



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OZMOTİK STRES ALTINDAKİ DOMATES BİTKİSİNDE GABA
UYGULAMASININ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Münevver Hilal DURUMEL

DANIŞMAN

Dr.Öğr.Üy.Fazilet Özlem ÇEKİÇ

AKSARAY, 2018



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OZMOTİK STRES ALTINDAKİ DOMATES BİTKİSİNDE GABA
UYGULAMASININ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Münevver Hilal DURUMEL

DANIŞMAN

Dr.Öğr.Üy.Fazilet Özlem ÇEKİÇ

AKSARAY, 2018

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ONAY BELGESİ

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 162307001 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, "Münevver Hilal DURUMEL", ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "OZMOTİK STRES ALTINDAKİ DOMATES BİTKİSİNDE GABA UYGULAMASININ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ" başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr.Fazilet Özlem ÇEKİÇ
Aksaray Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Yüksel KELEŞ
Mersin Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Mehtap TEKŞEN
Aksaray Üniversitesi

.....
.....
.....

Teslim Tarihi: 20 Şubat 2018

Savunma Tarihi: 7 Şubat 2018

ÖNSÖZ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) bitkisi ülkemizde ve dünyada yaygın olarak üretimi yapılan ürünlerin başında gelmektedir. Domatesin farklı kullanım alanları ve içerdiği antioksidan maddelerden dolayı sağlıklı beslenmede önemli yeri bulunmaktadır. Bu nedenle domates bitkisinin verim ve kalitesini artırmaya yönelik çalışmalar önem taşımaktadır. Özellikle ılıman ve sıcak bölgelerde yetişen domates yüksek sıcaklık, kuraklık, tuz gibi abiyotik streslere maruz kalabilmektedir. Söz konusu stres koşullarında bitkilerin vereceği yanıtların bilinmesi ve verimin artırılabilmesi oldukça önem taşımaktadır.

Gamma aminobütirik asit (GABA), serbest amino asit havuzu içinde bulunan protein yapısına katılmayan bir amino asittir. GABA, özellikle stres koşulları altında bitki metabolizması için önemli rol oynamaktadır. Ekzojen olarak uygulanan GABA'nın bitki metabolizmasını olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Bu çalışmada ekonomik ve besin değeri açısından oldukça önemli olan domates bitkisinde ekzojen GABA uygulamasının ozmotik stres koşulları altında bitki savunma sisteminin göstergesi olan fenolik bileşikler, antioksidan savunma sistemi ve endojen GABA miktarı üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda ekzojen olarak uygulanan GABA'nın ozmotik stres altında bitki metabolizması üzerine iyileştirici etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışması, Aksaray Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi labortuarında gerçekleştirilmiştir.

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ve bu eserleri her kullanışmada alıntı yaparak yararlandığımı belirtir; bunu şerefimle doğrularım.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Münevver Hilal DURUMEL



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimin her aşamasında beni en iyi şekilde yönlendiren, karşılaştığım bütün zorlukları bilgi, akademik tecrübe ve anlayışıyla aşmamda yardımcı olan değerli Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Fazilet Özlem ÇEKİÇ'e varlığı için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansım sırasında birlikte ortak çalışmalar yaptığımız, çalışmalarımız süresince desteğini ve yardımını esirgemeyen yüksek lisans çalışma arkadaşım Perihan KARACA'ya çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım ve derslerim süresince her konuda yardım alabildiğim Aksaray Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi öğretim üyeleri hocalarıma alçakgönüllükleri ve destekleri için teşekkür ederim.

Çalışma hayatımın her aşamasında benden desteğini ve anlayışını esirgemeyen manevi desteğim, sevgili eşim Yavuz DURUMEL'e, çocuklarıma ve aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 Gamma Aminobütirik Asit (GABA).....	3
2.2 GABA'nın Sentez Yolu	4
2.3 Bitkilerde Stres Metabolizmasında GABA'nın Rolü	7
2.4 GABA'nın Sinyal Rolü.....	7
2.5 Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi.....	8
2.6 Fenolik Bileşiklerin Sentez Yolu	10
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	14
3.1 Bitki Yetiştirme Koşulları ve Stres Uygulaması	14
3.2 Toplam Klorofil Analizi.....	14
3.3 GABA Analizi.....	15
3.4 Fenolik Madde Analizi.....	15
3.5 Antioksidan Enzim Analizleri.....	15
3.6 Malondialdehit Analizi.....	16
3.7 İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	18
4.1 Toplam Klorofil Miktarı	18
4.2 Endojen GABA Miktarı	19
4.3 Fenolik Madde Miktarı	22
4.4 Antioksidan Enzim Aktivitesi	25
4.4.1 SOD aktivitesi	25
4.4.2 KAT aktivitesi.....	26
4.4.3 APX aktivitesi	27
4.4.4 GR aktivitesi	28
4.5 Malondialdehit (MDA) Miktarı	29
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	32
KAYNAKLAR	33
EKLER.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	43

ÖZET

OZMOTİK STRES ALTINDAKİ DOMATES BİTKİSİNDE GABA UYGULAMASININ BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) dünya çapında, çoğunlukla sıcak bölgelerde yetişen ekonomik olarak önemli bitkilerden biridir. Bununla birlikte, bu alanlardaki bitkiler, iklim ve tuzlu ortamlar nedeniyle ozmotik strese maruz kalmaktadır. Gamma aminobütirik asit (GABA), özellikle stres koşulları altında bitki metabolizması için önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada, ekzojen GABA uygulamasının bitki savunma metabolizması üzerinde etkileri analiz edildi. Domates bitkilerine PEG ile indüklenen ozmotik stres uygulandı. Hasattan sonra, fenolik maddeler, GABA, MDA, toplam klorofil içeriği ve antioksidan enzim aktiviteleri analiz edildi. Ekzojen GABA uygulaması toplam klorofil içeriğini arttırdı ve MDA içeriğinde bir düşüşe neden oldu. GABA uygulaması gallik asit ve klorojenik asit içeriklerinde önemli bir artışa neden oldu. PEG ve GABA uygulamaları KAT ve GR aktivitelerini artırdı. Çalışmadan elde ettiğimiz bulgulara göre, ekzojen GABA uygulamasının bazı fenolik maddeler ve antioksidan enzim aktiviteleri ve endojen GABA içeriğini uyarak normal koşullarda ve PEG ile indüklenen ozmotik stres durumunda olumlu etkilerinin olabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler : Antioksidan enzimler, Kuraklık, Gamma-aminobütirik asit, HPLC, Fenolik madde, *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF EXOGENOUS GABA APPLICATION ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TOMATO PLANTS UNDER PEG-INDUCED OSMOTIC STRESS

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most economically important plant grown worldwide, mostly in warm regions. However, plants in these areas are exposed to osmotic stress because of the climate and salty environments. Gamma aminobutyric acid (GABA) plays a significant role in plant metabolism especially under stress conditions. In this study, we analyzed the effects of exogenous GABA on plant defence mechanism. PEG-induced osmotic stress was applied to tomato plants. After the harvest, the contents of phenolic substances, GABA, MDA, total chlorophyll and the activities of antioxidant enzymes were analyzed. Exogenous GABA treatment increased total chlorophyll content and caused a decrease in MDA content. GABA treatment caused a significant increase in gallic acid and chlorogenic acid contents. PEG and GABA applications induced CAT and GR activities. According to our results, we can conclude that exogenous GABA treatment can have positive effects under normal conditions and PEG-induced osmotic stress by stimulating some phenolic substances and antioxidant enzyme activities and endogenous GABA content.

Keywords : Antioxidant enzymes, Drought, Gamma-aminobutyric acid, HPLC, Phenolic content, *Solanum lycopersicum*.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1: GABA sentez yolu.	5
Şekil 2.2: GABA-TCA döngüsü ilişkisi.....	5
Şekil 2.3: GABA metabolik yolu	6
Şekil 2.4: ROT oluşum mekanizması.....	8
Şekil 2.5: Fenolik bileşiklerin sentez yolu.....	11
Şekil 4.1: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki toplam klorofil miktarı	18
Şekil 4.2: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki GABA miktarı.....	20
Şekil 4.3: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki gallik asit içeriği.....	22
Şekil 4.4: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki kuersetin içeriği.....	23
Şekil 4.5: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki klorojenik asit içeriği	23
Şekil 4.6: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki siringik asit içeriği.....	24
Şekil 4.7: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki SOD aktivitesi	26
Şekil 4.8: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki KAT aktivitesi.....	27
Şekil 4.9: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki APX aktivitesi.....	27
Şekil 4.10: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki GR aktivitesi.	28
Şekil 4.11: <i>Solanum lycopersicum</i> yapraklarındaki MDA miktarı.....	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1: Antioksidan savunma sistemi.....	9
Çizelge 2.2: ROT'ların antioksidan enzimler aracılığıyla detoksifikasyon mekanizması	10



SİMGELER DİZİNİ

γ	Gamma
g	Gram
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
μmol	Mikromol
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
rpm	Dakikadaki Devir
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

ADC	Arjinin Dekarboksilaz
APX	Askorbat Peroksidaz
BHT	Butil Hidroksi Tolüen
BSA	Bovin Serum Albumin
CaM	Kalmodulin
CO₂	Karbondioksit
DAO	Diamin Oksidaz
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
GABA	Gamma Aminobütirik Asit
GABA-T	GABA-Transaminaz
GAD	Glutamat Dekarboksilaz
GDH	Glutamat Dehidrogenaz
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GS	Glutamin Sentaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
GR	Glutasyon Redüktaz
HCAA	Hidroksinnamik Asit Amidleri
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
KAT	Katalaz
L-Glu	L-Glutamat
LSD	En küçük anlamlı fark
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
NBT	Nitroblue Tetrazolyum
O₂⁻	Süperoksit anyonu
ODC	Ornitin Dekarboksilaz
PAO	Poliamin Oksidaz
PEG	Polietilen Glikol
POX	Peroksidaz
Put	Putresin
PVP	Polivinilpirolidon
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
Spd	Spermidin
Spm	Spermin
SSADH	Süksinik Semialdehit Dehidrogenaz
TCA	Trikarboksilik Asit
TBA	Tiobarbiturik Asit
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür ışık

1. GİRİŞ

Bitkiler yaşamları boyunca sürekli olarak abiyotik ve biyotik kökenli çevresel faktörlerin etkisi altındadır. Bitkiler hareketsiz doğaları nedeniyle stres koşullarından uzak duramadıklarından söz konusu çevre faktörlerinden olumsuz yönde etkilenmektedir. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere neden olarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkileyip, bitki metabolitlerinin nitelik ve nicelik kaybına, hatta bitkinin ve/veya organlarının ölümüne neden olabilmektedir. Bitkiler stresten korunabilmek ve bu olumsuz etkileri engelleyebilmek amacıyla moleküler savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu savunma mekanizmaları makromoleküllerin dengesi, koruyucu moleküllerin sentezlenmesi, reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu ve detoksifikasyon olmak üzere üç gruba ayrılabilir (Büyük, 2012).

Gamma amino butirik asit (GABA), hayvan, mantar ve bitkiler dahil olmak üzere çok farklı organizmalarda üretilen, protein yapısında olmayan bir amino asittir. GABA ilk olarak 1949'da bitkilerde patates yumrularında tespit edilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar ile GABA'nın yumru, yaprak, meyve gibi çeşitli bitki dokularında meydana geldiği bilinmektedir (Akihiro vd., 2008). GABA, memelilerde önemli nöro-transmitter inhibitörlerinden biridir ve GABA'nın kan basıncını düşürebildiği ve stresi azaltabileceği için yenilebilir bitkilerdeki GABA seviyelerinin belirlenmesi son yıllarda dikkat çeken bir konudur. GABA insan sağlığına önemli etkilerinden dolayı fonksiyonel bileşik olarak oldukça ilgi görmektedir. Özellikle son yıllarda GABA bakımından zengin gıdalar ticarileştirilmektedir (Hayakawa vd., 2004; Akihiro vd., 2008; Yolcu vd., 2013).

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), dünyada yaygın olarak tarımı yapılan oldukça önemli bir bitkidir. Özellikle gıda sektöründe çeşitli kullanım alanlarının olması sebebiyle ülkemiz tarımı için vazgeçilmez bir besin kaynağıdır. Domates bitkisi insan sağlığı için faydalı olan çok sayıda fenolik içeriğe sahiptir. Tarımı yapılan birçok bitkide sağlığa yararlı maddelerce zengin ürün elde etmek adına kalite artıma çalışmaları yapılmaktadır (Keskin ve Gül, 2004; Özen ve Onay, 1999).

Bu çalışmada, polietilen glikol uygulamaları ile oluşturulan ozmotik stres altındaki domates bitkisinde dıştan uygulanan GABA'nın toplam klorofil miktarı, endojen GABA miktarı, fenolik madde miktarı, antioksidan enzim aktivitesi ve malondialdehit miktarı gibi bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri incelenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Gamma Aminobütirik Asit (GABA)

GABA, bitkiler dahil olmak üzere çok sayıda organizmada bulunan protein olmayan bir amino asittir. Çeşitli çalışmalar, GABA'nın karbon ve azot metabolizması, enerji dengesi, sinyal yolları olmak üzere bitki metabolizmasında farklı görevleri olduğunu göstermiştir (Yolcu vd., 2013).

