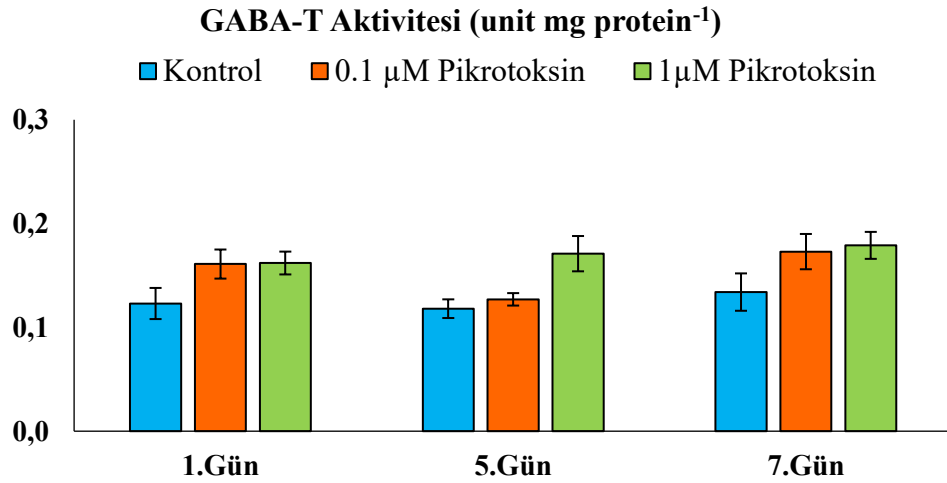
Kontrol grubu ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda tüm örnekleme günlerinde belirlenen GAD enzim aktivite değerleri, kontrol grubunun altında tespit edilmiştir. 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda uygulamanın 1.ve 5. günü belirlenen GAD enzim aktivite değeri birbiri ile aynı (0,580 μ mol min mg protein⁻¹) iken, uygulamanın 7. gününde %27,59 artış göstermiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda uygulamanın 1. günü GAD enzim aktivite değeri (0,690 μ mol min mg protein⁻¹), uygulamanın 5. gününde %26,09 oranında artmış ve uygulamanın 7. gününde 5. gün uygulama değerinden %2,3 yükseliş gösterdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5.b: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki GAD aktivitesi üzerindeki etkileri.

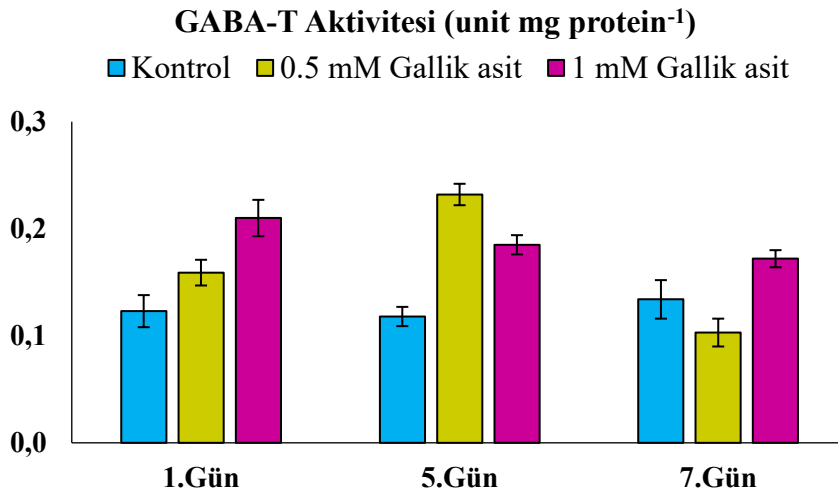
4.6 GABA Transaminaz (GABA-T) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Brassica napus L. bitkisinden alınan yaprak örneklerinde kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda GABA transaminaz (GABA-T) enzim aktivitesindeki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.6.a ve b). 0.1 μM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda en yüksek GABA-T aktivite değeri uygulamanın 7. gününde (0,179 ünite mg protein^{-1}) tespit edilmiştir. 1 μM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda da en yüksek GABA-T aktivitesi uygulamanın 7. gününde (0,179 ünite mg protein^{-1}) tespit edilmiş olup, pikrotoksin uygulaması yapılan gruplardaki GABA-T aktivitesi genel olarak kontrol grubu değerlerinden yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6.a: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA-T aktivitesi üzerindeki etkileri.

Kontrol grubu ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda GABA-T enzim aktivitesi, 0,5mM gallik asit uygulamasının 7. günü (0,103 ünite mg protein⁻¹) haricinde, kontrol grubu değerlerinin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. 0.5mM gallik asit uygulamasının 1. günü belirlenen GABA -T aktivite değeri (0,159 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 5. gününde %45,97 artmış (0,232 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 7. gününe gelindiğinde ise GABA-T aktive değerinin 5. gün değerine göre %55,60 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. 1 mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda en yüksek GABA-T aktivite değeri uygulamanın 1. günü (0,210 ünite mg protein⁻¹) tespit edilmiş olup, bu değer uygulamanın 5. günü (0,185 ünite mg protein⁻¹) ve 7. günü (0,172 ünite mg protein⁻¹) düşüş göstermiştir.

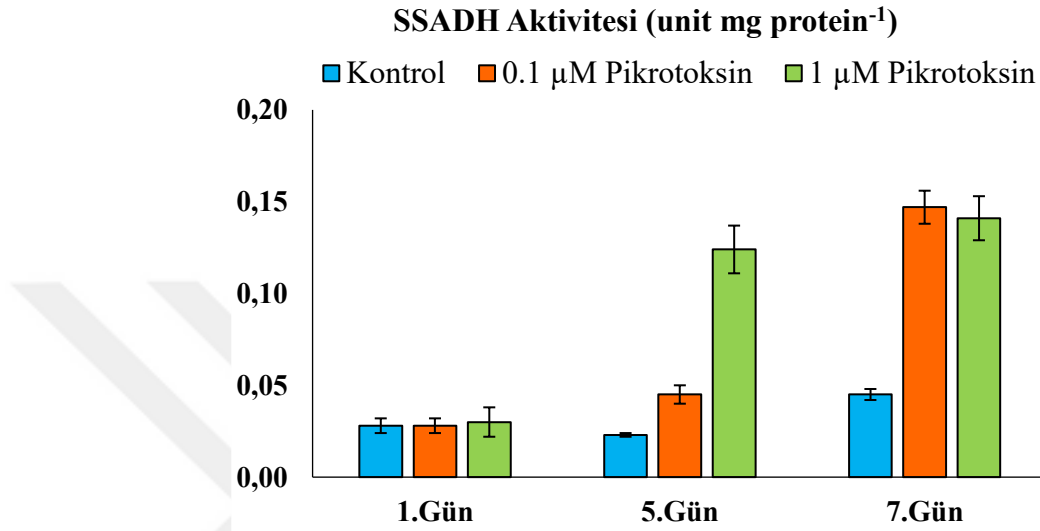


Şekil 4.6.b: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki GABA-T aktivitesi üzerindeki etkileri.

4.7 Süksinik Semialdehit Dehidrogenaz (SSADH) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

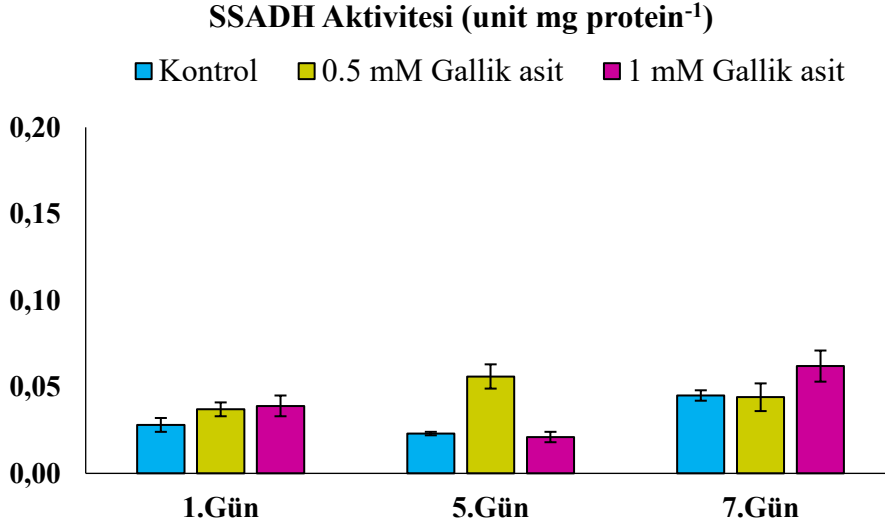
Brassica napus L. bitkisinden alınan yaprak örneklerinde kontrol, pikrotoksin ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda süksinik semialdehit dehidrogenaz (SSADH) enzim aktivitesindeki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.7.a ve b). 0.1 µM pikrotoksin uygulamasının 1. günündeki SSADH aktivite değeri (0,03 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 5. gününde %66,67 oranında artmış (0,05 ünite g protein⁻¹), uygulamanın 7. gününe gelindiğinde 5. günkü değerden yaklaşık iki kat artış göstermiştir (0,150 ünite mg protein⁻¹).

Bu değer diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek SSADH aktivitesi değeri olarak gözlenmiştir. 1 μ M pikrotoksin uygulamasının 1. günü belirlenen SSADH aktivitesi (0,03 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 5. gününde yaklaşık 4-kat artış göstermiş (0,124 ünite mg protein⁻¹) ve uygulamanın 7. günündeki SSADH aktivite değeri, uygulamanın 5. günündeki değerinin %13,71 oranında arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.7.a: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve pikrotoksin uygulamasının yaprak örneklerindeki SSADH aktivitesi üzerindeki etkileri.

Kontrol grubu ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, en yüksek SSADH enzim aktivitesi 1mM gallik asit uygulamasının 7. gününde (0,062 ünite mg protein⁻¹) tespit edilmiştir. 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, uygulamanın 1.günü belirlenen SSADH enzim aktivite değeri (0,030 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 5.gününde %51,35 (0,056 ünite mg protein⁻¹) oranında artmış, uygulamanın 7. gününde ise uygulamanın 5. gününe oranla %21,43 azalış göstermiştir. 1mM gallik asit uygulanan gruplarda, uygulamanın 1. günündeki SSADH enzim aktivite değeri (0,039 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 5. gününde yaklaşık 2-kat azalış göstermiş (0,021 ünite mg protein⁻¹), uygulamanın 7. gününde (0,062 ünite mg protein⁻¹) ise 5.gün uygulamasındaki değerden yaklaşık 3-kat artış gösterdiği gözlemlenmiştir.



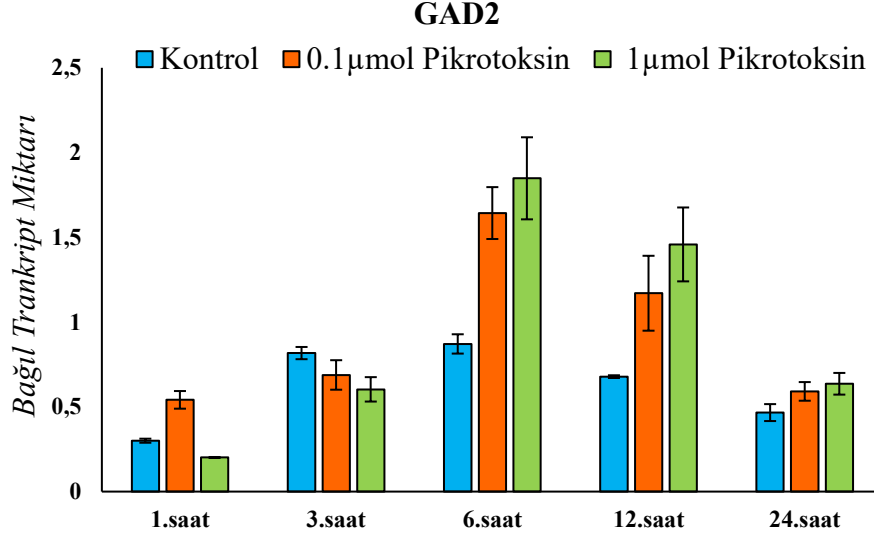
Şekil 4.7.b: *Brassica napus* L. bitkisinde kontrol grubu ve gallik asit uygulamasının yaprak örneklerindeki SSADH aktivitesi üzerindeki etkileri.

