TÜRKİYE CUMHURİYETİ'NİN YÜZÜNCÜ YILI

BİYOLOJİ BİLİMLERİNDE YENİ GÜNCEL KONULAR

1

Editör
Ali BİLGİLİ

BİDGE

BİDGE Yayınları

Biyoloji Bilimlerinde Yeni Güncel Konular I

Editör: Prof. Dr. Ali Bilgili

ISBN: 978-625-372-399-6

1. Baskı
Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL
Yayınlama Tarihi: 25.12.2024
BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374
Yayın hakları © BİDGE Yayınları
www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com
Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.
Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya / Ankara

Önsöz

Su tüm canlıların hayatta kalabilmesi için vazgeçilmez bir unsurdur. Sucul ekosistemlerdeki antropojenk kirliliğin değerlendirilmesi gerekir. Bu kitapta antropojenik kökenli sucul kirlilik öğeleri arasında yer alan ağır metal, azot, kalıcı organik kirleticiler, plastik ve mikroplastik, farmasötik, endokrin bozucular, pestisitler, akuakültür aktiviteleri, gürültü, fizikokimyasal etkiler, kentleşme ve endüstrileşme sonucu oluşan kirlilikler ele alındı. Bu kirlilik çeşitlerinin doğrudan ve dolaylı yollarla olan etki biçimleri ile kirliliğin olası kaynaklarına değinildi. Bu faktörlere karşı bilinç oluşturucu bilgiler verilerek kirliliğe yönelik çeşitli çözüm önerileri ele alındı.

(Salvia spp.) Türlerinden (Salvia virgate Jacq.) (Türkiye'deki yerel adı "yılancık" veya "fatmanaotu") türünün uçucu yağ kompozisyonunu araştırmak amacıyla 2015-2019 yılında Balıkesir, Çanakkale, Kütahya bölgelerinde kurulmuş olan üretim birimlerinden alınan bitki örneklerinde uçucu yağ bileşenlerinin analizleri yapılarak *Salvia* türlerinde elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri yetiştikleri bölgenin coğrafik özellikleriyle ilişkili olarak büyük değişkenlikler sergilediğine yönelik kapsamlı bilgiler verildi.

Gıda Boyası Brillant Blue’nin Toksik Etkileri kapsamında Brilliant Blue FCF'nin yüksek dozlarda genotoksik ve sitotoksik etkilere sahip olabileceği ve bazı bireylerde alerjik reaksiyonlara yol açabileceği vurgulandı. Özellikle, bu boya insan hücrelerinde mikronükleus oluşumu ve kromozomal anormalliklere neden olabilirken, bitki hücrelerinde de genetik hasar oluşturabileceği tespit edildiği bilgisine yer verilerek yüksek dozlarda kullanımı durumunda potansiyel sağlık riskleri taşıyabileceğine değinildi.

Belirtilen nedenlerden dolayı bu kitapta aynı zamanda çevresel izlenebilirliğin sağlanması ve boyanın çevredeki potansiyel etkilerinin izlenmesi gerektiğine yönelik bilgiler derlendi.

Ayrıca bu kitapta Muğla ilinde zerkonid akarlar (Acari: Zerconidae) üzerine gerçekleştirilen sistematik çalışmalara değinildi. Özellikle literatürde zerkonid akarların Muğla'dan bildirilmiş bazı kayıtları olsa da mevcut tür çeşitliliğini objektif bir biçimde ortaya çıkarılabilmesi için 29 aylık süre boyunca il genelinin tamamından 1785 farklı biyolojik materyal toplanarak analizler gerçekleştirilmesi sonucunda oldukça kapsamlı bilgilere yer verildi.

Editör

Prof. Dr. Ali BİLGİLİ

İçindekiler

Önsöz 3

Sucul Ekosistemlerdeki Antropojenik Kirliliğin Değerlendirilmesi 6

Harika Eylül ESMER DURUEL 6

(*Salvia* spp.) Türlerinden (*Salvia virgate* Jacq.) Türünün Uçucu Yağ Kompozisyonun Lokasyonlara Göre Araştırılması 29

Hasan Basri KARAYEL 29

Gıda Boyası Brillant Blue'nin Toksik Etkileri 45

Nalan YILDIRIM DOĞAN 45

Muhammed Semih DARTAR 45

Muğla İlinde Zerkonid Akarlar (Acari: Zerconidae) Üzerine Sistematik Çalışmalar 62

Raşit URHAN 62

Mehmet KARACA 62

Rumen Mikrobiyom Analizinde Geleneksel ve Modern Teknikler 86

Altuğ KARAMAN 86

Fadime YAZDIÇ 86

Pestisitlere Tarihsel Bir Bakış 108

Özge TEMİZ 108

Ekstremobiosferin Eşsiz Sakinleri; Ekstremofilik Aktinobakteriler 113

Yeliz GENÇ BEKİROĞLU 113

Fadime ÖZDEMİR 113

Probiyotik İçecekler: Geleceğin Fonksiyonel Gıdaları 163

Tuba AVCI 163

Ebru UYAR 163

BÖLÜM I

Sucul Ekosistemlerdeki Antropojenik Kirliliğin Değerlendirilmesi

Harika Eylül ESMER DURUEL[1]

Giriş

Su, tüm canlıların hayatta kalabilmesi için gereklidir. Bazı canlıların fizyolojik gereksinimlerini sağlarken bazı canlıların da temel yaşam habitatlarının en önemli parçasıdır. Tüm canlıların ortak beklentisi kaliteli suya erişmek olmuştur. Özellikle iklim değişikliğinin etkilerini şiddetli bir şekilde gördüğümüz son yıllarda tuzlu ve tatlı su kaynaklarının kalitelerinde bir değişiklik olduğu göze çarpmaktadır (Delpla & ark., 2009). Bu doğal değişimlerin yanı sıra; artan nüfus, endüstrileşmedeki gelişmeler, kentleşmenin hızlanması, enerji ihtiyacı, çevre bilincinin eksikliği, atık su deşarjları gibi çeşitli sebeplerle de sucul kirlilik ortaya çıkmaktadır

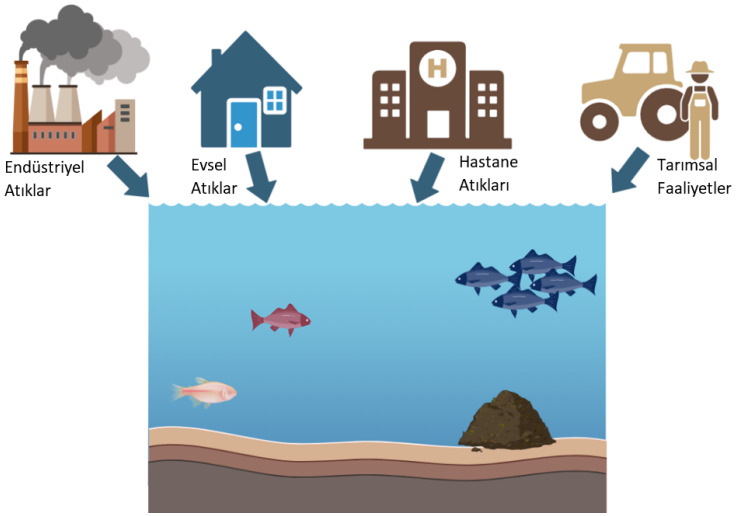
[1] Dr.Öğr.Üyesi, Kahramanmaraş İstiklal Üniversitesi, Elbistan Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Kahramanmaraş/Türkiye, Orcid: 0000-0002-0792-2062, harikaeylul@gmail.com

(Strokal & ark., 2021). Bu kirliliğin sonucunda kirleticiler yer üstü ve yer altı kaynaklarına ulaşmakta, suda yaşayan canlıları ve onlar üzerinden beslenen pek çok canlı türünün de yaşamlarını tehdit etmektedir.

Bu çalışmanın amacı, antropojenik kökenli sucul kirlilik faktörlerini değerlendirmek, bu faktörlere karşı bilinç oluşturmak, ileride yapılacak araştırmalar için literatür boşluklarını tanımlamak ve yapılacak değerlendirmeler ile birlikte bu kirliliğe çeşitli çözüm önerileri sunmaktır.

1. Sucul Kirlilik

Suyun endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerde kullanılması sonucunda oluşan, bunun yanı sıra evsel atık sularının ve hastane atıklarının deşarjıyla sucul ortama salınan, suyun kalitesinin bozulmasına yol açan faktörler sucul kirlilik olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1). Kentleşme ve nüfus artışlarıyla birlikte kirlilik miktarında artış olmaktadır, sonucunda da sucul ekosistemlerin fiziksel ve fauna özelliklerinde farklılaşmalar ortaya çıkmaktadır (Strokal & ark., 2021). Kirletici faktörler doğrudan ya da dolaylı yollarla etkilerini gösterebilmektedir.



Şekil 1: Sucul ekosisteme antropojenik kirleticilerin deşarjı

Antropojenik kirleticiler sucul ortama salındıktan sonra uzun bir süre boyunca ortamda kalabilmektedir (Siddiqua, Hahladakis & Al-Attiya, 2022). Evsel ve endüstriyel atıklar önemli kirlilik kaynağı olarak sayılmaktadır. Kanalizasyon vasıtasıyla şehirlerden gelen noktasal olan veya noktasal olmayan kaynaklar olarak sınıflandırılmaktadırlar (Tablo 1). Noktasal kaynaklara arıtma tesisinden veya fabrikalardan yapılan deşarjlar örnek olarak verilebilir. Noktasal olmayan kaynaklar; kirliliğin tek bir noktadan kaynaklanmadığı, yağmur suyu akışı gibi kaynaklardan oluşan yaygın kirliliği ifade etmektedir (Sarker & ark., 2021).

Tablo 1: Noktasal olan ve noktasal olmayan kimyasal girdi kaynakları

Noktasal kaynaklar	Noktasal olmayan kaynaklar
Fabrika ve arıtma tesisi atık su akışı	Tarım alanlarından akış
Maden ve petrol sahası akışları	Arazi ve su yolları inşası
İnşaat alanı akışları	Meralardan akış

Kaynak: Sarker & ark., 2021

Sucul kirliliğin belirlenmesinde fiziksel ve kimyasal parametreler kullanılabildiği gibi toksikolojinin organizma üzerindeki etkisi belirlenirken de sucul canlılardan (örneğin, balıklar) yararlanılmaktadır. Böylelikle biyobelirteç olarak kullanılan canlılar, oluşan hasarın doku ve organ düzeyinde görülmesini sağlamaktadır (Bukola & ark., 2015).

2. Sucul Ekosistemlerdeki Antropojenik Kirlilik Öğeleri

2.1 Ağır Metal Kirliliği

Ağır metaller sucul ekosisteme doğal ya da antropojenik kaynaklar yoluyla girebilmektedir. Volkanik aktivite ve orman yangınları, sucul ekosistemdeki ağır metallerin doğal kaynaklarını oluştururken; madencilik atık suları, endüstriyel atık suları ve evsel atıklar ise antropojenik kaynaklarını oluşturmaktadır (Vareda, Valente, & Durães, 2019). Ağır metallerin toksik bir konsantrasyona kadar birikmesi halinde ekolojik hasar ortaya çıkabilmektedir. Yüksek toksisiteleri ve kalıcılıkları nedeniyle son derece tehlikeli olarak görülmektedirler (Akhtar & ark., 2021). Ağır metal kirliliği sanayi devrimini takip eden süreçte, sanayileşme ve kentleşmenin

popülerleşmesiyle birlikte hızla artmıştır. Arsenik, kadmiyum, bakır, cıva, çinko tarımsal ve endüstriyel faaliyetlerin bir sonucu olarak çevrede en fazla potansiyel etkiye sahip beş elementtir (Al Naggar, Khalil & Ghorab, 2018). Gübreler ve pestisitler bu metalleri içerebilmekte ve kirliliğin artışına katkı sağlayabilmektedir.

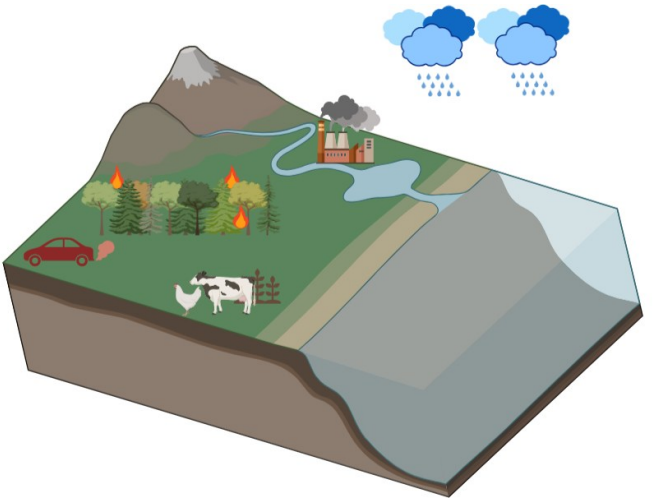
Günlük yaşamda yer alan yemek yapma, banyo, tuvalet gibi faaliyetler sonucunda ortaya çıkan evsel atıklar ise kobalt, kurşun, demir ve krom gibi metallerin artışına sebep olabilmektedir (Taşkın, Aksu & Balkıs, 2011). Son yıllarda elektronik cihazların artışı, ürünlerin eskimesi ve daha yeni modellere ihtiyaç duyulması gibi sebepler karşımıza e-atık tanımını çıkarmıştır. Yapılan bir çalışmada elektronik atıkların kontrolsüz bir şekilde boşaltıldığı nehir çevresinde yaşayanlarda alerji, cilt tahrişi ve astım gibi hastalıkların ortaya çıktığı belirlenmiştir (De & Debnath, 2016).

2.2. Azot Kirliliği

Antropojenik faaliyetler, sanayi öncesi döneme kıyasla azot girdisini üç katından fazla artırmıştır (Fowler & ark., 2013). Kirliliğin olmadığı ekosistemlerde canlılar azotun düşük konsantrasyonlarında yaşamaya adapte olmuşlardır, ancak insan aktiviteleri sonucunda artan amonyak, nitrit ve nitrat seviyeleri canlıların yaşam becerileri üzerinde etkide bulunabilmektedir (Mayes, 2013; Singh & ark., 2022).

Nüfus artışıyla birlikte fosil yakıt tüketimi ve gıda tüketimi gibi faktörlerde de artış gözlenmiştir. Bu durum da sucul ekosistemlerde fosfor ve azotun ani yükselişine sebep olarak ekolojik döngüleri etkilemiştir. Artan hayvancılık faaliyetleri, orman yangınları, evsel ve endüstriyel atıklar, maden faaliyetleri ve

kanalizasyon taşmaları gibi sebepler azotun döngüye fazla miktarda girmesine olanak tanımaktadır (Şekil 2).



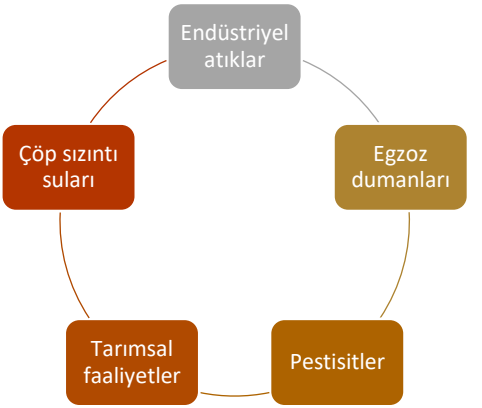
Şekil 2: Azotun atmosferik döngüsünde antropojenik etkilerin gösterimi

Azot kirliliği birincil ve ikincil üreticiler üzerinde olumsuz etkiler göstermektedir. Yüzey sularına aşırı azot yüklenmesi mikroorganizmaların aşırı artışıyla ötrofikasyona sebep olabilmektedir, sürecin içinde toksik alglerin sayıca artışı da söz konusu olabilmektedir (Xiong & ark., 2008). Azot kirliliği ile birlikte asit nötralizasyon kapasitesine karşı koymadan hidrojen iyon konsantrasyonunu artırabileceği için ekosistem asitleşebilmektir (Prakash & Khanam, 2021).

2.3. Kalıcı Organik Kirleticiler

Sanayi devrimi sonrasında artış gösteren kirlilik faktörlerinden biri de kalıcı organik kirleticilerdir (Şekil 3). Biyolojik, kimyasal ve

fotolitik olarak parçalanmaları uzun süren, organik kimyasallar olarak nitelendirilmektedir.



Şekil 3: Kalıcı organik kirleticilerin kaynakları

Kalıcı organik kirleticiler biyolojik birikim yapabildiği için düşük dozlarda bile çok toksik etki göstermektedir (Krithiga & ark., 2022). Sediment, kalıcı organik kirleticileri tutarak birikmesine neden olabilmektedir (Cruz & ark., 2017). Endüstriyel atıklar, tarımsal faaliyetler, çöp atık sularının sızması, araçların egzoz dumanları, evsel haşere ile mücadelede kullanılan pestisitler kalıcı organik kirletici kaynaklarının bazıları olarak kabul edilmektedir (Hidayati & ark., 2021). En önemlileri arasında; poliklorlu di-benzo-para-dioksinler (PCDD'ler), poliklorlu bifeniller (PCB'ler), poli-bromlu difenil eterler (PBDE'ler) ve çeşitli organo-halo pestisitler gibi klorlu/bromlu aromatik bileşikler sayılabilmektedir (Lu & ark., 2021).

2.4. Plastik ve Mikroplastik Kirliliği

Plastik kirliliği her geçen gün artan önemli bir çevre kirliliği sorunudur, sucul ekosistemler de bu kirlilikten etkilenmektedir.

Plastiğin parçalanması yüzlerce yıl alabilmektedir, bu süreçte de canlı ve cansız çevre üzerinde hasar bırakabilmektedir (Gholamhosseini & ark., 2023). Canlılar tarafından yemlerle vücuda alındığında, gelişimsel süreçleri hormonal düzeyde farklılaşabilmekte, üreme sistemleri etkilenebilmekte ve hatta ölümlerine yol açabilmektedir (Zeidi & ark., 2022). Günümüze kadar üretilen plastiklerin %75'inden fazlasının uygun süreçlerden geçerek atılmadığı, bu sebeple de yüzyıllar boyunca varlıklarını koruyacakları çalışmalarca belirtilmiştir (UNEP, 2019). Küresel anlamda yaygın antropojenik kirlilik oluşturmaktadır.

Mikroplastikler 5mm'den daha küçük olan plastiklerdir, farklı şekillerde olabilmektedirler. Sudaki ağır metallerle birleşerek toksisite seviyesini artırabilmekte ve plastiğin getireceği etkilerin şiddetlenmesine sebep olabilmektedir (Liu & ark., 2022).

Mikroplastikler sucul organizmaların vücut dokularında veya sıvılarında birikerek inflamasyona, bağırsak tıkanıklığına, oksidatif stresin artmasına, sindirim sürecinin bozulmasına ve davranış değişiklikleri gibi olumsuz durumlara yol açabilmektedir (Jemec & ark., 2016). Besin zincirinde üst trofik seviyelere hızla taşınmaktadır ve günümüzde hızla artan antropojenik kökenli bir çevre sorunu olarak görülmektedir (Kayhan & ark., 2024).

2.5. Farmasötik Kirleticiler

Hastaneler, üretim tesisleri, tarımsal kaynaklar, hayvansal atıklar, endüstriyel organik atıklar, arıtma tesislerindeki aktif çamur ve kentsel kanalizasyonlar yoluyla farmasötik atıklar sucul ortamlara karışmaktadır (Aziz, 2023). Bu farmasötik kirleticiler sucul

ekosistemler ve insan sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

En yaygın kullanılan ilaçlar arasında steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar, kardiyovasküler ilaçlar, antibiyotikler, oral kontraseptifler, antidepresanlar, immünosüpresif ilaçlar ve sitostatikler bulunmaktadır. İlaç aktif bileşenlerinin arıtma süreçlerinde dahi sucul ortamda kalabilmesi ve bu bileşenlerin dokularda birikme özelliği ile birlikte besin zincirinde üst trofik seviyelere taşınabiliyor oluşu farmasötikler konusunda endişeleri artırmaktadır (Chawla, Singh & Haritash, 2024). Bu kirliliğin ciddi etkileri arasında antibiyotik dirençli mikroorganizmalardaki artış, cinsiyet değişikliklerine varan hormonal farklılaşmalar, davranış değişiklikleri, kanserleşme ve bağışıklık baskılanması yer almaktadır (Porretti ve ark., 2022). Atık su arıtma tesislerinde ileri teknolojik faaliyetlerin kullanılmasıyla bu kirliliğin azaltılabileceği düşünülmektedir.