Dört karbonlu non-proteinojenik bir amino asit olan GABA, hayvanlarda, bitkilerde ve bakterilerde yaygın olarak bulunmaktadır. İnsanlarda GABA, merkezi sinir sisteminde bir inhibitör nörotransmitter olarak işlev görür (Owens ve Kriegstein, 2002). Ayrıca, GABA'nın oral yol ile alındığında kan basıncının düşürülmesi ve bağışıklığın güçlendirilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Inoue vd., 2003; Abdou vd., 2006; Ezura, 2015).

Bitkilerde GABA (γ -aminobütirik asit), abiyotik ve biyotik streslere karşı cevap olarak hızla birikerek çeşitli bitki dokularında bulunmaktadır. GABA, ilk olarak 1949'da bitkilerde patates yumrularında tespit edilmiştir, daha sonra ise hayvanlarda beyin dokusunda inhibitör nörotransmitter olarak belirlenmiştir. GABA, memeli santral sinir sisteminde en önemli inhibitör nörotransmitter maddelerden biri olarak kabul edilmekle birlikte, bitkilerde GABA'nın etki mekanizması hakkında bazı belirsizlikler bulunmaktadır (Kinnersley ve Lin, 2000).

Yüksek bitkilerde, GABA öncelikle GABA yolağı adı verilen kısa bir yolla metabolize olur. GABA yolağı glutamat dekarboksilaz, GABA transaminaz ve süksinid semialdehid dehidrojenaz aktivitesi ile çalışır. GABA yolağı, birincil karbon ve azot metabolizması için büyük bir rol oynar ve stres dışı koşullar altında trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün önemli bir parçasıdır (Takayama ve Ezura, 2015).

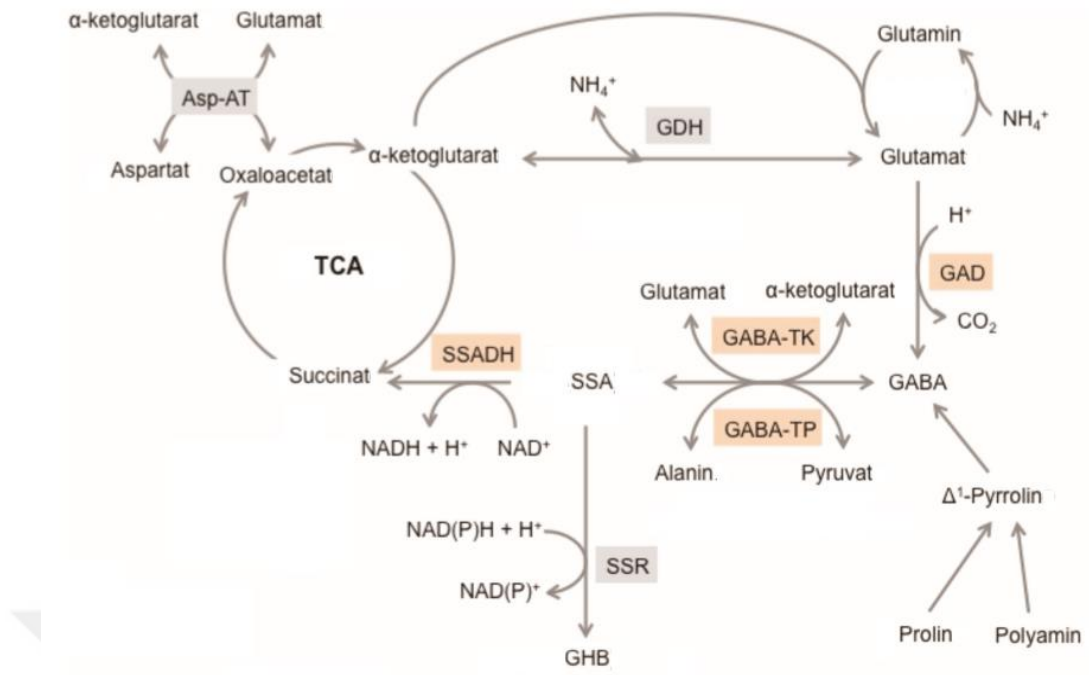
2.2 GABA'nın Sentez Yolu

Serbest aminoasit havuzunun önemli bir bileşeni olan GABA, hemen hemen tüm prokaryotik ve ökaryotik organizmalarda bulunan dört karbonlu, protein olmayan bir amino asittir. GABA, L-glutamattan (L-Glu) glutamat dekarboksilaz (GAD) aktivitesi sonucu dekarboksilasyon reaksiyonu ile sentezlenmektedir (Bown ve Shelp, 1997).

GABA; bakteriler, mantarlar, memeliler ve bitkilerde benzer şekilde sentezlenmektedir. Glutamat dekarboksilaz (GAD), süksinik semialdehit dehidrogenaz (SSADH) ve GABA-transaminaz GABA metabolizmasında rol alan önemli enzimlerdir (Kinnersley ve Turano, 2000).

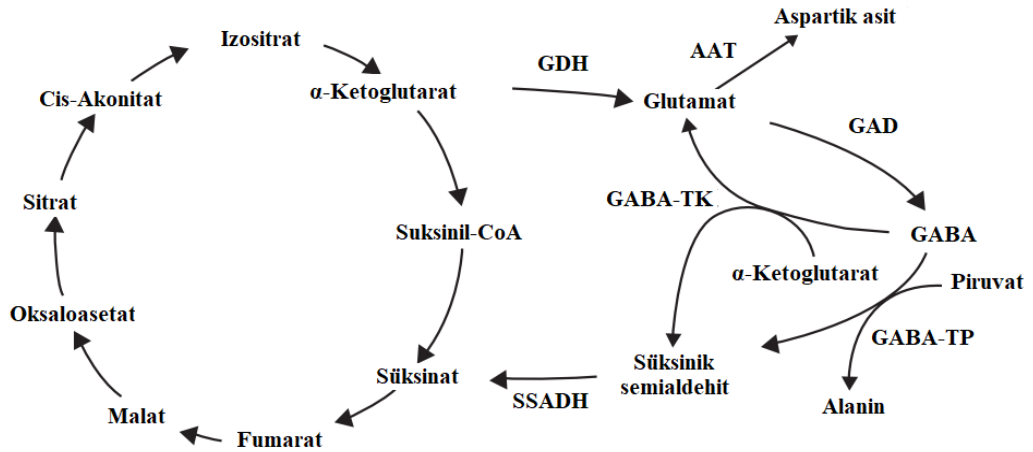
Stres koşullarında bitkilerde GABA yolu ile trikarboksilik asit döngüsünün iki adımı atlanır ve bu yol Ca^{+2} /kalmodulin tarafından düzenlenen sitozolik enzim glutamat dekarboksilaz (GAD) ve mitokondiral enzimler GABA-transaminaz (GABA-T) ve süksinik-semialdehit dehidrogenaz (SSADH)'dan oluşur (Snedden ve Fromm, 1999; Kinnersley ve Turano, 2000; Akçay, 2010).

Bitkilerde, GABA öncelikle glutamatın GABA ve CO_2 'e geri dönüşümsüz olarak katalizlenmesini sağlayan sitozolik GAD enzimi ile sentezlenir (Şekil 2.1). *Petunia hybrida* E. bitkisinden GAD geni izole edildikten sonra (Baum vd., 1993) çeşitli bitki türlerinde çeşitli GAD homologları tespit edilmiştir (Ling vd., 1994; Snedden vd., 1995; Turano ve Fang, 1998; Yevtushenko vd., 2003).



Şekil 2.1: GABA sentez yolu (Takayama ve Ezura, 2015).

Bununla birlikte GABA yolağının TCA döngüsü ile oldukça ilişkili olduğu bilinmektedir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: GABA-TCA döngüsü ilişkisi (Akihiro vd., 2008).

Hayvanlardaki ve bakterilerdeki gibi, çoğu bitkide GAD enzimi, C-terminalinde bir kalsiyum / kalmodulin (Ca²⁺/ CaM) bağlama alanına sahiptir. İn vitro çalışmalar GAD aktivitesinin, düşük pH'da aktive olduğunu göstermektedir (Snedden vd., 1996; Gut vd., 2009). GABA'nın bir diğer sentez yolu poliamin metabolizması ile ilişkilidir (Deleu vd., 2013). Poliaminler, bitkilerde büyüme, gelişme, hücre

Yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunan poliaminler, putresin (Put), spermidin (Spd) ve spermindir (Spm), bunlar serbest ya da bağlı olarak bulunabilirler. Put, dekarboksilasyon yoluyla ornitin ve arjininden ornitin dekarboksilaz (ODC) (EC 4.1.1.17) ve arjinin dekarboksilaz (ADC) (EC 4.1.1.19) aracılığıyla sentezlenebilir. Spd ve Spm, putresinden sentezlenir (Wang vd., 2014).

[illegible]

6

2.3 Bitkilerde Stres Metabolizmasında GABA'nın Rolü

GABA, stres koşullarında bitki dokularında hızla birikmektedir. GABA birikimi, dokuları biyotik ve abiyotik streslere karşı korur ve bitki büyümesini düzenler (Feijo vd., 2015). Sıcaklık, soğuk, tuzluluk ve kuraklık gibi streslere maruz kalan bitki dokularında hızla GABA birikmektedir (Snedden ve Fromm, 1999; Kinnersley ve Turano, 2000; Akçay, 2010).

Bitkiler, stres koşulları altında metabolizma ve gen ekspresyonunu düzenleyerek GABA akümüleyasyonunu artırmaktadır. GABA, sitosolik pH'nın düzenlenmesinde oksidatif hasara karşı koruma sağlayan bir metabolittir. Hücresel seviyede artan GABA ile çeşitli mekanizmalar düzenlenip hücresel koruma sağlanabilmektedir (Al-Quraan vd., 2013).

Bitkilerde GABA, çoğunlukla strese verilen tepki nedeniyle yalnızca bir metabolit olarak ele alınmıştır. Ayrıca GABA'nın sinyal molekül olarak muhtemel yeni bir rolü olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, GABA'nın sinyalizasyon ve metabolik rollerini birbirinden ayırmak ve moleküler bileşenleri ve bunların etki biçimlerini tanımlamak oldukça güçtür (Ramesh vd., 2017).

2.4 GABA'nın Sinyal Rolü

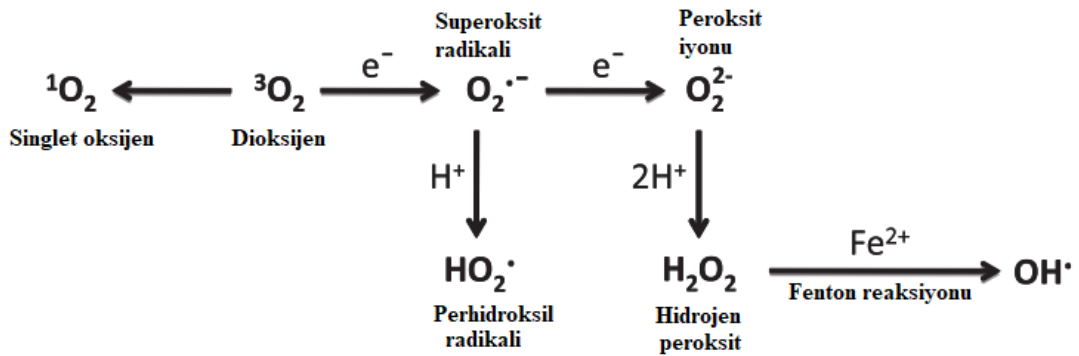
Amino asitler, protein metabolizmasında bazı durumlarda memelilerde ve bitkilerde sinyal molekül olarak rol alabilmektedir. Son yıllarda serin, GABA ve fenilalanininden türetilen fenilpropanoidlerin sinyal işlevleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Serin, beyin dokusunda ve memeli kanser hücrelerinde sinyal olarak görev alır. Bitkilerde serin biyosentezi, meristemler gibi hızlı büyüyen dokularda oldukça etkindir (Häusler vd., 2014).

Aromatik amino asitler fenilalanin, tirozin ve triptofan, sekonder metabolit üretimi için öncü maddelerdir. Farmasötik değerlerinin yanı sıra, fenilpropanoid metabolizmasından türetilen lignanlar, neolignanlar ve hidroksinnamik asit amidleri (HCAA) ve HCAA'da arjininden de sinyalleme işlevleri yerine getirdiği gösterilmiştir ve biyotik ve abiyotik strese yanıtta yer almaktadır. Fenilpropanoid türevli sinyalizasyon hakkında bazı temel bilgiler açıklanmış olsa da, bu konuda ayrıntılı bilgi tam olarak bulunmamaktadır. Genel olarak, mutant ve transgenik

yaklaşımlar, metabolit sinyalleme sinin mekanik temelini aydınlatmaya yardımcı olacaktır (Häusler vd., 2014).

2.5 Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi

Abiyotik ve biyotik stres koşullarında reaktif oksijen türlerinin oluşumu artmaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROT) temel olarak kloroplastlarda fotosentez reaksiyonlarında, peroksizomlarda, mitokondrilerde sitrik asit döngüsünde oluşmaktadır. ROT, bir atom veya molekülden bir elektron ayrılması ya da bir elektron eklenmesi ile oluşurlar. Başlıca reaktif oksijen türleri singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) (Şekil 2.4). Normal koşullar altında hücredeki miktarları denge halinde bulunmaktadır. Bununla birlikte çeşitli stres koşulları altında hücredeki miktarları değişkenlik göstermektedir (Mittler, 2002; Büyük vd., 2012).



Şekil 2.4: ROT oluşum mekanizması (Gill ve Tuteja, 2010).