4.8 Kantitatif PCR (qPCR) Analizi

GABA yolu ile ilişkili *GAD2*, *GABA-T (POP2)*, *SSADH* ve *GABA-P (BAT1)* genlerinin transkript profillerindeki değişimler Real-Time PCR cihazı ile incelendi. Modülatör moleküllerin (pikrotoksin ve gallik asit) uygulanmasının ardından 1., 3., 6, 12. ve 24.saatlerde yaprak örneklemeleri yapıldı. Aktin (referans gen) genine göre transkript profillerinin normalizasyonu sağlandı.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1µM ve 1µM) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *GAD2* geninin transkript miktarındaki değişim incelendi (Şekil 4.8.a). 0.1 µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *GAD2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örnekleme 1.saat %80,3 oranında yüksek, 3.saatte %15,8 düşük, 6. saatte %88,6 yüksek, 12.saatte %72,6 yüksek ve 24.saatte %26,85 yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *GAD2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile kıyaslandığında, örnekleme 1.ve 3.saatlerinde sırasıyla %33 ve %26,2 düşük olduğu, 6.,12.,ve 24.,saatlerde sırasıyla %112,1,%115 ve %36,48 oranında yüksek olduğu görülmüştür.

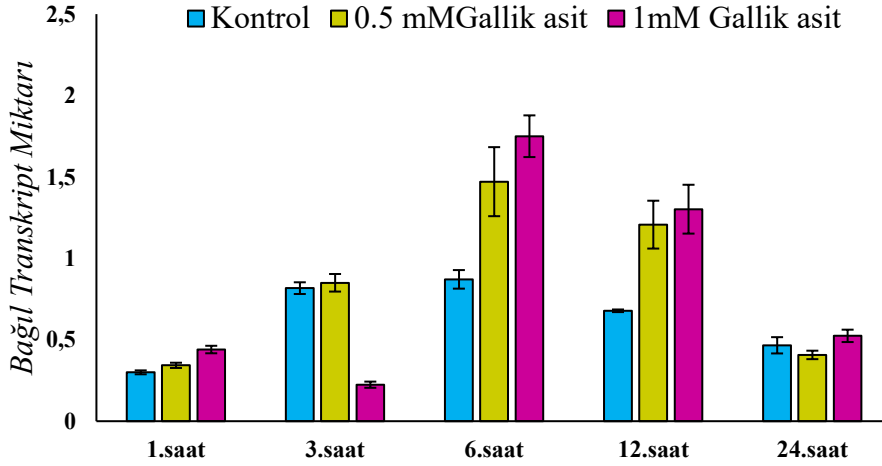
GAD2 transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubu için örnekleminin 6.saatinde (0,871), 0,1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan grup için örnekleminin 6.saatinde (1,643) ve 1 μ M pikrotoksin uygulaması yapılan grup için örnekleminin 6.saatinde (1,848) tespit edilmiştir.



Şekil 4.8.a: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, *GAD2* genindeki transkript miktarındaki değişim.

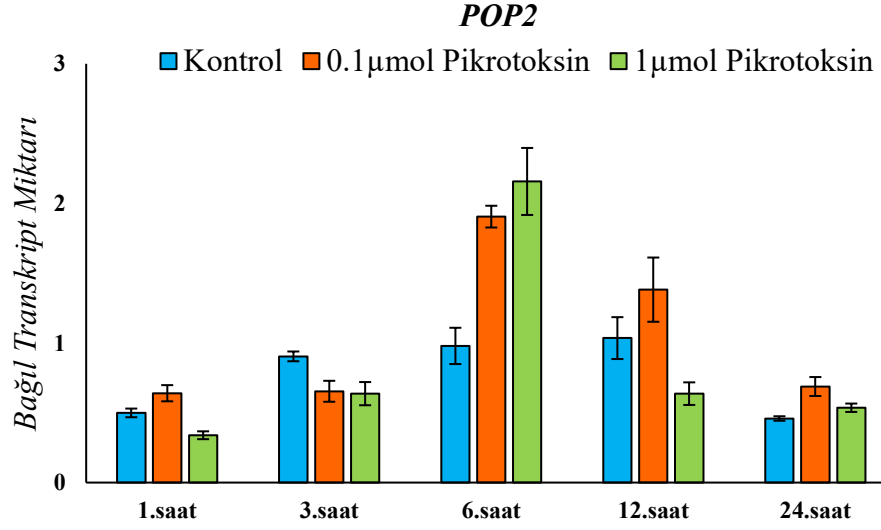
Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *GAD2* geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.b). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, *GAD2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örnekleminin 1.,3.,6., ve 12.saatinde sırasıyla %14,33, %4,04, %68,8, %78 oranında yüksek, 24.saatte %12,6 düşük olduğu belirlenmiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, *GAD2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örnekleminin 1.saat %46,6 yüksek, 3.saat %72,6 düşük, 6., 12. ve 24.saatlerinde sırasıyla %100,9, %92,1 ve %12,4 oranında yüksek olduğu gözlemlenmiştir. *GAD2* transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örnekleminin 6.saatinde (0,871), 0.5mM gallik asit uygulanan grup için örnekleminin 6.saatinde (1,471) ve 1mM gallik asit uygulanan grup için örnekleminin 6.saatinde (1,750) tespit edilmiştir.

GAD2



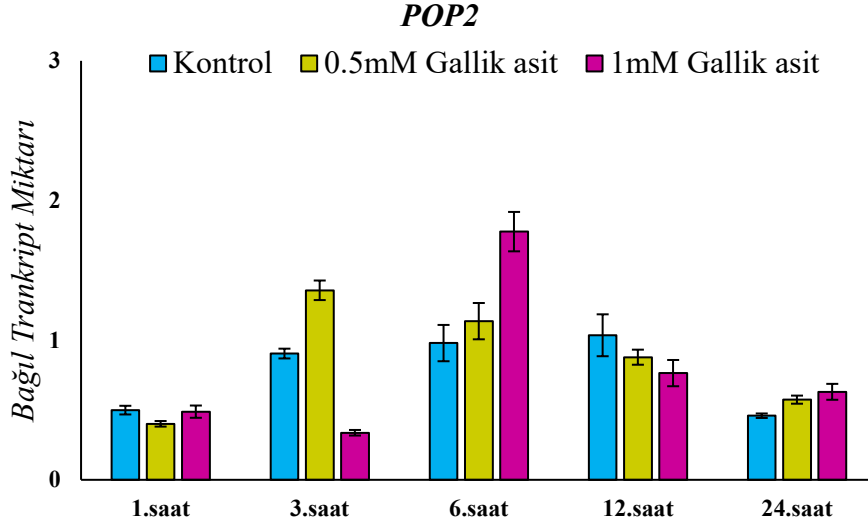
Şekil 4.8.b: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, GAD-2 genindeki transkript miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda ($0.1\mu\text{M}$ ve $1\mu\text{M}$) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *GABA-T* (*POP2*) geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.c). $0.1\mu\text{M}$ pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *POP2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örneklemenin 1.saat %28,3 yüksek, 3. saati %27,6 düşük, 6.,12.ve 24. saatlerinde sırasıyla, %94,6, %33,5 ve %49,9 oranında yüksek olduğu gözlemlenmiştir. $1\mu\text{M}$ pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubu ile kıyaslandığında, örneklemenin 1. ve 3. Saatinde sırasıyla %32,1 ve %27,6 düşük, 6.saatinde %120,3 yüksek, 12.saatinde %38,4 düşük ve 24.saatinde %16,8 yüksek olduğu gözlemlenmiştir. *POP2* transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örneklemenin 12.saatinde (1,035), $0.1\mu\text{M}$ pikrotoksin uygulanan grup için örneklemenin 6.saatinde (1,905) ve $1\mu\text{M}$ pikrotoksin uygulanan grup için örneklemenin 6.saatinde (2,157) tespit edilmiştir.



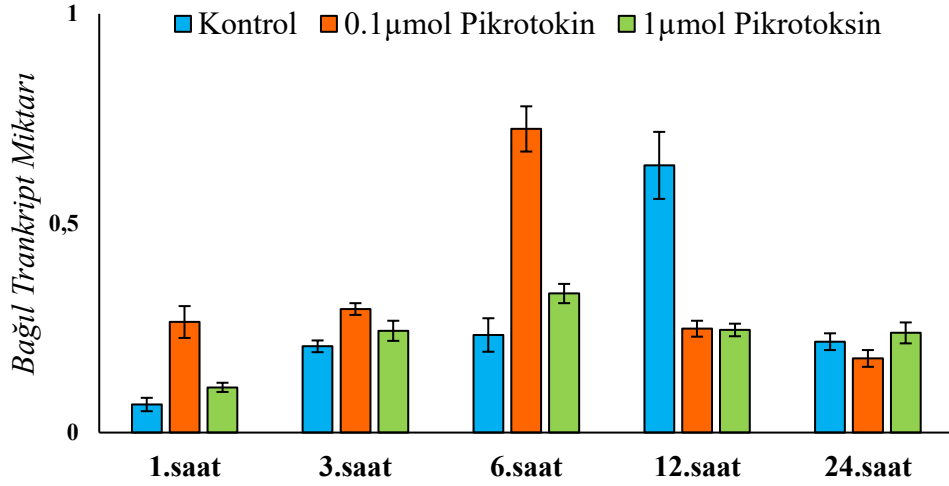
Şekil 4.8.c: *Brassica napus* L.'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, *POP2* genindeki transkript miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *GABA-T* (*POP2*) geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.d). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *POP2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örneklemenin 1.ve 3.saatinde sırasıyla %19,6 ve %62,7 düşük, 6.saatinde %16 yüksek, 12.saatinde %15,2 düşük ve 24.saatinde %25 oranında yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *POP2* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örneklemenin 1.ve 3.saatinde sırasıyla %2,2 ve %62,7 düşük, 6.saatinde %81,5 yüksek, 12 saatinde %26,2 düşük ve 24.saatinde %37,25 yüksek olduğu görülmüştür. *POP2* transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örneklemenin 12.saatinde (1,035), 0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin 3.saatinde (1,357) ve 1mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin 6.saatinde (1,777) belirlenmiştir.



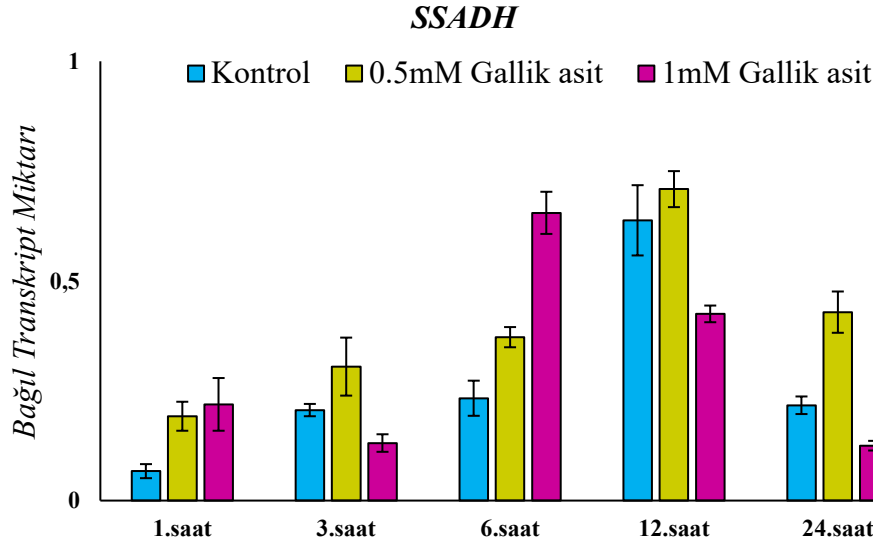
Şekil 4.8.d: *Brassica napus L.*’de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, POP-2 genindeki transkript miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1µM ve 1µM) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *SSADH* geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.e). 0.1 µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *SSADH* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örneklemenin 1.,3.ve 6. saatlerinde sırasıyla %294,03, %43,20 ve %211,16 oranında yüksek, örneklemenin 12. ve 24.saatlerinde sırasıyla %61,13 ve %18,48 oranında düşük olduğu gözlemlenmiştir. 1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubu ile kıyaslandığında, örneklemenin 1.saatinde 1.,3.ve 6. saatlerinde sırasıyla %61,19, %17,96 ve %42,58 yüksek, 12.saatinde %61,6 düşük ve 24.saatinde %9,66 yüksek olduğu görülmüştür. *SSADH* transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örneklemenin 12.saatinde (0,638), 0.1µM pikrotoksin uygulanan grup için örneklemenin 6.saatinde (0,725) ve 1µM pikrotoksin uygulanan grup için örneklemenin 6.saatinde (0,332) tespit edilmiştir.