2.6. Endokrin Bozucular

Endokrin bozucular, düşük konsantrasyonlarında bile etki gösterebilen mikrokirleticiler olarak tanımlanmaktadır (Burkhardt-Holm, 2010). Diğer antropojenik kökenli kirleticilerin izlediği yolları izleyerek kanalizasyon ve çöp akıntı suları ile sucul ekosisteme dahil olurlar. Özellikle hayvanlarda üreme sistemini, gelişimi ve vücut kütle oranını etkilemektedirler (Kabir, Rahman & Rahman, 2015). Bunlara ek olarak bağışıklık sisteminde aksaklıklara, alerjik hastalıklara, çeşitli doku ve organlarda sitotoksisitelere, hormon düzeylerinde değişikliklere, kanserlere, hücresel mutasyonlara ve metabolik hastalıklara neden olabildiği de çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Burkhardt-Holm, 2010; Aziz,

2023; Chawla, Singh & Haritash, 2024). Farmasötik maddeler ve kişisel bakım ürünleri bu kirlilik faaliyetlerine katkıda bulunmaktadır.

2.7. Nanokirleticiler

Boyutu 1-100nm arasında olan malzemeler nanoparçacık olarak adlandırılmaktadır. Karbon küreler, nanotüpler, metal bazlı, kompozit veya çok katmanlı yapıda olabilmektedir. Enerji üretimi, çevre koruma, biyomedikal alan, gıda, tarım ve biyoteknoloji gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Kullanım alanlarının bir sonucu olarak da kirlilik oluşturabilmektedir (Giese & ark., 2018). Sucul sistemlerde nanoparçacıklar agregasyon, çözünme, redoks reaksiyonları ve yeni katı fazlara dönüşüm gibi süreçlerden geçmektedir. Yüzey özellikleri stabilitelerini, hareketlerini, kümelenmelerini ve adsorbe oluşlarını etkilemektedir (Lei & ark., 2016). Sucul canlılar deri, yutma, beslenme ve solungaçlar yoluyla bu antropojenik kirleticilere maruz kalabilirler. Çevre üzerinde nitrifikasyonun etkilenmesine, mikrobiyal topluluğun zarar görmesine, metal iyon konsantrasyonlarının artışına sebep olurken; canlılar üzerinde ise reaktif oksijen türlerinin artışına, DNA hasarının ortaya çıkmasına, histopatolojik hasarlara, embriyonal mortaliteye, teratojenik malformasyonlara neden olabilmektedir (Biswas & Sarkar, 2019). Bu durumlara ek olarak sucul ortamın bulanıklığını artırarak ışık geçişini etkileyebilir ve fotosentezi bozabilir. Besin zinciri üzerindeki kademeli etkileri biyoçeşitlilik kaybına yol açabilir (Regier & ark., 2015).

2.8. Pestisit Kirliliği

Antropojenik kökenli kirleticilerin en tehlikeli gruplarından biri olan pestisitler toksisiteleri, kalıcı olmaları ve biyobirikim kapasiteleri ile sucul ekosistemlerdeki hedef olmayan canlıları ve çevreyi tehdit etmektedir (Hashmi & ark., 2020; Esmer Duruel, 2022). Nüfusun hızla artışını takiben tarım üzerinde verim baskısı oluşmuştur. Tarımsal ürünleri zararlılardan koruyan, böylece ürünün kalitesini ve miktarını iyileştirmeye yardımcı olan maddeler geliştirilmiştir. Pestisitler, zararlıların gelişimini kontrol etmek veya öldürmek için tasarlanmış biyolojik ya da sentetik olarak elde edilmiş kimyasal maddelerdir (Kumar & ark., 2021). Toksisite özellikleri akut veya kronik maruz kalma ile ortaya çıkabilmektedir. Pestisitler sucul ortamlara püskürtmeler, süzülme, akış veya kazara deşarjlarla ulaşmaktadır (Rahman & ark., 2002).

Artan sıcaklık, yağış düzenindeki değişiklikler, zararlıların etkinliği gibi iklim değişikliklerine bağlı olarak ortaya çıkan durumlarla birlikte pestisit kullanımının artacağı ve sonucunda da biyoçeşitlilikte önemli bir azalmanın yaşanacağı öngörülmektedir (Beketov & ark., 2013).

2.9. Akuakültür Aktivite Kirliliği

Akuakültür aktiviteleri yumuşakçalar, su bitkileri, balıklar ve kabuklular gibi su organizmalarının yetiştirilmesi ve hasat edilmesi anlamına gelir. Günümüzde hızla artan bir sektör haline gelmektedir. Organik karbon birikmeleri sonucunda anaerobik koşulların artırması toksisite riskini beraberinde getirmektedir. Bu riskli durumun sonucunda metabolitlerin oluşması ve bentik ortamın bozulması meydana gelebilmektedir. Ortamın pH değerinin sabit

tutulması, çökeltilerin boşaltılması, organik madde mineralizasyonun ve oksidasyonun sağlanması için önlemler almak gerekmektedir (Xinglong & Boyd, 2006).

Akuakültür aktiviteleri sonucunda ilaç kullanımı, yem fazlalığı, fermantasyon süreci ve oksijen eksikliğinden dolayı kirlilik meydana gelmektedir. Su kalite parametrelerinden nitrit ve nitrat oranının etkilendiği belirtilmektedir (Bhavsar, Pandya & Jasrai, 2016). Özellikle ılıman iklimlerdeki bölgeler tehdit altındadır (Tavakol & ark., 2017).

2.10. Gürültü Kirliliği

Karasal ekosistemlerde olduğu gibi sucul ekosistemlerde de gürültü kirliliği önemli bir yer tutmaktadır (Andrew, 2002). Sismik keşif cihazları, sonarlar, endüstriyel veya kişisel amaçlı tekneler sucul ortamda antropojenik kökenli gürültü kirliliği oluşturan faktörlerdir (Hildebrand, 2009). Gürültü kirliliği küçük davranışsal değişikliklere sebep olabildiği gibi embriyonal gelişim bozuklukları, malformasyonlar, larva ölümlerinin de aralarında bulunduğu önemli fizyolojik değişikliklere de sebep olabilmektedir (Kunc, McLaughlin & Schmidt, 2016).

Gürültü kirliliği sadece sucul omurgalı canlılar üzerinde değil, omurgasız canlılar üzerinde de etki göstermektedir. 2013 yılında yapılan bir çalışmada liman gürültüsüne maruz kalan kabukluların daha fazla oksijen tükettikleri tespit edilmiştir (Wale, Simpson & Radford, 2013). Ayrıca av-avcı dinamikleri de bu kirlilikten etkilenebilmekte, akustik davranışın baskılanmasına ve predatöre karşı savunmanın azalmasına neden olabilmektedir (Holt & Johnston, 2011). Sıcaklık artışı ve pH seviyesindeki azalmalar sucul

ortamda ses emilmesini azaltarak gürültü kirliliğinin artışına yol açabilmektedir. Diğer çevresel stres faktörleriyle etkileşim, gürültüyle kirlenmiş su yaşam alanlarında yaşayan türler için sorunları artırabilmektedir (Gazioğlu & ark., 2016).

2.11. Fizikokimyasal Etki Ajanları

Fizikokimyasal etkilerden söz ederken ilk başta su miktarından bahsetmek gerekir, çünkü faktörler bu durumdan doğrudan etkilenmektedir. Su miktarı, askıda katı maddelerin birikmesiyle birlikte bulanıklık düzeyini ve ışık penetrasyonunu etkileyebilir. Bu durumun sonucunda kirleticilerin fotolizi etkilenebilmektedir (Ademollo & ark., 2011).

Sıcaklık artışı oksijen seviyelerinin genel olarak azalmasına ve daha düşük pH değerlerinin oluşmasına neden olan süreçleri etkileyebilmektedir. pH değişiklikleri de bentik bölgedeki metallerin serbest kalmasına ve canlıların maruziyetinin artışına sebep olabilmektedir (Carere, Miniero & Cicero, 2011). Su akış hızının azalması da sudaki kirleticilerin konsantrasyonunda artış meydana getirebilmektedir (Arenas-Sánchez, Rico & Vighi, 2016). Artan konsantrasyonlar sonucunda alg patlamaları yaşanabilmekte, yüksek organik maddeler birikebilmekte ve oksijen seviyeleri azalabilmektedir (Ademollo & ark., 2011).

2.12. Kentleşme ve Endüstrileşme

Kırsal kesimlerden kentlere göç dünya çapında karşılaşılan bir durumdur. Sonucunda kentlerin arazi kullanımında yatay ve dikey olarak büyümesi ortaya çıkmaktadır. 2050 yılına kadar gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık %64, gelişmiş ülkelerde yaklaşık %86 oranında kentleşmenin olacağı öngörülmektedir (Rashid, Manzoor,

& Mukhtar, 2018). Ani nüfus artışıyla birlikte kanalizasyon sistemlerinin yetersizliği, su kalitesinin bozulması ve mikrobiyal yükte artış ortaya çıkabilmektedir (Maillard & Santos, 2008).

Kentleşme sonucunda yüzey akış ritminin değişimi, sızma kapasitesinin azalması ve sel gibi afetlerin artması söz konusu olabilmektedir. Habitat bozulması, biyoçeşitliliğin azalması ve besin zincirinin etkilenmesi gibi etkiler de görülebilmektedir (Maillard & Santos, 2008; Asante-Sasu, Adjei & Antwi, 2018) Kısacası kentleşme sonucunda ekolojik ve çevresel anlamda etki meydana gelebilmektedir.

Endüstrileşme, yeni teknolojik üretimin egemen olduğu bir ekonomiye geçiş süreci olarak nitelendirilmektedir. Hızla gelişen endüstriyel süreçlerin sonucunda ortaya çıkan atıklar, su kütlelerine dahil olduklarında temel olarak bazı değişikliklere yol açabilmektedir. Endüstriyel su kirliliği, ekosistem üzerinde uzak mesafelere taşınabilmektedir. Üretim sırasında kullanılan su, toksik özelliği olan kimyasallar, ağır metaller, organik çamur ve hatta radyoaktif çamurla temas edebilmektedir. Bu şekilde kirlenmiş olan su, arıtma yapılmadan sucul ortama deşarj edildiğinde, insan ve tarımsal kullanıma sakıncalı hale gelebilir. Endüstriyel faaliyetlerde işleme ve temizlik amacıyla suya ihtiyaç duyulmaktadır. Kullanılan su, uygun arıtma yapılmadan sucul kaynaklara geri döndüğünde yeraltı suyu kirliliğine de neden olabilmektedir. Ayrıca, endüstriyel süreçten çıkan katı atıkların da yağmur veya yüzeysel akış sularıyla birlikte yeraltı suyu kirliliğine katkıda bulunduğu unutulmamalıdır (Sarker & ark., 2021).

3. Sonuç

Antropojenik faaliyetler sucul ekosistemlerde kirliliğin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada antropojenik kökenli kirlilik öğeleri arasında yer alan ağır metal, azot, kalıcı organik kirleticiler, plastik ve mikroplastik, farmasötik, endokrin bozucular, pestisitler, akuakültür aktiviteleri, gürültü, fizikokimyasal etkiler, kentleşme ve endüstrileşme sonucu oluşan kirlilikler ele alınmıştır. Bu kirlilik çeşitlerinin doğrudan ve dolaylı yollarla olan etki biçimleri ile kirliliğin olası kaynaklarına çalışma boyunca değinilmiştir.

Antropojenik kökenli sucul kirlilik öğelerinin, canlının fizyolojik yapısına müdahalede bulunabileceği, gelişimine etki edebileceği ve hatta ölümüne bile neden olabileceği gibi durumların önemine vurgu yapılmıştır. Bu etkenlerin azaltılabilmesi için ileri teknolojiye sahip arıtma sistemlerinin kullanılması, kanalizasyon sistemlerinin denetimi, sızıntı ve hataya bağlı karışmaların önüne geçilmesi gerekmektedir. Çevresel etki değerlendirme raporları hazırlanırken tüm risk faktörleri belirtilmeli ve çevre koruma politikalarına bağlı kalarak mevcut düzenlemeler uygulanmalıdır.

Kaynaklar

Ademollo, N., Capri, S., Patrolecco, L., Puddu, A., Polesello, S., Rusconi, M., Valsecchi, S., Froebrich, J. (2011). Fate and monitoring of hazardous substances in temporary rivers. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *30* (8), 1222–1232. Doi: 10.1016/j.trac.2011.05.002.

Akhtar, N., Syakir Ishak, M. I., Bhawani, S. A., & Umar, K. (2021). Various natural and anthropogenic factors responsible for water quality degradation: A review. *Water*, *13*(19), 2660.

Al Naggar, Y., Khalil, M. S., & Ghorab, M. A. (2018). Environmental pollution by heavy metals in the aquatic ecosystems of Egypt. *Open Access Journal of Toxicology, 3*(1), 555603. Doi: 10.19080/OAJT.2018.03.555603

Andrew, R.K. (2002). Ocean ambient sound: comparing the 1960s with the 1990s for a receiver off the California coast. *Acoustics research letters online*, *3*, 65–70. Doi:10. 1121/1.1461915

Arenas-Sánchez, A., Rico, A., & Vighi, M. (2016). Effects of water scarcity and chemical pollution in aquatic ecosystems: State of the art. *Science of the Total Environment, 572*, 390-403.

Asante-Sasu, C., Adjei, K. A., & Antwi, K. B. (2018). The impact of land-use changes on water quality in the Barekese Reservoir Catchment, Ghana. *Applied Water Science, 8* (7), 1-12.

Aziz, K.H.H. (2023). Heterogeneous catalytic activation of peroxydisulfate toward degradation of pharmaceuticals diclofenac and ibuprofen using scrap printed circuit board. *RSC advances*, *13* (1), 115–128.

Beketov, M.A., Kefford, B.J., Schäfer, R.B., Liess, M. (2013). Pesticides reduce regional biodiversity of stream “invertebrates”. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 110*:11039–11043.

Bhavsar, D.O., Pandya, H.A., & Jasrai, Y.T. (2016). Aquaculture and environmental pollution: a review work. *International Journal of Scientific Research in Science, Engineering and Technology, 2*(1), 40-45.

Biswas, J.K., & Sarkar,D. (2019). Nanopollution in the aquatic environment and ecotoxicity: no nano issue!. *Current Pollution Reports, 5,* 4-7.

Bukola, D., Zaid, A., Olalekan, E.I., & Falilu, A. (2015). Consequences of anthropogenic activities on fish and the aquatic environment. *Poultry, Fisheries & Wildlife Sciences, 3*(2), 1-12.

Burkhardt-Holm, P. (2010). Endocrine disruptors and water quality: a state-of-the-art review. *International Journal of Water Resources Development, 26*(3):477–493.

Carere, M., Miniero, R., Cicero, M.R. (2011). Potential effects of climate change on the chemical quality of aquatic biota. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 30* (8), 1214–1221.

Chawla, H., Singh, S.K., & Haritash, A.K. (2024). Reversing the damage: ecological restoration of polluted water bodies affected by pollutants due to anthropogenic activities. *Environmental Science and Pollution Research, 31*(1), 127-143.

Cruz, R., Cunha, S. C., Marques, A., & Casal, S. (2017). Polybrominated diphenyl ethers and metabolites–an analytical

review on seafood occurrence. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 87*, 129-144.

De, S., & Debnath, B. (2016). Prevalence of health hazards associated with solid waste disposal-a case study of kolkata, India. *Procedia Environmental Sciences, 35,* 201–208.

Delpla, I., Jung, A.V., Baures, E., Clement, M., & Thomas, O. (2009). Impacts of climate change on surface water quality in relation to drinking water production. *Environment international, 35*(8), 1225-1233.

Esmer Duruel, H.E. (2022). Glufosinat-Amonyum'un Zebra Balığı (*Danio Rerio*) Üzerindeki Subletal Toksik Etkilerinin *in vivo* ve *in vitro* Olarak Değerlendirilmesi, *Doktora Tezi*, , Marmara Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M.A., Cape, J.N., Reis, S., Sheppard, L.J., Jenkins, A., Grizzetti, B., Galloway, J.N. (2013). The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 368*, 20130164.

Gazioğlu, C., Müftüoğlu, A.E., Demir, V., Aksu, A. & Okutan, V. (2015). Connection between ocean acidification and sound propagation. *International Journal of Environment and Geoinformatics, 2*(2), 16-26.

Gholamhosseini, A., Banaee, M., Sureda, A., Timar, N., Zeidi, A., & Faggio, C. (2023). Physiological response of freshwater crayfish, Astacus leptodactylus exposed to polyethylene

microplastics at different temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 267,* 109581.

Giese, B., Klaessig, F., Park, B., Kaegi, R., Steinfeldt, M., Wigger, H., von Gleich, A., Gottschalk, F. (2018). Risks, release and concentrations of engineered nanomaterial in the environment. *Scientific reports, 8*, 1565.

Hashmi, T.A., Qureshi, R., Tipre, D., Menon, S. (2020) Investigation of Pesticide Residues in Water, Sediments And Fish Samples from Tapi River, India as a Case Study and Its Forensic Significance. *Environmental Forensics, 21*(1), 1-10.

Hidayati, N.V., Asia, L., Khabouchi, I., Torre, F., Widowati, I., Sabdono, A., Doumenq, P., Syakti, A.D., 2021. Ecological risk assessment of persistent organic pollutants (POPs) in surface sediments from aquaculture system. *Chemosphere, 263,* 128372.

Hildebrand, J.A. (2009). Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean. *Marine Ecology Progress Series, 395,* 5–20.

Holt, D.E., & Johnston C.E. (2011). Can you hear the dinner bell? Response of cyprinid fishes to environmental acoustic cues. *Animal Behaviour. 82,* 529–534.

Jemec, A., Horvat, P., Kunej, U., Bele, M., & Kržan, A. (2016). Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environmental pollution*, *219*, 201-209.

Kabir, E.R., Rahman, M.S., Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental toxicology and pharmacology,40*(1):241–258.

Kayhan, F.E., Kızılkaya, Ş., Esmer Duruel, H.E., Tekler, S., & Gölçük, N.S. (2024). The Toxicological Risks Of Microplastics (Mps) In Various Aquatic Organisms. Hasan Akgül (Ed.), *Academıc Studıes In The Field Of Biology* içinde (s. 55-66). Ankara: Serüven Yayınevi.

Krithiga, T., Sathish, S., Renita, A. A., Prabu, D., Lokesh, S., Geetha, R., ... & Sillanpaa, M. (2022). Persistent organic pollutants in water resources: Fate, occurrence, characterization and risk analysis. *Science of The Total Environment, 831*, 154808.

Kumar, R., Sankhla, M.S., Kumar, R., & Sonone, S.S. (2021). Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *11*(3), 10131-10140.

Kunc, H.P., McLaughlin, K.E., & Schmidt, R. (2016). Aquatic noise pollution: implications for individuals, populations, and ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 283*(1836), 20160839.

Lei, C., Zhang, L., Yang, K., Zhu, L., Lin, D. (2016). Toxicity of iron-based nanoparticles to green algae: effects of particle size, crystal phase, oxidation state and environmental aging. *Environmental Pollution, 218*, 505–12.

Liu, S., Huang, J., Zhang, W., Shi, L., Yi, K., Yu, H., Zhang, C., Li, S., Li, J. (2022). Microplastics as a vehicle of heavy metals in aquatic environments: a review of adsorption factors, mechanisms,

and biological effects. *Journal of Environmental Management, 302*,113995.

Lu, H., Chen, X.H., Mo, C.H., Huang, Y.H., He,M.Y., Li, Y.W., Feng, N.X., Katsoyiannis, A., Cai, Q.Y. (2021). Occurrence and dissipation mechanism of organic pollutants during the composting of sewage sludge: a critical review. *Bioresource Technology, 328,* 124847.

Maillard, P. & Santos, N.A.P. (2008). A spatial-statistical approach for modeling the effect of non-point source pollution on different water quality parameters in the Velhas river watershed–Brazil. *Journal of Environmental Management, 86*(1), 158-170.

Mayes, W.M. (2013) CHAPTER 4: Water Pollution Biology, in Pollution: Causes, Effects and Control, R. M. Harrison (ed.), In *The Royal Society of Chemistry*, (pp. 80-114).

Porretti, M., Arrigo, F., Di Bella, G., & Faggio, C. (2022). Impact of pharmaceutical products on zebrafish: An effective tool to assess aquatic pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *261*, 109439.

Prakash, A., & Khanam, S. (2021). Nitrogen Pollution Threat to Mariculture and Other Aquatic Ecosystems: An Overview. *Journal of Pharmacy and Pharmacology, 9,* 428-433.