Biyolojik sistemlerde genel olarak serbest radikallerin hücresel yapıya verebileceği hasarı engellemek için antioksidan sistemler diğer bir ifade ile antioksidanlar olarak adlandırılan savunma mekanizmaları mevcuttur. Antioksidanların etki mekanizmaları; a) oksijeni ortamdan uzaklaştırıp lokal olarak bulunduğu yerdeki konsantrasyonunu azaltır, b) katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırır, c) süperoksit ve/veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip ROT'u ortamdan uzaklaştırır veya daha zayıf moleküllere çevirebilir, d) serbest radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonların başlamasını engeller, e) serbest radikallere bağlı hasara karşı onarıcı etki gösterirler (Özcan vd., 2015).

Bitkiler abiyotik ve biyotik çeşitli stres koşullarına karşı oluşabilecek oksidatif hasara karşı enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemine sahiptir. Enzimatik savunma sisteminde superoksit dizmutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPX), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon reduktaz (GR) gibi antioksidan enzim aktiviteleri ile reaktif oksijen türlerinin bertaraf edilmesi söz konusudur (Halliwell, 2007). SOD, savunma sisteminin serbest radikallere karşı savunmasında ilk aşamadır. SOD, superoksit anyonunu ($O_2^{\bullet}$) hidrojen perokside (H_2O_2) indirger. H_2O_2 , katalaz ya da glutatyon peroksidaz (GPX), askorbat peroksidaz (APX) aracılığı ile su ve moleküler oksijene (O_2) dönüşür. Selenoprotein enzim olan GPX, H_2O_2 'i temizlerken glutatyon molekülünü (GSH) okside glutatyon (GSSG) dönüştürür. Flavoprotein enzim olan glutatyon reduktaz indirgeyici güç olarak NADPH kullanarak GSSG'den GSH oluşturur. Bununla birlikte, GPX glutatyonu okside ederken lipidleri indirgemektedir (Halliwell, 2007; Gupta vd., 2014).

Yüksek bitkilerdeki antioksidan savunma sisteminde yer alan enzimler Çizelge 2.1'de belirtilmiştir (Scandalios, 1993).

Çizelge 2.1: Antioksidan savunma sisteminde yer alan enzimler (Scandalios, 1993).

Subselüler Lokasyon	Aktif O_2 Türlerinin Çeşidi	Aktif O_2 Türlerinin Kaynağı	Enzimatik Süpürme Sistemleri	Ürünler
Kloroplast	Süperoksit H_2O_2	PS II Enzimatik	SOD APX	H_2O_2 Dehidroaskorbat GSH $NADP^+$
Mitokondri	Süperoksit H_2O_2	Elektron Taşınımı ve Enzimatik	SOD POX KAT	H_2O_2 H_2O H_2O, O_2
Sitozol	Süperoksit H_2O_2	Enzimatik	SOD POX KAT	H_2O_2 H_2O H_2O, O_2
Peroksizom	H_2O_2	Fotorespirasyon	KAT	H_2O, O_2

ROT'ların antioksidan enzimler aracılığıyla detoksifikasyon mekanizması Çizelge 2.2'de belirtilmiştir (Blokhina, 2003).

Çizelge 2.2: ROT'ların antioksidan enzimler aracılığıyla detoksifikasyon mekanizması (Blokchina, 2003).

Enzim	EC	Reaksiyon
Süperoksit dismutaz	1.15.1.1	$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightleftharpoons 2H_2O_2 + O_2$
Katalaz	1.11.1.6	$2H_2O_2 \rightleftharpoons O_2 + 2H_2O$
Glutasyon peroksidaz	1.11.1.12	$2GSH + PUFA-OOH \rightleftharpoons GSSG + PUFA + 2H_2O$
Glutasyon S-transferazlar	2.5.1.18	$RX + GSH \rightleftharpoons HX + R-S-GSH^*$
Askorbat peroksidaz	1.11.1.11	$AA + H_2O_2 \rightleftharpoons DHA + 2H_2O$
Monodehidroaskorbat redüktaz	1.6.5.4	$NADH + 2MDHA \rightleftharpoons NAD^+ + 2AA$
Dehidroaskorbat redüktaz	1.8.5.1	$2GSH + DHA \rightleftharpoons GSSG + AA$
Glutasyon redüktaz	1.6.4.2	$NADPH + GSSG \rightleftharpoons NADP^+ + 2GSH$

2.6 Fenolik Bileşiklerin Sentez Yolu

Fenolik bileşikler, bitki sekonder metabolitleri içinde yer alan fenol halkası içeren bileşiklerdir. Fenolik bileşikler özellikle insan sağlığı açısından etkileri göz önüne alındığında oldukça dikkat çeken moleküllerdir. Son yıllarda, bitki sekonder metabolitlerinden faydalı bileşiklerin eldesi biyoteknolojinin önemli bir alanını oluşturmaktadır. Fenolik bileşikler, alkaloidler ve terpenoidler günümüzde en fazla çalışılan bitki sekonder metabolitleridir. Tıbbi uygulamalarda ve endüstride; resinler, antosiyaninler, taninler, saponinler ve uçucu yağlar; pestisit ve insektisitlerin üretiminde de sabun, parfüm, bitkisel yağ, boya, yapışkan, doğal plastik kullanılmaktadır (Oskay ve Oskay, 2009).

Bitkilerde fotosentez ile oluşan karbonun yaklaşık % 2'si fenolik bileşiklere dönüşmektedir (Merken ve Beecher, 2000). Fenolik bileşikler benzen halkalarından oluşur. Benzen halkaları da pentoz fosfat yolundaki ürünlerden eritroz 4-fosfatın kondansasyonu sonucu oluşmaktadır (Şekil 2.5). Şikimik asit yolu olarak bilinen bu biyosentetik yoldan ürün olarak, aromatik karakterli benzoik ve sinnamik asitler meydana gelmektedir. Glikoliz yolunda ise şekerler parçalanarak prüvatları oluşturmakta ve oluşan prüvatlar da Krebs döngüsünde asetil koenzim A molekülüne

Rozmarinik asit, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan aktiviteye sahiptir ve antioksidan aktivitesi vitamin E ve sentetik bir antioksidan olan hidroksi tolüenden (BHT) daha yüksektir. Antimikrobiyal etkisi sebebiyle gıdaların muhafazasında da kullanılmaktadır. Rozmarinik asit, katarakt, ülser, astım ve kanser tedavisinde yardımcı bileşen olarak da kullanılmaktadır (Tuncel, 2010).

Klorojenik asit kuinik ve kafeik asit esteridir. Klorojenik asit, kekikte yüksek miktarda bulunmaktadır. Kekik tüketiminin mide ve bağırsak ağrıları giderdiği, safra salgısını artırarak hazmı kolaylaştırdığı belirtilmiştir. Kekik, geleneksel olarak baş ağrısı, soğuk algınlığı ve mide ağrıları için kullanılmaktadır. Kekik içeriğinin antiseptik ve antibakteriyal etkisi olduğu vurgulanmaktadır. Bununla birlikte kekik tarım ürünlerini çeşitli biyotik streslerden korumak için de kullanılmaktadır (Tuncel, 2010). Klorojenik asit, sadece antioksidan fonksiyonuna sahip olmayıp aynı zamanda hipertansiyonu önleyici, bitkilerin çiçeklenmesini tetikleyici ve tripsin, amilaz ve bazı diğer enzimlerin aktivitelerini etkileyici özelliklere sahiptir (Yavaşer, 2011).

Ferulik asit, etkili bir şekilde serbest oksijen radikallerini süpürme özelliğine sahiptir. Oksidatif stresin etkilerine bağlı olarak meydana gelebilen Alzheimer, kanser, diyabet ve hipertansiyon gibi hastalıkların önlenmesinde ve tedavi edilmesinde yararlı olabilmektedir. Bununla birlikte UV ışığı absorplama yeteneğinden dolayı ferulik asidin cildi koruyucu etkisi bulunmaktadır. Aynı zamanda ferulik asit gıda katkı maddesi olarak gıda sektöründe kullanılmaktadır. Bununla birlikte ferulik asit tuzu olan sodyum ferrulat da kardiovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Tuncel, 2010).

Gallik asit, güçlü bir antioksidandır. Antioksidan etkisi neredeyse tokoferollerinki kadar yüksek olup, askorbik asit gibi suda çözünen antioksidanlardan daha yüksektir. Gıda sanayinde işlenmiş gıdalarda ve lipid peroksidasyonu ve bozunmanın önlenmesi için gıda ambalaj materyallerinde kullanılmaktadır (Tuncel, 2010). Gallik asit yeşil çay olmak üzere bitkilerden ekstrakte edilebilen doğal bir antioksidandır. Gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetikte lipid peroksidasyonu ve çürümenin neden olduğu bozulmaları engellemek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte gallik asit, peroksil radikallerini süpüren fenolik bir asittir. Gallik asitin mide pH'sında antioksidan etkisi vardır. Galik asit ayrıca antifungal aktiviteye sahiptir (Yılmaz ve Toledo, 2004).

Epikateşin antioksidan, anti-obezite ve antikanserojen aktivitelere sahiptir (Yılmaz, 2010). Kateşin, insan plazmasındaki antioksidan aktiviteyi, endojen R-tokoferol ve karotenin yıkımını geciktirerek ve plazma lipidlerinin oksidasyonunu inhibe ederek gösterir (Yılmaz, 2010).

Kafeik asit ise ayçiçeği tohumlarında ve ayçekirdeğinde en fazla bulunan hidroksinnamik asittir ve bitki proteininin çözünürlüğünü oldukça fazla etkilemektedir. Ayrıca patatestede bulunur ve patatestede enzimatik esmerleşme reaksiyonundan sorumludur ve antioksidan olarak görev alır (Chen ve Ho, 1997; Strlic vd., 2002).

Kuersetin, oksidatif stresin neden olduğu hasarlara karşı hücreyi korumada reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi ve metal katyonlarının şelatlanması üzerinde etkilidir (Sakanashi vd., 2008). Doğada en bol bulunan flavonoidlerden biri olan kuersetin diyetle alınabilir. Kuersetin soğan, elma, lahana ve çayda yüksek miktarda bulunmaktadır (Yavaşer, 2011).

Sinamik asit, bitkilerde şeker, organik asit veya yağlarla birleşmiş esterleri halinde bulunur ve aralarında etkili bir dönüşüm bulunmaktadır. Meyve, sebze, çiçek, tohum, çay, kahve, zeytinyağı gibi bitki türevli ürünlerde bulunmaktadır (Herrmann, 1989). Domates gibi bazı bitki yaprakları da söz konusu fenolik bileşikler içerir ve antioksidan etkilerinden dolayı savunma sisteminin göstergesi olarak bilinmektedir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Bitki Yetiştirme Koşulları ve Stres Uygulaması

Bu çalışmada *Solanum lycopersicum* L. cv. H-2274 (Domates bitkisi) tohumları kullanılmıştır. Eskişehir Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan tohumlar, % 5 NaOCl çözeltisinde yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra steril su ile birkaç kez yıkandı ve kontrollü koşullar altında (26 °C / 22 °C gündüz gece sıcaklığı, 16/8 saat aydınlık-karanlık, 175 µmol m⁻² s⁻¹ ışık şiddeti, % 65 bağıl nem oranı) iklim kabininde (RUMED 3501) perlit içeren saksılarda yetiştirildi. Fideler düzenli olarak ½ Hoagland çözeltisi (Hoagland, Sigma H2395) ile sulandı. 4 hafta sonunda % 0, % 5, % 10 polietilen glikol (PEG 6000) içeren Hoagland solüsyonu ile bir hafta boyunca ozmotik stres uygulandı. Stres uygulamasından 3 gün öncesinden başlayarak 0 ve 0.5 mM GABA solüsyonları domates bitkilerinin yapraklarına püskürtüldü. Hasat sırasında, yapraklar sıvı azotta donduruldu ve analizlere kadar -80 °C'de saklandı.

3.2 Toplam Klorofil Analizi

Toplam klorofil içeriği spektrofotometrik olarak ölçüldü. 0, 3 g yaprak sıvı azot ile toz haline getirildi ve 5 ml % 80 aseton ile homojenize edildi. Örnekler gece boyunca karanlıkta bekletildi ve 10000 g'de 15 dakika 4 °C'de santrifüj edildi. Süpernatant, T80 + UV-VIS Spektrometre (PG Instruments) kullanılarak ölçüldü. Kontrol olarak % 80 aseton kullanıldı. Klorofil konsantrasyonları aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\text{Klorofil a + b (mg/g)} = [8.02 \times A_{663} + 20.20 \times A_{645}] \times V/1000 \times W \quad (3.1)$$

V = toplam hacim (ml); W = yaprak ağırlığı (g) (Zhang vd., 2013).

3.3 GABA Analizi

GABA analizi, HPLC (Agilent 1200) ile gerçekleştirildi. 0.2 g yaprak örnekleri, su: kloroform: metanol (3: 5: 12, v/v/v) solüsyonunda homojenize edilerek 4° C'de 10.000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant kurutuldu. Örnekler, 2-hidroksinaftaldehid (HN) ile türevlendirilerek 100 µL ultra saf su ve 150 µL Boraks tamponu (pH 8) ve 250 µL HN (metanol içinde % 0.3 w/v) içinde çözülerek 80 °C'de 30 dakika bekletildi ve oda sıcaklığında soğutuldu. 1 mL metanol eklenerek filtre (0.45 µm) edildi. Örnekler, 5 µL enjeksiyon hacmi, 1 mL dk⁻¹ akış hızı ve metanol: su mobil faz (62:38), Supelco LC18 (250x4.6 mm, 2.5 µm) kolonunda analiz edildi. Analiz 330 nm'de UV dedektör ile gerçekleştirildi. Pik yüzey alanları GABA standartlarıyla karşılaştırıldı ve GABA içeriğini belirlemek için hesaplandı (Bor vd., 2009).