SSADH

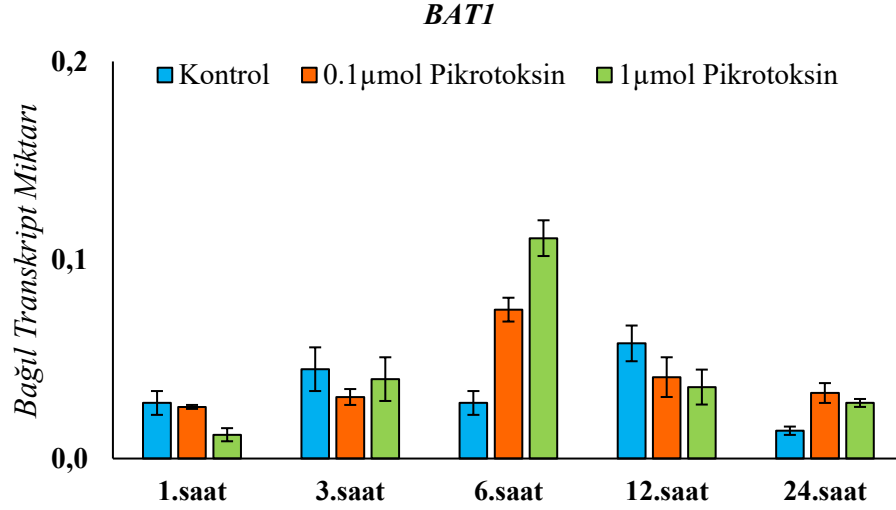
Şekil 4.8.e: *Brassica napus L.*'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, SSADH genindeki transkript miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *SSADH* geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.f). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda SSADH geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örneklemenin 1.,3.,6.,12. ve 24.saatlerinde sırasıyla %186,57, %48,06, %59,7, %11,15 ve %97,6 oranda yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *SSADH* geninin transkript miktarı kontrol grubu ile kıyaslandığında, örneklemenin 1.saatinde %226,9 yüksek, 3.saatinde %36,4 düşük, 6.saatinde %180,9 yüksek, 12.ve 24.saatlerinde %33,3 ve %42,4 oranında düşüktür. *SSADH* geninin transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örneklemenin 12.saatinde (0,638),0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin 12.saatinde (0,709) ve 1mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin 6.saatinde (0,655) belirlenmiştir.



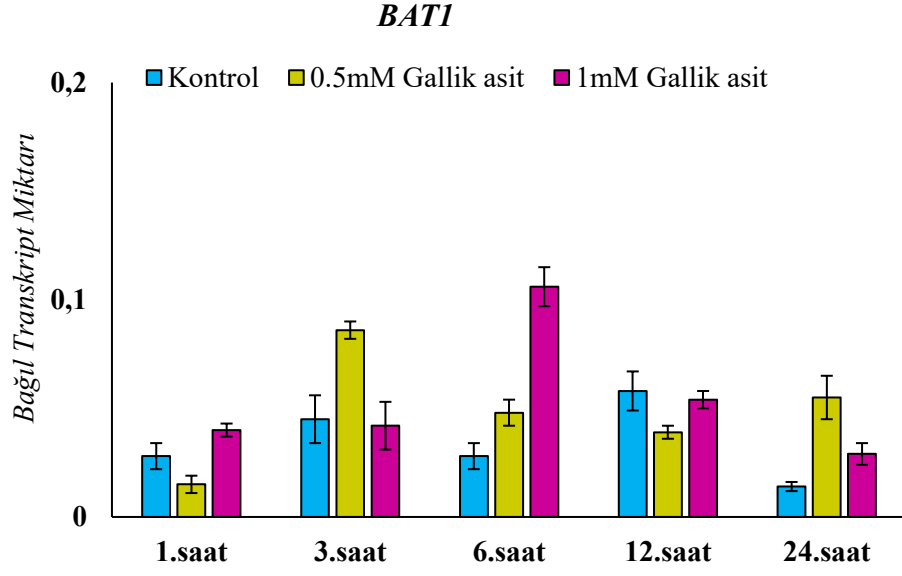
Şekil 4.8.f: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, *SSADH* genindeki transkript miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.1µM ve 1µM) pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *GABA-P(BAT1)* geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.g). 0.1 µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda *BAT1* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örnekleminin 1.ve 3.saatlerinde sırasıyla %7,14 ve %31,11 düşük, 6.saatinde %167,86 yüksek, 12.saatinde %29,31 düşük ve 24.saatinde %135,71 yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 1µM pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubu ile kıyaslandığında, örnekleminin 1.ve 3. saatlerinde sırasıyla %57,14 ve %11,11 düşük ,6.saatinde %296,43 yüksek, 12.saatinde %37,93 ve 24.saatinde %100 yükseldiği görülmüştür. *BAT1* transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örnekleminin 12.saatinde (0,058), 0.1µM pikrotoksin uygulanan grup için örnekleminin 6.saatinde (0,075) ve 1µM pikrotoksin uygulanan grup için örnekleminin 6.saatinde (0,111) tespit edilmiştir.



Şekil 4.8.g: *Brassica napus L.*'de kontrol ve pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, *BAT1* genindeki transkript miktarındaki değişim.

Kontrol ve iki farklı konsantrasyonda (0.5mM ve 1mM) gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *GABA-P(BAT1)* geninin transkript miktarındaki değişim incelenmiştir (Şekil 4.8.h). 0.5mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *BAT1* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında örneklemenin 1.saatinde %46,43 düşük, 3.ve 6.saattlerinde sırasıyla %91,11 ve %71,43 yüksek, 12.saatinde %32,76 düşük ve 24.saatinde %292,86 yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda *BAT1* geninin transkript miktarı, kontrol grubu ile kıyaslandığında, örneklemenin 1.saatinde %42,86 yüksek, 3.saatinde %6,67 düşük, 6.saatinde %278,57 yüksek, 12.saatinde %6,90 düşük ve 24.saatinde %107,14 yüksek olduğu görülmüştür. *BAT1* geninin transkript miktarındaki en yüksek değerler, kontrol grubunda örneklemenin 12.saatinde (0,058), 0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin 3.saatinde (0,086) ve 1mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin 6.saatinde (0,106) belirlenmiştir.



Şekil 4.8.h: *Brassica napus* L.'de kontrol ve gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, *BAT1* genindeki transkript miktarındaki değişim.

5-TARTIŞMA

GABA, canlılarda serbest amino asit havuzunun önemli bir parçası olan, protein yapısına katılmayan bir amino asittir (Wang et al.,2020; Yuan et al.,2019; Zhang et al.,2024). Sentezi ilk kez 1883 yılında gerçekleşmiş ve canlılardaki varlığı 1949'da, patates yumrularında Steward tarafından, keşfedilmiştir (Oketch-Rabah et al.,2021; Zhang et al.,2024). Memeliler, bitkiler, mantarlar ve bakteriler dahil olmak üzere birçok organizmada tanımlanmıştır (Steward, Thompson & Dent, 1949; Fromm, 2020; Roberts & Frankel, 1950; Zhang et al.,2024). Bitkilerde GABA'nın biyosentezi; GAD enzimi ile Glu'nun GABA'ya dönüştürülmesi, poliamin bozunması ve prolin dekarboksasyonu ile gerçekleşmektedir (Signorelli et al.2015; Bor ve Türkan,2019; Ahmad ve Fariduddin,2024). GABA yolunda GAD, GABA-T ve SSADH olmak üzere üç enzim görev almaktadır ve bu biyosentez yolu hem ökaryotlarda hem prokaryotlarda evrimsel olarak korunur (Li et al.,2020; Sarasa et al., 2020; Zhang et al.,2024). GABA, bitkilerde hücre içi pH'nın korunması, karbon azot dengesinin sağlanması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizlenmesi, osmoregülasyonun sürdürülmesi ve sinyalizasyon gibi birçok süreçte görev alır (Yuan et al.,2023; Suhel et al.,2022).

Memelilerde bulunan GABA reseptörlerinin bitkilerdeki benzerleri henüz tespit edilememiştir. Dolayısıyla, GABA seviyelerini, reseptör aktivasyonu ve inhibisyonu ile düzenleyen modülatör moleküllerin bitkilerdeki işlevi ve GABA yolu ile nasıl etkileştiği daha önce çalışılmamış ve bilinmeyen bir konudur. Yaptığımız tez çalışmasında, bitkiye, GABA reseptörü modülatörlerinden agonist etkiye sahip gallik asit ve antagonist etkiye sahip pikrotoksin uygulayarak GABA yolunun nasıl etkilendiğini inceledik. 7 gün süresince yaptığımız örneklemelerde, GABA miktarını, GABA yolu enzimleri olan; GAD, GABA-T ve SSADH enzimlerinin aktivitelerini, total protein miktarındaki değişimi, fotosentez etkinliği (Fv/Fm), ozmotik potansiyel, yaş/kuru ağırlık ve bağıl su içeriği (RWC) gibi çeşitli fizyolojik parametreleri ve GABA yolu ile ilişkili *GAD2*, *GABA-T (POP2)*, *SSADH* ve *GABA-P (BAT1)* genlerinin transkript profillerindeki değişimleri inceledik.

Bağıl su içeriği (RWC), bitkilerin bulundukları ortamdaki su durumunu gösteren önemli ölçütlerden biridir (Dimlioğlu et al.,2015). Özfıdan-Konakçı ve Kabakçı (2020) buğdayda yaptıkları bir çalışmada (*Triticum aestivum*), kadmiyum (Cd) stresine karşı, gallik asit uygulaması yapılan gruplarda RWC değerlerinin, gallik asit uygulaması yapılmayan gruplara göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir. 7 günlük örnekleme süreci boyunca incelediğimiz fizyolojik parametrelerde, RWC değerinin genel olarak birbirlerine yakın değerlerde olduğu gözlemledik. Bitkilerde FSII'nin quantum verimini ifade eden Fv/Fm değeri, fotosentez performansı ve karbon metabolizmasının etkileri ile ilgili fikir sahibi olmamızı sağlayan önemli bir parametredir (Xia et al.,2023). Fv/Fm değeri, abiyotik stresten kaynaklanan fotoinhibisyon durumunun anlaşılmasına yardımcıdır (Krause ve Weis,1991; Xia et al.,2023). Aynı zamanda, bitki stresinin göstergesi olup, bitkilerdeki fenotipik hastalıkların şiddetini yansıtabilmektedir (Xia et al.,2023). 2013 yılında Rousseau ve ark.'ları yaptığı bir çalışmada, Fv/Fm görüntülerinden yola çıkılarak fenotiplendirme yapmışlar ve sonuçları incelediklerinde sağlıklı ve enfekte dokular arasında belirgin farklılıklar olduğunu gözlemlemişlerdir. Zhou ve ark.'ları (2018) Fv/Fm'nin yüksek ve düşük sıcaklıklara karşı önemli bir parametre olduğunu, düşük ve yüksek sıcaklık stresi koşullarında baklada (*Vicia faba L.*) gerçekleştirdikleri fenotipik analizlerle göstermişlerdir (Xia et al.,2023). Yaptığımız Fv/Fm analizlerinde pikrotoksin uygulanan gruplarda, örnekleme 7.gününde uygulama grubunun Fv/Fm değerinin azalış gösterdiğini, gallik asit uygulaması yapılan gruplarda ise örnekleme 1.günü uygulama grubu değerlerinin kontrol grubundan düşük olduğunu gözlemledik. Bu sonuçlardan yola çıkarak, uyguladığımız iki farklı modülatör molekülün, örnekleme 7.gününde bir fotoinhibisyon etkisi yarattığını düşünmekteyiz. Gerçekleştirdiğimiz ozmotik potansiyel ölçümlerinde, örnekleme 7.günü hem agonist modülatör molekülün hem de antagonist modülatör molekülün uygulandığı grubun, kontrol grubu değerine göre artış gösterdiğini gözlemledik. Bulgularımıza göre, her iki modülatörün de örnekleme 7.gününde bitkide bağışıklık yanıtını tetiklediğini ve bitkinin ozmotik potansiyelini korumaya çalıştığını göstermektedir. Bitki yaş ağırlık terimi, hasattan hemen sonraki bitki ağırlığını ve kuru ağırlık terimi, bitkideki su haricindeki tüm bileşenlerin ağırlığını ifade etmede kullanılır.

Babaei ve ark. (2022) *Lepidium sativum* L.'da yaptıkları bir çalışmada, gallik asit uygulaması yapılan grupların yaş ve kuru ağırlık değerlerinin kontrol grubundan yüksek olduğunu bildirmiştir. 7 gün süresince yaptığımız örneklemelerde, yaprak yaş ağırlık değerlerinin pikrotoksin uygulanan gruplarda kontrolden yüksek olduğu, gallik asit uygulanan gruplarda 0.5mM konsantrasyon uygulamasının 1. günü haricinde yüksek 1mM konsantrasyon uygulamasının 5. günü haricinde düşük olduğunu gördük. Yaprak kuru ağırlık değerlerinin 0.1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda kontrolden yüksek ve 1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda kontrolden düşük olduğu, gallik asit uygulanan gruplarda ise tüm gün değerlerinin kontrol değerinden düşük olduğunu gözlemledik. Köklerde incelenen yaş ağırlık değerlerinin, pikrotoksin uygulanan gruplarda 1.gün haricinde kontrolden yüksek, gallik asit uygulanan gruplarda 0.5mM konsantrasyondaki değerlerin kontrolden yüksek ve 1mM konsantrasyondaki değerlerin uygulamanın 1.günü haricinde kontrolden düşük olduğunu gördük. Kök kuru ağırlık değerlerinin 0.1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda uygulamanın 1.günü haricinde kontrolden yüksek olduğunu, 1µM konsantrasyondaki uygulamanın tüm günlerinde kontrolden yüksek olduğu ve 0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda kontrolden düşük ve 1mM konsantrasyonda uygulamanın 1.günü haricinde kontrolden düşük olduğunu tespit ettik.