Rashid, H., Manzoor, M.M., & Mukhtar, S. (2018). Urbanization and its effects on water resources: An exploratory analysis. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*, *15*(1), 67-74.

Regier, N., Cosio, C., von Moos, N., & Slaveykova, V.I. (2015). Effects of copper-oxide nanoparticles, dissolved copper and ultraviolet radiation on copper bioaccumulation, photosynthesis and oxidative stress in the aquatic macrophyte *Elodea nuttallii*. *Chemosphere*, *128,* 56-61.

Sarker, B., Keya, K.N., Mahir, F.I., Nahiun, K.M., Shahida, S., & Khan, R.A. (2021). Surface and ground water pollution: causes and effects of urbanization and industrialization in South Asia. *Scientific Review*, *7*(3), 32-41.

Siddiqua, A., Hahladakis, J.N., Al-Attiya, W.A.K. (2022). An overview of the environmental pollution and health effects associated with waste landfilling and open dumping. *Environmental Science and Pollution Research, 29*(39), 58514–58536.

Singh, S., Anil, A.G., Kumar, V., Kapoor, D., Subramanian, S., Singh, J., & Ramamurthy, P.C. (2022). Nitrates in the environment: A critical review of their distribution, sensing techniques, ecological effects and remediation. *Chemosphere*, *287*, 131996.

Strokal, M., Bai, Z., Franssen, W., Hofstra, N., Koelmans, A. A., Ludwig, F., ... & Kroeze, C. (2021). Urbanization: an increasing source of multiple pollutants to rivers in the 21st century. *npj Urban sustainability, 1*(1), 1-13.

Taşkın, Ö.S., Aksu, A. & Balkıs, N., 2011. Metal (Al, Fe, Mn and Cu) distributions and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the surface sediments of the Marmara Sea and the coast of Istanbul, Turkey. *Marine Pollution Bulletin, 62* (11), 2568-2570.

Tavakol, M., Arjmandi, R., Shayeghi, M., Monavari, S.M. & Karbassi, A. (2017). Determining multivariate analysis sampling frequency for monitoring contamination caused by trout farms. *Polish Journal of Environmental Studies, 26*(1), 337-346.

UNEP (2019) Our planet is drowning in plastic pollution.

Vareda, J.P., Valente, A.J., & Durães, L. (2019). Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review. *Journal of environmental management, 246,* 101-118.

Wale, M.A., Simpson, S.D., Radford, A.N. (2013). Size dependent physiological responses of shore crabs to single and repeated playback of ship noise. *Biology letters. 9,* 20121194.

Xinglong, J., Boyd, C.E. (2006). Relationship between organic carbon concentrations and potential pond bottom soil respiration. *Aquacultural Engineering*, *35,* 147-151.

Xiong, Z.Q., Freney, J.R., Mosier, A.R., Zhu, Z.L., Lee, Y., & Yagi, K. (2008). Impacts of population growth, changing food preferences and agricultural practices on the nitrogen cycle in East Asia. *Nutrient Cycling in Agroecosystems, 80,* 189-198.

Zeidi, A., Rezaei, M.R., Sayadi, M.H., Gholamhosseini, A., & Banaee, M. (2022). Evaluation of polyethylene microplastic bio-accumulation in hepatopancreas, intestine and hemolymph of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *International Journal of Aquatic Biology, 10*(4), 273– 279. https://doi.org/10.22034/ijab.v10i4.1661

BÖLÜM II

(*Salvia* spp.) Türlerinden (*Salvia virgate* Jacq.) Türünün Uçucu Yağ Kompozisyonun Lokasyonlara Göre Araştırılması

Hasan Basri KARAYEL[1]

Giriş

Geleneksel halk ilaçları arasında adaçayı adıyla bilinen bitkiler genellikle *Salvia* ve *Sideritis* (Dağ çayı) cinsine ait türlerdir. Oldukça iyi tanınan *Salvia* cinsinin adı da etimolojik açıdan Latince "iyileşmek" anlamına gelen Salvare'den gelmektedir (Yılmaz ve Güvenç, 2007). *Lamiaceae* familyasının çoğu üyesi, uçucu yağlar, aromatik yağlar ve ikincil metabolitler açısından zengin olduğundan tıp, gıda, kozmetik ve parfümeri gibi alanlarda büyük önem taşımaktadır. Bu familyanın bir üyesi olan adaçayı, *Salvia* cinsine ait türlerin genel adıdır. *Salvia* cinsinin dünya çapında yaklaşık 900 türü

[1] Doç. Dr. Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Gediz Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Kütahya, TÜRKİYE, (ORCID NO: 0000-0002-4271-0540), kbasri23@hotmail.com,

bulunmaktadır. Türkiye'de *Salvia* L. cinsinin 99 türü bulunmaktadır; Bu türlerin 51'i endemiktir. *S.virgata*'nın Türkiye'deki yerel adı "yılancık" veya "fatmanaotu" olup, yaraların ve çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca bu türün toprak üstü kısımları kullanılarak hazırlanan kaynatma da kan kanserini önlemek amacıyla kullanılmaktadır (Şenkal ve ark.,2019). *Salvia virgata*'nın toprak üstü kısmından farklı oluşum (çiçeklenme öncesi ve tam çiçeklenme) koşulları altında hidrodistilasyon yoluyla izole edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi, Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) kullanılarak belirlendi. *S. virgata*'da yirmi dokuz bileşen tanımlandı uçucu yağların farklı intogenez koşulları altında yağların %98.36 - 99.18'ini temsil ettiği belirlendi. Yağın ana bileşenleri *β-karyofilen* (%24,58-42,54), *karyofillen oksit* (%10,25-19,88), *sabinen* (%8,64-19,58), *1-Octen-3-Ol* (%7,54-8,59), *terpinen- 4-ol* (%4,25-6,64) ve *a-tujen* (%3,74-6,46) olduğu tespit etmiştirler (Alizadeh, 2013). İran'da yabani olarak yetişen *Salvia syriaca* L., *Salvia virgata* Jacq'ın uçucu yağlarının kimyasal bileşimi, GC ve GC-MS ile incelenmiştir. *S. virgata* için ana bileşenler olarak *β-karyofillen* (%46,6), *germacrene B* (%13,9), *β-karyofilen* (%13,2), *spathulenol* (%6,4) ve *germacrene D* (%5,7) içeren on beş bileşen tanımlanmıştır (Sefidkon ve ark.,1999). *Salvia virgata*'nın kurutulmuş yaprakları, sapları ve toprak üstü kısımlarının hidrodistilasyonuyla elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi GC ve GC/MS kombinasyonuyla analiz edildi. Yaprak yağında ana bileşenler olarak *β-karyofilen* (%35,2), *(Z)-β-farnesen* (%10,1), *karyofillen oksit* (%6,1) ve *α-pinen* (%5,7) olmak üzere yirmi dört bileşen tanımlandı. Ana bileşenler olarak *hekzadekanoik asit* (%56) ve *β-karyofilen* (%7,6) içeren yirmi

üç bileşik kök yağı için karakterize edilmiştir (Baharfar ve ark.,2009). *Salvia* türlerin şifa gücü yanında dış görünüşleri itibarıyla bahçelerde, peyzaj çalışmalarında kullanılır. Kokulu yağlar oldukları için kozmetik ve eczacılık sektöründe çok önemli bir yere sahiptirler. Uçucu yağ ve baharat olarakta tüketilir (Bağcı ve Koçak, 2008). *Lamiaceae* familyasına ait bitkilerin çoğunluğu çok yıllıktır. Yaprakları hafif tüylü, gövdeleri dört köşeli çiçekli bitkilermiş (Davis, 1982). Ülkemiz'de bulunan *Lamiaceae* familyasına ait cinslerden en önemlileri *Thymus*, *Salvia*, *Phlomis*, *Sideritis*, *Stachys*, *Origanum* ve *Mentha* türleri olmuştur (Aktaş, 2001). Türkiye tıbbi bitkiler ticaretinde dünyada en önemli ülkeler arasında yer almaktadır. Türkiye'de, doğadan toplanarak iç ve dış ticareti yapılan 347 tür bulunmakta ve bunların %30'unun dış ticareti yapılmaktadır (Faydalıoğlu ve ark., 2011). Türkiye tıbbi bitki ihracatı 2012 yılında 33,623 ton iken 2016 yılında %46'lık bir artışla 49,118 tona ulaşmıştır. Türkiye tıbbi bitki ihracatı değer olarak incelendiğinde ise; 2012 yılında 100 milyon $ iken, 2016 yılında 158 milyon $'a ulaşarak %58 oranında arttığı saptanmıştır (Yoğunlu, 2011; Metin ve ark., 2012). Türkiye'de 2016 yılında miktar olarak en çok ihracatı yapılan tıbbi ve aromatik bitkiler; kekik, defne yaprağı, kimyon, anason ve adaçayıdır. Türkiye'nin 2016 yılında ithal ettiği tıbbi ve aromatik bitkiler miktar olarak incelendiğinde, karabiber ilk sırada yer almaktadır. Bunu, sırasıyla çörekotu, zencefil, kimyon, anason, tarçın, defne yaprağı, kekik ve adaçayı takip etmiştir (Bayraktar ve ark., 2017). Türkiye'de tarımı yapılan ve doğadan toplanan adaçayı üretimi incelendiğinde 2012 yılında 348 ton olan adaçayı üretimi 2015 yılında 989 ton olarak gerçekleşmiştir. Kültürü yapılan adaçayı üretiminde Karaman, Denizli ve Kütahya illeri en fazla üretim

yapılan illerdir. Türkiye'nin tıbbi bitki ihracatının artmasını sağlamak için tıbbi ve aromatik bitkilerin kültüre alınması ve ıslah çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Ayrıca, tıbbi ve aromatik bitkilerin doğadan toplanması ve üretilmesi ile ilgili mevzuat eksikliklerinin giderilmeli ve toplayıcılara doğanın tahrip edilmesini ve tıbbi bitki türlerinin neslinin tehlikeye girmesini engellenmek amacıyla eğitimler verilmiştir (Bayraktar ve ark., 2017). Bu çalışma Türkiye'de ekonomik öneme sahip olan *salvia virgata* bitkisinin farklı bölgelerde yetiştirilerek.Uçucu yağ kompozisyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışma ile bölge halkının ürün çeşitliliğini artırmak, ilaç ve gıda sektörüne katkı sağlamak hedeflenmiştir. Bu araştırma bazı *Salvia* türlerine *Salvia virgate* Jacq., farklı çevrelerde bitkisel özellikleri ile uçucu yağ bileşenlerini incelemek amacıyla yürütülmüştür.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırmada materyaller Balıkesir Edremit Kale Natürel A.Ş temin edilmiştir. Deneme 2015-2019 yılında Balıkesir, Çanakkale, Kütahya bölgelerinde yürütülmüştür. Deneme alanında 180 bitkiye ihtiyaç duyulduğu için sera koşullarında fideler yetiştirildi ve tarlaya şaşırtıldıktan sonraki başarısızlıklar göz önüne alınarak 216 bitki deneme alanına şaşırtılmıştır. Köklenen fideler Nisan 2015 tarihinden itibaren tarlaya şaşırtılmaya başlanılmıştır. Fideler tarlaya şaşırtıldıktan hemen sonra can suyu verilmiştir. Tarla denemeleri tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş. Denemede dikim aralığı 50x50 cm olup her parselde 3 sıra yer almıştır. Parsel büyüklüğü 1,75x5,00=8,75 m^2 dir. Her sıraya 24 bitki her parselde 72 bitki bulunacak şekilde dikim yapılmıştır. Bitkiler ilk iki hafta her gün hortumla sulanmış.

Tutmayan bitkilerin yerine yenileri şaşırtılarak her parselde en az 70 bitki olması sağlanmıştır. İkinci haftadan sonra haftada bir sulama yapılmıştır. Gözlemler ve ölçümler her parselde işaretlenen sağlıklı bitkiler içerisinde etiketlenen 9 adet bitkilerden elde edilen çiçek örneklerinde yapılmıştır. İlk yıl tek, ikinci yıl üç biçim yapılmış ve biçim zamanı olarak uçucu yağ oranının en yüksek olduğu çiçeklenme başlangıcı tercih edilmiştir. Denemelerin yürütüldüğü Balıkesir, Çanakkale, Kütahya lokasyonlarında deneme yerinin toprak tekstürü kumlu–tınlı, killi–tınlı, toprak rengi ise kahverengidir. Çanakkale ve Kütahya lokasyonlarında topraklar, kil oranı bakımında yüksek olması nedeniyle geçirgenliği az, ağır bünyeli topraklardır. Balıkesir lokasyonunda deneme yerinin toprak tekstürü kumlu – tınlıdır. Bu lokasyonun toprak yapısı geçirgen, su tutma kapasitesi, kireç oranı ise düşüktür. Organik madde bakımında fakir olduğu analizler sonucunda belirlenmiştir (Anonim, 2017). Farklı lokasyonlarda yürüttüğümüz denemelerin deneme yılları ve uzun yıllara ait iklim verilerini incelediğimizde; uzun yıllar verileri dikkate alındığında denemelerin yürütüldüğü 3 lokasyon içerisinde en düşük yağış Kütahya lokasyonunda en fazla yağış Balıkesir lokasyonunda kaydedilmiştir (Anonim, 2015-2019).

Tüm lokasyonlarda tarlalar, dikimden hemen önce dekara yaklışık 3,6 kg saf azot ve 9,2 kg saf fosfor olacak şekilde DAP gübresi ile gübrelenmiştir. Daha sonraki aşamalarda herhangi bir gübreleme yapılmamıştır. Her iki deneme yılında da tüm lokasyonlarda yabancı ot mücadelesi çapalama ve elle mücadele şeklinde yapılmıştır.Tüm denemelerde birinci deneme yılında deneme materyalinde herhangi bir olumsuzluk görülmemiştir. Bu deneme yılında tüm lokasyonlarda bitkiler çiçek tomurcukları

oluştuktan sonra hasat edilmiştir. Biçimler bağ makası ile toprak seviyesinden 5 cm olacak şekilde yapılmıştır. Biçilen adaçayları özel hazırlanan kurutma alanlarında doğal koşullarda kurutulmuştur. Kurutulan bitkilerden uçucu yağ analizleri için numuneler alınmıştır. Deneme süresince tüm lokasyonlarda hastalık ve zararlı gözlemleri alınmıştır. Tür ve lokasyonlarda herhangi bir hastalık ve zararlıya rastlanmamıştır.

Deneme materyalinin bazı özellikleri ile kullanım alanlarına ait bilgiler aşağıda alt başlıklar şeklinde verilmiştir.

Fatma Ana Otu (*Salvia virgata* Jacq)

Fatma ana otu ülkemizde Akdeniz, karadeniz, Ege, Marmara, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu bölgelerimizde doğal olarak yetişmektedir. Çok yıllık, çok dallı otsu 30-100 cm. arası boy yapar gövdesi dik, bir türdür. Yukarıya doğru dallanır. Yapraklar basit, genelde gövde üzerinde dağılmış bazende tabanda toplanmıştır (Şekil 1)'de verilmiştir. Çiçek durumu çok dallanmış panikül, çiçeklenme dönemi ise Mayıs-Eylül aylarıdır. Çiçekler koyu mor renkli, yapraklar dip kısmında ve rozet biçiminde bir araya toplanmış, saplı, uzunca yumurta biçimindedir. Yol kenarları, tarla kenarları, meralık alanlarda 1-2300 m yetişir. Kuraklığa mukavemeti köklerin derine inmesine bağlıdır. Kök yapısı kazıktır. Bunun için toprağın tınlı-kumlu, besin maddelerince ve kireççe zengin olmasını ister. Üretim tohum ve fide ile yapılır (Hedge, 1982; Doğan ve ark., 2008).

Şekil 1. Salvia virgata Jacq. bitkisinin görünümü

Uçucu Yağ Oranının Elde Edilmesi

Deneme uçucu yağ analizinin başlangıcında 20 g kuru materyal tartılarak 500 ml'lik balona alınmıştır. Üzerine 200 mL (örnek miktarına göre değişebilir, yaklaşık 10 kat) saf su eklenip çalkalanmıştır. İki saat süreyle hidrodistilasyon işlemine tabi tutularak uçucu yağ elde edilmiştir. Sistem soğuduktan sonra ve dereceli kısma toplanan uçucu yağ sulu fazdan ayrıldıktan sonra miktarı (mL) tespit edilmiştir. Tartımı alınan örnek miktarına (g) göre 100 g örnekteki uçucu yağ miktarı uçucu yağ oranı (%) olarak hesaplanmıştır (Skoula ve ark., 2000).

Uçucu Yağ Bileşenlerinin GC-MS ile Elde edilmesi

Örneklerin, uçucu yağ bileşen analizi GC-MS cihazı ile kapiler kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler analiz edilmek üzere 1:100 oranında hekzan ile seyreltilmiştir. Analizde taşıyıcı gaz olarak 0.8 ml/dk akış hızında helyum kullanılmış, örnekler cihaza 1 µl olarak 40:1split oranı ile enjekte edilmiştir. Enjektör sıcaklığı

250°C, kolon sıcaklık programı 60°C (10 dakika), 60°C'den 220°C'ye 4°C/dakika ve 220°C (10 dakika) olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu sıcaklık programı doğrultusunda toplam analiz süresi 60 dakika sürmüştür. Kütle detektörü için tarama aralığı (m/z) 35-450 atomik kütle ünitesi ve elektron bombardımanı iyonizasyonu 70 eV kullanılmıştır. Uçucu yağın bileşenlerinin teşhisinde ise WILEY, NIST ve OIL ADAMS kütüphanelerinin verileri esas alınmıştır. Sonuçların bileşen yüzdeleri FID dedektör kullanılarak, bileşenlerin teşhisi ise MS dedektör kullanılarak yapılmıştır (Özek ve ark., 2010).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Denemelerin kurulmuş olduğu lokasyonlardan alınan bitki örneklerin uçucu yağ bileşenleri Çizelge 1.'de verilmiştir. *Salvia* türlerinde elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri yetiştikleri bölgenin coğrafik özellikleriyle ilişkili olarak büyük değişkenlikler sergilemektedir. Türlerin biçimleri, doğal olarak farklı zamanlarda gerçekleştirilmiştir. Çünkü her bir türün vejetatif gelişme hızı ve çiçeklenmeye başlama tarihleri farklılık göstermektedir. Türlere ait uçucu yağ oranı bileşenlerin ortalama değerleri birinci yıl için bir biçimden alınan örneklerde, ikinci yıl için 3 biçimden alınan örneklerde yapılmıştır. Birinci ve ikinci yılda her tekerürden ayrı ayrı bitki örnekleri alınmıştır. Tüm biçimlerin ortalaması olarak lokasyonlara göre ayrı ayrı olacak uçucu yağın etken madde içerikleri Çizelge 1.'de gösterilmiştir. *Salvia virgata* Jacq. türünün uçucu yağın etken maddelerinin lokasyonlara göre değişimleri Çizelge 1.'de gösterilmiştir. *Salvia virgata* Jacq. türünde ana bileşen β-Caryophyllene, Germacrene D, Caryophylleneoxide olarak kaydedilirken, üç lokasyonda da ana bileşen olarak β-

Caryophyllene, Germacrene-D, Caryophylleneoxide olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Ana bileşenlerin lokasyonlara göre oranları sırasıyla aşağıda verilmiştir. Çanakkale lokasyonunda birinci yıl β-Caryophyllene tespit edilememiş iken %-, ikinci yıl %29,42, birinci yıl Germacrene-D belirlenememiş iken%-, ikinci yıl %9,92, Caryophylleneoxide birinci yıl tespit edilememiş iken, ikinci yıl %26,92olarak belirlenmiştir. Balıkesir lokasyonunda birinci yıl β-Caryophyllene %0,00, ikinci yıl %48,12, birinci yıl Germacrene-D %0,00, ikinci yıl %9,75, Caryophylleneoxide birinci yıl %0,00, ikinci yıl %13,22 olarak belirlenmiştir. Kütahya lokasyonunda birinci yıl β-Caryophyllene %0,00, ikinci yıl %39,43, birinci yıl Germacrene-D %0,00, ikinci yıl %14,43, Caryophylleneoxide birinci yıl %0,00, ikinci yıl %6,94 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 1. Salvia virgata Jacq. türünün yaprakta uçucu yağının lokasyonlara ve yıllara göre bileşen miktarı (%)

S.no	Bileşen adı	Çanakkale		Balıkesir		Kütahya	
		1.Yıl	2.Yıl	1.Yıl	2.Yıl	1.Yıl	2.Yıl
1-	α-thujone		-		0,82		-
2-	Sabinene		-		2,02		1,07
3-	ϒ-Terpinene		-		1,03		-
4-	α-Thujone		-		0,58		-
5-	α-Cubebene		-		0,64		0,55
6-	α-Copaene		-		2,03		1,94
7-	Linalool		-		0,73		-
8-	Linalylacetate		-		0,64		-