3.4 Fenolik Madde Analizi

Fenolik bileşiklerin nitel ve nicel analizleri HPLC (Agilent 1200) ile analiz edildi. 0.1 g yaprak örnekleri metanol içinde homojenize edildi ve 10000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Numuneler daha sonra 0.45 µm filtrelerle filtrelendi ve 278 nm'de Supelco LC18 (250x4.6 mm, 2.5 µm) ile 20 µL enjeksiyon hacmi ve 0.8 mL dk⁻¹ akış hızı ile ayrıldı. Mobil faz olarak % 2 asetik asit ve metanol uygulandı (Caponio vd., 1999). Her örnek 90 dakika boyunca analiz edildi. Fenolik bileşikler (benzoik, kafeik, klorojenik, gallik, hidroksibenzoik, şiringik, rosmarinik, p-kumarik, sinapik, t-sinamik, t-ferulik asit, kateşin, epikateşin, hesperidin ve kuersetin) standartların alan hacimleri ile karşılaştırıldı.

3.5 Antioksidan Enzim Analizleri

0.5 g yaprak örnekleri 1 mM EDTA ve % 2 polivinilpirolidon (PVP) içeren 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.8) ile homojenize edildi. Örnekler 4 °C'de 10 dakika 12000 g'de santrifüj edildi ve süpernatantlar enzim aktivitesi ve protein içeriğinin belirlenmesi için kullanıldı. Enzim ekstraktlarının toplam çözülebilir protein içerikleri, standart olarak BSA (Bovine serum albumin) kullanılarak Bradford (1976)'a göre belirlendi. Tüm spektrofotometrik analizler, T80 + UV-VIS Spektrometresi (PG Instruments) ile gerçekleştirildi. Spesifik enzim aktivitesi birim mg⁻¹ protein olarak ifade edildi.

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) aktivitesi, Beyer ve Fridowich, (1987)'e göre belirlendi. Tepkime karışımı potasyum fosfat tamponu (pH 8, 0.1 mM EDTA), enzim ekstraktı, 12 mM L-metiyonin, 75 µM nitroblue tetrazolyum (NBT) ve 2 µM riboflavin içermektedir. Reaksiyon karışımı, 25 °C'de 10 dakika boyunca florasan ışığı altında tutuldu. Bir birim SOD aktivitesi, NBT'nin % 50 inhibisyonuna neden olan miktar olarak tanımlandı ve spesifik enzim aktivitesi mg⁻¹ protein olarak ifade edildi.

Katalaz (KAT; EC 1.11.1.6) aktivitesi, Bergmeyer (1970)'e göre 240 nm'de H₂O₂'nin azalma oranına göre analiz edildi. Reaksiyon karışımı 0.05 M sodyum fosfat tamponu (pH 7.0, 0.1 mM EDTA ile) ve % 3 H₂O₂ olarak hazırlandı. Bir ünite KAT enzimi 1 µmol H₂O₂ azalmasına göre hesaplandı.

APX aktivitesi (APX; EC 1.11.1.11) Nakano ve Asada, (1981)'e göre 290 nm'de ölçüldü. Reaksiyon karışımı, potasyum fosfat tamponu (50 mM, pH 7.8), Na-askorbat (0.5 mM) ve örnek ekstresi içermektedir. Reaksiyon, 150 µL hidrojen peroksit eklenerek başlatıldı. Oksitlenmiş askorbat konsantrasyonu 2.8 mM⁻¹ cm⁻¹ tükenme katsayısı kullanılarak belirlendi. APX aktivitesinin bir birimi, dakika başına µmol mL⁻¹ olarak hesaplandı.

Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) aktivitesi Carlberg ve Mannervik, (1985)'e göre 340 nm'de NADPH₂'nin oksidasyonunu izleyerek analiz edilmiştir. Reaksiyon hacmi, 1.5 mL potasyum fosfat tamponu (0.1 M, pH 7), 150 µL GSSG (20 mM), 200 µL örnek, 1 mL ultra saf su ve 150 µL NADPH₂ içermektedir.

3.6 Malondialdehit Analizi

Lipit peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) miktarının ölçülmesi ile belirlendi (Karabal vd., 2003). 0.2 g yaprak dokusu, 1 mL % 5 trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi içinde homojenize edildi. Homojenatlar oda sıcaklığında 15 dakika boyunca 12000 rpm'de santrifüj edildi. % 20 (w/v) TCA çözeltisi içinde eşit miktarda süpernatant ve % 0.5 (w/v) tiobarbitürik asit (TBA) ilave edildi ve 25 dakika boyunca 96 °C'de inkübe edildi. Tüpler daha sonra buz banyosuna aktarıldı ve daha sonra 10000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatanın absorbansı 532 ve 600 nm'de ölçüldü. Kör olarak % 20 TCA solüsyonunda % 0.5 TBA kullanıldı. MDA içeriği 155 mM⁻¹ cm⁻¹ tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı.

3.7 İstatistiksel Analiz

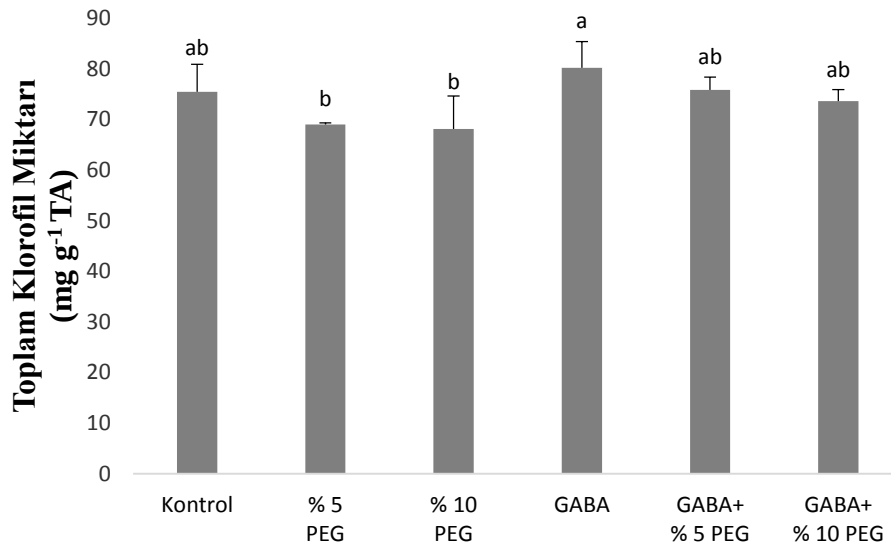
Tek yönlü varyans analizi ANOVA, ekzojen GABA uygulamasının etkilerini belirlemek için kullanıldı. Uygulamalar ile kontrol bitkileri arasındaki farklılıklar, $p<0.05$ 'de en düşük fark (LSD) testi ile karşılaştırıldı.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Toplam Klorofil Miktarı

Stres koşulları ve GABA uygulamalarında *Solanum lycopersicum* bitkisinin yapraklarındaki toplam klorofil miktarı Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki toplam klorofil miktarı.

Şekil 4.1 incelendiğinde toplam klorofil içeriği en yüksek olarak ekzojen GABA uygulamasında gözlemlendi. PEG ile indüklenen ozmotik stres altında toplam klorofil içeriği kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında % 8.9 oranında azaldı. Bununla birlikte, GABA uygulaması kontrol grubuna göre toplam klorofil içeriğini % 6 oranında artırdı. Buna ek olarak, GABA uygulamasının PEG ile indüklenen ozmotik stres altında toplam klorofil içeriği üzerinde olumlu etkisi olduğu gözlemlendi. Sonuçlar kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında PEG uygulamasının toplam klorofil içeriğini indirmediği, fakat GABA ve GABA + PEG uygulamalarının toplam klorofil içeriğinde indirgeme olmadığı belirlendi.

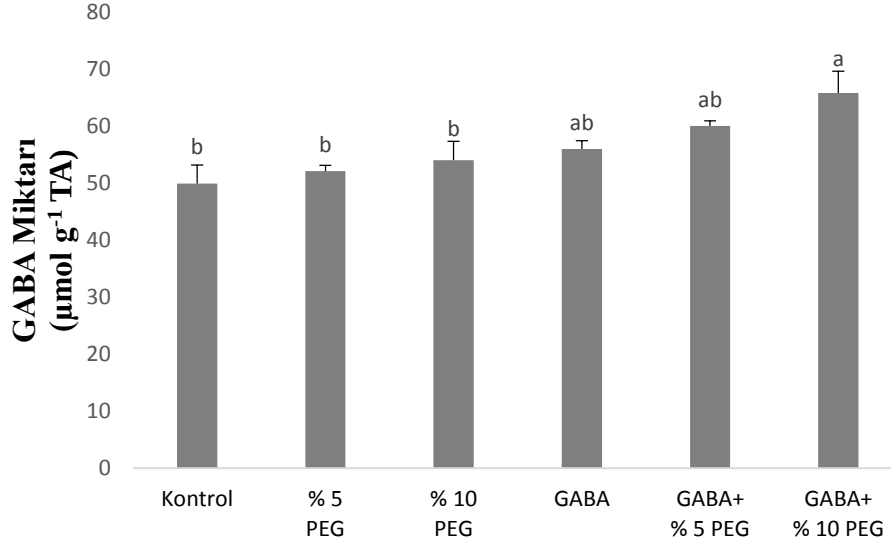
Tuz ve kuraklık gibi stres koşulları fotosentezi sınırlayan önemli etkilere sahiptir. *Triticum aestivum* L. (buğday) bitkisinde tuz konsantrasyonuna bağlı olarak klorofil miktarında azalma olduğu (Al-Quraan vd., 2013), benzer şekilde kuraklık stresinde *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) bitkilerinde toplam klorofil içeriğinde inhibisyon olduğu belirtilmiştir (Terzi vd., 2010).

Triticum aestivum L. (buğday) ile yapılan diğer bir çalışmada ise GABA uygulamasının tuz stresinde klorofil miktarı üzerine olumlu etkisinin olduğu belirtilmiştir. Ekzojen GABA uygulamasının fotosentetik kapasite ve antioksidan enzim aktivitelerini kısmen arttırdığı da belirtilmiştir (Li vd., 2016a).

Capsicum annuum L. (biber) bitkisi ile yapılan bir çalışmada ise GABA uygulamasının düşük ışık stresi altında fotosentez hızını arttırdığı bildirilmiştir (Li vd., 2017a). *Prunus* ile yapılan bir çalışmada ise oksijen yetersizliği stresinde, GABA uygulamasının klorofil miktarının korunmasında etkili olduğu vurgulanmıştır (Salvatierra vd., 2016). *Zea mays* L. (mısır) bitkisinde de benzer şekilde ekzojen GABA uygulamasının fide büyümesini geliştirdiği net fotosentezi olumlu şekilde etkilediği belirtilmiştir (Li vd., 2016b). Çalışmamızda da GABA uygulamasının domates bitkilerinin yapraklarındaki toplam klorofil içeriğini arttırdığı belirlenmiştir. Bu nedenle, GABA uygulamasının fotosentezi artırmada yardımcı olabileceği söylenebilir.

4.2 Endojen GABA Miktarı

Stres koşulları ve GABA uygulamalarında *Solanum lycopersicum* bitkisinin GABA içeriği Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki GABA miktarı.

% 10 PEG uygulamasında GABA içeriği, kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında % 3 olarak artış gözlemlendi. Bununla birlikte ekzojen GABA uygulaması, endojen GABA miktarını kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında % 7 olarak ve PEG uygulamalarına göre daha fazla artırdığı gözlemlendi. GABA + PEG uygulamalarında ise GABA miktarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı belirlendi. GABA + % 5 PEG uygulamasında endojen GABA miktarını %15 artırdığı gözlemlendi. En yüksek GABA miktarı GABA + % 10 PEG uygulamasında (% 26) belirlendi.

Ekzojen GABA uygulamasının endojen GABA seviyesini artırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Wang vd., 2014; Salvatierra vd., 2016). Çalışmamızda da benzer şekilde ekzojen olarak uygulanan GABA, endojen GABA miktarını kontrol bitkilerine göre belirgin düzeyde artırdığı gözlemlendi. Wang vd., (2017) tuz stresinde GABA'nın reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine ve membran hasarına karşı korunmada olumlu ve iyileştirici etkisinin var olduğunu vurgulamıştır. Li vd., (2017) benzer şekilde ekzojen GABA uygulamasının stres durumunda antioksidan savunma sistemini aktive ederek daha düşük MDA içeriğine neden olduğu ve bu nedenle GABA'nın savunma mekanizmasının geliştirilmesine yardımcı olabileceği ve stres koşullarının zararlı etkilerini hafifletebileceğini bildirmiştir. Bu çalışmalar bulgularımız ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda ekzojen olarak uygulanan GABA, endojen GABA miktarını artırarak bir sinyal yolağını başlatmış olabilir ve daha düşük MDA miktarına neden olmuş olabilir.