Lipid peroksidasyonu, karbon-karbon çift bağı içeren lipidlerin oksidatif bozunması olarak açıklanmaktadır. Hem hayvanlarda hem de bitkilerde doku ve hücrelerdeki oksidatif hasarın bir göstergesi olarak bilinmektedir (El-Beltagi ve Mohamed,2013). Lipid peroksidasyon sürecinin bitkilerdeki temel nedeni biyotik ve abiyotik stres faktörleri olup bu faktörler bitkilerin hücresel yapılarına, özellikle hücre membran bütünlüklerine ciddi hasarlar verebilmektedir. Koç ve İşlek (2015), biberde (*Capsicum annuum* L.) yaptıkları bir çalışmada, kadmiyum (Cd) uygulaması sonrasında yaprak ve gövde dokularında lipid peroksidasyon miktarının arttığını bildirmişlerdir. Saidi ve ark.'nın (2021) ayçiçeğinde (*Helianthus annuus*) yaptığı bir çalışmada GA uygulamasının lipitleri Cd ile indüklenen oksidatif strese karşı koruma yeteneği sebebi ile, stres koşulları altında etkili bir membran stabilizörü olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda pikrootksin uygulaması yaptığımız gruplardaki lipid peroksidasyon miktarında kontrolle kıyaslandığında, genel olarak bir artış görülmektedir.

Pikrotoksin uygulamasının özellikle 7.gününde belirgin bir artış olması, zamanla oksidatif stresin birikerek, antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığı ve membran bütünlüğünde bozunmalar olabileceğini düşündürmektedir. Gallik asit uygulaması yapılan gruplarda, uygulamanın 1. ve 5.günlerinde lipid peroksidasyon seviyelerinin kontrolden düşük olduğu ve dolayısıyla hücrelerin oksidatif stresten korunmuşu görülmektedir. Ancak uygulamanın 7.gününde 1mM gallik asit uygulaması yapılan gruplarda lipid peroksidasyon miktarında bir artış gözlemlenmiştir. Bu durum yüksek dozdaki gallik asidin başlangıçta (uygulamanın 1.ve 5.günlerinde) antioksidan etki göstermiş olsa da zamanla bir oksidatif stresin birikmesine yol açabileceğini düşündürmektedir.

GABA miktarı, çevresel koşullara bağlı olarak değişim gösterebilir (Heli et al.,2022; Ramesh et al.,2017; Zhang et al,2024). Mekanik stres, kuraklık, tuzluluk, düşük ve yüksek sıcaklık gibi çeşitli abiyotik stres koşullarında GABA hızla dokularda birikir (Zhang et al.,2024). Palabıyık ve ark. (2024) kanolada (*Brassica napus* L.) yaptığı çalışmada, Flg-22 ile tetiklenmiş ETI bağışıklığı ve kuraklık stresi koşullarında, yapraklarda GABA miktarının arttığını bildirmiştir. Yadav ve ark.'larının (2018) farelerde in vivo olarak yaptığı bir çalışmada, ketamin ile indüklenmiş psikozda, GA asit kullanımının GABA aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir (Bhuia et al.,2023). Ramesh et al.(2022) yaptıkları bir çalışmada, buğday (*Triticum aestivum*) ALMT'lerindeki anyon ve GABA taşınım yollarını araştırmak için memeli GABA reseptörlerinde anyon akışının bir inhibitörü olan pikrotoksini kullanmıştır. Çalışmalarının sonucunda, pikrotoksinin anyon akışını engellediğini fakat GABA akışını engellemediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda antagonist modülatör molekül (pikrotoksin) uygulamasında, GABA miktarının 0.1µM konsantrasyonda örneklemenin 7. gününde, 1µM konsantrasyonda ise tüm örneklem günlerinde kontrol grubuna göre artış gösterdiğini; agonist modülatör molekül (gallik asit) uygulamasında ise tüm örneklem günlerinde kontrol grubundan düşük olduğunu gözlemledik.

GAD enzimi hayvanlarda, mikroorganizmalarda ve bitkilerde farklı tür ve yapılarda bulunur (Cui et al.,2020; Zhang et al.,2024). Glutamatın, GABA'ya çevrimini katalize eden sitosolik enzim olan GAD, GABA'nın biyosentezinde görev alır (Khan et al.,2021; Hasan et al.,2021).

Yaptığımız GAD enzim analizlerinde, pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda, genel olarak GAD miktarının kontrol grubuna göre artış gösterdiğini, gallik asit uygulaması yapılan gruplarda ise, tüm örnekleme günlerinde kontrol grubu değerlerinden düşük olduğunu gözlemledik. Çalışmamızda, glutamatın GABA'ya dönüşümünde anahtar enzim rolünü üstlenen GAD aktivitesinin azaldığı gruplarda GABA miktarlarının da azaldığını, buna karşılık GAD aktivitesinin arttığı gruplarda ise GABA miktarının arttığını kaydettik. Bu sonuçlar, modülatör uygulamasının GABA biyosentezini etkilediğini ve GAD aktivitesi ile GABA miktarının uyumlu olduğunu göstermektedir.

GABA-T enzimi, GABA ve pirüvattan SSA biyosentezini katalizleyen, piridoksal fosfat bağımlı transaminaz III ailesine dahil olan önemli bir GABA katabolizması enzimidir (Heli et al.,2022; Zhang et al.,2024). GABA katabolizmasında mitokondride yerleşim gösteren GABA-T enziminin yanı sıra, SSA'yı suksinata dönüştüren SSADH enzimi de görev almaktadır (Watanabe et al.,2002; Zhang et al.,2024). Çalışmamızda, pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda tüm örnekleme günlerinde GABA-T enzim aktivitesinin arttığını gördük. Bu durum bizlere pikrotoksinin bir stres faktörü olarak algıladığını ve GABA katabolizmanı teşvik ederek oluşan suksinatın TCA'ya katılımı yoluyla enerji üretimine katkı sağlayabileceğini düşündürmüştür. Gallik asit uyguladığımız gruplarda GABA-T enzim aktivitesi, 0.5mM konsantrasyonda yapılan uygulamanın 7.günü haricindeki tüm örnekleme günlerinde de artmıştır. Gallik asit uygulamasının da pikrotoksine benzer şekilde etki gösterdiğini ön görebiliriz. Bununla birlikte, SSADH enzim aktivitesi analizlerinde, pikrotoksin uygulaması yapılan gruplarda tüm örnekleme günlerinde SSADH aktivitesinin arttığını, gallik asit uygulanan gruplarda 0.5mM konsantrasyondaki uygulamanın 7.günü haricinde aktivitede artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar ele alındığında, SSADH enzim aktivitesinde artış görülen gruplarda, SSA'nın süksinate dönüşümünün hızlandığı ve bunun stres olarak algılanan koşullarda enerji metabolizmasına katkı sağlamak amaçlı olduğunu düşündürmektedir.

Yaptığımız transkriptomik çalışmalarda GABA yolu ile ilişkili *GAD2*, *GABA-T* (*POP2*), *SSADH* ve *GABA-P* (*BAT1*) genlerinin transkript profillerindeki değişimleri inceledik. Yapraklarda temel düzeydeki GAD enzimi miktarından sorumlu olan gen *GAD2* genidir. Bununla birlikte, bu genin farklı abiyotik stres koşullarında ve patojenden kaynaklanan GABA seviyelerindeki düzenleyici temel GAD geni olduğu genetik kanıtlar ile ortaya çıkartılmıştır (Deng et al.,2020). Yaptığımız incelenmelerde *GAD2* geninin transkript miktarının, 0.1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda 1., 6., 12. ve 24. saatlerde, 1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda 1., 3., 6. ve 24. saatlerde arttığını gözlemledik. 0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda örneklemenin tüm saatlerinde, 1mM gallik asit uygulanan gruplarda 1.ve 6. saatlerde arttığını gördük.

POP2 geni, *Arabidopsis thaliana*'da, mikropile doğru bir gradyan oluşumunu sağlayan ve GABA 'yı degrede edici olan, bir transaminazı kodlamaktadır (Palanivelu et al.2003). *POP2*'nin gen ürünü mitokondriyal peptid sinyaline sahip 55,2 kDa'luk bir polipeptid olup, piridoksal-5-fosfat bağlanma alanına sahiptir (Clark et al.,2009; Renault et al.,2010). Renault ve ark.'larının (2010) *Arabidopsis thaliana*'da yaptığı çalışmada, promotör-raportör gen teknolojisi kullanılarak *POP2* geninin fonksiyonu daha iyi anlamaya çalışılmıştır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda kontrol koşulları altında *POP2* nin esasen köklerde ifade olduğunu ve tuz stresine yanıt olarak da bitkinin toprak üstü kısımlarında ve primer kök uçlarında indüklendiğini bildirdiler. Gerçekleştirdiğimiz analizlerde, 0.1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda, örneklemenin 3. saati haricinde tüm örneklem saatlerinde transkript miktarının arttığı ve 6. saatte en yüksek değeri verdiğini gözlemledik. 1µM pikrotoksin uyguladığımız gruplarda 6. ve 24. saatlerde transkript miktarının arttığını gördük.0.5mM gallik asit uyguladığımız gruplarda 3. ,6. ve 24. saatlerde, 1mM galik asit uyguladığımız gruplarda, 6.ve 24. Saatlerde transkript miktarında artış gözlemledik.

SSADH, GABA yolunun son basamağında SSA'yı süksinata dönüştürmede görev alır ve pH 9'da optimum aktivitesini gösterir (Abdullah et al.,2024). Bouche ark. (2003) *Arabidopsis thaliana*'da yaptığı bçalışma *SSADH* geninin, çevresel stres koşullarını takiben bozunmasın, nekrotik hücre ölümleri ile sonuçlanabileceğini göstermiştir.

ssadh mutantlarının aynı zamanda,ısıya ve UV ışığa karşı duyarlı olduğu ve bu durumun hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarının arttırarak nekrozu indüklediği bildirilmiştir (Bouche et al.,2003;Carillo 2018;Abdullah et al.,2024).Yaptığımız incelemelerde *SSADH* geninin transkript miktarının, 0.1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda 3.,6. ve 24. Saatlerde ,1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda 6. ve 24. saatlerde artış gösterdiğini gördük. 0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda 3.,6. ve 24.saatlerde ve 1mM galik asit uygulanan gruplarda 1.,6. ve 24. saatlerde artış gösterdiğini gözlemledik.

Doğası gereğince *BAT1* geni çift yönlü mitokondriyal protein taşıyıcısıdır (Dündar ve Bush 2009; Abdullah et al.,2024). Yao ve ark. (2020) tarafından bazı amino asitleri de taşıdığı bildirilmiştir. Günümüze dek çeşitli tarımsal bitkilerde yapılan çalışmalarda yedi tane *BAT* geni olduğu bildirilmiş olup, gen üzerinde yapılan detaylı analizler yalnızca *Arabidopsis thaliana* 'da gerçekleştirilmiştir (Tian et al.,2020; Abdullah et al.,2024). Arginin, glutamat ve lizin için yüksek oranda taşıma aktivitesi gösteren fakat GABA'nın taşınımı gerçekleştiremeyen *BAT1*, AtBAT1 tarafından kodlanır (Bush 1993; Abdullah et al.,2024). Fakat Michaeli tarafından yapılan çalışmada AtBAT1 'in bir varyantı olan AtGABP 'nin GABA'nın taşınımı gerçekleştirebildiği ortaya konulmuştur (Abdullah et al.,2024).Yaptığımız incelemelerde *BAT1* geninin transkript miktarının 0.1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda 3.,6. ve 24.saatlerde, 1µM pikrotoksin uygulanan gruplarda 6. ve 24.saatte artış göstermiştir.0.5mM gallik asit uygulanan gruplarda 3.,6. ve 24.saatlerde ve 1mM gallik asit uygulanan gruplarda 1.,6. ve 24.saatlerde artış gözlemledik.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitkilerde abiyotik ve biyotik stres koşulları altında GABA miktarı hızlı bir şekilde yükselir. Çeşitli çevresel streslere karşı savunma yanıtı geliştirilmesinde GABA oldukça önemli bir görev üstlenir (Xu et al., 2021; Islam et al., 2024). GABA reseptörleri GABA seviyelerini düzenlemede etkin bir göreve sahiptir. Memelilerde yapılan çalışmalarda GABA reseptörlerinin modülatör moleküller ile aktivasyonu ve inhibisyonu sonucunda GABA seviyelerinin düzenlenebileceği gösterilmiştir. Bitkilerde ise memelilerdeki GABA reseptörlerinin birebir benzerleri keşfedilmemiş ve modülatör moleküllerin GABA yolu üzerinde düzenleme süreciyle ilişkili çalışması yapılmamıştır.