9-	β -Copaene	-	0,72	0,74
10-	β-caryophyllene	29,42	48,12	39,43
11-	α-Humulene	2,66	2,83	2,52
12-	γ-Muurolene	4,35	3,83	3,89
13-	Germacrene D	9,92	9,75	14,43
14-	β -Bisabolene	1,53	1,14	2,82
15-	δ-cadinene	2,21	3,6	3,83
16-	ϒ-Cadinene	-	1,54	1,63
17-	Caryophylleneoxide	26,92	13,22	6,94
18-	Humuleneepoxide-II	1,75	0,74	-
19-	Spathulenol	-	0,84	2,83
20-	14-Hydroxy β caryophyllene	4,14	1,35	0,94
21-	viridiflorol	1,83	-	-
22-	carvacrol	-	-	4,41
23-	phytol	-	-	2,56
24-	β-ylangene	-	-	0,54
	Toplam%	84,73	96,17	86,66

Salvia virgata Jacq. türünde tüm lokasyonlarda birinci yıl herhangi bir etken madde tespit edilememiştir. İkinci yıl ise Çanakkale lokasyonunda 10 bileşen ve toplam %84,73, Balıkesir 21 bileşen ve toplam %96,17, Kütahya 18 bileşen tespit edilmiş bu bileşenler uçucu yağın toplam %86,66 oluşturmuştur. Lokasyon sırasına göre önemli bileşenler Çanakkale'de 14-Hydroxy-β-caryophyllene, γ-Muurolene, α-Humulene, Balıkesir, δ-Cadinene, γ-Muurolene, α-Humulene Kütahya, carvacrol, γ-Muurolene, δ-

Cadinene şeklinde sıralanmıştır. Türlerin lokasyonlara göre uçucu yağ bileşenleri belli ölçüde değişiklik göstermiştir. *Salvia virgata* Jacq. türünde ana bileşeni üç lokasyonda da β-Caryophyllene olarak gerçekleşmiştir. Bu durum, uçucu yağ bileşenleri üzerine ekolojik faktörlerin ne derece etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca araştırma sonuçlarına göre uçucu yağ bileşenleri üzerine yetişme ortamı, biçim sayısı gibi faktörlerin etkili olduğu söylenebilir. Çalışmamıza benzer şekilde, Uçucu yağ elde edilen bitkilerde sadece uçucu yağ oranı değil, aynı zamanda uçucu yağın bileşenleri de önem taşımaktadır. Örneğin nane uçucu yağında bulunan mentol, kişnişte linalol, gül yağında sitronellol, kekikte bulunan timol ve buna benzer bileşenlerin gıda, eczacılık ve parfümeride oldukça fazla kullanım alanları bulunmaktadır (Bayrak, 2006). Alizadeh (2013), tarafından *Salvia virgata*' nın uçucu yağında 29 adet bileşen bulunduğunu bu bileşenlerin uçucu yağında %98,36–%99,18'ini oluşturduğunu, uçucu yağın temel bileşenlerinin β-Caryophyllene (%24,58-%42,54), Caryophylleneoxide (%10,25-%19,88), Sabinene (%8,64-%19,58), 1-Octen-3-Ol (%7,54-%8,59), terpinene- 4-ol (%4,25-%6,64) ve α-thujone (%3,74-%6,46) olduğu bildirilmiştir. Başka bir araştırmada *Salvia virgata*'nın uçucu yağında 23 adet bileşik bulunduğunu bu bileşenlerin ise β-Caryophyllene (%35,2), (Z) -β-farnesen (%10,1), Caryophylleneoxide (%6,1) ve α-pinen (%5,7) olduğu tespit edilmiştir (Baharfar ve ark., 2009). Kilic (2016) Türkiye'den orijinli dört *Salvia* türünün (*S. trichoclada* Bentham., *S. virgata* Jacq., *S. ceratophylla* L., *S. multicaulis* Vahl.) kimyasal bileşimleri tanımlanmış, *S. virgata*'nın ana bileşiklerini 1,8-Sineol (%20,3), α-copaen (%18,6) ve germakren-D (%17,6) olarak belirlemiştir. Baharfar ve ark. (2009) ise *Salvia virgata*'nın

kurutulmuş yaprakları, sap kısımlarından elde ettikleri uçucu yağ içerisinde ana bileşenlerin β-Caryophyllene (%35,2), (Z)-β-farnesene (%10,1), Caryophylleneoxide (%6,1) ve α-pinen (%5,7) den oluştuğunu, bu bileşenlere ilave olarak yirmi dört bileşenin olduğunu tespit etmişlerdir.

Tam çiçeklenme sırasında hasat edilen *S. virgata*'nın toprak üstü kısımlarındaki esansiyel yağ içeriği %0,01 idi. Esansiyel yağın temel bileşenleri pentakozan (%20,09), karyofillen oksit (%6,90), fitol (%6,83), spatulenol (%6,09) ve nonakozan (%5,15) idi (Şenkal ve ark., 2019). *S.virgata* esansiyel yağı karyofillen oksit (%30,23), β-karyofililendir (%22,63), sabinen (%11,82) (Golparvar ve ark., 2017). Morteza-Semnani ve diğerleri tarafından toplanan başka bir raporda, *S.virgata* bileşikleri, karyofililen oksit (%34,4), spathulenol (%25,6), doco ile-sanol (%11,7), tetradekanol (%9,3) ve geranil aseton (%5,6) olarak tespit edilmiştir (Morteza-Semnani ve ark., 2005). Yaprak yağında ana bileşenler olarak *β-karyofilen* (%35,2), *(Z)-β-farnesen* (%10,1), *karyofillen oksit* (%6,1) ve *α-pinen* (%5,7) olmak üzere yirmi dört bileşen tanımlandı. Ana bileşenler olarak *hekzadekanoik asit* (%56) ve *β-karyofilen* (%7,6) içeren yirmi üç bileşik kök yağı için karakterize edildi (Baharfar ve ark., 2009). *Salvia*'da genotiplerin tanımlanmasının, morfolojik benzerlik ve *Salvia* türlerinde doğal melezlemenin yaygın oluşu nedeniyle karmaşık olduğunu bildirmişlerdir. Tür ve genotipe özgü DNA işaretlerinin bitki tanımlama, üreme ve koruma programları için çok yararlı olduğunu yağ verimlerinin bitkinin DNA'sı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (Karaca ve ark., 2008). İran'ın kuzeyindeki Mazandaran Eyaletindeki Chalus'tan (Gachsar) toplandı. Bu bitkilerin yapraklarından ve çiçeklerinden elde edilen suyla

damıtılmış esansiyel yağlar, GC ve GC/MS ile analiz edildi. *S. virgata'*nın yaprak ve çiçeklerinden elde edilen yağlar %0,15 ve %0,19 olup, uçucu yağların sırasıyla 19 ve 30 bileşiğ tanımlanmıştır. Yaprak yağının ana bileşenleri fitol (%29,1), β-karyofillen (%19,2), karyofillen oksit (%17,0) ve hekzadekanoik asit (%8,2) idi. Çiçek yağının ana bileşenleri β-karyofilen (%21,1), germakren-D (%13,2), bisiklogermakren (%7,0), α-humulen (%6,7) ve β-pinen (%6,7) idi (Sarbanha ve ark., 2011). *Salvia virgata* Jacq türünün bitki kısımlarına göre uçucu yağ bileşenleri belli ölçüde değişiklik göstermektedir. *Salvia virgata* Jacq türünde ana bileşeni *β-Caryophyllene* olarak gerçekleşmiştir. İki yılın ortalamalarına göre üç bölgede elde edilen *Caryophylleneoxide* oranı, yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur.

SONUÇ

Salvia virgata Jacq. türünün uçucu yağ kompozisyonunun iki yılık sonuçlarına göre ekolojik faktörlere bağlı olarak uçucu yağların değerlendirilmesine yönelik bir çalışmadır. Uçucu yağ oranı en yüksek Çanakkale'de %0.05 olarak tespit edilmiştir. Ekolojik faktörlere göre uçucu yağ bileşenlerinin de farklılık gösterdiği düşünüldüğünde farklı lokasyonlarından farklı *Salvia* türleri üzerinde daha fazla çalışmaların yürütülmesi faydalı olacaktır.

KAYNAKÇA

Aktaş, K. 2001. Bazı *Lamiaceae* (*Labiatae*) Türleri Üzerinde Taksonomik Bir Araştırma Yüksek Lisans Tezi Manisa Celal Bayar Üniversitesi. Türkiye.

Alizadeh, A. (2013). Essential oil constituents, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia virgata* Jacq. from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16(2), 172-182.

Anonim. 2017. Toprak Analizi Sonuçları. Kütahya Ziraat Odası Başkanlığı, Kütahya.

Anonim. 2017-2019. İklim Verileri. Kütay Meteoroloji İl Müdürlüğü, Kütahya.

Bağcı, E., Koçak, A. 2008. *Salvia Palaestina* Bentham ve *S. tomentosa* Miller Türlerinin Uçucu Yağ Kompozisyonu, Kemotaksonomik Bir Yaklasım. Fırat Üniv. Fen ve Müh.Bil. Dergisi, 20 (1): 35–41.

Baharfar, R., Tajbakhsh, M., Azimi, R., Khalilzadeh, M. A., & Eslami, B. (2009). Chemical constituents of essential oils from the leaves, stems and aerial parts of *Salvia virgata* Jacq. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 21(5), 448-450.

Bayrak, A. 2006.Gıda Aromaları. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No.32, 497s, Ankara

Bayraktar, Ö. V., Öztürk G., Arslan D. 2017. Türkiye'de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Pazarlamasındaki Gelişmelerin Değerlendirilmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi. 26 (2): 216-229.

Doğan, M., Pehlivan S., Akaydın G., Bağcı E., Uysal İ., Doğan H. M. 2008. Türkiye'de Yayılış Gösteren *Salvia* L. (*Labiatae*) Cinsinin Taxonomik Revizyonu. Tübitak Proje No: 104.T. 450.

Golparvar, A.R., Hadipanah, A., Gheisari, M.M., Naderi, D., Rahmaniyan, S., & Khorrami, M. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. and *Salvia virgata* Jacq. Journal of Medicinal Herbs,, 8(2), 71-78.

Hedge I. C. 1982. *Salvia* L. in: Davis PH (Ed.), Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol:7, Edinburgh University Press, Edinburg, p.400–461.

Faydalıoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11(1): 52-67

Karaca, M., Ince A. G., Ay S. T., Turgut K., Onus A. N. 2008. Pcr-Rflp and Damd-Pcr Genotyping for *Salvia Species*. Journal of The Science of Food and Agriculture, 88 (14): 2508-2516.

Küpeli, E., Şahin, F. P., Çalış, İ., Yeşilada, E., Ezer, N. 2007. Phenolic Compounds of Sideritis Özturki and Their in vivo anti Inflamatory and Antinociceptive Activities, Journal of Ethnopharmacology, 112: 356–360.

Metin, İ., Güngör, H., Çolak, Ö.F. 2012. Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İhracatı ve İthalatı, Tıbbı ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu 13-15 Eylül 2012 Tokat, s. 326-333.

Morteza-Semnani, K., Saeeidi, M., Changizi, S. M. (2005). Vosoughi,Gerekliyağ bileşimi *Salvia virgata* Jacq. İran'dan. J. Essent. Yağ Yatağı Bitkiler,8, 330–333.

Özek, T., Tabanca, N., Demirci F., David, E., Wedgeand, K., Başer, H.C. 2010. Enantiomeric Distribution of Some Linalool Containing Essential oils and Their Biological Activities. Rec. Nat. Prod. 4 (4): 180-192.

Sarbanha, S., Masoomi, F., Kamalinejad, M., & Yassa, N. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Salvia virgata* Jacq. and *S. verticillata* L. volatile Oils from Iran. Planta Medica, 77(12), PE19

Şenkal, B. C., Uskutoğlu, T., Cesur, C., Özavcı, V., & Doğan, H. (2019). Determination of essential oil components, mineral matter, and heavy metal content of *Salvia virgata* Jacq. grown in culture conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 43(4), 395-404.

Skoula, M., Abbes, JE., Johnson, CB. (2000). Geneticvariation of volatil esandrosmarinicacidin populations of *Salvia fruticosa* Mill., growing in Crete. Journal of Biochemical Systematics and Ecology, 28:551-561

Yoğunlu, A. 2011. Tunceli Ekonomik Değeri Olan Bitkiler Raporu, Sektörel Araştırmalar Serisi-5, Fırat Kalkınma Ajansı, 2011.

Yılmaz, G., Güvenç, A. (2007). Ankara'da Aktarlarda "Adaçayı" Altında Satılan Drogların Morfolojik veAnatomik Olarak İncelenmesi, Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 36 p. 87104.

BÖLÜM III

Gıda Boyası Brillant Blue'nin Toksik Etkileri

Nalan YILDIRIM DOĞAN[1]
Muhammed Semih DARTAR[2]

1.Giriş

İnsanların temel ihtiyaçlarından biri olan beslenme beraberinde besinlerin üretim ve saklanması gibi ihtiyaçları da doğurmuştur. Gıdalarda birçok madde doğal olarak bulunabilir bununla birlikte birçok madde ise işlevsel amaçlarla gıdalara dahil edilmektedir. İşlenmiş gıdalara ilave edilen bu kimyasallar "gıda katkı maddeleri" olarak adlandırılmaktadır (Lindsay 2007). Bu maddeler işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmak, tat, doku ve görsel özelliklerini daha cazip hale getirmek için kullanılmaktadır. Gıda katkı maddeleri genellikle koruyucular, renklendiriciler,

[1] (Prof. Dr.) Erzincan Binali YILDIRIM Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan, Türkiye, ORCID: 0000-0002-5344-5367
[2] (Doktora Öğrencisi) Erzincan Binali YILDIRIM Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan, Türkiye, ORCID: 0000-0003-3618-7295

tatlandırıcılar ve emülgatörler olmak üzere dört ana kategoriye ayrılmaktadır (Downham & Collins, 2000).

Koruyucular, gıdaları mikroorganizmaların neden olduğu bozulmalara karşı koruyarak raf ömrünü uzatmak için kullanılan gıda katkı maddeleridir. Antimikrobiyal ajanlar olarak bilinen sodyum benzoat ve potasyum sorbat gibi koruyucu maddeler, bakteri, maya ve küflerin büyümesini engelleyerek yaygın kullanıma sahip koruyucular haline gelmiştir (Chipley, 2005).

Gıdaların işlenme ve hazırlanma sırasında kaybolan renklerinin canlandırılmasını sağlayarak daha çekici ve lezzetli bir görüntü ortaya çıkarabilmek için kullanılan katkı maddeleri renklendiriciler olarak adlandırılmaktadır. Sebzeler, hayvanlar ve mineraller gibi doğal yollardan elde edilen gıda boyalarının yanı sıra kimyasal olarak üretilen halk arasında yapay boyalar şeklinde bilinen boyalar, sentetik gıda boyaları olarak adlandırılır (Wu 2022). Gıdalara istenilen renk tonunu vermek için sıklıkla kullanılan sentetik renklendiricilerden bazılarına örnek olarak Brillant Blue, Carmoisine, Amaranth, Sunset Yellow ve Tartrazine verilebilir (Scotter, 2015).

Tatlandırıcılar, gıdalara tat vermek veya tat profilini iyileştirmek için kullanılan gıda katkı maddeleridir. Özellikle diyet ürünlerinde kullanılan aspartam ve sukraloz gibi yapay tatlandırıcılar düşük kalorili alternatifler olduğundan dolayı şeker yerine sıklıkla tercih edilmektedir (Magnuson et al., 2007).

Emülgatörler, gıda tekstürünün iyileştirilmesi, stabilitenin sağlanması ve raf ömrünün uzatılması için kullanılan gıda katkı maddeleridir. Amfifilik moleküller birbiri içinde çözünmeyen

fazların dağıtılmasını destek olarak ve meydana gelen kolloidleri, emülsiyonları ve köpüklerin stabilizasyonunu sağlamaktadır. Unlu mamullerde ise ikincil bir işlev olarak hamurun bayatlamasını önleme ve hamurun stabilizasyonunu sağlamada kullanılmaktadır. Lesitin ve mono- ve digliseritler gibi emülgatörler, birçok işlenmiş gıda ürününde kullanılır (Hasenhuettl & Hartel, 2008).

Gıda katkı maddelerinin güvenliği, uluslararası sağlık otoriteleri tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi kuruluşlar, bu maddelerin güvenli kullanım limitlerini belirlemekte ve son gelişmeleri düzenli bir şekilde değerlendirmektedir (EFSA, 2010; FDA, 2017).

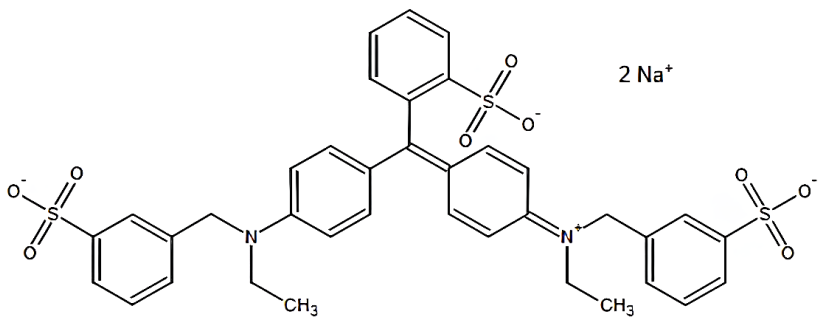
Kapsamlı toksikolojik çalışmalar yapılarak bu maddelerin potansiyel karsinojenik, genotoksik ve diğer toksisite etkileri incelenmektedir ve bu sayede gıda katkı maddelerinin güvenli olup olmadığı konusunda kanıtlar ortaya konmaktadır (Borzelleca, 1993). Yapılan tüm bilimsel araştırmalar, uzun ve kısa vadeli çalışma sonuçları değerlendirilerek gıda katkı maddelerinin kullanım limitleri belirlenmektedir. Bu limitler gıda güvenliği ve tüketici sağlığının korunması açısından çok önemlidir ve aşılmaması gerekmektedir (Kobylewski & Jacobson, 2012).

2.Brillant Blue Kimyasal ve Fiziksel Özellikler

Brilliant Blue FCF (E 133) bir triarilmetan gıda boyasıdır. Esas olarak N-etil-N-(4-[(4-etil[(3-sülfofenil)metil]-amino] fenil) (2-sülfofenil)metilen]-2,5-sikloheksadien-1-iliden)-'den oluşur. 3-sülfobenzenemet-hanaminyum hidroksit iç tuzu, disodyum tuzu, suda çözünür ve etanolde az çözünür. CAS Kayıt Numarası 3844-

45-9, EINECS numarası 223-339-8 ve Renk İndeks numarası 42090'dır. Molekül formülü $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$ olup molekül ağırlığı 792,85 g/mol'dür. Brillant Blue, iki aromatik halka arasında bulunan azo bağları (N=N) ile karakterizedir. Aromatik halkalar, naftalin türevleri içerir ve bu halkalar, boya molekülüne güçlü renk özellikleri kazandırır (Delgado-Vargas & Paredes-López, 2002).

Azo bağları, molekülün kararlılığını artıran ve renk özelliklerini belirleyen kritik bileşenlerdir. Bu bağlar, molekülün su ve diğer polar çözücülerde iyi çözünmesini sağlar ve geniş bir pH aralığında stabil kalmasını mümkün kılar. Mavi renkte bir toz veya granül formunda bulunur ve su ile karıştırıldığında çözünür (Scotter, 1995). Brillant Blue'nun kimyasal yapısı, geniş bir pH aralığında renk stabilitesi gösterir, bu da boyanın çeşitli gıda ürünlerinde kullanılabilmesini sağlar. Ayrıca, ısıya karşı dayanıklıdır ve pişirme süreçlerinde renk kaybına uğramaz. Yapısal formülü Şekil 1'de verilmiştir. (EFSA, 2010).



Şekil 1: *Brillant Blue Kimyasal Yapısı (EFSA, 2010).*

3.Brillant Blue Üretim ve Analiz Yöntemleri

Brillant Blue'nun üretimi, sentetik kimya yöntemleriyle gerçekleştirilir. Bu süreç, benzofenon ve diğer aromatik bileşiklerin sülfonyasyon ve nitrasyon reaksiyonları ile başlar (Marmion, 1992). Elde edilen ara ürünler, çeşitli kimyasal işlemlerden geçirilerek son ürün olan Brillant Blue'ya dönüştürülür (Chung & Stevens, 2004). Üretim süreci, yüksek saflıkta bir ürün elde etmek için titizlikle kontrol edilir ve safsızlıkların giderilmesi sağlanır. Bu aşamalar, sentetik boyanın gıdalarda güvenli ve etkili bir şekilde kullanılabilmesi için kritik öneme sahiptir (EFSA, 2010).