Ekzojen GABA uygulaması ile *Hordeum vulgare* L. (arpa) bitkisinde iyon toksisitesinin neden olduğu kök uzamasının inhibisyonunun önemli derecede azaldığı ve antioksidan savunma yanıtlarının aktive edilerek ROT'un zararlı etkilerinin azaldığı böylece oksidatif stresin etkilerinin hafifletilebileceği belirtilmiştir (Song vd., 2010). Li vd., (2016) *Agrostis stolonifera* L. bitkisinde ekzojen GABA uygulaması ile fotosentez, askorbat-glutasyon döngüsünün indüklenmesi, ozmotik ayarlamaların sürdürülmesi ve GABA yolağının düzenlenmesi ile bazı amino asit ve organik asitlerin sentezinde artışa neden olarak sıcaklık toleransının arttığını belirtmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde ekzojen GABA uygulaması stres sırasında ROT'un zararlı etkilerini hafifletmiş olabilir. Bu çalışmalar, ekzojen GABA'nın bitkilerdeki strese verilen yanıtı güçlendirebileceğini göstermektedir (Kinnersley ve Lin, 2000).

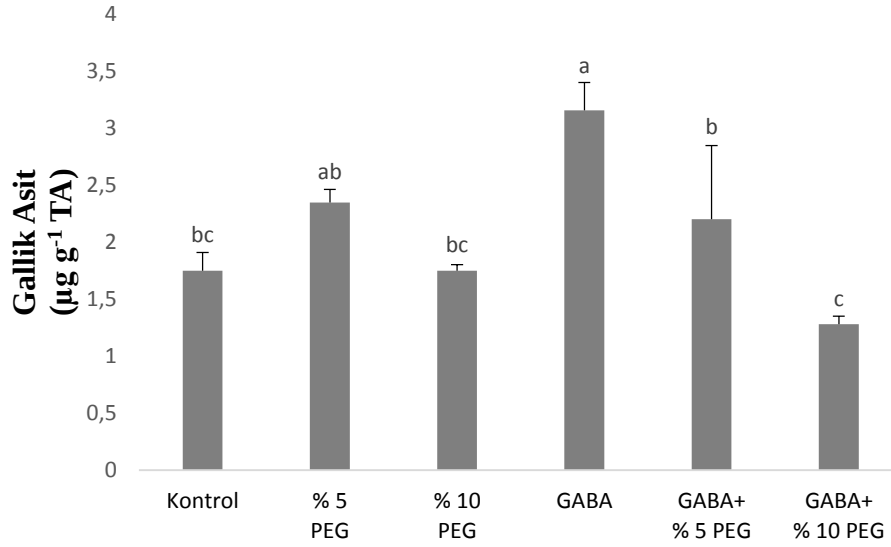
GABA bitkilerde hücre ölümünü engeller ve büyümeyi geliştirir (Fait vd., 2005). *Citrus* bitkileri ile yapılan bir çalışmada, ekzojen GABA uygulamasının antioksidan enzim aktivitesi ve endojen GABA miktarını artırarak meyvede çürümeyi azalttığı ve hasat sonrası kalitenin korunması, depolama süresinin artırılabilmesi için etkili bir uygulama olabileceği vurgulanmıştır (Sheng vd., 2017). *Prunus persica* L. (şeftali) meyvesinde de GABA uygulamasının prolin ve endojen GABA birikimine neden olarak soğuk stresin hasarlarını hafifletebilen faydalı bir uygulama olabileceği ve soğuğa toleransın artabileceği vurgulanmıştır (Shang vd., 2011). *Oryza sativa* L. (pirinç) bitkisinde de benzer şekilde soğuk stresine karşı membran bütünlüğünün korunmasında etkili olabileceği belirtilmiştir (Jia vd., 2017). *Cassia italica* (Mill.) Speg.'da tuz stresinin olumsuz etkilerinin ekzojen GABA uygulamasıyla hafifletilebileceği vurgulanmıştır (Alqarawi vd., 2016). Kesme çiçeklerle yapılan bir çalışmada ise, GABA uygulandığında GABA yolağının aktive olarak endojen GABA miktarının arttığı ve vazo ömrünün uzadığı bildirilmiştir (Aghdam vd., 2016).

Ekzojen GABA uygulaması gıda sektöründe olumlu etkilerinden dolayı önerilmektedir. GABA uygulaması ile *Amygdalus persica* L. (şeftali) meyvelerinde soğuğa toleransın artabileceği (Shang vd., 2011), *Nicotiana sylvestris* Speg. (tütün) bitkisinde tuz toleransının (Akçay vd., 2012) *Lolium perenne* L.'de ise kuraklık toleransının (Krishnan vd., 2013) artabileceği belirtilmiştir. GABA'nın strese karşı olumlu etkilerinin yanında son yıllarda GABA'nın bitkilerde bir hücre içi sinyal molekülü olarak işlev görebileceği hakkında destekleyici çalışmalar bulunmaktadır

(Ramesh vd., 2017). Bu nedenle özellikle stres sırasında GABA'nın sinyal rolü hakkındaki etki mekanizmaların araştırılması önem taşımaktadır.

4.3 Fenolik Madde Miktarı

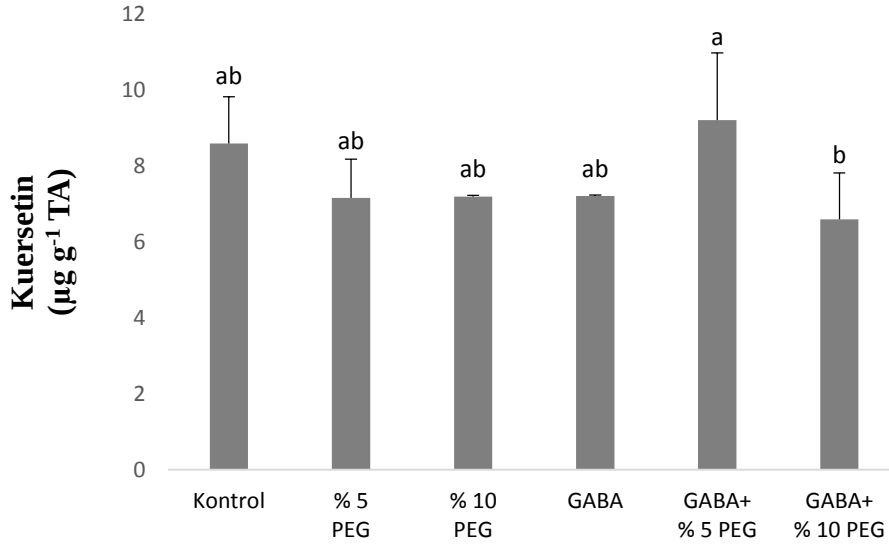
Stres koşulları ve GABA uygulamalarında *Solanum lycopersicum* bitkisinin yapraklarındaki gallik asit miktarı Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.3: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki gallik asit içeriği.

Gallik asit miktarının, % 5 PEG uygulamasında kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında belirgin düzeyde arttığı (% 34) gözlemlendi. En yüksek gallik asit miktarı GABA uygulamasında kontrol grubuna göre % 80 artmış olarak belirlendi (Şekil 4.3). Bununla birlikte, GABA + PEG uygulamaları gallik asit miktarını GABA uygulamasına göre belirgin düzeyde artırmadığı gözlemlendi. GABA + % 10 PEG uygulamasında ise gallik asit miktarının kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında azaldığı belirlendi. GABA uygulamasının gallik asit içeriğini % 80 oranında artırma etkisinin olması bitki savunma sisteminin indüklenmesi açısından önemli bir işarettir. Bununla birlikte GABA + PEG uygulamaları kontrol bitkilerine göre gallik asit miktarını düşürdüğü gözlemlendi.

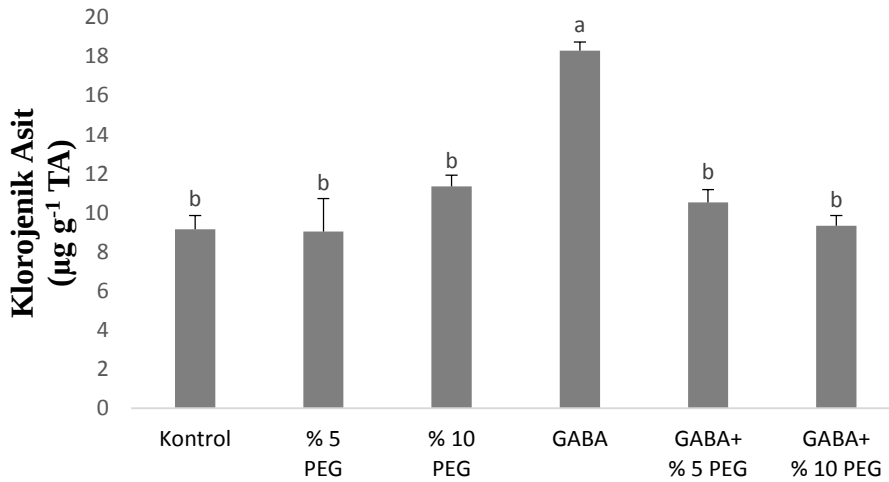
Stres koşulları ve GABA uygulamalarında *Solanum lycopersicum* bitkisinin yapraklarındaki kuersetin miktarı Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki kuersetin içeriği.

En yüksek kuersetin içeriği GABA + % 5 PEG uygulamasında bulunmuş olup kontrol grubuna göre % 7 oranında bir artış gözlemlendi. Diğer uygulamalar kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında kuersetin içeriğini azalttığı belirlendi. Bununla birlikte GABA + % 10 PEG uygulamasının kuersetin miktarını kontrol grubuna göre önemli ölçüde (% 23) azalttığı gözlemlendi.

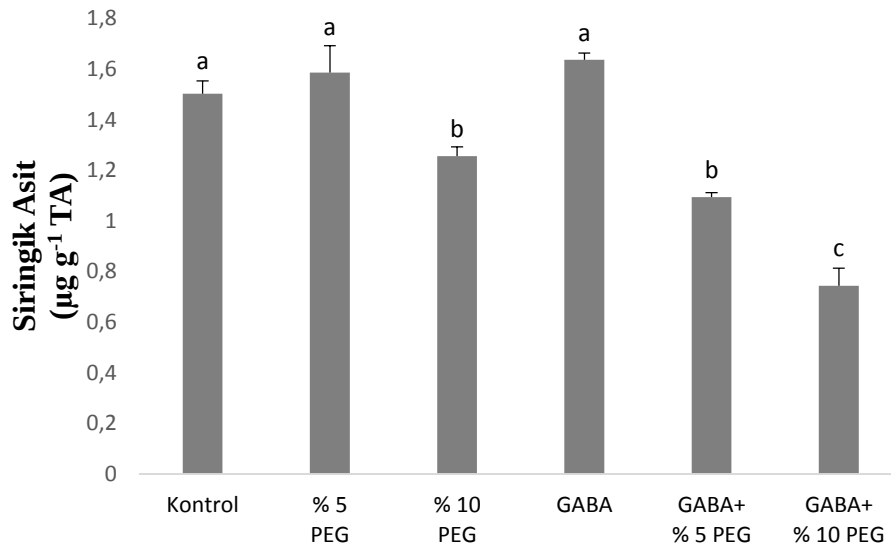
Stres koşulları ve GABA uygulamalarında *Solanum lycopersicum* bitkisinin yapraklarındaki klorojenik asit miktarı Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki klorojenik asit içeriği.

Domates bitkisinin yapraklarındaki klorojenik asit miktarı Şekil 4.5’de özetlenmiştir. Klorojenik asit içeriği, kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında ekzojen GABA uygulaması ile kontrol grubuna göre belirgin düzeyde (% 99) indüklendi. % 10 PEG (% 23) ve GABA + % 5 PEG (% 14) uygulamaları klorojenik asit içeriğini artırmış fakat kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında ekzojen GABA uygulamasındaki kadar önemli ölçüde arttırmadığı belirlendi. Uygulama grupları arasında GABA uygulaması hariç istatistiksel olarak belirgin düzeyde fark gözlenmedi.

Stres koşulları ve GABA uygulamalarında *Solanum lycopersicum* bitkisinin yapraklarındaki siringik asit miktarı Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki siringik asit içeriği.

En yüksek siringik asit içeriği GABA uygulamasında gözlenmiştir, kontrol grubuna göre % 8 olarak daha yüksektir (Şekil 4.6). % 5 PEG uygulamasının siringik asit miktarını kontrol grubuna göre % 5 oranında artırdığı gözlemlendi. Bununla birlikte, % 10'luk PEG uygulaması ve PEG + GABA uygulamaları, kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında siringik asit içeriğini belirgin düzeyde azalttığı belirlendi. En düşük siringik asit içeriği, GABA + % 10 PEG uygulamasında (% 50 azalma) gözlemlendi. GABA uygulamasının siringik asiti artırdığı, bununla birlikte GABA+PEG uygulamasında siringik asit miktarının önemli ölçüde azaldığı belirlendi.

Peroksil radikal süpürme aktiviteleri ve fenolik bileşiklerin antioksidan potansiyeli birçok çalışma tarafından rapor edilmiştir (Yılmaz ve Toledo, 2004; Gülçin, 2006). Buna ek olarak, stres koşulları altında bir sinyal iletim yolunun başlayabildiği ve

çeşitli biyotik ve abiyotik stres koşulları altında fenolik bileşiklerin birikiminin bitki savunma mekanizmasının göstergesi olabileceği bildirilmiştir (Beimen vd., 1992; Cheynier vd., 2013; Pane vd., 2017). Bitki fenolikleri bitki büyüme hormonu oksin ile de ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, önemli bir stres sinyal molekülü olan GABA ile fenolik maddeler arasındaki ilişki hakkında henüz tam olarak bir bilgi bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, ekzojen GABA uygulaması, kontrol gruplarına kıyasla gallik asit, klorojenik asit ve siringik asit içeriğini indükledi, ancak bu koşullar altında kuersetin içeriğinde bir artış gözlenmedi. Önceki yapılan bir çalışmada savunma stratejisi olarak domates yapraklarında abiyotik stres ile klorojenik, kumarik, ferulik ve özellikle kafeik asit gibi bazı fenolik bileşiklerin arttığı bildirilmiştir (Beimen vd., 1992). Alsharafa (2017), fenolik bileşiklerin ve MDA'nın, mineral eksikliği koşulları altında domates yapraklarında erken sinyal metabolitleri olarak rol oynayabileceğini belirtmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, ekzojen GABA uygulamasının bu sinyal metabolizmasını indükleyebileceği ve stres koşullarının zararlı etkilerini azaltabileceği söylenebilir.