Yaptığımız çalışma sonucunda *Brassica napus* L. bitkisine uyguladığımız modülatör moleküllerden özellikle antagonist etkiye sahip pikrotoksin molekülünün bitkide olası bir stres faktörü gibi algılanarak, GABA yolu enzimlerinde ve gen transkript miktarlarında değişimlere yol açtığını düşünmekteyiz. Çalışmamızın bitkilerdeki GABA reseptörlerinin davranışlarını anlama ve tanımlamada, gelecek çalışmalara ışık tutacağını, bununla birlikte, GABA'nın sinyal molekülü olarak rolü hakkında literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Bununla birlikte, tez projemiz bitkilerde pikrotoksin ve gallik asit modülatör moleküllerinin GABA-yolunun tamamı ile nasıl etkileşime girdiğini gösteren ilk çalışma niteliğindedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdullah, Wani, K. I., Naeem, M., & Aftab, T. (2024).** From Neurotransmitter to Plant Protector: The Intricate World of GABA Signaling and its Diverse Functions in Stress Mitigation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-16.
- Ahmad S, Fariduddin Q.,2024,** "Deciphering the enigmatic role of gamma-aminobutyric acid (GABA) in plants: Synthesis, transport, regulation, signaling, and biological roles in interaction with growth regulators and abiotic stresses.". *Plant Physiol Biochem.* 2024 Mar; 208:108502. PMID: 38492486.
- Akçay N, Bor M, Karabudak T, Özdemir F, Türkan İ (2012)** Contribution of gamma amino butyric acid (GABA) to salt stress responses of *Nicotiana sylvestris* CMSII mutant and wild type plants. *J Plant Physiol* 169:452–458
- Aktories, K.; Foerstermann, U.; Hofmann, F.B.; Starke, K. (2005)** Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 9th ed.; Elsevier GmbH: Munich, Germany ; pp. 136–137.
- Aliniaiefard S, Hajilou J, Tabatabaei SJ, Sifi kalhor M (2016)** Effects of ascorbic acid and reduced glutathione on the alleviation of salinity stress in olive plants. *Int J Fruit Sci* 16:395–409
- Andreasson, C.; Ott, M.; Buttner, S.** Mitochondria orchestrate proteostatic and metabolic stress responses. *EMBO Rep.* 2019, 20, e47865.
- Babaei, M., Shabani, L., & Hashemi-Shahraki, S. (2022).** Improving the effects of salt stress by β -carotene and gallic acid using increasing antioxidant activity and regulating ion uptake in *Lepidium sativum* L. *Botanical Studies*, 63(1), 22.
- Babaei, M., Shabani, L., & Hashemi-Shahraki, S. (2022).** Improving the effects of salt stress by β -carotene and gallic acid using increasing antioxidant activity and regulating ion uptake in *Lepidium sativum* L. *Botanical Studies*, 63(1), 22.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Bailey-Serres, J., Parker, J. E., Ainsworth, E. A., Oldroyd, G. E. D. & Schroeder, J. I. (2019)** Genetic strategies for improving crop yields. *Nature* 575, 109–118 (2019).
- Bao H, Chen X, Lv S, Jiang P, Feng J, Fan P, Nie L, Li Y.,2015,** Virus- induced gene silencing reveals control of reactive oxygen species accumulation and salt tolerance in tomato by γ -aminobutyric acid metabolic pathway. *Plant Cell Environ.* 2015; 38:600–613.
- Bao, A., Zhao, Z., Ding, G., Shi, L., Xu, F., Cai, H., 2015.** The stable level of glutamine synthetase 2 plays an important role in rice growth and in carbon-nitrogen metabolic balance. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 12713–12736.
- Bartyzel, I., Pelczar, K., & Paszkowski, A. (2003).** Functioning of the γ -aminobutyrate pathway in wheat seedlings affected by osmotic stress. *Biologia plantarum*, 47, 221-225.
- Baum, G. et al. (1993)** A plant glutamate decarboxylase containing a calmodulin binding domain. Cloning, sequence, and functional analysis. *J. Biol. Chem.* 268, 19610–19617
- Baum, G., Lev-Yadun, S., Fridmann, Y., Arazi, T., Katsnelson, H., Zik, M., & Fromm, H. (1996).** Calmodulin binding to glutamate decarboxylase is required for regulation of glutamate and GABA metabolism and normal development in plants. *The EMBO Journal*, 15(12), 2988-2996.
- Bhattacharya S, Khatri A, Swanger SA et al (2018)** Triheteromeric GluN1/GluN2A/GluN2C NMDARs with unique single-channel properties are the dominant receptor population in cerebellar granule cells. *Neuron* 99:315–328.
- Bhuia, M. S., Rahaman, M. M., Islam, T., Bappi, M. H., Sikder, M. I., Hossain, K. N., ... & Sharifi-Rad, J. (2023).** Neurobiological effects of gallic acid: Current perspectives. *Chinese Medicine*, 18(1), 27.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Bhuia, M. S., Rahaman, M. M., Islam, T., Bappi, M. H., Sikder, M. I., Hossain, K. N., ... & Sharifi-Rad, J. (2023).** Neurobiological effects of gallic acid: Current perspectives. *Chinese Medicine*, 18(1), 27.
- Bor M & Turkan I (2019),** Is there a room for GABA in ROS and RNS signalling?. *Environmental and Experimental Botany*. 161. 67-73. 10.1016/j.envexpbot.2019.02.015.
- Bor M, Seckin B, Ozgur R, Yilmaz O, Ozdemir F, Turkan I (2009)** Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Acta Physiol Plant* 31:655–659
- Bor, M., Seckin, B., Ozgur, R., Yilmaz, O., Ozdemir, F., & Turkan, I. (2009).** Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 655-659.
- Bor, M., Seckin, B., Ozgur, R., Yilmaz, O., Ozdemir, F., Turkan, I., 2009.** Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Acta Physiol. Plant.* 31, 655–659.
- Bouché N, Fromm H. 2004** GABA in plants: just a metabolite? *Trends Plant Sci.* 2004 Mar;9(3):110-5. PMID: 15003233.
- Bouche, N., & Fromm, H. (2004).** GABA in plants: just a metabolite?. *Trends in plant science*, 9(3), 110-115.
- Bouché, N., Fait, A., Bouchez, D., Möller, S. G., & Fromm, H. (2003).** Mitochondrial succinic-semialdehyde dehydrogenase of the γ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6843-6848.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

Bouché, N., Fait, A., Bouchez, D., Møller, S. G., & Fromm, H. (2003).

Mitochondrial succinic-semialdehyde dehydrogenase of the γ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6843-6848.

Bouché, N., Fait, A., Bouchez, D., Møller, S. G., & Fromm, H. (2003).

Mitochondrial succinic-semialdehyde dehydrogenase of the γ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6843-6848.

Bouché, N., Lacombe, B., & Fromm, H. (2003). GABA signaling: a conserved and ubiquitous mechanism. *Trends in cell biology*, 13(12), 607-610.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Breitkreuz, K.E., Shelp, B.J., Fischer, W.N., Schwacke, R., Rentsch, D., 1999.

Identification and characterization of GABA, proline and quaternary ammonium compound transporters from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 450, 280–284.

Bush DR (1993) Inhibitors of the proton-sucrose symport. *Arch Bio chem Biophys* 307(2):355–360

Cao, Z.; Chen, H.; Zhou, C.; Gong, M.; Li, Y.; Shao, Y.; Wu, Y.; Bao, D. 2024

Exogenous-Aminobutyric Acid (GABA) Enhanced Response to Abiotic Stress in *Hypsizygus marmoreus* by Improving Mycelial Growth and Antioxidant Capacity. *Metabolites* 2024, 14, 94.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Carillo, P. (2018).** GABA shunt in durum wheat. *Frontiers in plant science*, 9, 100.
- Carpenter, T. S., Lau, E. Y., & Lightstone, F. C. (2013).** Identification of a possible secondary picrotoxin-binding site on the GABAA receptor. *Chemical research in toxicology*, 26(10), 1444-1454.
- Carroll, Andrew D., Fox, Gary G., Laurie, Sophie, Phillips, Richard, Ratcliffe, R. George, Stewart, George R., 1994.** Ammonium assimilation and the role of [gamma]- aminobutyric acid in pH homeostasis in carrot cell suspensions. *Plant Physiol* 106, 513–520.
- Chaturvedi SK, Mishra DK, Vyas P et al (2009)** Breeding for cold tolerance in chickpea. *Trends Biosci* 2:1–6
- Chen W, Meng C, Ji J, Li M-H, Zhang X, Wu Y, Xie T, Du C, Sun J, Jiang Z, et al. 2020** Exogenous GABA promotes adaptation and growth by altering the carbon and nitrogen metabolic flux in poplar seed lings under low nitrogen conditions. *Tree Physiol.* 2020;40:1744- 1761.
- Chevrot R, Rosen R, Haudecoeur E, Cirou A, Shelp BJ, Ron E, Faure D (2006)** GABA controls the level of quorum-sensing signal in *Agrobacterium tumefaciens*. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(19):7460–7464.
- Clark, S. M., Di Leo, R., Dhanoa, P. K., Van Cauwenberghe, O. R., Mullen, R. T., & Shelp, B. J. (2009).** Biochemical characterization, mitochondrial localization, expression, and potential functions for an *Arabidopsis* γ -aminobutyrate transaminase that utilizes both pyruvate and glyoxylate. *Journal of experimental botany*, 60(6), 1743-1757.
- Clark, S.M.; Di Leo, R.; Dhanoa, P.K.; Van Cauwenberghe, O.R.; Mullen, R.T.; Shelp, B.J. 2009,** Biochemical characterization, mitochondrial localization, expression, and potential functions for an *Arabidopsis*-aminobutyrate transaminase that utilizes both pyruvate and glyoxylate. *J. Exp. Bot.* 2009, 60, 1743.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Clark, S.M.; Di Leo, R.; Van Cauwenberghe, O.R.; Mullen, R.T.; Shelp, B.J. 2009,** Subcellular localization and expression of multiple tomato gamma-aminobutyrate transaminases that utilize both pyruvate and glyoxylate. *J. Exp. Bot.* 2009, 60, 3255–3267.
- Coleman, S.T. et al. (2001)** Expression of a glutamate decarboxylase homologue is required for normal oxidative stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 276, 244–250
- Cui Y, Miao K, Niyaphorn S, Qu X. 2020.** Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: a systematic review. *International Journal of Molecular Sciences* 21(3):995
- Çiçek, S. S. (2018).** Structure-dependent activity of natural GABA (A) receptor modulators. *Molecules*, 23(7), 1512.
- Dahiya, D.; Manuel, J.V.; Nigam, P.S. 2021,** An Overview of Bioprocesses Employing Specifically Selected Microbial Catalysts for γ -Aminobutyric Acid Production. *Microorganisms* 2021, 9,2457
- Deng, X., Xu, X., Liu, Y., Zhang, Y., Yang, L., Zhang, S., & Xu, J. (2020).** Induction of γ -aminobutyric acid plays a positive role to Arabidopsis resistance against *Pseudomonas syringae*. *Journal of integrative plant biology*, 62(11), 1797-1812.
- Dimlioğlu, G., Daş, Z. A., Bor, M., Özdemir, F., & Türkan, İ. (2015).** The impact of GABA in harpin-elicited biotic stress responses in *Nicotiana tabaccum*. *Journal of plant physiology*, 188, 51-57.
- Ding, Y., Shi, Y., & Yang, S. (2019).** Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants. *New Phytologist*, 222(4), 1690-1704.
- Doğru, A. (2020).** Kolza bitkisine (*Brassica napus* L.) genel bir bakış. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 2(2), 31-37.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Dubey, S., Misra, P., Dwivedi, S., Chatterjee, S., Bag, S. K., Mantri, S., ... & Tuli, R. (2010).** Transcriptomic and metabolomic shifts in rice roots in response to Cr (VI) stress. *BMC genomics*, 11, 1-19..
- Dubos, C., Huggins, D., Grant, G. H., Knight, M. R., & Campbell, M. M. (2003).** A role for glycine in the gating of plant NMDA-like receptors. *The Plant Journal*, 35(6), 800-810.
- Dündar E, Bush DR (2009)** BAT1, a bidirectional amino acid trans porter in Arabidopsis. *Planta* 229:1047–1056
- Egiarte, G., Pinto, M., Ruíz-Romera, E., & Arbestain, M. C. (2008).** Monitoring heavy metal concentrations in leachates from a forest soil subjected to repeated applications of sewage sludge. *Environmental pollution*, 156(3), 840-848.
- El-Beltagi, H. S., & Mohamed, H. I. (2013).** Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 44–57.
- Enna, S.J. (2007).** The GABA Receptors. In: Enna, S.J., Möhler, H. (eds) *The GABA Receptors. The Receptors*. Humana Press
- Facchini PJ, Huber-Allanach KL, Tari LW. (2000).** Plant aromatic L-amino acid decarboxylases: evolution, biochemistry, regulation, and metabolic engineering applications. *Phytochemistry* 54, 121–138.
- Fait, A., Yellin, A., & Fromm, H. (2005).** GABA shunt deficiencies and accumulation of reactive oxygen intermediates: insight from Arabidopsis mutants. *FEBS letters*, 579(2), 415-420.
- Fang, S.; Hou, X.; Liang, X., 2021,** Response Mechanisms of Plants Under Saline-Alkali Stress. *Front. Plant Sci.* 12, 667458.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Farghaly, F. A., Salam, H. K., Hamada, A. M., & Radi, A. A. (2021).** The role of benzoic acid, gallic acid and salicylic acid in protecting tomato callus cells from excessive boron stress. *Scientia Horticulturae*, 278, 109867.
- Farooq, M.; Wahid, A.; Lee, D.-J .2009** ,Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiol. Plant.* 2009, 31, 937–945. [CrossRef] 104.
- Fischer, E. (1914).** Synthesis of depsides, lichen-substances and tannins. *Journal of the American Chemical Society*, 36(6), 1170-1201.
- Fougere F, Le Rudulier D, Streeter JG (1991)** Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol* 96:1228–1236
- Frezzini, M., Guidoni, L., & Pascarella, S. (2019).** Conformational transitions induced by γ -amino butyrate binding in GabR, a bacterial transcriptional regulator. *Scientific Reports*, 9(1), 19319.
- Fromm H. 2020,** GABA signaling in plants: targeting the missing pieces of the puzzle. *J Exp Bot.* Oct 22;71(20):6238-6245. PMID: 32761202.
- Fromm H. 2020.** GABA signaling in plants: targeting the missing pieces of the puzzle. *Journal of Experimental Botany* 71(20):6238–6245
- Fromm, H. (2020).** GABA signaling in plants: targeting the missing pieces of the puzzle. *Journal of experimental botany*, 71(20), 6238-6245.
- Geilfus, C.M. 2017,** The pH of the Apoplast: Dynamic Factor with Functional Impact Under Stress. *Mol. Plant* 2017, 10, 1371–1386.
- Gilliham, M., & Tyerman, S. D. (2016).** Linking metabolism to membrane signaling: the GABA–malate connection. *Trends in plant science*, 21(4), 295-301.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Gleason, C., Huang, S., Thatcher, L.F., Foley, R.C., Anderson, C.R., Carroll, A.J., Millar, A.H., Singh, K.B., 2011.** Mitochondrial complex II has a key role in mitochondrial derived reactive oxygen species influence on plant stress gene regulation and defense. *PNAS* 108, 10768–10773.
- González, C. I., Maine, M. A., Cazenave, J., Hadad, H. R., & Benavides, M. P. (2015)** Ni accumulation and its effects on physiological and biochemical parameters of *Eichhornia crassipes*. *Environmental and Experimental Botany*, 117, 20-27.
- González-Abuín, N., Martínez-Micaelo, N., Margalef, M., Blay, M., Arola-Arnal, A., Muguerza, B., ... & Pinent, M. (2014).** A grape seed extract increases active glucagon-like peptide-1 levels after an oral glucose load in rats. *Food & function*, 5(9), 2357-2364.
- Goupil, P., Benouaret, R., and Richard, C. (2017).** Ethyl gallate displays elicitor activities in tobacco plants. *J. Agric. Food Chem.* 65, 9006–9012.
- Gramazio, P.; Takayama, M.; Ezura, H. 2020.** Challenges and Prospects of New Plant Breeding Techniques for GABA Improvement in Crops: Tomato as an Example. *Front. Plant Sci.* 2020, 11, 577980.
- Guo, Z.; Gong, J.; Luo, S.; Zuo, Y.; Shen, Y 2023,** Role of Gamma-Aminobutyric Acid in Plant Defense Response. *Metabolites* 2023, 13, 741.
- Guo,Y.; Chen, H.; Song, Y.; Gu, Z. 2011,** Effects of soaking and aeration treatment on-aminobutyric acid accumulation in germinated soybean (*Glycine max* L.). *Eur. Food Res. Technol.* 2011, 232, 787–795.
- Hadidi, M., Liñán-Atero, R., Tarahi, M., Christodoulou, M. C., & Aghababaei, F. (2024).** The potential health benefits of gallic acid: Therapeutic and food applications. *Antioxidants*, 13(8), 1001.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