Brillant Blue'nun gıdalardaki varlığını ve konsantrasyonunu belirlemek için çeşitli analiz yöntemleri kullanılır. Bu yöntemler arasında yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), spektrofotometri ve kütle spektrometrisi bulunur (Scotter, 1995). HPLC, Brillant Blue'nun gıdalardaki miktarını hassas bir şekilde ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (EFSA, 2010). Spektrofotometri ise boyanın absorbans özelliklerini kullanarak konsantrasyonunu belirler (Chung & Stevens, 2004). Kütle spektrometrisi, Brillant Blue'nun moleküler yapısını ve bileşenlerini detaylı bir şekilde analiz etmek için kullanılır (Marmion, 1991).

4.Kullanılan Gıda Maddeleri ve Günlük Alım Miktarları

Brilliant Blue FCF (E133), gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan sentetik bir renklendiricidir. Bu boya, çeşitli gıdalarda tüketiciye görsel çekicilik kazandırmak amacıyla kullanılır. Brilliant Blue FCF'nin hangi gıdalarda kullanıldığı ve kullanım izin miktarları şu şekildedir;

Şekerlemeler, Brillant Blue, şekerlemelerde yaygın olarak kullanılır. Özellikle jelibon, şeker kaplamalı drajeler ve sert şekerler gibi ürünlerde parlak mavi renk elde etmek için tercih edilir (JECFA, 2000). Bu ürünlerde, Brillant Blue'nun düşük konsantrasyonlarda kullanımı, istenen rengi sağlarken aynı zamanda ürünün görünümünü de çekici hale getirir (Scotter, 1995). Brillant Blue'nun şekerlemelerde kullanımına izin verilen maksimum konsantrasyon 300 mg/kg olarak belirlenmiştir (Codex Alimentarius, 2018).

İçecekler, Brillant Blue, alkolsüz içecekler, spor içecekleri, meyve suları ve gazlı içecekler gibi çeşitli içeceklerde kullanılır (Chung & Stevens, 2004). Bu içeceklerde, mavi renk, taze ve serinletici bir etki yaratmak için tercih edilir. Brillant Blue, içeceklerin homojen bir renk dağılımına sahip olmasını sağlar ve raf ömrü boyunca rengini korur. Örneğin, mavi spor içecekleri ve bazı meyve aromalı gazlı içecekler bu boyayı içerir. Alkolsüz içeceklerde ve spor içeceklerinde Brillant Blue'nun kullanımına izin verilen maksimum konsantrasyon 200 mg/kg'dır (EFSA, 2010).

Dondurmalar ve Tatlılar, Brillant Blue, dondurmalar, jöleler, pudingler ve diğer tatlılarda sıkça kullanılır (Codex Alimentarius, 2018). Bu ürünlerde, Brillant Blue, tatlıların daha çekici ve iştah açıcı görünmesini sağlar. Dondurma ve tatlı üreticileri, bu boyayı kullanarak çeşitli renk kombinasyonları ve desenler oluşturabilir (Scotter, 1995). Dondurmalarda ve tatlılarda Brillant Blue'nun kullanımına izin verilen maksimum konsantrasyon 150 mg/kg'dır (JECFA, 2000).

Soslar ve Diğer İşlenmiş Gıdalar, Brillant Blue, bazı soslar, cipsler ve diğer işlenmiş gıdalarda da kullanılır (Downham &

Collins, 2000). Özellikle bazı özel temalı ürünlerde veya belirli renk kombinasyonlarının istendiği gıdalarda tercih edilir. Bu boyanın kullanımı, ürünlerin estetik görünümünü artırmak ve tüketicilere görsel olarak çekici hale getirmek için yapılır (JECFA, 2000). Soslar ve diğer işlenmiş gıdalarda Brillant Blue'nun kullanımına izin verilen maksimum konsantrasyon 100 mg/kg'dır (Downham & Collins, 2000).

Brillant Blue'nun günlük kabul edilebilir alım miktarı (ADI), vücut ağırlığına bağlı olarak belirlenir ve bu miktarın aşılmaması önerilir. EFSA, Brillant Blue için ADI değerini 0-6 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (EFSA, 2010). Bu, bir kişinin güvenli bir şekilde tüketebileceği maksimum miktarı ifade eder (JECFA, 2000).

5.Emilim, Dağılım ve Atılım

Brillant Blue'nun vücutta nasıl emildiği, dağıldığı ve atıldığı, bu boyanın güvenliğini anlamak için kritik öneme sahiptir. Brillant Blue, ağız yoluyla alındığında gastrointestinal sistemde emilir, ancak emilim oranı oldukça düşüktür (EFSA, 2010). Hindistan'da yapılan çalışmada çeşitli gıdalarda Brilliant Blue FCF'nin kullanım miktarları ve bu maddelerin vücuttaki dağılımı incelenmiştir. Brilliant Blue FCF'nin düşük biyoyararlanıma sahip olduğu ve büyük kısmının dışkı ile atıldığı belirlenmiştir (Dixit vd., 2013).

Brillant Blue'nun emiliminden sonra vücutta dağılımı sınırlıdır ve genellikle kan dolaşımına az miktarda geçer (Scotter, 1995). Kandaki düşük konsantrasyonu, boyanın vücut dokularında birikmesini engeller (Marmion, 1991). Bu durum, Brillant Blue'nun potansiyel toksik etkilerinin minimal olmasını sağlar (JECFA, 2000). Brillant Blue'nun vücuttan atılımı hızlıdır ve büyük ölçüde

değişmeden böbrekler yoluyla idrarla ve bağırsaklar yoluyla dışkıyla atılır (FDA, 2017). Bu hızlı atılım, boyanın vücutta birikme riskini azaltır ve uzun süreli toksisite riskini düşürür (EFSA, 2010). Brillant Blue'nun emilim, dağılım ve atılım özellikleri, bu boyanın güvenli kullanımını destekler. Düşük emilim oranı ve hızlı atılımı, Brillant Blue'nun vücutta birikme riskini ve uzun vadeli sağlık etkilerini minimize eder (EFSA, 2010).

6.Toksisite Çalışmaları

Literatürde, Brilliant Blue FCF'nin toksikolojik profili üzerine yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar, boyanın insan ve hayvan sağlığı üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini araştırmaktadır. Bazı araştırmalar, Brilliant Blue FCF'nin genotoksik ve sitotoksik etkiler gösterebileceğini ortaya koymuştur.

1962 yılında yapılan Brilliant Blue FCF'nin uzun süreli beslenme deneylerinde sıçanlarda toksik etki göstermediği bulunmuştur. Ancak, yüksek dozlarda diğer bazı boyaların (Guinea Green B ve Benzyl Violet 4B) malign tümörlere neden olduğu belirtilmiştir. Brilliant Blue FCF'nin toksik olmadığı ancak diğer boyalarla birlikte dikkatli değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (Mannel vd., 1962).

1966 yılında yapılan başka bir çalışmada Brilliant Blue FCF ve Indigotine, iki yıl boyunca fareler ve köpekler üzerinde kronik toksisite açısından incelenmiştir. Brilliant Blue FCF'nin hiçbir doz seviyesinde anlamlı bir patolojik değişiklik veya büyüme inhibisyonu gözlenmemiştir. Ancak, bazı köpeklerde viral enfeksiyonlar nedeniyle ölüm görülmüştür. Brilliant Blue FCF'nin

kronik toksisiteye sahip olmadığı sonucuna varılmıştır (Hansen vd. 1966).

1990 yılında Borzelleca ve arkadaşları Brilliant Blue FCF'nin (FD & C Blue No. 1) sıçanlar ve fareler üzerindeki ömür boyu toksisite ve karsinojenisite etkilerini araştırmış ve farklı dozlarda Brilliant Blue FCF verilen sıçan ve fareler yaşam süreleri boyunca izlenmiş, sağlık durumları detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Brilliant Blue FCF'nin sıçanlar ve fareler üzerinde belirgin bir toksik etki göstermediğini ve karsinojenik bir etkiye yol açmadığını ortaya koymuştur. Çalışma boyunca, yüksek dozlarda bile, Brilliant Blue FCF'nin hayvanların yaşam sürelerini veya sağlık durumlarını olumsuz etkilemediği belirtilmiştir. Ayrıca, histopatolojik incelemelerde önemli bir patolojik değişiklik veya tümör oluşumu rapor edilmemiştir. Bu bulgular sonucunda, Brilliant Blue FCF'nin gıda katkı maddesi olarak kullanımının güvenli olduğu sonucuna varılarak insan sağlığı açısından kabul edilebilir olduğu belirtilmiştir.

Tanaka (2012), Brilliant Blue FCF'nin farelerde üreme ve nörodavranışsal etkileri incelenmiştir. Yüksek dozda Brilliant Blue FCF alan farelerde bazı nörodavranışsal parametrelerde anlamlı değişiklikler olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlar kapsamında, Brilliant Blue FCF'nin yüksek dozlarının farelerde bazı davranışsal etkiler yaratabileceğini belirtmiştir.

Yapılan bu çalışmaların aksine Kuş ve Eroglu, (2015), Brilliant Blue FCF (E133) ve Sunset Yellow'un insan kan lenfositleri üzerindeki genotoksik ve sitotoksik etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, Brilliant Blue FCF ve Sunset Yellow'un farklı

konsantrasyonları kullanılarak mitotik indeks, replikasyon indeks ve mikronükleus testi gibi çeşitli biyolojik parametreler değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, Brilliant Blue FCF ve Sunset Yellow'un insan lenfositleri üzerindeki etkilerinin belirgin olduğu rapor edilmiştir. Her iki boya maddesinin de artan konsantrasyonlarda mitotik indeks ve replikasyon indeks değerlerinde anlamlı azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Bu, hücre bölünme hızının ve DNA sentez hızının azaldığını, dolayısıyla hücrelerin proliferasyon kapasitesinin olumsuz etkilendiğini göstermektedir. Ayrıca, mikronükleus frekansında da artış olduğu tespit edilmiş, kromozomal hasar ve DNA kırılmalarının arttığı belirtilmiştir. Bu bulgular, Brilliant Blue FCF ve Sunset Yellow'un genotoksik ve sitotoksik potansiyele sahip olduğunu ve bu katkı maddelerinin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini göstermektedir.

Bir başka çalışmada, Brilliant Blue FCF'nin ozonlama öncesi ve sonrası ekotoksik etkileri karşılaştırmıştır. Başlangıçta boya, *Daphnia magna* üzerinde toksik etki göstermemiş fakat ozonlama sonrası oluşan yan ürünler yüksek toksisite göstermiştir. Bu sonuç, Brilliant Blue FCF'nin ozonlama ile daha toksik yan ürünlere dönüşebileceğini göstermiş ve riskler beliritlmiştir (Tiron vd. 2020)

Ferreria ve ark. (2016), Brilliant Blue FCF (E133) gibi parlak mavi boyaların günlük gıdalarda kullanımının çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli işlevlere sahip olan adenozin ve ATP gibi purin nükleotidlerinin sinyal iletimi süreçlerinde rol oynayan bir sistem olan Purinergik sistem üzerindeki potansiyel etkilerini araştırmıştır. Araştırmacılar, Brilliant Blue FCF'nin P2X7 reseptörleri gibi purinergik reseptörler üzerindeki etkilerini

değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, Brilliant Blue FCF'nin bu reseptörlerin aktivitesini inhibe edebileceğini ve bu inhibisyonun bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarını etkileyebileceğini ortaya koymuşlardır. Özellikle, Brilliant Blue FCF'nin inflamatuar yanıtları modüle edebileceği ve bağışıklık hücrelerinde kalsiyum sinyalizasyonunu etkileyebileceği rapor edilmiştir. Brilliant Blue FCF'nin günlük gıda tüketimi yoluyla maruziyetinin, purinergik sistem üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle sağlık açısından bazı riskler taşıyabileceği belirtilerek gıda boyalarının güvenli kullanımını değerlendirmek için daha fazla araştırma yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Brilliant Blue FCF'nin sıçanlarda karaciğer, böbrek ve testis fonksiyonları üzerindeki toksik etkilerini incelenmesi için yapılan çalışmada, araştırmacılar, sıçanlara farklı dozlarda Brilliant Blue FCF uygulayarak bu organlardaki olası toksik etkileri değerlendirmişlerdir. Brilliant Blue FCF'nin yüksek dozlarda uygulanmasının karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını olumsuz etkilediği tespit edilmiş ve karaciğer enzimlerinde (ALT ve AST) artış, karaciğer dokusunda histopatolojik değişiklikler ve böbrek fonksiyon testlerinde (BUN ve kreatinin) bozulmalar gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, Brilliant Blue FCF'nin testis dokusunda da olumsuz etkiler yarattığı, sperm sayısında azalma ve sperm motilitesinde bozulma gibi üreme fonksiyonlarını etkileyen değişikliklere neden olduğu rapor edilmiştir (Mahmoud ve Org, 2006).

Brilliant Blue FCF (E133) ve Azorubin (E122) boya maddelerinin içme suyu yoluyla İsviçre farelerine verilmesinin vücut kitle indeksi (BMI) ve davranış dinamikleri üzerindeki

etkilerini incelendiği çalışmada Brilliant Blue FCF ve Azorubin alan farelerin vücut kitle indeksinde anlamlı değişiklikler gözlemlenmiş ve bu durum BMI dinamiklerinde belirgin değişikliklere yol açtığı belirtilmiştir. Özellikle, yüksek dozlarda boya maddesi alan farelerde artan aktivite ve anksiyete benzeri davranış değişiklikleri tespit edilmiştir (Radu-Rusu & Pop, 2017).

Türkoğlu ve Şahin (2015), tarafından yapılan çalışmada, beş farklı gıda boyasının (Brilliant Blue FCF (E133) dahil) *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) üzerindeki ömür uzunluğu etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, meyve sineklerini farklı konsantrasyonlarda gıda boyalarına maruz bırakarak, bu maddelerin sineklerin yaşam süresi üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Araştırma sonuçları, Brilliant Blue FCF dahil olmak üzere test edilen bazı boyaların, -özellikle yüksek dozlarda- *Drosophila*'nın ömrünü belirgin şekilde kısalttığını göstermiştir.

Mishra (2020), gıda boyalarının oksidatif stres yoluyla kimyasal karsinogeneze katkıda bulunabileceğini belirttiği çalışmasında, Brilliant Blue FCF (E133) gibi boyaların yüksek dozlarda DNA ve hücre zarlarına zarar vererek mutasyonlara ve kanser riskine yol açabileceği belirtilmiştir. Çalışmada, diyetle alınan antioksidanların bu etkileri azaltabileceğini ve kanser riskini düşürebileceğini vurgulanmıştır.

Brilliant Blue FCF (BB FCF) boyasının immünolojik özelliklerinin incelendiği çalışmada, araştırmacılar, Brilliant Blue FCF'yi bovin serum albümini (BSA) ile birleştirerek bir konjugat hazırlamış ve bu konjugatın immünolojik tepkilerini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda Brilliant Blue FCF'nin düşük

allerjenik potansiyele sahip olduğunu ve IgE veya IgGa antikorlarının üretimine yol açmadığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte, bazı bireylerde uygun koşullarda alerjik reaksiyonların meydana gelebileceğine dikkat çekmişlerdir (Liakopoulou vd., 1981).

Çevresel etkiler açısından bakıldığında, Brilliant Blue FCF'nin toprak ve su ortamlarında düşük toksisiteye sahip olduğu, ancak büyük konsantrasyonlarda kullanıldığında çevresel risklerin değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Flury ve Flühler (1994) tarafından yapılan çalışma, Brilliant Blue FCF'nin yavaş bozunması nedeniyle çevrede birikme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu, uzun vadeli çevresel etkilerin ve olası birikim risklerinin dikkatle izlenmesi gerektiğini göstermektedir.

7.Sonuç

Brilliant Blue FCF'nin yüksek dozlarda genotoksik ve sitotoksik etkilere sahip olabileceğini ve bazı bireylerde alerjik reaksiyonlara yol açabileceğini göstermektedir. Özellikle, bu boya insan hücrelerinde mikronükleus oluşumu ve kromozomal anormalliklere neden olabilirken, bitki hücrelerinde de genetik hasar oluşturabileceği tespit edilmiştir. Bu bulgular, Brilliant Blue FCF'nin yüksek dozlarda kullanımı durumunda potansiyel sağlık riskleri taşıyabileceğini ortaya koymaktadır. Brilliant Blue FCF'nin genel olarak düşük derecede allerjenik olduğu ve immünolojik yanıtların nadir olduğu belirtilmiştir. Ancak, bazı bireylerde alerjik reaksiyonların meydana gelebileceği göz ardı edilmemelidir. Aynı zamanda çevresel izlenebilirliğin sağlanması ve boyanın çevredeki potansiyel etkilerinin izlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Kaynakça

Ahmed, M., Al-Khalifa, A., Al-Nouri, D., & El-din, M. (2020). Dietary intake of artificial food color additives containing food products by school-going children. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 27- 34.

Amchova, P., Kotolova, H. ve Ruda-Kucerova, J. (2015). Sentetik gıda renklendiricilerinin sağlık güvenliği sorunları. *Düzenleyici toksikoloji ve farmakoloji*, *73* (3), 914-922.

Borzelleca, J. F., Depukat, K., & Hallagan, J. B. (1990). Lifetime toxicity/carcinogenicity studies of FD & C Blue No. 1 (brilliant blue FCF) in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology*, *28*(4), 221-234.

Borzelleca, J. F., Ladu, B. N., Senti, F. R., & Egle Jr, J. L. (1993). Evaluation of the safety of tara gum as a food ingredient: a review of the literature. *Journal of the American College of Toxicology*, *12*(1), 81-89.

Chipley, J. R. (2020). Sodium benzoate and benzoic acid. In *Antimicrobials in food* (pp. 41-88). CRC Press.

Codex Alimentarius Commission (2018). General Standard for Food Additives (GSFA). Retrieved from http://www.fao.org/gsfaonline/index.html

Delgado-Vargas, F., & Paredes-Lopez, O. (2002). *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. CRC press.

Dixit, S., Khanna, S. K., & Das, M. (2013). All India survey for analyses of colors in sweets and savories: exposure risk in Indian population. *Journal of Food Science*.

Downham, A., & Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International journal of food science & technology*, *35*(1), 5-22.

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). (2010). Scientific Opinion on the re-evaluation of Brilliant Blue FCF (E 133) as a food additive. *EFSA Journal*, *8*(11), 1853.

Ferreira, L. G. B., Faria, R. X., Ferreira, N. C. D. S., & Soares-Bezerra, R. J. (2016). Brilliant Blue Dyes in daily food: How could purinergic system be affected?. *International journal of food science*, *2016*(1), 7548498.

Hansen, W., Fitzhugh, O., Nelson, A., & Davis, K. (1966). Chronic toxicity of two food colors, brilliant blue FCF and indigotine.. *Toxicology and applied pharmacology*, 8 1, 29-36.

Hasenhuettl, G. L., & Hartel, R. W. (Eds.). (2008). *Food emulsifiers and their applications* (Vol. 19, pp. 11-37). New York: Springer.

Joint, F. A. O., WHO Expert Committee on Food Additives, & World Health Organization. (2000). *Evaluation of certain food additives and contaminants: fifty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. World Health Organization.

Kobylewski, S., & Jacobson, M. F. (2012). Toxicology of food dyes. *International journal of occupational and environmental health*, *18*(3), 220-246.

Kus, E., & Eroglu, H. E. (2015). Genotoxic and cytotoxic effects of sunset yellow and brilliant blue, colorant food additives,

on human blood lymphocytes. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, *28*(1), 227-231.

Liakopoulou, A., Vilim, A., & Awang, D. (1981). Parlak Mavi-Protein Konjugatının Hazırlanması ve İmmünolojik Özellikleri. *Gıda koruma dergisi*, 44 7, 524-526.

Lindsay, R. C. (2007). Food additives. In *Fennema's food chemistry* (pp. 701-762). CRC Press.

Magnuson, B. A., Carakostas, M. C., Moore, N. H., Poulos, S. P., & Renwick, A. G. (2016). Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutrition reviews*, *74*(11), 670-689.