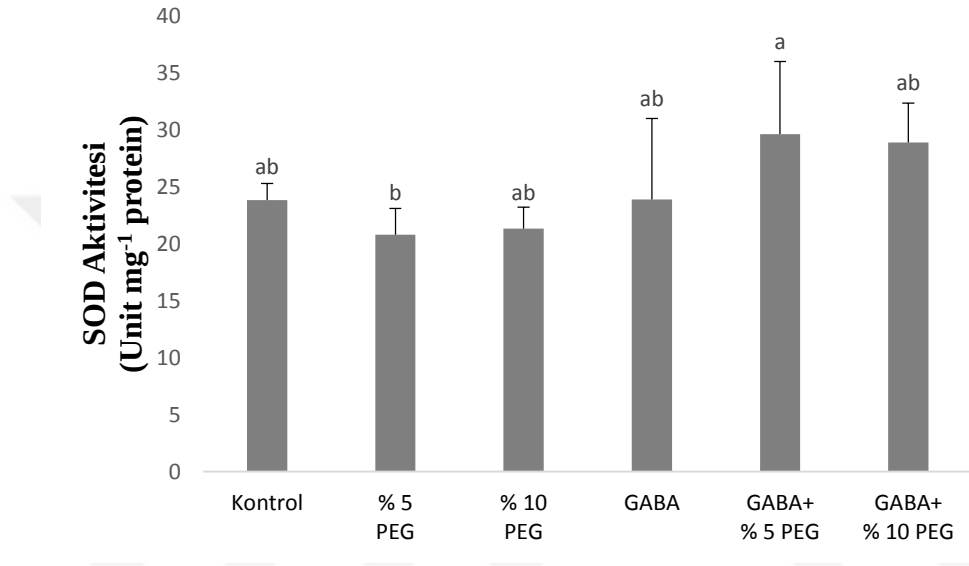
Domates yaprakları yüksek oranda sekonder metabolitleri içerdiklerinden dolayı antioksidanlar için ham madde olarak önerilmektedir (Kim vd., 2014; Figueiredo-González vd., 2016). Yapraklardaki gallik asit, süperoksit anyonların temizlenmesindeki etkisinden dolayı bir antioksidan görevi görebilir (Kroes vd., 1992). Bu nedenle, GABA uygulaması ile domates yapraklarındaki gallik asit miktarındaki artış, savunma mekanizmasını geliştirmek için olumlu etki gösterebilir. Bununla birlikte GABA + PEG uygulamasında, GABA'nın etkisi yüksek düzeyde olmamıştır. Bu nedenle çevresel stres koşullarında ekzojen GABA'nın fenolik bileşikler üzerindeki etkilerini belirlemek için daha fazla analiz yapılmalıdır.

4.4 Antioksidan Enzim Aktivitesi

4.4.1 SOD aktivitesi

Domates bitkisinin yapraklarındaki SOD aktivitesinin GABA + PEG uygulamalarında kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında indüklendiği gözlemlendi. Fakat ekzojen GABA uygulamasının SOD aktivitesini kontrol grubuna göre belirgin düzeyde indüklediği belirlendi. SOD aktivitesinde GABA + % 5 PEG uygulaması

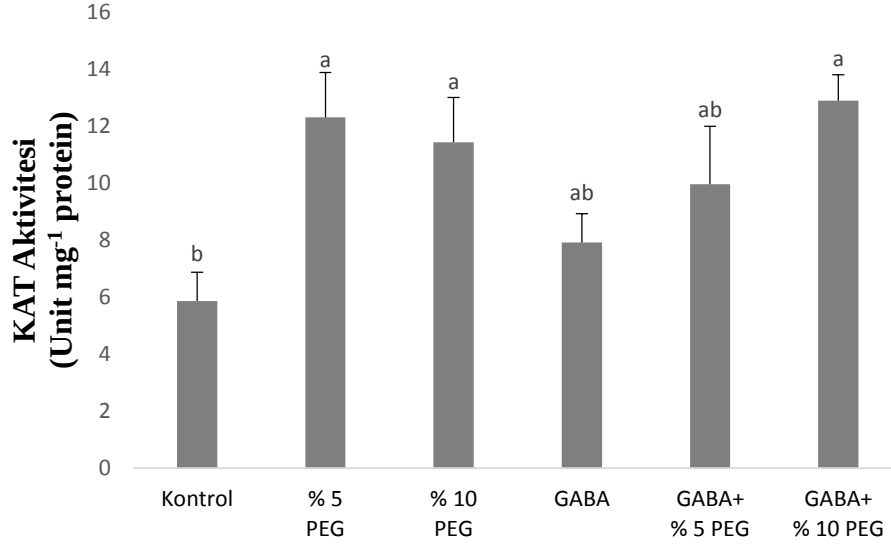
kontrol grubuna göre belirgin bir artışa (% 24) neden olduğu, % 5 PEG, % 10 PEG uygulamaları SOD aktivitesinde belirgin bir değişim göstermediği ve çok az miktarda (% 10) azalma olduğu gözlemlendi. GABA + % 10 PEG uygulaması SOD aktivitesini kontrol grubuna göre % 21 artırdığı belirlendi (Şekil 4.7). Bulgularımız kontrol bitkilerine göre sadece PEG uygulamalarında SOD aktivitesinde % 10-12 oranında bir azalmaya, GABA + PEG uygulamalarında % 21-24'lük bir artışa ve tek GABA uygulamasında ise belirgin bir değişime rastlanmadığını göstermektedir.



Şekil 4.7: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki SOD aktivitesi.

4.4.2 KAT aktivitesi

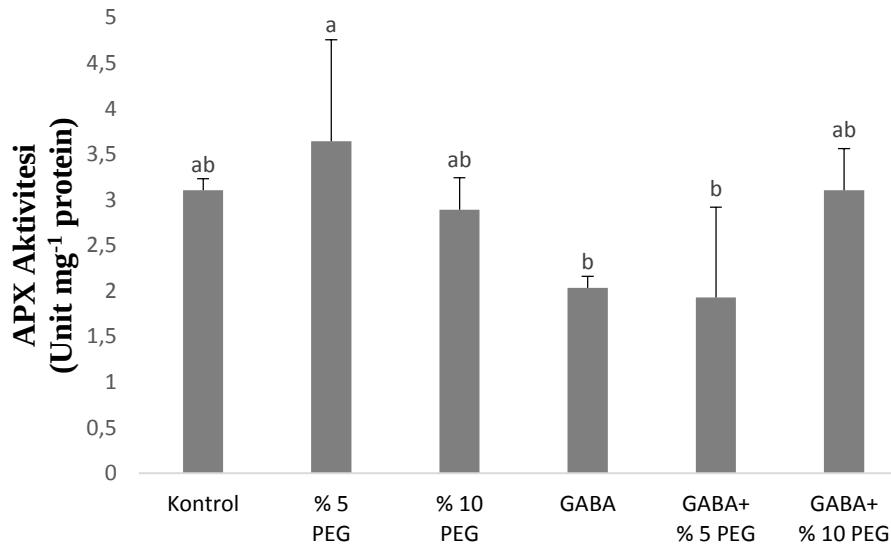
Domates bitkisinin yapraklarındaki KAT aktivitesinin tek ve/veya kombine PEG + GABA uygulamalarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde indüklendiği belirlendi (Şekil 4.8). % 5 PEG uygulamasında % 109, % 10 PEG uygulamasında % 94 oranında aktivitede artış gözlemlendi. En yüksek KAT aktivitesi, GABA + % 10 PEG uygulamasında (% 120) bulundu. Sonuç olarak, PEG stresi ve GABA uygulaması KAT aktivitesini kontrol grubuna göre belirgin düzeyde artırmıştır.



Şekil 4.8: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki KAT aktivitesi.

4.4.3 APX aktivitesi

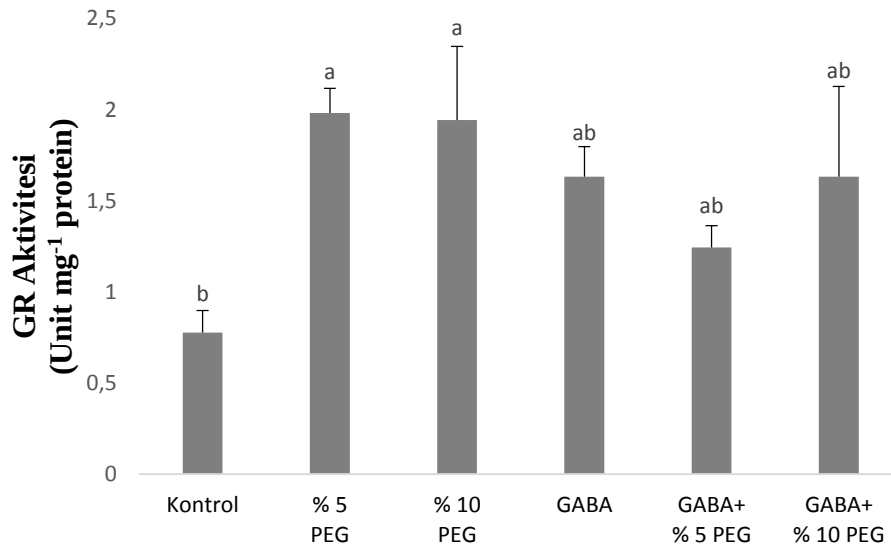
Domates bitkisinin yapraklarındaki APX aktivitesi, kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında PEG ve GABA uygulamaları ile indüklenmediği gözlemlendi. Sadece % 5 PEG uygulaması, APX aktivitesinde % 17 oranında hafif bir artışa neden olduğu belirlendi. Bununla birlikte, sadece ekzojen GABA uygulaması, kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında GABA içeriğini önemli ölçüde % 34 ve GABA + % 5 PEG’ de % 37 oranında azalttığı belirlendi (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki APX aktivitesi.

4.4.4 GR aktivitesi

PEG ve PEG + GABA uygulamalarında domates bitkisinin yapraklarındaki GR aktivitesinin, kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında önemli ölçüde indüklediği gözlemlendi. PEG uygulaması GR aktivitesini diğer uygulamalardan daha fazla (% 155) arttırdığı belirlendi. GABA uygulamasında kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında GR aktivitesini de önemli ölçüde artırdığı (% 110) gözlemlendi (Şekil 4.10). Sonuç olarak PEG ve GABA uygulamaları ve GABA + PEG uygulamalarının kontrol bitkilerine göre GR aktivitesini artırdığı belirlendi.



Şekil 4.10: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki GR aktivitesi.

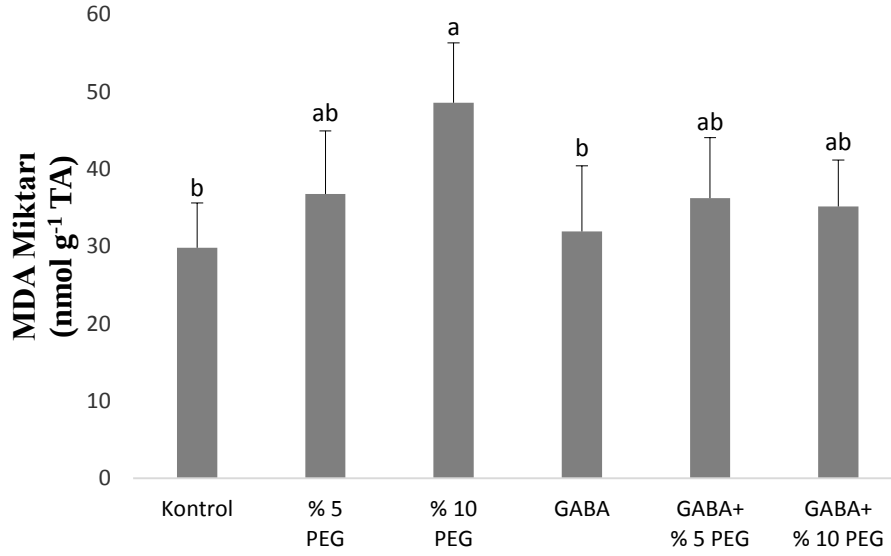
Buğday ile yapılan bir çalışmada 0.5 mM ekzojen GABA uygulaması ile antioksidan enzim aktiviteleri ve fotosentetik aktivitenin arttığı, MDA miktarının azaldığı, bu nedenle GABA'nın tuz stresinin buğday fideleri üzerindeki zararlı etkilerini azaltabileceği vurgulanmıştır (Li vd., 2016). Çalışmamızda, ekzojen GABA uygulamasının özellikle KAT ve GR aktivitelerini indüklediği gözlemlendi. Ayrıca PEG + GABA uygulaması SOD aktivitesini tekli stresten daha fazla artırdığı, bu artışın GABA uygulamasından dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Biber bitkisinde ozmotik stres altında GABA uygulamasının antioksidan enzimlerin aktivitesi ve toplam şeker seviyelerini artırarak stres toleransını artırdığı belirtilmiştir (Vijayakumari ve Puthur, 2016). Bununla birlikte çalışmamızda % 10 PEG, SOD aktivitesinin artmasına neden olurken, GABA + PEG, tek PEG uygulamasından daha fazla SOD aktivitesini artırdığı gözlemlendi. Tuz stresine maruz

bırakılan *Cassia italica*'da GABA uygulaması, SOD, KAT, GR ve APX aktivitelerini arttırarak tuz stresi ile indüklenen lipid peroksidasyonunu azalttığı ve tuz stresinin zararlı etkilerinin ekzojen GABA ile düzenlenebileceği bildirilmiştir (Alqarawi vd., 2016). Çalışmamızda da benzer şekilde GABA uygulaması antioksidan enzim aktivitelerini düzenlediği görülmektedir. Fasulye genotipleri ile yapılan bir çalışmada kuraklık toleranslılığın indüklenen antioksidan savunma sistemi ile reaktif oksijen türlerinin süpürülmesi ile ilgili olduğu vurgulanmıştır (Terzi vd., 2010). Benzer şekilde arpa bitkisinde GABA uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı ve iyon toksisitesinin azaltılarak malondialdehit konsantrasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Song vd., 2010). GABA uygulamasının, reaktif oksijen türlerinin birikiminin azaltılması üzerinde de etkili olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmalar elde ettiğimiz bulgular ile paralellik göstermektedir.