Hadidi, M., Liñán-Atero, R., Tarahi, M., Christodoulou, M. C., & Aghababaei, F. (2024). The potential health benefits of gallic acid: Therapeutic and food applications. *Antioxidants*, 13(8), 1001.

Hasan, M.M.; Alabdallah, N.M.; Alharbi, B.M.; Waseem, M.; Yao, G.; Liu, X.-D.; Abd El-Gawad, H.G.; El-Yazied, A.A.; Ibrahim, M.F.M.; Jahan, M.S.; et al. 2021, GABA: A Key Player in Drought Stress Resistance in Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 10136.

Hasanuzzaman, M.; Bhuyan, M.; Zulfikar, F.; Raza, A.; Mohsin, S.M.; Mahmud, J.A.; Fujita, M.; Fotopoulos, V. 2020, Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidans* 2020, 9, 681.

Hayat, F., Khan, U., Li, J., Ahmed, N., Khanum, F., Iqbal, S., ... & Shahid, M. A. (2023). γ Aminobutyric acid (GABA): a key player in alleviating abiotic stress resistance in horticultural crops: current insights and future directions. *Horticulturae*, 9(6), 647.

Hayat, F.; Khan, U.; Li, J.; Ahmed, N.; Khanum, F.; Iqbal, S.; Altaf, M.A.; Ahmad, J.; Javed, H.U.; Peng, Y.; et al. (2023), Aminobutyric Acid (GABA): A KeyPlayer in Alleviating Abiotic Stress Resistance in Horticultural Crops: Current Insights and Future Directions. *Horticulturae* 2023, 9, 647.

Heli Z, Hongyu C, Dapeng B, Yee Shin T, Yejun Z, Xi Z, Yingying W. 2022. Recent advances of gamma-aminobutyric acid: physiological and immunity function, enrichment, and metabolic pathway. *Frontiers in Nutrition* 9:1076223

Hellmann, H., Funck, D., Rentsch, D., Frommer, W.B., 2000. Hypersensitivity of an Arabidopsis sugar signaling mutant toward exogenous proline application. *Plant Physiol* 122, 357–368.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Hernández-Caballero, M. E., Sierra-Ramírez, J. A., Villalobos-Valencia, R., & Seseña-Méndez, E. (2022).** Potential of *Kalanchoe pinnata* as a cancer treatment adjuvant and an epigenetic regulator. *Molecules*, 27(19), 6425.
- Hossain, M. A., Ngo, H. H., Guo, W. S., & Setiadi, T. (2012).** Adsorption and desorption of copper (II) ions onto garden grass. *Bioresource technology*, 121, 386-395.
- Hsu, J. D., Kao, S. H., Ou, T. T., Chen, Y. J., Li, Y. J., & Wang, C. J. (2011).** Gallic acid induces G2/M phase arrest of breast cancer cell MCF-7 through stabilization of p27Kip1 attributed to disruption of p27Kip1/Skp2 complex. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(5), 1996-2003.
- Imran, Q. M., Falak, N., Hussain, A., Mun, B. G., & Yun, B. W. (2021).** Abiotic stress in plants; stress perception to molecular response and role of biotechnological tools in stress resistance. *Agronomy*, 11(8), 1579.
- Islam SNU, Kouser S, Hassan P, Asgher M, Shah AA, Khan NA. (2020)** Gamma-aminobutyric acid interactions with phytohormones and its role in modulating abiotic and biotic stress in plants. *Stress Biol.* 2024 Aug 19;4(1):36.. PMID: 39158750; PMCID: PMC11333426.
- Jacob, T. C., Moss, S. J., & Jurd, R. (2008).** GABAA receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(5), 331-343.
- Jalil, S. U., Ahmad, I., & Ansari, M. I. (2017).** Functional loss of GABA transaminase (GABA-T) expressed early leaf senescence under various stress conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Current Plant Biology*, 9, 11-22.
- Ji, J., Shi, Z., Xie, T., Zhang, X., Chen, W., Du, C., ... & Shi, S. (2020).** Responses of GABA shunt coupled with carbon and nitrogen metabolism in poplar under NaCl and CdCl₂ stresses. *Ecotoxicology and environmental safety*, 193, 110322.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Johnston, G. A. (2005).** GABAA receptor channel pharmacology. *Current pharmaceutical design*, 11(15), 1867-1885.
- Jones, P. D., New, M., Parker, D. E., Martin, S., & Rigor, I. G. (1999).** Surface air temperature and its changes over the past 150 years. *Reviews of Geophysics*, 37(2), 173-199.
- Kang, J. and Turano, F.J. (2003)** The putative glutamate receptor 1.1 (AtGLR1.1) functions as a regulator of carbon and nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 6872–6877
- Karas, D., Ulrichová, J., & Valentová, K. (2017).** Galloylation of polyphenols alters their biological activity. *Food and Chemical Toxicology*, 105, 223-240.
- Kerr, D. I., & Ong, J. (1992).** GABA agonists and antagonists. *Medicinal research reviews*, 12(6), 593-636.
- Kesten, C.; Gamez-Arjona, F.M.; Menna, A.; Scholl, S.; Dora, S.; Huerta, A.I.; Huang, H.Y.; Tintor, N.; Kinoshita, T.; Rep, M.; et al. 2019** Pathogen-induced pH changes regulate the growth-defense balance in plants. *EMBO J.* 2019, 38, e101822.
- Khan M.I.R, Jalil S.U, Chopra P, Chhillar H., Ferrante A, Nafees , Khan N.A, Ansari M.I, 2021,** Role of GABA in plant growth, development and senescence, *Plant Gene*, Volume 26, 2021,100283,ISSN 2352-4073,
- Kim, J. J., & Hibbs, R. E. (2021).** Direct structural insights into GABAA receptor pharmacology. *Trends in biochemical sciences*, 46(6), 502-517.
- Kinnersley, A. M., & Turano, F. J. (2000).** Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(6), 479-509.
- Kinnersley, A.M. and Lin, F. (2000)** Receptor modifiers indicate that 4-aminobutyric acid (GABA) is a potential modulator of ion transport in plants. *Plant Growth Regul.* 32, 65–76

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Koç, E., & İşlek, C. (2015).** Kadmiyumun biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerinde fenilalanin amonyum liyaz aktivitesi ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi.
- Krasensky J, Jonak C (2012)** Drought, salt, and temperature stress induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *J Exp Bot* 63:1593–1608
- Krause GH., & Weis E., (1991).** Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Biol*, 42: 313-349.
- Li J, Chen L, Guo F, Han X. 2020.** The effects of GABAergic system under cerebral ischemia: spotlight on cognitive function. *Neural Plasticity* 2020:8856722
- Li L, Dou N, Zhang H, Wu C.2021** , The versatile GABA in plants. *Plant Signal Behav.* 2021 Mar 4;16(3):1862565. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33404284; PMCID: PMC7889023.
- Li M, Guo S, Yang X, Meng Q, Wei X (2016)** Exogenous gamma aminobutyric acid increases salt tolerance of wheat by improving photosynthesis and enhancing activities of antioxidant enzymes. *Biol Plant* 60:123–131
- Li, L., Dou, N., Zhang, H., & Wu, C. (2021).** The versatile GABA in plants. *Plant signaling & behavior*, 16(3), 1862565.
- Li, Y., Li, Y., Cui, Y., Xie, Y., Shi, Y., Shang, Y., ... & Li, C. (2022).** GABA-mediated inhibition of cadmium uptake and accumulation in apples. *Environmental Pollution*, 300, 118867.
- Li, Y.; Li, Y.; Cui, Y.; Xie, Y.; Shi, Y.; Shang, Y.; Ma, F.; Zhang, J.; Li, C. 2022,** GABA-Mediated Inhibition of Cadmium Uptake and Accumulation in Apples. *SSRN Electron. J.* 2022, 300, 118867.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Li, Z., Yu, J., Peng, Y., & Huang, B. (2016).** Metabolic pathways regulated by γ -aminobutyric acid (GABA) contributing to heat tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Scientific reports*, 6(1), 30338.
- Liang, C. Z., Zhang, X., Li, H., Tao, Y. Q., Tao, L. J., Yang, Z. R., ... & Tao, H. M. (2012).** Gallic acid induces the apoptosis of human osteosarcoma cells in vitro and in vivo via the regulation of mitogen-activated protein kinase pathways. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 27(10), 701-710.
- Liu C, Wang H, Zhang X, Ma F, Guo T, Li C. 2021,** Activation of the ABA Signal Pathway Mediated by GABA Improves the Drought Resistance of Apple Seedlings. *Int J Mol Sci.* 2021 Nov 24;22(23):12676. PMID: 34884481; PMCID: PMC8657939.
- Liu, C.; Wang, H.; Zhang, X.; Ma, F.; Guo, T.; Li, C. 2021,** Activation of the ABA Signal Pathway Mediated by GABA Improves the Drought Resistance of Apple Seedlings. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 12676.
- Lynch, J. W., Rajendra, S., Barry, P. H., & Schofield, P. R. (1995).** Mutations Affecting the Glycine Receptor Agonist Transduction Mechanism Convert the Competitive Antagonist, Picrotoxin, into an Allosteric Potentiator*. *Journal of Biological Chemistry*, 270(23), 13799-13806.
- Madhava Rao, K.V. and Sresty, T.V.S., 2000,** Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cajanus cajan L. Millspaugh*) in response to Zn and Ni stresses, *Plant Sci.*, 157, 113-128 pp.
- Malabarba, J.; Reichelt, M.; Pasquali, G.; Mithöfer, A. 2019,** Tendril Coiling in Grapevine: Jasmonates and a New Role for GABA? *J. Plant Growth Regul.* 2019, 38, 39–45.
- Malekzadeh P, Khara J, Heidari R (2012)** Effect of exogenous Gamma aminobutyric acid on physiological tolerance of wheat seedlings exposed to chilling stress. *Iran J Plant Physiol* 3:1