Mahmoud, NH, & Org, WE (2006). Sentetik gıda boyası parlak mavinin sıçanlarda karaciğer, böbrek ve testis fonksiyonları üzerindeki toksik etkileri. *J Egypt Soc Toxicol* , *34* (4), 77-84.

Mannell, W., Grice, H., & Allmark, M. (1962). Chronıc toxıcıty studıes on food colours: v. Observatıons on the toxıcıty of brıllıant blue fcf, guınea green b and benzyl vıolet 4b ın rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 14. https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1962.tb11110.x.

Marmion, D. M. (1992). *Handbook of US colorants: foods, drugs, cosmetics, and medical devices*. John Wiley & Sons.

Mishra, D. (2020). Food colors and associated oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Mechanistic Aspects*, 1-14.

Radu-Rusu, CG ve Pop, MI (2017). İçme suyunda parlak mavi FCF (E 133) ve azorubin (E 122) alan İsviçre farelerinde vücut kitle

indeksi dinamikleri ve davranış değişiklikleri. *Lucr Ştiinţifice-Universitatea Ştiinţe Agric şi Med Vet Ser Zooteh* , *67* , 21-6.

Scotter, M. J. (2015). Methods of analysis for food colour additive quality and safety assessment. In *Colour additives for foods and beverages* (pp. 131-188). Woodhead Publishing.

Tanaka, T., Takahashi, O., Inomata, A., Ogata, A., & Nakae, D. (2012). Reproductive and neurobehavioral effects of brilliant blue FCF in mice.. *Birth defects research. Part B, Developmental and reproductive toxicology*, 95 6, 395-409.

Tiron, M., Lucaciu, I., Nita-Lazar, M., & Gheorghe, S. (2020). Considerations on the Toxicity of Brilliant Blue FCF Aqueous Solutions before and after Ozonation. *Revista De Chimie*, 71, 356-365.

Türkoğlu, Ş., Benli, D., & Şahin, N. (2015). The effects of five food dyes on the longevity of Drosophila melanogaster. *Fresenius Environmental Bulletin*, *24*(9).

U.S. Food and Drug Administration (2017). Food Additives Status List. Retrieved from FDA Website

Wu, L., Zhang, C., Long, Y., Chen, Q., Zhang, W., & Liu, G. (2022). Food additives: From functions to analytical methods. *Critical reviews in food science and nutrition*, *62*(30), 8497-8517.

BÖLÜM IV

Muğla İlinde Zerkonid Akarlar (Acari: Zerconidae) Üzerine Sistematik Çalışmalar

Raşit URHAN[1]
Mehmet KARACA[2]

1. Giriş

Zerkonidler genel olarak nematodlarla beslenen toprak akarlarıdır. Yosun, bitki döküntüleri ve orman tabanındaki diğer organik artıklarda bulunan predatör canlılardan biri olarak toprak faunasının önemli bileşenleri arasında yer alırlar. Bu familyada yer alan canlılar boreal bölgeden subtropikal ormanlara kadar Kuzey Yarımküre'de dağılmıştır, ancak iklimin ılıman olduğu bölgelerde en yüksek tür zenginliğine sahiptirler (Ujvári, 2010). Zerconidae familyası Holarktik bölgede 47 cins altında yaklaşık 500 farklı türle

[1] Prof. Dr. Pamukkale Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli/Türkiye, ORCİD: 0000-0002-6548-7927, rurhan@pau.edu.tr
[2] Doç. Dr. Pamukkale Üniversitesi, Denizli Teknik Bilimler MYO, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Denizli, Türkiye, ORCİD: 0000-0002-3249-4215, karacamehmet@pau.edu.tr

temsil edilir. Türkiye'den ise 2 farklı cinse (*Prozercon* ve *Zercon*) ait 133 farklı tür bildirilmiştir (Urhan & Karaca, 2024).

Türkiye'nin güneybatısında bulunan Muğla ilinin yüzölçümü 12.654 km^2 olup kuzeyinde Aydın, kuzeydoğusunda Denizli ve Burdur, doğusunda Antalya illeri yer alır (Şekil 1). İlin güneyi Akdeniz, batısı ise Ege Denizi ile çevrilidir. Deniz kıyılarının toplam uzunluğu 1479 km olup bu özellik bakımından Türkiye'nin uzun sahil şeridine sahip ilidir. Bölge, Akdeniz iklimi etkisinde kalmakta olup coğrafi koşullara göre sıcaklık değerleri, nem ve yağış miktarı ile rüzgar yönleri değişiklik göstermektedir. Yıllık yağış miktarı metrekarede 1000 mm'den fazla olup, orman miktarı açısından ülkemizin en zengin olan yörelerinden biridir. Denizden ortalama yüksekliği 670 m'dir. Bafa Gölü ve Köyceğiz Gölü bölgedeki iki önemli sulak alandır. Çine Çayı, Esen Çayı ve Dalaman Çayı ise önemli akarsularıdır (Url-1).

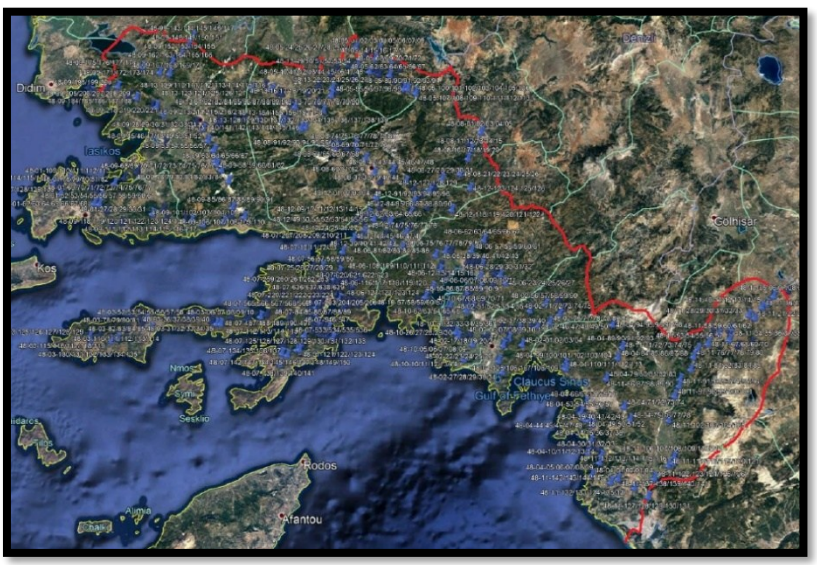
Şekil 1: Muğla ili haritası.

Kaynak: Url-2

Bu çalışmada, Muğla ilinde dağılım gösteren zerkonid akarların tür çeşitliliği ile bireylerin yükseklik ve habitat tercihleri araştırılmıştır. İl genelinde tespit edilen tüm zerkonidler için bir liste hazırlanmış, bulunan türlerin Türkiye ve dünya yayılışları da verilmiştir.

2. Materyal ve Metot

Mevcut çalışmada, 118Z101 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında Muğla'nın zerkonid akar çeşitliliğini belirleyebilmek amacıyla il genelinde çeşitli arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Arazi çalışmalarına ek olarak literatür kayıtları da dikkate alınmıştır. Arazi çalışmalarında Muğla iline bağlı olan ilçe ve mahallelerden çeşitli bitki döküntüleri, çürümüş ağaç kökleri, yosun ve toprak numuneleri toplanmıştır. Araştırma sahasının geniş bir alanı kapsaması nedeniyle arazi çalışmaları esnasında biyolojik materyaller uygun olan habitatlardan rastgele alınmıştır (Şekil 2).



Şekil 2: Muğla ilinde biyolojik materyallerin toplandığı lokaliteler.

Araştırma alanında özellikle biyoçeşitliliğin zengin olarak düşünüldüğü ormanlık alanlardan Ocak 2019 - Mayıs 2021 dönemleri arasında farklı habitatlardan toplam 1785 örnekleme yapılmıştır (Tablo 1). Sahadan toplanan biyolojik materyallerin tamamı ağzı kilitli plastik poşetlere konularak etiketlenmiş ve teşhis işlemleri için Pamukkale Üniversitesi Fen Fakültesi Akaroloji Laboratuvarı'na (PAU) taşınmıştır.

Akaroloji laboratuvarına taşınan biyolojik materyallerden toprak akarlarının ayıklamasında standart metotlar uygulanmıştır (Mohammad-Doustaresharaf & ark., 2023). Zerkonid akarların teşhis işlemlerinde stereo mikroskop (Nikon SMZ-745T) ve ışık mikroskobunda yararlanılmıştır (Olympus CX41). Teşhis işlemlerinde ketotaksi ve poroidotaksi için Sikora (2014) terminolojisi kullanılmıştır. Tespit edilen zerkonidlerin gerekli durumlarda şekilleri çizilerek (Şekil 3), fotoğrafları çekilmiş ve çeşitli vücut kısımlarının ölçümleri mikrometre düzeyinde (µm) yapılmıştır. İncelenen örnekler içinde %70'lik etil alkol 1-2 damla gliserin bulunan saklama şişelerine alınarak PAU'de müze materyali olarak saklanmıştır.

Tablo 1: Muğla ilçelerinin kodlanması ve ilçelerden toplanan biyolojik materyal sayıları.

Kod	İlçeler	Örnekleme sayıları
48-1	Bodrum	130
48-2	Dalaman	91
48-3	Datça	135
48-4	Fethiye	113
48-5	Kavaklıdere	113
48-6	Köyceğiz	132
48-7	Marmaris	206
48-8	Menteşe	102
48-9	Milas	221
48-10	Ortaca	101
48-11	Seydikemer	145
48-12	Ula	132
48-13	Yatağan	164

3. Bulgular

Araştırma sahasındaki farklı habitatlarından toplanan biyolojik materyallerin analizleri sonucunda 2 farklı cinse ait toplam 17 farklı zerkonid türü bulunmuştur. Bulunan türlerin 6'sı *Prozercon* cinsine, 11'i ise *Zercon* cinsine aittir. Teşhis işlemleri gerçekleştirlen tüm zerkonid akarlar bu kısımda alfabetik olarak sunulmuştur. Tür bazında incelenen birey sayıları ile türlerin ülkemizdeki ve dünyadaki yayılışları da verilmiştir. İlçelere göre tespit edilen bireylerin listelenmesinde Tablo 1'deki kodlamalar kullanılmıştır, erginlerin ve nimflerin toplam sayıları ayrı ayrı verilmiştir (♀: dişi, ♂: erkek, DN: dötonimf, PN: protonimf). Ek olarak, tespit edilen bireylerin yükseklik ve habitat tercihleri de sunulmuştur.

Familya: ZERCONIDAE Canestrini, 1891

Cins: *PROZERCON* Sellnick, 1943

Tip türü: ***Zercon fimbriatus*** C. L. Koch, 1839

Cinsin detaylı tanımı için Urhan & Karaca (2023a)'ya bakınız.

3. 1. *Prozercon bulbiferus* Ujvári, 2011
İncelenen bireyler: 48-7: 11 ♀, 4 ♂.
Türkiye yayılışı: Çanakkale, Edirne, Kırklareli, Tekirdağ (Karaca & Urhan, 2015a), Kütahya (Urhan & Duran, 2019), Aydın (Urhan & Karaca, 2023b), Muğla (bu çalışma).
Dünya yayılışı: Yunanistan (Ujvári, 2011), Türkiye (Karaca & Urhan, 2015a).

3. 2. *Prozercon bulgariensis* Ujvári, 2013
İncelenen bireyler: 48-3: 35 ♀, 11 ♂, 6 DN; 48-6: 32 ♀; 48-7: 512 ♀, 118 ♂, 44 DN, 10 PN; 48-9: 66 ♀, 17 ♂, 2 DN.
Türkiye yayılışı: Muğla (Urhan & Karaca, 2020).
Dünya yayılışı: Bulgaristan (Ujvári, 2013), Türkiye (Urhan & Karaca, 2020).

3. 3. *Prozercon celali* Urhan, 2010
İncelenen bireyler: 48-11: 1 ♀.
Türkiye yayılışı: Denizli (Urhan, 2010a), Muğla (bu çalışma).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, 2010a).

3. 4. *Prozercon tragardhi* (Halbert, 1923)
İncelenen bireyler: 48-1: 5 ♀; 48-3: 4 ♀, 1 ♂; 48-7: 59 ♀, 13 ♂, 3 PN.
Türkiye yayılışı: Erzurum (Urhan & Ayyıldız, 1992), Giresun (Karaca & Urhan, 2015b), İstanbul (Duran & Urhan, 2017), Kütahya (Urhan & Duran, 2019), Muğla (Bilki, Urhan & Karaca, 2022), Tekirdağ (Karaca & Urhan, 2023a), Kırklareli (Karaca & Urhan, 2023b), Aydın (Urhan & Karaca, 2023b), Denizli (Urhan, 2024).
Dünya yayılışı: Avusturya, İngiltere, İrlanda, İsveç, İsviçre, Polonya, Rusya, Türkiye (Urhan & Ayyıldız, 1992), Almanya, Çekya,

İzlanda, Litvanya, Macaristan, Romanya Slovakya, Ukrayna (Mašán & Fend'a, 2004), Slovenya (Ujvári, 2009).

3. 5. *Prozercon umidicola* Urhan, 2002
İncelenen bireyler: 48-7: 3 ♀; 48-9: 2 ♀; 48-13: 4 ♀, 7 ♂, 9 DN.
Türkiye yayılışı: Aydın (Urhan, 2002), İzmir (Urhan & Karaca, 2023a), Muğla (bu çalışma).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, 2002).

3. 6. *Prozercon yavuzi* Urhan, 1998
İncelenen bireyler: 48-6: 1 ♀; 48-7: 24 ♀, 3 ♂, 1 DN; 48-12: 9 ♀, 3 ♂, 1 DN.
Türkiye yayılışı: Muğla (Urhan, 1998), İstanbul (Duran & Urhan, 2017), Uşak (Urhan & Duran, 2019), Denizli (Bulut, Urhan & Karaca, 2021), Balıkesir (Karaca, 2021), Aydın (Keçeci, Urhan & Karaca, 2021), Manisa (Urhan & Karaca, 2022), İzmir (Urhan & Karaca, 2023a).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, 1998), Greece (Ujvári, 2008).

Cins: *ZERCON* C. L. Koch, 1836
Tip türü: ***Zercon triangularis*** C. L. Koch, 1836
Cinsin detaylı tanımı için Urhan & Karaca (2023a)'ya bakınız.

3. 7. *Zercon colligans* Berlese, 1920
İncelenen bireyler: 48-1: 25 ♀, 8 ♂, 4 DN, 1 PN; 48-2: 1 ♀; 48-3: 1 ♀; 48-4: 3 ♀; 48-5: 339 ♀, 77 ♂, 104 DN, 56 PN; 48-7: 131 ♀, 42 ♂, 20 DN, 5 PN; 48-8: 15 ♀, 10 ♂, 3 DN; 48-9: 274 ♀, 123 ♂, 70 DN, 37 PN; 48-11: 288 ♀, 106 ♂, 64 DN, 18 PN; 48-12: 157 ♀, 74 ♂, 39 DN, 9 PN; 48-13: 38 ♀, 23 ♂, 32 DN, 18 PN.
Türkiye yayılışı: Amasya, Eskişehir, Isparta (Karaca & Urhan, 2017), Afyonkarahisar, Artvin, Aydın, Balıkesir, Çanakkale, Denizli, Edirne, Erzurum, Giresun, İstanbul, Kırklareli, Kütahya, Tekirdağ, Uşak (Karaca, 2021), Muğla (Bilki, Urhan & Karaca,

2022), Manisa (Urhan & Karaca, 2022), İzmir (Urhan & Karaca, 2023a).
Dünya yayılışı: Fransa, İran, İsveç, İsviçre, İtalya, Rusya, Türkiye (Karaca, 2021).

3. 8. *Zercon dogani* Bilki, Urhan & Karaca, 2022 (Şekil 3A)
İncelenen bireyler: 48-1: 271 ♀, 108 ♂, 57 DN, 15 PN; 48-3: 207 ♀, 83 ♂, 52 DN, 12 PN; 48-7: 161 ♀, 58 ♂, 14 DN, 5 PN; 48-9: 207 ♀, 68 ♂, 29 DN, 9 PN; 48-12: 1 ♀.
Türkiye yayılışı: Muğla (Bilki, Urhan & Karaca, 2022), Manisa (Urhan & Karaca, 2022), İzmir (Urhan & Karaca, 2023a), Aydın (Urhan & Karaca, 2023b).
Dünya yayılışı: Türkiye (Bilki, Urhan & Karaca, 2022).
Not: Bu türün tip örnekleri ülkemizde ilk defa Marmaris ilçesinde bulunmuş ve tanımlanmıştır.

3. 9. *Zercon fethiyensis* Urhan & Karaca, 2024 (Şekil 3B)
İncelenen bireyler: 48-4: 14 ♀; 48-11: 71 ♀, 3 ♂, 2 DN.
Türkiye yayılışı: Muğla (Urhan & Karaca, 2024).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan & Karaca, 2024).
Not: Bu türün tip örnekleri ülkemizde ilk defa Fethiye ve Seydikemer ilçelerinde bulunmuş ve tanımlanmıştır.

3. 10. *Zercon huseyini* Urhan, 2008
İncelenen bireyler: 48-8: 2 ♀, 1 DN; 48-11: 83 ♀, 33 ♂, 22 DN, 2 PN.
Türkiye yayılışı: Denizli (Urhan, 2008), Afyonkarahisar, Kütahya, Uşak (Urhan & Duran, 2019), Manisa (Urhan & Karaca, 2022), İzmir (Urhan & Karaca, 2023a), Aydın (Urhan & Karaca, 2023b), Muğla (bu çalışma).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, 2008).

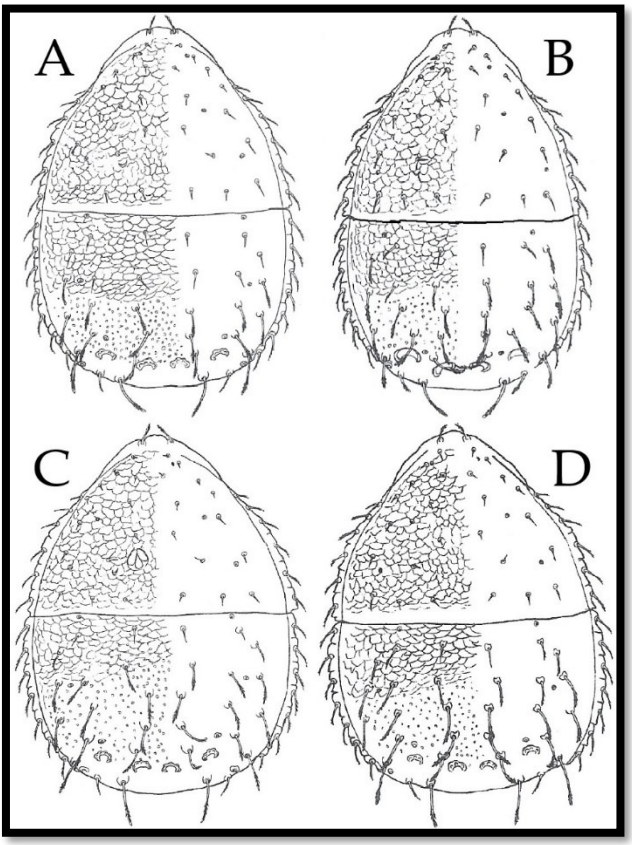
3. 11. *Zercon kallimcii* Urhan, 2010

İncelenen bireyler: 48-5: 2 ♀; 48-11: 36 ♀, 17 ♂, 11 DN, 1 PN.
Türkiye yayılışı: Denizli (Urhan, 2010b), Aydın (Urhan & Karaca, 2023b), Muğla (bu çalışma).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, 2010b).

3. 12. *Zercon marmarisensis* Bilki, Urhan & Karaca, 2022 (Şekil 3C)
İncelenen bireyler: 48-3: 7 ♀, 2 ♂; 48-7: 57 ♀, 5 ♂; 48-11: 26 ♀, 1 ♂; 48-12: 1 ♀.
Türkiye yayılışı: Muğla (Bilki, Urhan & Karaca, 2022).
Dünya yayılışı: Türkiye (Bilki, Urhan & Karaca, 2022).
Not: Bu türün tip örnekleri ülkemizde ilk defa Marmaris ilçesinde bulunmuş ve tanımlanmıştır.

3. 13. *Zercon muglaensis* Bilki, Urhan & Karaca, 2022 (Şekil 3D)
İncelenen bireyler: 48-2: 39 ♀, 2 ♂; 48-4: 89 ♀, 4 ♂; 48-6: 5 ♀, 2 ♂; 48-10: 5 ♀; 48-11: 228 ♀, 6 ♂.
Türkiye yayılışı: Muğla (Bilki, Urhan & Karaca, 2022).
Dünya yayılışı: Türkiye (Bilki, Urhan & Karaca, 2022).
Not: Bu türün tip örnekleri ülkemizde ilk defa Marmaris ilçesinde bulunmuş ve tanımlanmıştır.