4.5 Malondialdehit (MDA) Miktarı

PEG ile indüklenen ozmotik stres uygulamaları, kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında MDA içeriğini önemli ölçüde arttırdı. En yüksek MDA içeriği, % 10'luk PEG uygulamasında (% 62) bulundu. GABA uygulaması, kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında MDA içeriğini arttırmadığı belirlendi. GABA + PEG ile indüklenen ozmotik stres aynı zamanda MDA içeriğini kontrol grubuna göre (% 17-21) arttırdı, ancak bu koşullar altında MDA içeriği, PEG ile indüklenen ozmotik stres uygulamalarına göre daha düşük olarak belirlendi. Sonuçlarımız tekli GABA uygulamasında % 7'lik bir artış olduğunu, ancak PEG uygulamalarında bu artışın çok daha belirgin % 62'lik düzeylere kadar çıkabildiğini gösterdi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: *Solanum lycopersicum* yapraklarındaki MDA miktarı.

Malondialdehit oluşumu hücre zarlarında lipid peroksidasyonunun belirteçidir. Kuraklık, bitki gelişimini etkileyen en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir (Mirzaee vd., 2013). Kuraklık stresinin birçok bitkide MDA miktarını artırıp lipid peroksidasyonuna neden olduğu belirtilmiştir (Terzi vd., 2010). *Brassica napus* L. ile yapılan bir çalışmada PEG uygulaması sonucu MDA miktarının arttığı ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun arttığı bildirilmiştir (Mirzaee vd., 2013). Çalışmamızda en yüksek MDA miktarı ozmotik strese neden olan PEG uygulamasında gözlemlendi. GABA uygulamasının kontrol bitkileri ile kıyaslandığında MDA'ı artırmadığı gözlemlendi.

Tuz stresinin *Triticum aestivum* (buğday)'da MDA'ı artırdığı fakat GABA uygulamasının MDA'nın belirgin düzeyde artmasına neden olmadığı ve GABA uygulamasının oksidatif stresi önleyici etkisinin olabileceği fakat yüksek konsantrasyonda bu olumlu etkinin yeterli düzeyde olmadığı vurgulanmıştır (Li vd., 2016). Benzer şekilde *Cassia italica*'da tuz stresinin MDA miktarını artırdığı, fakat GABA'nın MDA miktarını azaltıcı ve lipid peroksidasyonunu hafifletici etkisi olduğu vurgulanmıştır (Alqarawi vd., 2016). Li vd., (2016), *Capsicum annuum* bitkisinde ekzojen GABA uygulamasının düşük ışık stres durumunda daha düşük MDA içeriğine neden olduğu ve bu nedenle GABA'nın savunma mekanizmasının geliştirilmesine yardımcı olabileceği ve stres koşullarının zararlı etkilerini

hafifletebileceği bildirilmiştir. Bu alışmalar GABA'nın stres koşullarında iyileştirici etkilerinin gözlendiği çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

Bununla birlikte, ekzojen GABA uygulamasının meyve kalitesinin korunmasında etkili olduğu belirtilmiştir. Muz meyvesi ile yapılan bir çalışmada GABA uygulamasının MDA içeriğini artırmazken, toplam fenolik ve prolin birikimini indükleyerek meyvenin kalitesinin artmasında etkili olduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2014).



SONUÇ ve ÖNERİLER

Solanum lycopersicon (Domates) bitkisinde ekzojen GABA uygulamasının,

- Klorofil miktarını artırdığı belirlenmiştir.
- Ozmotik stres koşullarında klorofil miktarında olumlu etkisi tespit edilmiştir.
- Ozmotik stres koşullarında lipid peroksidasyonunu indirgeme etkisi belirlenmiştir.
- Endojen GABA miktarına artırıcı etkisi gözlenmiştir.
- Antioksidan enzimlerden SOD, KAT ve GR aktivitesini artırma etkisi belirlenmiştir.
- Fenolik bileşiklerden galik asit, klorojenik asit ve siringik asit miktarını artırma etkisi tespit edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ekzojen GABA uygulamasının normal koşulda ve ozmotik stres koşulu altında bitki metabolizmasını koruyucu etkisi bulunmaktadır.

Ekzojen GABA uygulamasının, klorofil miktarında artırıcı etkisinden dolayı bitki verimliliğine olumlu etkisinin olacağı ve bu konuda uygulamaların yapılması önerilmektedir.

Ekzojen GABA uygulamasının, özellikle savunma sistemini indüklediği için kuraklık stresinin neden olabileceği hasarları azaltabileceği söylenebilir.

Bu nedenle özellikle domates bitkisi gibi stres koşullarına kısmen hassas bitkilerde ekzojen GABA uygulanması bitki metabolizması üzerinde önemli etkilere sahiptir ve ozmotik stres etkilerini azaltmak için ve strese verilen cevabın artırılabilmesi için önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Abdou, A.M., Higashiguchi, S., Horie, K., Kim, M., Hatta, H. ve Yokogoshi, H., 2006. Relaxation and immunity enhancement effects of gammaaminobutyric acid (GABA) administration in humans, *Biofactors*, 26, 201-208.
- Aghdam, M.S., Naderi, R., Jannatizadeh, A., Babalar, M., Sarcheshmeh, M.A.A. ve Faradonbe, M. Z., 2016. Impact of exogenous GABA treatments on endogenous GABA metabolism in anthurium cut flowers in response to postharvest chilling temperature, *Plant Physiology and Biochemistry*, 106, 11-15.
- Akama K. ve Takaiwa F., 2007. C-terminal extension of rice glutamate decarboxylase (OsGAD2) functions as an autoinhibitory domain and overexpression of a truncated mutant results in the accumulation of extremely high levels of GABA in plant cells, *Journal of Experimental Botany*, 58, 2699-2707.
- Akçay, N., 2010. Tütün bitkisinde Gaba-stres ilişkisinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, EÜ., Fen Bilimleri Enstitüsü , İzmir.
- Akçay, N., Bor, M., Karabudak, T., Özdemir, F. ve Türkan, İ., 2012. Contribution of gamma amino butyric acid (GABA) to salt stress responses of *Nicotiana sylvestris* CMSII mutant and wild type plants, *Journal of Plant Physiology*, 169, 452-458.
- Akihiro, T., Koike, S., Tani, R., Tominaga, T., Watanabe, S., Iijima, Y. ve Ezura, H., 2008. Biochemical mechanism on GABA accumulation during fruit development in tomato, *Plant and Cell Physiology*, 49, 9, 1378-1389.
- Alsharafa, K.Y., 2017. Mineral deficiencies influence on tomato leaves: pigments, hydrogen peroxide and total phenolic compounds contents, *Plant Omics*, 10, 2, 78-87.
- Alqarawi, A.A., Hashem, A., Fathi, E., Allah, A., Al-huqail, A.A., Alshahrani, T.S. ve Egamberdieva, D., 2016. Protective role of gamma amminobutyric acid on *Cassia italica* Mill under salt stress, *Legume Research*, 39, 3, 396-404.
- Al-quraan, N.A., Sartawe, F.A. ve Qaryouti, M.M., 2013. Characterization of γ -aminobutyric acid metabolism and oxidative damage in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under salt and osmotic stress, *Journal of Plant Physiology*, 170, 11, 1003-1009.
- Arnon, D. I., 1949. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta Vulgaris*, *Plant Physiology*, 24, 1, 1-15.

- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99, 1, 191-203.
- Baum, G., Chen, Y., Arazi, T., Takatsuji, H. ve Fromm, H., 1993. A plant glutamate decarboxylase containing a calmodulin binding domain. Cloning, sequence, and functional analysis, *Journal of Biological Chemistry*, 268, 26, 19610-19617.
- Beimen, A., Barz, W., Bermpohl, A., Meletzus, D. ve Eichenlaub, R., 1992. Accumulation of phenolic compounds in leaves of tomato plants after infection with *clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* strains differing in virulence, *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 47, 11-12, 898-909.
- Bergmeyer, N., 1970. *Methoden der enzymatischen analyse*, Vol 1, Akademie Verlag, Berlin, Germany.
- Beyer, W.F. ve Fridowich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions, *Analytical Biochemistry*, 161, 559-566.
- Blokhina, O., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a Review, *Annals of Botany*, 91, 179-194.
- Bor, M., Seckin, B., Ozgur, R., Yılmaz, O., Ozdemir, F. ve 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, 3, 655-659.
- Bouché, N. ve Fromm, H., 2004. GABA in plants: Just a metabolite?, *Trends in Plant Science*, 9, 3, 110-115.
- Bown, A.W. ve Shelp, B.J., 1997. The Metabolism and Functions of [gamma]-Aminobutyric Acid, *Plant Physiology*, 115, 1, 1-5.
- 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.
- Budak, N.H., 2015. Dut sirkesi oluşum sürecinde ileri analitik tekniklerle toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşenleri, *Meyve Bilimi*, 2, 2, 27-31.
- Büyük, İ., 2012. Molecular responses of plants to stress conditions, *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology* 69, 2, 97-110.
- Caponio, F., Alloggio, V. ve Gomes, T., 1999. Phenolic compounds of virgin olive oil: Influence of paste preparation techniques, *Food Chemistry*, 64, 2, 203-209.
- Carlberg, I. ve Mannervik, B., 1985. Glutathione reductase, *Methods in Enzymology*, 113, 484-490.

- Chen, J.H. ve Ho, C.T., 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 7, 2374-2378.
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V.ve Martens, S., 2013. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology, *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1-20.
- Deleu, C., Faes, P., Niogret, M.F. ve Bouchereau, A., 2013. Effects of the inhibitor of the γ -aminobutyrate-transaminase, vinyl- γ -aminobutyrate, on development and nitrogen metabolism in *Brassica napus* seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 64, 60-69.
- Elements, N., 2016. Prohexadione-Ca The Effects of Prohexadione-Ca Treatments on Plant Growth, *Nutrient Elements*, 26, 1, 98-105.
- Ezura, H., 2015. How and why does tomato accumulate a large amount of GABA in the fruit ?, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-7.
- Fait, A., Yellin, A. ve Fromm, H., 2005. GABA shunt deficiencies and accumulation of reactive oxygen intermediates: Insight from *Arabidopsis* mutants, *FEBS Letters*, 579, 2, 415-420.
- Feijo, A., Conn, V., Domingos, P., Ullah, S., Wege, S., Shabala, S. ve Gilliam, M., 2015. Corrigendum: GABA signalling modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters, *Nature Communications*, 1-10.
- Figueiredo-González, M., Grosso, C., Valentão, P. ve Andrade, P.B., 2016. α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from *Myrcia* spp.: A stronger alternative to acarbose?, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 118, 322-327.
- Gill, S.S. ve Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, *Plant Physiol Biochemistry*, 48, 909-930.
- Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., Chaudhary, A.K., Jha, U K., Yadav, U.C. ve Pakuwal, U., 2014. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15, 11, 4405-4409.
- Gut H., Dominici P., Pilati S., Astegno A., Petoukhov M.V., Svergun D.I., Grütter M.G., ve Capitani G., 2009. A common structural basis for pH- and calmodulin-mediated regulation in plant glutamate decarboxylase, *Journal of Molecular Biology*, 392, 334-351.
- Gülçin, İ., 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), *Toxicology*, 217, 213-220.
- Halliwell, B., 2007. Biochemistry of oxidative stress, *Biochemical Society Transactions*, 35, 1147-1150.