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Malekzadeh, P., Khara, J., & Heydari, R. (2014).** Alleviating effects of exogenous Gamma-aminobutyric acid on tomato seedling under chilling stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20, 133-137.
- Marvin, J. S., Shimoda, Y., Magloire, V., Leite, M., Kawashima, T., Jensen, T. P., ... & Looger, L. L. (2019).** A genetically encoded fluorescent sensor for in vivo imaging of GABA. *Nature methods*, 16(8), 763-770.
- Maurya, D. K., Nandakumar, N., & Devasagayam, T. P. A. (2010).** Anticancer property of gallic acid in A549, a human lung adenocarcinoma cell line, and possible mechanisms. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 48(1), 85-90.
- Mazzucotelli E, Tartari A, Cattivelli L, Forlani G (2006)** Metabolism of γ -aminobutyric acid during cold acclimation and freezing and its relationship to frost tolerance in barley and wheat. *J Exp Bot* 57(14):3755–3766
- Mekonnen, D. W., Flügge, U. I., & Ludewig, F. (2016).** Gamma-aminobutyric acid depletion affects stomata closure and drought tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 245, 25-34.
- Meng, Y., 2023.** The Role of GABA in Plant Salinity and Hypoxia Responses. Doctoral dissertation, University of Adelaide, South Australia.
- Michaeli S and Fromm H (2015)** Closing the loop on the GABA shunt in plants: are GABA metabolism and signaling entwined? *Front. Plant Sci.* 6:419.
- Milon RB, Hu P, Zhang X, Hu X, Ren L. 2024,** Recent advances in the biosynthesis and industrial biotechnology of Gamma-amino butyric acid. *Bioresour Bioprocess.* 2024 Mar 16;11(1):32..PMID: 38647854; PMCID: PMC10992975
- Mirzaei, S.; Moradi, S.; Karimi, M.; Esmaeili, S.; Gruda, N.S.; Aliniaiefard, S. 2024,** Gamma-Aminobutyric Acid-Mediated Alkalinity Stress Alleviation in Lollo Rosso Lettuce under Diverse Light Spectra. *Agronomy* 14, 313.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Mittler, R., 2017.** ROS are good. *Trend. Plant Sci.* 22 (1), 11–19.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V.B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., Van Breusegem, F., 2011.** ROS signaling: the new wave? *Trend. Plant Sci.* 16, 300–309.
- Miyashita, Y., & Good, A. G. (2008).** NAD (H)-dependent glutamate dehydrogenase is essential for the survival of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced carbon starvation. *Journal of Experimental Botany*, 59(3), 667-680.
- Nahar, S.; Kalita, J.; Sahoo, L.; Tanti, B. 2016,** Morphophysiological and Molecular Effects of Drought Stress in Rice. *Ann. Plant Sci.* 2016, 5, 1409.
- Nayyar H, Kaur R, Kaur S, Singh R (2014)** γ -Aminobutyric acid (GABA) imparts partial protection from heat stress injury to rice seedlings by improving leaf turgor and upregulating osmo protectants and antioxidants. *J Plant Growth Regul* 33:408–419
- Oketch-Rabah, H. A., Madden, E. F., Roe, A. L., & Betz, J. M. (2021).** United States Pharmacopeia (USP) safety review of gamma-aminobutyric acid (GABA). *Nutrients*, 13(8), 2742.
- Olsen, R. W. (2006).** Picrotoxin-like channel blockers of GABAA receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(16), 6081-6082.
- Ou, T. T., Wang, C. J., Lee, Y. S., Wu, C. H., & Lee, H. J. (2010).** Gallic acid induces G2/M phase cell cycle arrest via regulating 14-3-3 β release from Cdc25C and Chk2 activation in human bladder transitional carcinoma cells. *Molecular nutrition & food research*, 54(12), 1781-1790.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Ozfidan-Konakci, C., & Kabakci, M. (2020).** The impacts of gallic acid on redox state of antioxidants related to ascorbate–glutathione cycle in wheat (*Triticum aestivum*) grown under cadmium toxicity. *Agricultural Research*, 9(4), 543-553.
- Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Yildiztugay, A., & Kucukoduk, M. (2019).** Cold stress in soybean (*Glycine max* L.) roots: exogenous gallic acid promotes water status and increases antioxidant activities. *Botanica Serbica*, 43(1), 59-71.
- Palabıyık, Ş., Çetinkaya, İ., Öztürk, T. A., & Bor, M. (2024).** Flagellin Induced GABA-shunt improves Drought stress tolerance in *Brassica napus* L. *BMC Plant Biology*, 24(1), 864.
- Palanivelu R, Brass L, Edlund AF, Preuss D (2003)** Pollen tube growth and guidance is regulated by POP2, an Arabidopsis gene that controls GABA levels. *Cell* 114(1):47–59
- Palanivelu, R., Brass, L., Edlund, A. F., & Preuss, D. (2003).** Pollen tube growth and guidance is regulated by POP2, an Arabidopsis gene that controls GABA levels. *Cell*, 114(1), 47-59.
- Papanatsiou, M.; Petersen, J.; Henderson, L.; Wang, Y.; Christie, J.M.; Blatt, M.R. 2019,** Optogenetic manipulation of stomatal kinetics improves carbon assimilation, water use, and growth. *Science* 2019, 363, 1456–1459.
- Pittman, J.K. 2012,** Multiple Transport Pathways for Mediating Intracellular pH Homeostasis: The Contribution of H⁺/ion Exchangers. *Front. Plant Sci.* 2012, 3, 11.
- Pottosin, I.; Velarde-Buendía, A.M.; Bose, J.; Zepeda-Jazo, I.; Shabala, S.; Dobrovinskaya, O. 2024,** Cross-talk between reactive oxygen species and polyamines in regulation of ion transport across the plasma membrane: Implications for plant adaptive responses. *J. Exp. Bot.* 2014, 2014, 1271–1283.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Priya, M., Sharma, L., Kaur, R., Bindumadhava, H., Nair, R.M., Siddique, K.H.M., Nayyar, H., 2019.** GABA (γ -aminobutyric acid), as a thermo-protectant, to improve the reproductive function of heat-stressed mungbean plants. *Sci. Rep.* 9, 7788.
- Rai, P. K. (2019).** Heavy metals/metalloids remediation from wastewater using free floating macrophytes of a natural wetland. *Environmental Technology & Innovation*, 15, 100393.
- Ramesh SA, Tyerman SD, Gilliam M, Xu B. 2017.** Gamma-aminobutyric acid (GABA) signalling in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 74(9):1577–1603
- Ramesh, S. A., Long, Y., Dashtbani-Roozbehani, A., Gilliam, M., Brown, M. H., & Tyerman, S. D. (2022).** Picrotoxin Delineates Different Transport Configurations for Malate and γ Aminobutyric Acid through TaALMT1. *Biology*, 11(8), 1162.
- Ramesh, S. A., Long, Y., Dashtbani-Roozbehani, A., Gilliam, M., Brown, M. H., & Tyerman, S. D. (2022).** Picrotoxin Delineates Different Transport Configurations for Malate and γ Aminobutyric Acid through TaALMT1. *Biology*, 11(8), 1162.
- Ramesh, S. A., Tyerman, S. D., Gilliam, M., & Xu, B. (2017).** γ -Aminobutyric acid (GABA) signalling in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74, 1577-1603.
- Ramesh, S. A., Tyerman, S. D., Xu, B., Bose, J., Kaur, S., Conn, V., ... & Gilliam, M. (2015).** GABA signalling modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters. *Nature communications*, 6(1), 7879.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Ramesh, S.A.; Tyerman, S.D.; Xu, B.; Bose, J.; Kaur, S.; Conn, V.; Domingos, P.; Ullah, S.; Wege, S.; Shabala, S.; et al. Corrigendum 2015,** GABA signalling modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters. *Nat. Commun.* 2015, 6, 8293.
- Rashmi, D., Zanan, R., John, S., Khandagale, K., Nadaf, A., 2018.** γ -aminobutyric acid (GABA): biosynthesis, role, commercial production, and applications. *Stud. Nat. Prod. Chem.* 57, 413–452.
- Renault, H., Roussel, V., El Amrani, A., Arzel, M., Renault, D., Bouchereau, A., & Deleu, C. (2010).** The Arabidopsis pop2-1 mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance. *BMC Plant Biology*, 10, 1-16.
- Renault, H.; El Amrani, A.; Palanivelu, R.; Updegraff, E.P.; Yu, A.; Renou, J.P.; Preuss, D.; Bouchereau, A.; Deleu, C. 2011,** GABA accumulation causes cell elongation defects and a decrease in expression of genes encoding secreted and cell wall-related proteins in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiol.* 2011, 52, 894–908.
- Roberts E, Frankel S. 1950.** γ -Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *Journal of Biological Chemistry* 187(1):55–63
- Roberts MR. Does GABA Act as a Signal in Plants?, 2007,** Hints from Molecular Studies. *Plant Signal Behav.* Sep;2(5):408-9. PMID: 19704616; PMCID: PMC2634229.
- Rockström, J.; Williams, J.; Daily, G.; Noble, A.; Matthews, N.; Gordon, L.; Wetterstrand, H.; DeClerck, F.; Shah, M.; Steduto, P.; et al. 2017,** Sustainable intensification of agriculture for human prosperity and global sustainability. *Ambio* 46, 4–17.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

Sachdev, S.; Ansari, S.A.; Ansari, M.I.; Fujita, M.; Hasanuzzaman, M. 2021, Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidans* 2021, 10, 277.

Sachdev, S.; Ansari, S.A.; Ansari, M.I.; Fujita, M.; Hasanuzzaman, M. ,2021 Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidans* 2021, 10, 277.

Saidi, I., Guesmi, F., Kharbech, O., Hfaiedh, N., & Djebali, W. (2021). Gallic acid improves the antioxidant ability against cadmium toxicity: Impact on leaf lipid composition of sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 210, 111906.

Sakano, K. 2001, Metabolic regulation of pH in plant cells: Role of cytoplasmic pH in defense reaction and secondary metabolism. *J. Int. Rev. Cytol.* 2001, 206, 1–44.

Sanità L di Toppi and Gabbrielli R (1999) Response to cadmium in higher plants; *Environ. Exp. Bot.* 41 105–130

Sarasa SB, Mahendran R, Muthusamy G, Thankappan B, Selta DRF, Angayarkanni J. 2020. A brief review on the non-protein amino acid, gamma-amino butyric acid (GABA): its production and role in microbes. *Current Microbiology* 77(4):534–544

Secchi, M. A., Fernandez, J. A., Stamm, M. J., Durrett, T., Prasad, P. V., Messina, C. D., & Ciampitti, I. A. (2023). Effects of heat and drought on canola (*Brassica napus* L.) yield, oil, and protein: A meta-analysis. *Field Crops Research*, 293, 108848.