3. 14. *Zercon quadricavum* Urhan, 2001
İncelenen bireyler: 48-6: 23 ♀, 3 DN, 3 PN; 48-7: 268 ♀, 100 ♂, 50 DN, 11 PN; 48-8: 82 ♀, 34 ♂, 6 DN, 2 PN; 48-12: 65 ♀, 42 ♂, 22 DN, 6 PN; 48-13: 9 ♀, 2 ♂, 1 DN.
Türkiye yayılışı: Muğla (Urhan, 2001), Denizli (Karaca & ark., 2017a), Kütahya, Uşak (Urhan & Duran, 2019).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, 2001).



Şekil 3: Tip yeri (terra typica) Muğla ili olan ve Türkiye'ye endemik kabul edilen zerkonid akar türleri (ölçeksiz): A. Zercon dogani, B. Zercon fethiyensis, C. Zercon marmarisensis, D. Zercon muglaensis.

Kaynak: Bilki vd., 2022; Urhan ve Karaca, 2024'den değiştirilerek.

3. 15. *Zercon semizi* Urhan, Duran & Karaca, 2020

İncelenen bireyler: 48-5: 1 ♀.

Türkiye yayılışı: Aydın (Urhan, Duran & Karaca, 2020), Denizli (Urhan, 2024), Muğla (bu çalışma).

Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan, Duran & Karaca, 2020).

3. 16. *Zercon turcicus* Urhan & Ayyıldız, 1994
İncelenen bireyler: 48-11: 176 ♀, 135 ♂, 48 DN, 11 PN.
Türkiye yayılışı: Erzurum (Urhan & Ayyıldız, 1994), Kırklareli (Karaca & Urhan, 2016), Afyonkarahisar (Urhan & Duran, 2019), Muğla (Bilki, Urhan & Karaca, 2022), Aydın (Urhan & Karaca, 2023b), Denizli (Urhan, 2024).
Dünya yayılışı: Türkiye (Urhan & Ayyıldız, 1994), İran (Karaca & ark., 2017b).

3. 17. *Zercon urhani* Karaca, 2024
İncelenen bireyler: 48-11: 104 ♀, 30 ♂, 13 DN, 1 PN.
Türkiye yayılışı: Aydın, Muğla (Karaca, 2024).
Dünya yayılışı*:* Türkiye (Karaca, 2024).

Tespit Edilen Türlerin Yükseklik Tercihleri

Bu çalışmada Muğla'dan bildirilen zerkonid akarlar için il genelinden toplanan çeşitli döküntü, çürümüş ağaç kökleri, yosun ve toprak materyalleri 0-1400 metre yükselti aralığındaki uygun habitatlardan toplanmıştır. Biyolojik materyallerin toplandığı lokaliteler Tablo 2'de 100'er metrelik yükselti aralıklarına göre işaretlenmiştir. Toplanan biyolojik materyallerden elde edilen zerkonidlerin teşhis işlemlerinden sonra ilgili türlere ait bireylerin bulunduğu yükseltiler Tablo 2'de listelenmiştir.

Tablo 2'deki veriler ışığında *P. celali* ve *P. semizi* türlerine ait bireyler tek bir yükselti aralığında tespit edilmiştir. *Z. colligans* türüne ait bireylerinin en geniş dikey dağılıma (0-1300 m arası) sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, *P. bulbiferus* (100-400 m arası), *P. umidicola* (0-400 m arası), *P. yavuzi* (0-400 m arası), *Z. dogani* (0-400 m arası) ve *Z. marmarisensis* (0-200 m arası) bireyleri yalnızca

alçak rakımlarda tespit edilirken, *P. celali* (1200-1300 m arası) ve *Z. urhani* (1000-1300 m arası) türlerine ait bireyler yalnızca yüksek rakımlarda bulunmuştur. Tablo 2'de yer alan diğer zerkonid akar türlerine ait bireylerin ise yükseklik açısından net bir tercihlerinin olmadığı yorumlanmıştır. Ek olarak, Muğla ilinde 1300-1400 m aralığından toplanan materyallerde herhangi bir zerkonid akar türüne rastlanmamıştır.

Tablo 2: Muğla zerkonidlerinin bulunduğu rakım aralıkları.

	Yükselti Aralığı (m)													
Tür	0-100	100-200	200-300	300-400	400-500	500-600	600-700	700-800	800-900	900-1000	1000-1100	1100-1200	1200-1300	1300-1400
P. bulbiferus		+	+	+										
P. bulgariensis	+	+	+	+		+								
P. celali													+	
P. tragardhi	+	+				+								
P. umidicola	+	+		+										
P. yavuzi	+	+		+										
Z. colligans	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	
Z. dogani	+	+	+	+										
Z. fethiyensis	+	+	+		+	+					+			
Z. huseyini							+			+	+	+	+	
Z. kallimcii									+			+	+	
Z. marmarisensis	+	+												
Z. muglaensis	+	+	+		+	+								
Z. quadricavum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
Z. semizi									+					
Z. turcicus	+	+										+	+	
Z. urhani											+	+	+	

Tespit Edilen Türlerin Habitat Tercihleri

Zerkonid akarları içeren biyolojik materyallerinin toplandığı habitat tipleri not edilmiştir. İl genelinde genellikle ormanlık alanlardan çeşitli materyaller toplanmış ve analiz işlemleri için laboratuvar ortamına transfer edilmiştir. 54 farklı habitattan (Kıbrıs akasyası: *Acacia cyanophylla*, koca yemiş: *Arbutus unedo*, kuşkonmaz: *Asparagus officinalis*, geven: *Astragalus* sp., köpekotu: *Ballota nigra*, keçiboynuzu: *Ceratonia siliqua*, tüylü laden: *Cistus creticus*, defne yapraklı laden: *C. laurifolius*, alıç: *Crataegus monogyna*, servi: *Cupressus sempervirens*, sıyırcık: *Daphne gnidioides*, ağaç fundası: *Erica arborea*, okaliptüs: *Eucalyptus camaldulensis*, sütleğen: *Euphorbia rigida*, kertikefen: *Genista acanthoclada*, çam borcağı: *G. sandrasica*, sarmaşık: *Hedera helix*, ceviz: *Juglans regia*, dikenli ardıç: *Juniperus communis*, dikensiz ardıç: *J. excelsa*, katran ardıcı: *J. oxycedrus*, Akdeniz defnesi: *Laurus nobilis*, Anadolu sığla ağacı: *Liquidambar orientalis*, tespih ağacı: *Melia azedarach*, mersin: *Myrtus communis*, zakkum: *Nerium oleander*, zeytin: *Olea europea*, karaçalı: *Paliurus spina-christi*, bozçalı: *Phagnalon graecum*, kızılçam: *Pinus brutia*, karaçam: *P. nigra*, fıstık çamı: *P. pinea*, sakız ağacı: *Pistacia lentiscus*, menengiç: *P. terebinthus*, çınar: *Platanus orientalis*, badem: *Prunus dulcis*, eğrelti otu: *Pteridium equilinum*, nar: *Punica granatum*, ahlat: *Pyrus elaeagrifolia*, kermes meşesi: *Quercus coccifera*, pırnal meşe: *Q. ilex*, mazı meşesi: *Q. infectoria*, Makedonya meşesi: *Q. trojana*, yalancı akasya: *Robinia pseudoacacia*, kuşburnu: *Rosa canina*, böğürtlen: *Rubus fruticosus* ve *R. sanctus*, tavşanmemesi: *Ruscus aculeatus*, adaçayı: *Salvia officinalis*, abdestbozan otu: *Sarcopterium spinosum*, ayıfındığı: *Styrax officinalis*, ılgın: *Tamarix*

smyrnensis, karaağaç: *Ulmus minor* ve yosun) alınan çeşitli otsu ve odunsu bitki döküntüleri ile ilgili habitatlarda bulunan zerkonidler Tablo 3'de eşleştirilmiştir.

Tablo 3'e göre *P. celali* ve *P. semizi* türlerine ait bireyler tek bir habitat tipinde, *P. bulbiferus* ve *P. umidicola* türlerinin bireyleri üç farklı habitat tipinde, *P. tragardhi*, *P. yavuzi* ve *Z. kallimcii* türlerinin bireyleri ise dört farklı habitat tipinde bulunmuştur. Diğer taraftan *Z. colligans* bireylerine 35, *P. bulgariensis*, *Z. dogani* ve *Z. quadricavum* bireylerine 19, *Z. muglaensis* bireylerine ise 15 farklı habitat tipinde rastlanılmıştır. Diğer zerkonid türlerinin ise habitat tipi açısından net bir tercihlerinin olmadığı yorumlanmıştır. Tablo 3'ü her bir habitat tipinin barındırdığı zerkonid çeşitliliği açısından değerlendirmek gerekirse, en fazla zerkonid akar çeşitliliğine sahip olan habitat tipleri sırasıyla kermes meşesi ve yosun (14'er tür), kızılçam (11 tür), tüylü laden ve katran ardıcı (8'er tür), zeytin ve ahlat (7'şer tür) olarak tespit edilmiştir. Ek olarak, köpekotu, defne yapraklı laden, servi, okaliptüs, sütleğen, dikensiz ardıç, akdeniz

Tablo 3: Muğla zerkonidlerinin bulunduğu habitat tipleri.

Habitat	*P. bulbiferus*	*P. bulgariensis*	*P. celali*	*P. tragaridhi*	*P. umidicola*	*P. yavuzi*	*Z. colligans*	*Z. dogani*	*Z. fethiyensis*	*Z. huseyini*	*Z. kallimcii*	*Z. marmarisensis*	*Z. muglaensis*	*Z. quadricavum*	*Z. semizi*	*Z. turcicus*	*Z. urhani*
Acacia cyanophylla																	
Arbutus unedo		+					+	+									
Asparagus officinalis							+							+			
Astragalus sp.							+			+						+	
Ballota nigra							+										
Ceratonia siliqua		+					+	+					+				
Cistus creticus		+				+	+	+		+		+	+	+			
Cistus laurifolius							+										
Crataegus monogyna		+					+										
Cupressus sempervirens												+					
Daphne gnidioides		+						+									
Erica arborea		+					+	+									+
Eucalyptus camaldulensis							+										
Euphorbia rigida							+										
Genista acanthoclada								+	+				+			+	+
Genista sandrasica							+						+				
Hedera helix							+						+				
Juglans regia																	
Juniperus communis							+			+	+			+		+	+
Juniperus excelsa																	+
Juniperus oxycedrus		+	+				+			+	+		+	+			+
Laurus nobilis														+			
Liquidambar orientalis							+							+			
Melia azedarach							+										
Myrtus communis				+			+	+									
Nerium oleander																	
Olea europea		+				+	+	+	+				+	+			
Paliurus spina-christi							+									+	
Phagnalon graecum		+						+									
Pinus brutia	+	+		+		+	+	+	+			+	+	+		+	
Pinus nigra							+		+	+				+			
Pinus pinea							+										
Pistacia lentiscus		+			+		+	+				+	+				
Pistacia terebinthus																	
Platanus orientalis							+										
Prunus dulcis																	
Pteridium equilinum																	
Punica granatum							+										
Pyrus elaeagrifolia		+					+	+				+		+		+	+
Quercus coccifera	+	+		+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
Quercus ilex		+					+	+					+	+			
Quercus infectoria		+					+	+					+	+			
Quercus trojana																	
Robinia pseudoacacia							+										
Rosa canina							+	+			+			+		+	
Rubus fruticosus							+										
Rubus sanctus																	
Ruscus aculeatus							+							+			
Salvia officinalis		+						+	+					+			
Sarcopterium spinosum		+			+			+				+	+	+			
Styrax officinalis		+								+			+	+			
Tamarix smyrnensis																	
Ulmus minor																	
Yosun	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+

defnesi, tespih ağacı, fıstık çamı, çınar, nar, yalancı akasya ve böğürtlen (*Rubus fruticosus*) ve habitatlarında ise tek bir zerkonid akar türüne ait bireylere rastlanmıştır. Öte yandan, Kıbrıs akasyası, ceviz, zakkum, menengiç, badem, eğrelti otu, Makedonya meşesi, böğürtlen (*Rubus sanctus*), ılgın ve karaağaç habitatlarında ise herhangi bir zerkonid akar türüne ait bireylere rastlanmamıştır.

4. Tartışma ve Sonuç

Türkiye sahip olduğu farklı yeryüzü şekilleri (topografik özellikler) ve iklim tiplerine bağlı olarak zengin bir bitki çeşitliliğine ev sahipliği yapmaktadır. Bünyesinde barındırdığı bu zengin flora, hem omurgalı hem de omurgasız birçok farklı hayvan türünün ülkemizi barınak olarak kullanmasına imkan tanımaktadır. Toprak içerisindeki önemli omurgasız hayvan gruplarından biri olan mikroskobik boyutlu toprak akarları da ülkemizde çok fazla sayıda türle temsil edilmektedir (Erman & ark., 2024). Bu çalışmada Muğla ilinde Zerconidae familyasına ait akar türleri sistematik açıdan araştırılmıştır. Literatürde zerkonid akarların Muğla'dan bildirilmiş bazı kayıtları olsa da mevcut tür çeşitliliğini objektif bir biçimde ortaya çıkarabilmek amacıyla bu çalışmada 29 aylık süre boyunca il genelinin tamamından 1785 farklı biyolojik materyal toplanmış ve analiz edilmiştir. Bu sebeple gerek araştırma sürecinin gerekse toplanıp analiz edilen materyallerin yeterli sayıda olduğu düşünülmektedir.

Laboratuvarda gerçekleştirilen teşhis işlemlerinden sonra Muğla ilinden kaydedilen *Z. dogani*, *Z. fethiyensis*, *Z. marmarisensis* ve *Z. muglaensis* türlerinin tip yerleri (terra typica) Muğla ilidir. Bu türlere ek olarak *P. celali*, *P. umidicola*, *Z. huseyini*, *Z. kallimcii*, *Z. quadricavum*, *Z. semizi* ve *Z. urhani* türleri de şimdiye kadar ülkemiz

haricindeki yakın coğrafyalardan bildirilmemiştir. Dolayısıyla il genelinden bildirilen 17 farklı zerkonid türünün 4'ü (%23'ü) Muğla iline, 11'i (%64'ü) ise Türkiye'ye endemiktir. Bu durum Zerconidae familyası türlerinin büyük çoğunluğu için yüksek bir endemizm oranının varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, tip yeri ülkemiz olan bazı türlerin de özellikle son yıllarda Türkiye'ye yakın alanlardan yayılış kayıtları bildirilmiştir (Ujvári, 2008, 2011; Karaca & ark., 2017b; Kavianpour & ark., 2018; Mohammad-Doustaresharaf & ark., 2023).

Bu çalışmada ülkemizin omurgasız hayvan faunasına ve Zerconidae familyası envanterine katkı sağlamak amacıyla elde edilen veriler sunulmuştur. Türkiye'de son yıllarda bu amaçla gerçekleştirilen çeşitli lokal ve bölgesel çalışmalar bulunmaktadır (Urhan, Duran & Karaca, 2018; Bulut, Urhan & Karaca, 2021; Karaca, 2021; Keçeci, Urhan & Karaca, 2021; Bilki, Urhan & Karaca, 2022; Urhan & Karaca, 2022, 2023a, 2023b, 2023c; Karaca & Urhan, 2023a, 2023b, 2023c, 2023d; Urhan, 2024). Mevcut çalışmanın sonuçlarının da bu kapsamda değerlendirilmesi ve ülkemizin Zerconidae faunasının ana hatlarıyla ortaya çıkarılmasında fayda sağlayacağı düşünülmüştür.

Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 118Z101 nolu proje ile maddi olarak desteklenmiştir. Ayrıca, arazi çalışmaları için gerekli izinleri sağlayan (72784983-488.04-51504) Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

Kaynakça

Bilki, K., Urhan, R. & Karaca, M. (2022). Mites of the family Zerconidae (Acari: Mesostigmata) from Southwestern Turkey, with description of three new species. *Acarological Studies*, *4* (2), 89-103. Doi: 10.47121/acarolstud.1129248

Bulut, D. R., Urhan, R. & Karaca, M. (2021). Zerconid mites (Acari, Zerconidae) from eastern parts of Aydın Province (Turkey), with description of a *Zercon karacasuensis* sp. nov. *Acarological Studies*, *3* (2), 73-81. Doi: 10.47121/acarolstud.911415

Duran, E. H. & Urhan, R. (2017). Zerconid mites (Acari, Zerconidae) in İstanbul, with four new records for the Turkish fauna. *Turkish Journal of Zoology*, *41* (5), 931-939. Doi: 10.3906/zoo-1601-27

Erman, O., Doğan, S., Ayyıldız, N. & Özkan, M. (2024). Checklist of the mites (Acari) of Türkiye. Third supplement. *Acarological Studies*, *6* (2), 81-111. Doi: 10.47121/acarolstud.1500691

Karaca, M. (2021). Zerconid mites (Acari: Mesostigmata: Zerconidae) of the Kazdağı National Park, Turkey, with altitude and habitat preferences of the species. *Biharean Biologist*, *15* (1), 6-13.

Karaca, M. (2024). Two new species of zerconid mites (Parasitiformes: Zerconidae) from the coastal Aegean region of Türkiye. *Zoology in the Middle East*, *70* (4), 343-352. Doi: 10.1080/09397140.2024.2420378

Karaca, M. & Urhan, R. (2015a). Two new records of the genus *Prozercon* Sellnick, 1943 (Acari: Zerconidae) from Turkey.

Turkish Journal of Zoology, *39* (5), 949-955. Doi: 10.3906/zoo-1410-21

Karaca, M. & Urhan, R. (2015b). The diversity of zerconid mites (Acari, Zerconidae) in Giresun province, with a new record for the Turkish fauna. *Opuscula Zoologica (Budapest)*, *46* (2), 199-209. Doi: 10.18348/opzool.2015.2.199

Karaca, M. & Urhan, R. (2016). Five new species of *Zercon* C. L. Koch, 1836 (Acari: Zerconidae) from northwestern Turkey. *Zootaxa*, *4127* (1), 31-59. Doi: 10.11646/zootaxa.4127.1.2

Karaca, M. & Urhan, R. (2017). New localities of zerconid mites from Turkey (Acari: Zerconidae). *MUNIS Entomology & Zoology*, *12* (1), 31-37.

Karaca, M. & Urhan, R. (2023a). Tekirdağ ilinin zerkonid akar faunası (Acari: Zerconidae). *1. Bilsel Uluslararası Harput Bilimsel Araştırmalar Kongresi*, 25-26 Kasım 2023, Elazığ, Türkiye, (s. 192-205).

Karaca, M. & Urhan, R. (2023b). Kırklareli ilinin zerkonid akar faunası (Acari: Zerconidae). *2. Bilsel Uluslararası Ahlat Bilimsel Araştırmalar Kongresi*, 9-10 Aralık 2023, Bitlis, Türkiye, (s. 962-976).

Karaca, M. & Urhan, R. (2023c). Edirne ilinin zerkonid akar faunası (Acari: Zerconidae). Ege Zirvesi *10. Uluslararası Uygulamalı Bilimler Kongresi*, 22-24 Aralık 2023, İzmir, Türkiye, (s. 1489-1498).

Karaca, M. & Urhan, R. (2023d). Balıkesir'den kaydedilmiş zerkonid akarlar (Acari: Zerconidae). M. Bayyiğit, M. A. Azman, S.

Türker, M. Çanakcı, Y. Yüksel & A. H. A. Abdelghany (Eds.) *Cumhuriyetin 100. Yılında Balıkesir'in Kültürel Birikimi, Tarım, Gıda ve Hayvancılık* içinde (s. 125-144). Konya: Palet Yayınları.

Karaca, M., Urhan, R., Duran, E. H. & Kızılkaya, E. (2017a). Zerconid mites (Acari: Zerconidae) recorded from Denizli province (Turkey). *3rd Symposium on Euroasian Biodiversity (SEAB 2017)*, 5-8 July 2017, Minsk, Belarus, (p. 42).