- Häusler, R.E., Ludewig, F. ve Krueger, S., 2014. Plant Science Amino acids – A life between metabolism and signaling, *Plant Science*, 229, 225-237.
- Hayakawa, K., Kimura, M., Kasaha, K., Matsumoto, K., Sansawa, H. ve Yamori, Y., 2004. Effect of γ -aminobutyric acid-enriched dairy production on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats, *The British Journal of Nutrition*, 92, 411-417.
- Herrmann, K., 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods, *Critical Review Food Science and Nutrition*, 28, 315-347.
- Inoue, K., Shirai, T., Ochiai, H., Kasao, M., Hayakawa, K., Kimura, M. ve Sansawa, H., 2003. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing gammaaminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives, *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 490-495.
- Jia, Y., Zou, D., Wang, J., Sha, H. ve Liu, H., 2017. Effects of γ -aminobutyric acid , glutamic acid , and calcium chloride on rice (*Oryza sativa* L.) under cold stress during the early vegetative stage, *Journal of Plant Growth Regulation*, 36, 1, 240-253.
- Karabal, E., Yücel, M. ve Öktem H.A., 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity, *Plant Science*, 164, 925-933.
- Kaur-sawhney, R., Tiburcio, A.F., Altabella, T. ve Galston, A.W., 2003. Polyamines in plants: An overview, *Journal of Cell and Molecular Biology*, 1-12.
- Kelebek, H., 2009. Değişik bölgelerde yetiştirilen öküzgözü, boğazkere ve kalecik karası üzümlerinin ve bu üzümlerden elde edilen şarapların fenol bileşikleri profili üzerine araştırmalar, Doktora Tezi, ÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Keskin, G. ve Gül, U., 2004. Domates. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E-Bakış, Sayı:5, Nüsha:13, Ankara.
- Kim, D.S., Na, H., Kwack, Y. ve Chun, C., 2014. Secondary metabolite profiling in various parts of tomato plants, *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 32, 252-260.
- Kinnersley, A.M. ve Lin, F., 2000. Receptor modifiers indicate that γ -aminobutyric acid (GABA) is a potential modulator of ion transport in plants, *Plant Growth Regulation*, 32, 1, 65-76.
- Kinnersley, A.M. ve Turano, F.J., 2000. Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19, 6, 479-509.

- Krishnan, S., Laskowski, K., Shukla, V. ve Merewitz, E.B., 2013. Mitigation of drought stress damage by exogenous application of non-protein amino acid γ -aminobutyric acid on perennial ryegrass, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 138, 358-366 .
- Kroes B.H., van den Berg, A.J., Quarles van Ufford, H.C., van Dijk, H. ve Labadie, R.P., 1992. Anti-inflammatory activity of gallic acid, *Planta Medica*, 58, 6, 499-504.
- Laranjinha, J.A.N., Almeida, L.M. ve Madeira, V.M.C., 1994. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation, *Biochemical Pharmacology*, 48, 3, 487-494.
- Li, M.F., Guo, S.J., Yang, X.H., Meng, Q.W. ve Wei, X J., 2017b. Exogenous gamma-aminobutyric acid increases salt tolerance of wheat by improving photosynthesis and enhancing activities of antioxidant enzymes, *Biologia Plantarum*, 60, 1, 123-131.
- Li, W., Liu, J., Ashraf, U., Li, G., Li, Y., Lu, W. ve Voll, L.M., 2016b. Exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) application improved early growth, net photosynthesis, and associated physio-biochemical events in maize, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-13.
- Li, Y., Fan, Y., Ma, Y., Zhang, Z., Yue, H. ve Wang, L., 2017a. Effects of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) on photosynthesis and antioxidant system in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings under low light stress, *Journal of Plant Growth Regulation*, 436-449.
- Li, Z., Yu, J., Peng, Y. ve Huang, B., 2016a. Metabolic pathways regulated by γ -aminobutyric acid (GABA) contributing to heat tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*), *Nature Publishing Group*, 1-16.
- Ling, V., Snedden, W.A., Shelp, B.J. ve Assmann, S.M., 1994. Analysis of a soluble calmodulin binding protein from fava bean roots: identification of glutamate decarboxylase as a calmodulin-activated enzyme, *The Plant Cell*, 6, 8, 1135-1143.
- Merken, H.M. ve Beecher, G.R., 2000. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3, 577-599.
- Michaeli, S. ve Fromm, H., 2015. Closing the loop on the GABA shunt in plants: are GABA metabolism and signaling entwined?, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-7.
- Mirzaee, M., Moieni, A. ve Ghanati, F., 2013. Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15, 3, 593-602.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science*, 7, 405-410.

- Nakano, Y. ve Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
- Oskay, D. ve Oskay, M., 2009. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi, *E-Journal of New World Sciences Academy Ecological Life Sciences*, 4, 2, 31-41.
- Owens, D.F. ve Kriegstein, A.R., 2002. Is there more to GABA than synaptic inhibition?, *Nature Reviews Neuroscience*, 3, 9, 715-727.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönde, Z., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6, 3, 331-336.
- Özen H.Ç. ve Onay, A., 1999. Bitki büyüme ve gelişme fizyolojisi, DÜ Basımevi, Diyarbakır.
- Pane, C., Fratianni, F., Raimo, F., Nazzaro, F. ve Zaccardelli M., 2017. Efficacy of phenolic-rich extracts from leaves of pepper landraces against *Alternaria* leaf blight of tomato, *Journal of Plant Pathology*, 99, 1, 239-244.
- Ramesh, S.A., Tyerman, S. D., Gilliam, M. ve Xu, B., 2017. γ -Aminobutyric acid (GABA) signalling in plants, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74, 1577-1603.
- Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B. ve Lanvoud, A., 2000. Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinification, John Wiley and Sons Ltd., England.
- Roberts, M.R., 2007. Does GABA act as a signal in plants?, *Hints from molecular studies, Plant Signaling & Behavior*, 2, 5, 408-409.
- Salvatierra, A., Pimentel, P., Almada, R. ve Hinrichsen, P., 2016. Exogenous GABA application transiently improves the tolerance to root hypoxia on a sensitive genotype of *Prunus* rootstock, *Environmental and Experimental Botany*, 125, 52-66.
- Scandalios, J.G., 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases, *Plant Physiology*, 101, 1, 7-12.
- Seher, Y., Filiz, O. ve Melike, B., 2013. Gamma-amino butyric acid , glutamate dehydrogenase and glutamate decarboxylase levels in phylogenetically divergent plants, *Plant Systematics and Evolution*, 299, 403-412.
- Sekmen, A.H., Demiral, T., Tosun, N., Türküsay, H. ve Türkan, İ., 2005. Tuz stresi uygulanan domates bitkilerinin bazı fizyolojik özellikleri ve toplam protein miktarı üzerine bitki aktivatörünün etkisi, *EÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42, 1, 85-95.

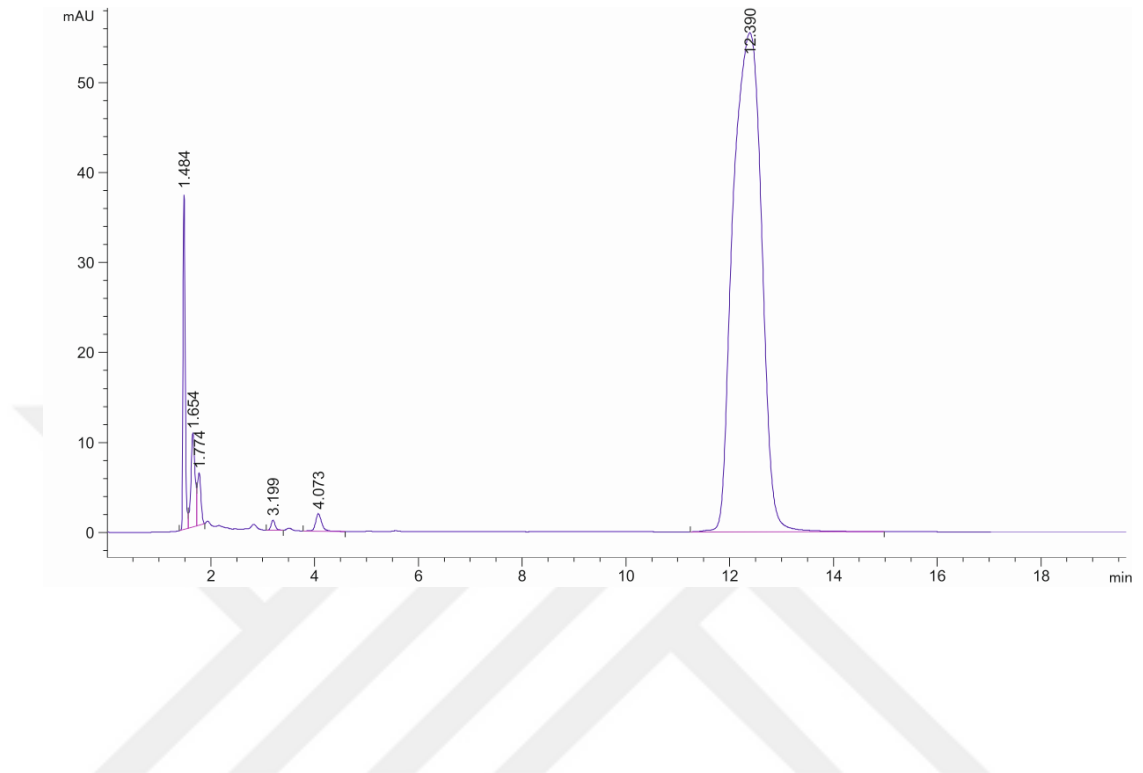
- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. ve Zheng, Y., 2011. Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4, 1264-1268.
- Sheng, L., Shen, D., Luo, Y., Sun, X., Wang, J., Luo, T. ve Deng, X., 2017. Exogenous γ -aminobutyric acid treatment affects citrate and amino acid accumulation to improve fruit quality and storage performance of postharvest *citrus* fruit, *Food Chemistry*, 216, 138-145.
- Snedden, W.A., Arazi, T., Fromm, H. ve Shelp, B.J., 1995. Calcium/calmodulin activation of soybean glutamate decarboxylase, *Plant Physiology*, 108, 543-549.
- Snedden, W.A., Koutsia, N., Baum, G. ve Fromm, H., 1996. Activation of a recombinant petunia glutamate decarboxylase by calcium / calmodulin or by a monoclonal antibody which recognizes the calmodulin binding domain, *The Journal of Biological Chemistry*, 271, 8, 4148-4153.
- Snedden, W.A. ve Fromm, H., 1999, Regulation of the γ -aminobutyrate-synthesizing enzyme, glutamate decarboxylase, by calcium/calmodulin: a mechanism for rapid activation in response to stress, 549-574, In: Lerner HR (Editor) , *Plant responses to environmental stresses: from phytohormones to genome reorganization*, Dekker, New York, USA.
- Song, H., Xu, X., Wang, H. ve Tao, Y., 2010. Exogenous γ -aminobutyric acid alleviates oxidative damage caused by aluminium and proton stresses on barley seedlings, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 9, 1410-1416.
- Strlič, M., Radovič, T., Kolar, J. ve Pihlar, B., 2002. Anti- and prooxidative properties of gallic acid in fenton-type systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 22, 6313-6317.
- Takayama, M. ve Ezura, H., 2015. How and why does tomato accumulate a large amount of GABA in the fruit?, *Frontiers in Plant Science*, 6, 612, 1-7.
- Taylor, P., Kinnersley, A.M. ve Turano, F.J., 2010. Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2689, 37-41.
- Terzi, R., Sağlam, A., Kutlu, N., Nar, H. ve Kadioglu, A., 2010. Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars, *Turkish Journal of Botany*, 34, 1, 1-10.
- Tuncel, N.B., 2010. Kaz Dağları'ndan toplanan bazı bitkilerin fenolik asit kompozisyonlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile belirlenmesi, *Akademik Gıda*, 8, 3, 18-23.
- Turano, F.J. ve Fang, T.K., 1998. Characterization of two glutamate decarboxylase cDNA clones from *Arabidopsis*, *Plant Physiology*, 117, 4, 1411-1421.

- Vijayakumari, K. ve Puthur, J.T., 2016. γ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress, *Plant Growth Regulation*, 78, 1, 57-67.
- Wang, C., Fan, L., Gao, H., Wu, X., Li, J. ve Lv, G., 2014. Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots, *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 17-26.
- Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S. ve Du, R., 2014. Effect of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel, *Scientia Horticulturae*, 168, 132-137.
- Yavaşer, R., 2011. Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, ADÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Yevtushenko, D.P., McLean, M.D., Peiris, S., Van Cauwenberghe, O.R. ve Shelp, B.J., 2003. Calcium/calmodulin activation of two divergent glutamate decarboxylases from tobacco, *Journal of Experimental Botany*, 54, 389, 2001-2002.
- Yılmaz, İ., 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17, 2, 143-153.
- Yılmaz, Y. ve Toledo, R.T., 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2, 255-260.
- Yolcu S., Filiz, O. ve Melike, B., 2013. Gamma-amino butyric acid, glutamate dehydrogenase and glutamate decarboxylase levels in phylogenetically divergent plants, *Plant Systematics and Evolution*, 299, 2, 403-412.
- Zhang, Z., Zhang, Q., Wu, J., Zheng, X., Zheng, S., Sun, X. ve Lu, T., 2013. Gene knockout study reveals that cytosolic ascorbate peroxidase 2(OsAPX2) plays a critical role in growth and reproduction in rice under drought, salt and cold stresses, *PloS One*, 8, 2, 57472.

EKLER



Ek A GABA HPLC kromatogramı



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Münevver Hilal DURUMEL

Doğum Tarihi ve Yeri : 22.09.1974 - NİĞDE

E-posta adresi : durumelh@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma
(1991-1995)

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD
(2015-2018)

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

Yapı ve Kredi Bankası A.Ş. Niğde Şubesi (Kaynak-Kullanım-Denetleme Yetkili)
(1996-2003)

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Öğretim Görevlisi (2003-)

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Ulukışla Meslek Yüksekokulu Müdür
Yardımcısı (2014-)