Sehgal A, Sita K, Siddique KH et al (2018) Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Front Plant Sci* 27:1705.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Seifikalhor M, Aliniaiefard S, Hassani B, Niknam V, Lastochkina O.,2019,**
Diverse role of γ -aminobutyric acid in dynamic plant cell responses. *Plant Cell Rep.* 2019 Aug;38(8):847-867.. Epub 2019 Feb 9. PMID: 30739138.
- Semenov MA, Halford NG (2009)** Identifying target traits and molecular mechanisms for wheat breeding under a changing climate. *J Exp Bot* 60:2791–2804
- Sevilmiş, D., Ölmez, Y. A., & Özkaya, S. (2022).** Kışlık yağlı tohumlu bitki olan Kanolaya (*Brassica napus* L.) genel bir bakış. *Muş Alparslan University Journal of Agriculture and Nature*, 2(2), 56-61.
- Shang H, Cao S, Yang Z, Cai Y, Zheng Y (2011)** Effect of exogenous gamma-aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *J Agric Food Chem* 59(4):1264–1268
- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., Zheng, Y., 2011.** Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *J. Agric. Food Chem.* 59, 1264–1268.
- Shelp, B.J. et al. (1999)** Metabolism and functions of gamma aminobutyric acid. *Trends Plant Sci.* 4, 446–452
- Shelp, B.J.; Aghdam, M.S.; Flaherty, E.J.- 2021,** Aminobutyrate (GABA) Regulated Plant Defense: Mechanisms and Opportunities. *Plants* 10, 1939.
- Signorelli, S., Dans, P.D., Coitiño, E.L., Borsani, O., Monza, J., 2015.** Connecting proline and γ -aminobutyric acid in stressed plants through non-enzymatic reactions. *PLoS One* 10, e0115349.
- Singh, A., Gupta, R., & Pandey, R. (2017).** Exogenous application of rutin and gallic acid regulate antioxidants and alleviate reactive oxygen generation in *Oryza sativa* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 301-309.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Singh, D., 2022**, Juggling with Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense System—A Coping Mechanism under Salt Stress. *Plant Stress* 2022, 5, 100093.
- Smart, R. E., & Bingham, G. E. (1974)**. Rapid estimates of relative water content. *Plant physiology*, 53(2), 258-260.
- Snedden, W.A., Chung, I., Pauls, R.H., Bown, A.W., 1992**. Proton/L-glutamate symport and the regulation of intracellular pH in isolated mesophyll cells. *Plant Physiol.* 99 (2), 665–671.
- Solomon, V. R., Tallapragada, V. J., Chebib, M., Johnston, G. A. R., & Hanrahan, J. R. (2019)**. GABA allosteric modulators: an overview of recent developments in non-benzodiazepine modulators. *European journal of medicinal chemistry*, 171, 434-461.
- Steward F, Thompson J, Dent C. 1949**. γ -Aminobutyric acid: a constituent of the potato tuber. *Science* 110:439–440.
- Steward, F., Thompson, J., Dent, C., (1949)**. γ -Aminobutyric acid, a constituent of the potato tuber. *Science* 110, 439–440.
- Stitt M. 1999**, Nitrate regulation of metabolism and growth. *Curr Opin Plant Biol.* 1999;2:178–186.
- Stitt, M., Müller, C., Matt, P., Gibon, Y., Carillo, P., Morcuende, R., et al., 2002**. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism. *J. Exp. Bot.* 53, 959–970.
- Su, N., Wu, Q., Chen, J., Shabala, L., Mithöfer, A., Wang, H., ... & Shabala, S. (2019)**. GABA operates upstream of H⁺-ATPase and improves salinity tolerance in Arabidopsis by enabling cytosolic K⁺ retention and Na⁺ exclusion. *Journal of Experimental Botany*, 70(21), 6349-6361.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Suhel, M., Husain, T., Pandey, A., Singh, S., Dubey, N. K., Prasad, S. M., & Singh, V. P. (2023).** An appraisal of ancient molecule GABA in abiotic stress tolerance in plants, and its crosstalk with other signaling molecules. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(2), 614-629.
- Suhel, Mohammad & Husain, Tajammul & Pandey, Aparna & Singh, Samiksha & Dubey, Nawal & Prasad, Sheo & Singh, Vijay. (2022).** An Appraisal of Ancient Molecule GABA in Abiotic Stress Tolerance in Plants, and Its Crosstalk with Other Signaling Molecules. *Journal of Plant Growth Regulation*. 42. 10.1007/s00344-022-10610-8.
- Sussmilch, F.C.; Schultz, J.; Hedrich, R.; Roelfsema, M.R.G. 2019,**Acquiring Control: The evolution of stomatal signalling pathways. *Trends Plant Sci.* 2019, 24, 342–351.
- Tian R, Yang Y, Chen M (2020)** Genome-wide survey of the amino acid transporter gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.): Identification, expression analysis and response to abiotic stress. *Int J Biol Macromol* 162:1372–1387
- Turano, F.J. and Fang, T.K. (1998)** Characterization of two glutamate decarboxylase cDNA clones from *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 117, 1411–1421
- Vijayakumari K, Puthur JT (2016)** γ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Grow Regul* 78:57–67.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007).** Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and experimental botany*, 61(3), 199-223.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Wang Y, Gu W, Meng Y et al (2017)** γ -Aminobutyric acid imparts partial protection from salt stress injury to maize seedlings by improving photosynthesis and upregulating osmoprotectants and antioxidants. *Sci Rep* 7:43609.
- Wang Y, Luo Z, Huang X, Yang K, Gao S, Du R (2014)** Effect of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Sci Horti-Amst* 168:132–137
- Wang, L.Y., Wang, X.P., Lv, J.M., Shan, Y.D., Jia, S.Y., Yu, Z.F., et al., 2023.** NLRP3–GABA signaling pathway contributes to the pathogenesis of impulsive-like behaviors and cognitive deficits in aged mice. *J. Neuroinflammation* 20, 162.
- Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H. 2002.** GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *International Review of Cytology* 213:1–47
- Wegner, L.H.; Shabala, S. 2020,** Biochemical pH clamp: The forgotten resource in membrane bioenergetics. *New Phytol.* 2020, 225, 37–47.
- Wu, X., Jia, Q., Ji, S., Gong, B., Li, J., Lü, G., & Gao, H. (2020).** Gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates salt damage in tomato by modulating Na^+ uptake, the GAD gene, amino acid synthesis and reactive oxygen species metabolism. *BMC Plant Biology*, 20, 1-21.
- Xia, Q., Tang, H., Fu, L., Tan, J., Govindjee, G., & Guo, Y. (2023).** Determination of f_v/f_m from chlorophyll a fluorescence without dark adaptation by an LSSVM model. *Plant Phenomics*, 5, 0034.
- Xiang, L., Hu, L., Xu, W., Zhen, A., Zhang, L., Hu, X., 2016.** Exogenous γ -aminobutyric acid improves the structure and function of photosystem ii in muskmelon seedlings exposed to salinity-alkalinity stress. *PLoS One* 11, e0164847.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Xing, S.G.; Jun, Y.B.; Hau, Z.W.; Liang, L.Y. 2007**, Higher accumulation of gamma-aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiol. Biochem.* 2007, 45, 560–566.
- Xu B, Long Y, Feng X, Zhu X, Sai N, Chirkova L, Betts A, Herrmann J, Edwards EJ, Okamoto M et al (2021a)** GABA signalling modulates stomatal opening to enhance plant water use efficiency and drought resilience. *Nat Commun* 12:1952.
- Xu B, Sai N, Gilliam M (2021b)** The emerging role of GABA as a transport regulator and physiological signal. *Plant Physiol* 187:2005–2016.
- Yadav, M., Jindal, D. K., Dhingra, M. S., Kumar, A., Parle, M., & Dhingra, S. (2018)**. Protective effect of gallic acid in experimental model of ketamine-induced psychosis: possible behaviour, biochemical, neurochemical and cellular alterations. *Inflammopharmacology*, 26, 413-424.
- Yang A, Cao S, Yang Z, Cai Y, Zheng Y (2011)** γ -Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. *Food Chem* 129:1619–1622
- Yang, Z.; Xu, Y.; Song, P.; Li, X.; Zhou, J.; Lin, L.; Xia, H.; Liang, D.; Luo, X.; Zhang, H.; et al. 2023**, Effects of Gamma Amino Butyric Acid (GABA) on Nutrient Uptake of Loquat [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.] Seedlings. *Horticulturae* , 9,196.
- Yao X, Nie J, Bai R, Sui X (2020)** Amino acid transporters in plants: Identification and function. *Plants* 9(8):972
- Yao, G.Q.; Nie, Z.F.; Turner, N.C.; Li, F.M.; Gao, T.P.; Fang, X.W.; Scoffoni, C., 2021** Combined High Leaf Hydraulic Safety and Efficiency Provides Drought Tolerance in *Caragana* Species Adapted to Low Mean Annual Precipitation. *New Phytol.* 2021, 229, 230–244

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

- Yetişsin, F., & Kurt, F. (2020).** Gallic acid (GA) alleviating copper (Cu) toxicity in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *International Journal of Phytoremediation*, 22(4), 420-426.
- Yin, Y.; Cheng, C.; Fang, W. 2018,** Effects of the inhibitor of glutamate decarboxylase on the development and GABA accumulation in germinating fava beans under hypoxia-NaCl stress. *RSC Adv.* 2018, 8, 20456–20461.
- Yong B, Xie H, Li Z et al (2017)** Exogenous application of GABA improves PEG-induced drought tolerance positively associated with GABA-shunt, polyamines, and proline metabolism in white clover. *Front Physiol* 8:1107.
- Yu, G. H., Zou, J., Feng, J., Peng, X. B., Wu, J. Y., Wu, Y. L., ... & Sun, M. X. (2014).** Exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) affects pollen tube growth via modulating putative Ca^{2+} -permeable membrane channels and is coupled to negative regulation on glutamate decarboxylase. *Journal of experimental botany*, 65(12), 3235-3248.
- Yuan D, Wu X, Gong B, Huo R, Zhao L, Li J, Lü G, Gao H. 2023,** GABA Metabolism, Transport and Their Roles and Mechanisms in the Regulation of Abiotic Stress (Hypoxia, Salt, Drought) Resistance in Plants. *Metabolites*. 2023 Feb 26;13(3):347.. PMID: 36984787; PMCID: PMC10051757.
- Zhan,X.;Yi, X.; Yue, L.; Fan, X.; Xu, G.; Xing, B. 2015,** Cytoplasmic pH-Stat during Phenanthrene Uptake by WheatRoots: A Mechanistic Consideration. *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49, 6037–6044.
- Zhang H, Zhu J, Gong Z, Zhu JK. 2021,** Abiotic stress responses in plants. *Nat Rev Genet.* 2022 Feb;23(2):104-119. doi: 10.1038/s41576-021-00413-0. Epub 2021 Sep 24. PMID: 34561623.
- Zhang X, Ran W, Li X, Zhang J, Ye M, Lin S, Liu M and Sun X (2022)** Exogenous Application of Gallic Acid Induces the Direct Defense of Tea Plant Against *Ectropis obliqua* Caterpillars. *Front. Plant Sci.* 13:833489.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devamı)

Zhang, Q., Zhu, L., Li, H., Chen, Q., Li, N., Li, J., ... & Kong, J. (2024). Insights and progress on the biosynthesis, metabolism, and physiological functions of gamma-aminobutyric acid (GABA): a review. *PeerJ*, 12, e18712.

Zhou R., Hyldgaard B., Yu X., Rosenqvist E., Ugarte RM., Yu S., Wu Z., Ottosen C., & Zhao T., (2018). Phenotyping of faba beans (*Vicia faba* L.) under cold and heat stresses using chlorophyll fluorescence. *Euphytica*, 214(4): 1-13.

Zik, M. et al. (1998) Two isoforms of glutamate decarboxylase in *Arabidopsis* are regulated by calcium/calmodulin and differ in organ distribution. *Plant Mol. Biol.* 37, 967–975

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hayata geçmesinde, değerli akademik bakış açısıyla bana yol gösteren, çalışmamın şekillenmesi sürecinde bana sabır ve anlayışla rehberlik eden, akademik serüvenimde bana ilham olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Melike BOR'a en içten şükranlarımı sunarım.

Kıymetli bilgi birikimlerini benimle paylaşan, ve akademik bakış açımı geliştirmemde fikirleri ve çalışmalarıyla değerli katkılar sağlayan saygıdeğer hocalarım sayın Prof.Dr.İsmail TÜRKAN'a, sayın Prof.Dr.Aşkın Hediye ÇETİNEL'e , sayın Doç.Dr.Rengin Özgür UZİLDAY'a,, sayın Doç.Dr.Bariş UZİLDAY'a , sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda yardımını benden esirgemeyen, karşılaştığımız zorluklarda yanımda olan sevgili ekip arkadaşım Tülay ALP ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim. Çalışmam süresince beni sürekli motive eden ve desteğini yanımda hissettiren sevgili arkadaşım Şerife PALABIYIK'a içten teşekkürler.

Tüm lisansüstü oda arkadaşlarıma, bu yolda benimle paylaştıkları bilgiler ve güler yüzleri için teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak varlıkları ve destekleri benim için çok kıymetli olan, beni sevgiyle yetiştiren ve aldığım her kararda yanımda olan sevgili annem Gülbeniz ÇETİNKAYA ve sevgili babam Esin ÇETİNKAYA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

2017 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji bölümünü kazanmış ve 2022 yılında bölümün Moleküler Biyoloji opsiyonundan mezun olmuştur. 2020 yılında Ege Üniversitesi Biyokimya Bölümü Biyoteknoloji Ağırlıklı çift anadal programına başlamıştır. 2022 yılında lisansüstü eğitimine başlamıştır.