Karaca, M., Ordoukhanian, C., Ahadiyat, A. & Urhan, R. (2017b). New occurrences of zerconid mites (Acari: Zerconidae) from Iran, with checklist and a key to the Iranian species. *International Journal of Acarology*, *43* (8), 603-611. Doi: 10.1080/01647954.2017.1373857

Kavianpour, M., Karaca, M., Karimpour, Y. & Urhan, R. (2018). A new species and new distribution records of *Zercon* C. L. Koch, 1836 from Iran (Acari: Mesostigmata: Zerconidae). *Zoology in the Middle East*, *64* (4), 363-370. Doi: 10.1080/09397140.2018.1484040

Keçeci, B., Urhan, R. & Karaca, M., (2021). Mites of the genus *Prozercon* (Acari: Zerconidae) in Dilek Peninsula-Büyük Menderes Delta National Park (Turkey), with description of a new species. *Acarological Studies*, *3* (1), 37-42. Doi: 10.47121/acarolstud.837286

Mašán, P. & Fend'a, P. (2004). *Zerconid mites of Slovakia (Acari, Mesostigmata, Zerconidae)*. Bratislava: Slovak Academy of Sciences, Institute of Zoology, Slovakia.

Mohammad-Doustaresharaf, M., Karaca, M., Bagheri, M. & Urhan, R. (2023). A taxonomic study on the zerconid mites (Acari:

Zerconidae) in northwestern Iran: descriptions of three new species with three new records. *Systematic and Applied Acarology*, *28* (3), 429-460. Doi: 10.11158/saa.28.3.3

Sikora, B. (2014). Mites of the family Zerconidae (Acari: Mesostigmata) of the Nearctic Region. *Annales Zoologici (Warszawa)*, *64* (2), 131-250. Doi: 10.3161/000345414x682463

Ujvári, Z. (2008). Zerconid mites (Acari: Mesostigmata: Zerconidae) from Crete, Greece, with description of two new species. *Opuscula Zoologica (Budapest)*, *39*, 99-108.

Ujvári, Z. (2009). Contribution to the Mesostigmata fauna of Slovenia (Acari: Mesostigmata: Zerconidae Et Macrochelidae). *Acta Entomologica Slovenica*, *17* (2), 115-124.

Ujvári, Z. (2010). *Zercon myriasetosus* sp. n., an extraordinary species of the family Zerconidae (Acari: Mesostigmata). *Genus*, *21* (2), 309-314.

Ujvári, Z. (2011). Six new species of *Prozercon* Sellnick, 1943 (Acari, Mesostigmata, Zerconidae) from Greece, with remarks on the genus. *Zootaxa*, *2785* (1): 1-31. Doi: 10.11646/zootaxa.2785.1.1

Ujvári, Z. (2013). Two new species of *Prozercon* Sellnick, 1943 (Acari, Mesostigmata, Zerconidae) from Bulgaria. *International Journal of Acarology*, *39* (3): 263-271. Doi: 10.1080/01647954.2013.769628

Urhan, R. (1998). Some new species of the family Zerconidae (Acari: Mesostigmata) from Turkey. *Journal of Natural History*, *32* (4), 533-543. Doi: 10.1080/00222939800770291

Urhan, R. (2001). Descriptions of two new species of the genus *Zercon* Koch (Acari, Gamasida, Zerconidae) from Turkey. *Zoology in the Middle East*, *23* (1), 107-112. Doi: 10.1080/09397140.2001.10637875

Urhan, R. (2002). New zerconid mites (Acari: Gamasida: Zerconidae) from Turkey. *Journal of Natural History*, *36* (17), 2127-2138. Doi: 10.1080/00222930110089166

Urhan, R. (2008). Two new species of *Zercon* (Acari: Zerconidae) from Turkey. *Biologia*, *63* (3), 395-401. Doi: 10.2478/s11756-008-0057-4

Urhan, R. (2010a). *Prozercon celali* sp. nov. of soil mites (Acari: Zerconidae) from Turkey. *Annales Zoologici*, *60* (1), 133-137. Doi: 10.3161/000345410X499614

Urhan, R. (2010b). *Zercon kallimcii* sp. n., a new species of zerconid mite (Acari, Zerconidae) from Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, *34* (2), 169-176. Doi: 10.3906/zoo-0902-1

Urhan, R. (2024). Mites of the family Zerconidae (Acari: Mesostigmata) in Denizli province. R. C. Beram (Ed.), *Comprehensive Approaches in Biology: From Molecular Targets to Ecosystem Analysis*, (pp. 107-136). Klaipeda: SRA Academic Publishing.

Urhan, R. & Ayyıldız, N. (1992). Türkiye faunasi için yeni bir *Prozercon* Sellnick, 1943 (Acari, Mesostigmata, Zerconidae) türü. *Doğa Turkish Journal of Zoology*, *17* (1), 83-89.

Urhan, R. & Ayyıldız, N. (1994). Two new species of the genus *Zercon* Koch (Acari: Zerconidae) from Turkey. *International Journal of Acarology*, *19* (4), 335-339.

Urhan, R. & Duran, E. H. (2019). Zerconid mites (Acari, Zerconidae) in Inner Aegean Region, with a new record for the Turkish fauna. *Zootaxa*, *4568* (2), 323-336. Doi: 10.11646/zootaxa.4568.2.7

Urhan, R. & Karaca, M. (2020). First finding of *Prozercon bulgariensis* Ujvári, 2013 (Acari, Zerconidae) from Turkey. *International Journal of Scientific and Technological Research*, *6* (7), 91-97. Doi: 10.7176/JSTR/6-07-10

Urhan, R. & Karaca, M. (2022). Manisa ilinin zerkonid akar faunası (Acari: Mesostigmata: Zerconidae). Y. Abalı, O. Minareci, S. Ç. Kaynar & L. İncedere (Eds.) *Manisa Akademik Araştırmalar Işığında (Fen Bilimleri & Coğrafya & İktisat)* içinde (s. 208-234). Ankara: Berikan Yayınevi.

Urhan, R. & Karaca, M. (2023a). Species diversity of the mite family Zerconidae (Acari: Mesostigmata) in İzmir province. A. Demier (Ed.), In *Multifaceted Academic Perspective: Basic Sciences and Engineering Research*, pp. 1-26). Klaipeda: SRA Academic Publishing.

Urhan, R. & Karaca, M. (2023b). Aydın ilinin zerkonid akar faunası (Acari: Mesostigmata: Zerconidae). R. C. Beram (Ed.), *Çok yönlü Akademik Perspektif: Temel Bilimler Araştırmaları* içinde (s. 89-116). Klaipeda: SRA Academic Publishing.

Urhan, R. & Karaca, M. (2023c). Contributions to the Zerconidae (Acari: Mesostigmata) fauna of Dilek Peninsula-Büyük Menderes Delta National Park, Türkiye. *Acarological Studies*, *5* (1), 21-33. Doi: 10.47121/acarolstud.1226687

Urhan, R. & Karaca, M. (2024). Muğla'dan *Zercon* cinsinin (Acari, Zerconidae) yeni bir türü: *Zercon fethiyensis* sp. nov. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, *25* (6), 1267-1274. Doi: 10.35414/akufemubid.1464724

Urhan, R., Duran, E. H. & Karaca, M., 2018. The diversity of zerconid mites (Acari, Zerconidae) in Akdağ National Park (Denizli/Turkey). *International Journal of Scientific and Technological Research*, *4* (10), 509-517.

Urhan, R., Duran, E. H., Karaca, M. (2020). Three new species of *Zercon* C. L. Koch, 1836 (Acari: Zerconidae) from Coastal Aegean Section of Turkey. *Journal of Natural History*, *54* (35-36), 2323-2341. Doi: 10.1080/00222933.2020.1844328

Url-1: https://tr.wikipedia.org/wiki/Muğla_(il) (Erişim Tarihi: 25/11/2024)

Url-2: https://s.milimaj.com/others/image/harita/mugla-ili-haritasi.png (Erişim Tarihi: 25/11/2024)

BÖLÜM V

Rumen Mikrobiyom Analizinde Geleneksel ve Modern Teknikler

Altuğ KARAMAN
Fadime YAZDIÇ

Giriş

İnsanlık var olduğu sürece hayvancılık her zaman toplumun ayrılmaz bir parçası olmuş ve olmaya devam edecektir. Hayvancılık, tavuk gibi tek mideli hayvanlardan sığır ve koyun gibi geviş getiren hayvanlara kadar çok çeşitli evcil türleri barındıran insan yaşamı için önemli bir faaliyettir. Her şeyden önemlisi geviş getiren hayvanların insanlar tarafından sindirilemeyen bitkisel biyokütleyi, insanlar tarafından tüketilebilen veya kullanılabilen değerli ürünlere dönüştürebilmeleridir (Sauer ve ark., 2012; Rodney ve ark., 2015). Ruminantların sindirim sistemlerinin benzersiz anatomisi

birçoğunda ortak olsa da çeşitli uzmanlıkları gruptaki türler arasında ayrıma neden olmaktadır. Bu ayrımın en önemli nedeni beslenme farklılıkları olarak görülmektedir. Bu açıdan ruminantlar üç ana beslenme türüne ayrılabilir. Bunlar konsantre yemden yararlananlar, ot/kaba yemle beslenenler ve her ikisiyle beslenen ara besleyiciler. Örneğin geyik gibi konsantre besleyicilerin sindirim sistemi, bitki liflerinin etkili sindirimi için sindirim sistemleri diğer ruminantlar kadar iyi adapte olmamıştır, bu nedenle kolay sindirilebilir ve daha kaliteli yemi daha az tüketmektedirler. Bunun aksine sığır ve koyun gibi ot ve kaba yem yiyenler, daha uzun bir geviş getirme ve fermantasyon süresi gerektiren daha yüksek lif içeriğine sahip bitki biyokütlesiyle beslenebilir ve sindirim sistemleri buna uygun olarak gelişmiştir. Diğer bir grup olan ara besleyiciler ki buna evcil keçi ırkları ve belirli geyik türleri dahil, bunlar karışık yem kaynakları kullanabilirler, ancak bitki liflerinin kullanımları ot ve kaba yem yiyenlerle aynı sevide değildir (Brooks ve ark., 1954).

Geviş getirme, ruminant hayvanların tipik bir davranışıdır; yutulan yemin regürjitasyonunu, ardından çiğneme ve yutmayı içeren bir süreçten oluşur. Bu süreç bitkisel materyalin hayvan tarafından çiğneme öğütme yoluyla daha küçük boyutlara dönüştürülmesine ve tükürüğe maruz kalarak sindirilmesine yardımcı olur (Maczulak ve ark., 1981). Geviş getirme, ruminantların bitki biyokütlesiyle beslenmelerini sağlayan önemli bir adaptasyon olarak görülse de,

ruminant hayvanların bitki materyalini insanların kullanımına uygun ürünlere dönüştürebilmesi benzersiz sindirim sistemindeki mikrobiyotasından kaynaklanmaktadır. Haubner'in (1855) selülozun rumende metabolize edilebileceğini belirlemesiyle birlikte, 1850'lerin başlarında ruminant hayvanlar lif kullanımı açısından incelenmiştir (Enjalbert ve ark., 2017). Ruminant hayvanlar tam gelişmiş bir rumenle doğmazlar sıvı beslenmeden katı beslenmeye geçene kadar az gelişmiş bir rumene sahiptirler. Rumen, özofageal oluk adı verilen anatomik bir yapı sayesinde genç hayvanlar emzirildikleri sürece bu rumen yapısında kalırlar. Özofageal oluk, emmeyle tetiklenen bir refleks sonucu oluşur ve sütün rumeni doğrudan atlayarak direk abomasuma, yani gerçek gastrik mideye gitmesini sağlar. Burada süt enzimler aracılıyla sindirilir (Buitenhuis ve ark., 2019). Bunun aksi bir durum gerçekleşseydi yani rumende süt bulunsaydı, bu bölmede mikrobiyal toplulukların erken gelişmesine neden olacaktı. Bu süreç genç ruminantların olgun ruminant formuna geçişi ruminantlar için oldukça önemlidir. Rumen epitelinin gelişiminin simbiyotik mikrobiyal toplulukların gelişimine bağlı olduğu bulunmuştur (Blom, 2016). Ancak bazı bakterilerin ki bunlar *Bacillus, Alloprevotella, Bacteroides* ve *Lactococcus* gibi en az 36 cinsin tüm yaş dönemlerinde ortak olduğu bulunurken, amilolitik, selülolitik ve metanojenik bakterilerin ise stabil veya arttığı bulunmuştur (Aziz ve ark., 2008; Simpson ve ark., 2009).

Rumen mikrobiyotası, ruminantların sindiriminde ve genel sağlıklarında önemli bir rol oynayan karmaşık ve çeşitli bir mikroorganizma topluluğudur. Bu mikroorganizmaları tanımlamak, rumen ekosistemindeki işlevlerini ve etkileşimlerini anlamak için önemlidir. Rumen mikroorganizmalarını incelemek ve tanımlamak için çeşitli moleküler ve geleneksel teknikler geliştirilmiştir. Tipik bir rumen mikrobiyotasının her mililitre rumen içeriğinde 10^{10} bakteri (bugüne kadar yüzlerce farklı tür tanımlanmış), 1 milyon protozoa ve değişken sayıda maya ve mantardan oluşur (Ekarius, 2010). Hacimsel olarak düşünüldüğünde bakteriler toplam mikrobiyal biyokütlenin %50'sine, siliat protozoalar bakterilerden daha büyük organizmalardır ve mikrobiyal biyokütlenin yaklaşık %32-40'sine, rumen mantarlar ise mikrobiyal biyokütlenin %8-10'una denk gelmektedirler (Andersen ve ark., 2023). Bakteri türleri metabolize edilebilir proteinin %70'den fazlasını sağlayan mikrobiyal protein kaynaklarıdır. Ayrıca selülolitik materyalin sindirilmesinde ürettikleri enzimler önemli bir konumdadır. Protozoalar, selülotik ve hemisellülotik bitki parçacıklarını sindirebildikleri gibi nişastayı sindirmede olumlu bir role sahiptirler. Protozoalar laktik asit tüketebildikleri için asidoz riskini önlemeye yardımcı olurlar. Yine bazı protozoa türleri oksijeni giderebilme yetenekleri sayesinde rumen ortamının tamamen anaerobik olmasını sağlayan önemli görevler üstlenirler. Mantarlar bitki dokularını istila ederek hem fiziksel hem de kimyasal aktiviteleri nedeniyle

sindiriminde önemli bir rol oynarlar. Rumen metanojenik arkeleri ise metanogenez yoluyla format, pirüvat, metilamin, asetat ve CO_2 gibi düşük karbonlu substratlardan CH_4 üretme yeteneğine sahiptirler. Ancak bu süreç rumen anaerobik bakterilerinin enterik fermantasyonundan elde edilen ATP'sine bağlıdır (Chellapandi, ve ark., 2018). Metanojenik arkeler hayvanların fizyolojisi ve sağlığı üzerinde doğrudan etkilidirler (Chellapandi, ve ark., 2018).

Sonuç olarak, bakteriler, protozoalar, mantarlar ve arkeler de dahil olmak üzere rumen mikroorganizmaları, bitkisel materyali enerji açısından zengin bileşiklere parçalayarak ruminant sindiriminde vazgeçilmez bir rol oynadıkları önemli bir gerçektir. Bu mikropları doğru bir şekilde tanımlamak, etkileşimlerini, metabolik yollarını ve hayvan sağlığına katkılarını anlamak hayvancılık ve çevre açısından önemlidir. Başlangıçta araştırmacılar mikroskobik ve kültür tabanlı tekniklere dayanarak yaptıkları tanımlama yöntemleri son zamanlarda yerini moleküler yöntemlere bırakmıştır. Moleküler biyolojinin ortaya çıkmasıyla birlikte rumen gibi karmaşık mikrobiyal toplulukların analizleri çok daha hızlı ve güvenilir olmuştur. Kitabın bu bölümünde, geçmişten günümüze rumen mikroorganizmalarını tanımlamak için kullanılan temel yöntemleri ana hatlarıyla açıklamaya çalıştık.

Tanımlama Yöntemleri

Anaerobik mikroorganizmaların tanımlanması açısından kullanılan yöntemleri incelediğimizde iki başlık altında toplamak daha anlaşılır olacaktır. Bunlardan ilki geleneksel yöntemler yani kültüre bağımlı yöntemlerken, ikincisi modern yöntemler yani kültürden bağımsız yöntemlerdir.

1.Geleneksel Yöntemler (Kültüre Bağımlı Yöntemler)

Laboratuvarda uygulanan büyüme koşulları ve yaşam ortamlarının oluşturulması mikroorganizmaların izole edilmesi ve yetiştirilmesindeki en önemli noktalardır. Robert E. Hungate'in anaerobik kültür yöntemlerini geliştirmesiyle birlikte rumen ekosistemini oluşturan mikroorganizmalarını izole etmek yaygın yaklaşım haline gelmiştir (Bryant ve Robinson, 1961; Chung ve Bryant, 1997). Ancak rumen ekolojisi hayvanlar arasında ve hatta aynı bireyde farklı diyetlerin tüketilmesine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Friedman ve ark., 2017). Bunun sonucu olarak, bilinmeyen veya daha kompleks bir ortamdan daha iyi bilinen veya tanımlanmış olan ortama geçiş bir ihtiyaç haline gelmiştir. Bu durum farklı laboratuvarların aynı izolatları yetiştirmesine olanak verirken, sonuçların karşılaştırılmasına ve yeniden üretilebilirliğine olanak tanımıştır. Mikrobiyolojide, kültürden önce çevresel örnekleri seyreltmek, hücreleri saymak ve mikroorganizmaları izole etmek

kullanılan ve en iyi bilinen yöntemlerdir. Mikrobiyologlar, bakteri kültürlerini yetiştirmek ve sürdürmek, kültürleri saflık veya morfoloji açısından incelemek veya canlı organizma sayısını belirlemek için alt kültürleme tekniklerini kullanmaktadırlar (Sanders, 2012).

Rumen mikrobiyotasının karmaşıklığı ve işlevlerine yönelik günümüz araştırmalarının temelinde, anaerobik bakterileri doğal ortamlarının dışında kültüre almaya yönelik temel metodolojiler yer almaktadır. Pasteur dönemindeki ilkel oksijensiz kültür yöntemleri ile başlayan süreç 1900'lerin ortalarında Robert E. Hungate'in anaerobik kültür tekniklerindeki öncü çalışmaları sayesinde hız kazanıp genişlemiştir. Robert E. Hungate'nin sığır rumeninde yaptığı çalışmanın bir parçası olarak selüloz parçalayan mikroorganizmalar tanımlaması ve anaerobik mikrobiyoloji için devrim niteliğinde olan rulo-tüp yaklaşımı kullanarak *Clostridium cellobioparus* başarılı bir şekilde izole edilip kültürlenmiştir (Hungate, 1944). O dönemdeki çalışmaların temel noktası konakçılar tarafından sindirilemeyen bitkisel materyali metabolize edebilen bakteri türlerini tanımlamaktı (Ze ve ak.,2013). Bitkisel substratlar genişledikçe laktat kullanan bakteriler gibi rumenin daha önceden belirlenmemiş olan diğer bakteri örnekleri de tanımlanmıştır (Dehority ve Grubb, 1977; Mackie ve Heath, 1979). Şimdiye kadar tanımlanan izolat koleksiyonlarında *Firmicutes*,

Proteobacteria ve *Actinobacteria* şubesinin türlerinden oluşmaktadır. *Bacteriodetes*, kültürden bağımsız çalışmalara dayanarak rumende baskın olarak belirlenmiş olsa da *Firmicutes* şu ana kadar kültüre alınmış 45 cins ve türleriyle öne çıkmaktadır (Creevey ve ark., 2014). Kültüre bağlı teknikler hala bakteri ve fungus türlerinin metabolik potansiyelini karakterize etmek için önemli olsa da, tür çeşitliliği ve bileşimi gibi mikrobiyal ortamların topluluk düzeyinde değerlendirmesini etkili bir şekilde sağlayamamaktadır. Rumen mikrobiyotasının tam olarak anlaşılması için son zamanlarda kullanılan daha yeni teknikler arasında en yaygın kullanılan yöntemler DNA dizisi verilerinin analizine dayanmaktadır (Medlin ve Orozco, 2017). Rumen gibi kompleks ekosistemleri karakterize etmeye yönelik kültüre bağlı MALDI- TOF spektrometrisini kullanılması çalışmaları, daha önce kültürü yapılmamış çok sayıda bakterinin hızlı bir şekilde tanımlanması için 16S ribozomal RNA gen dizilimi ile birleştirilen kültüromiğin geliştirilmesiyle sonuçlanmıştır. Son yıllarda metagenomiklerin ortaya çıkışı, çevresel mikrobiyal biyoçeşitliliğin çoğunun kültürsüz kalmasına ve ekosistemler için kültür tekniklerinin yeniden doğmasına olanak sağlamıştır.

2. Modern Yöntemler (Kültürden Bağımsız Yöntemler)

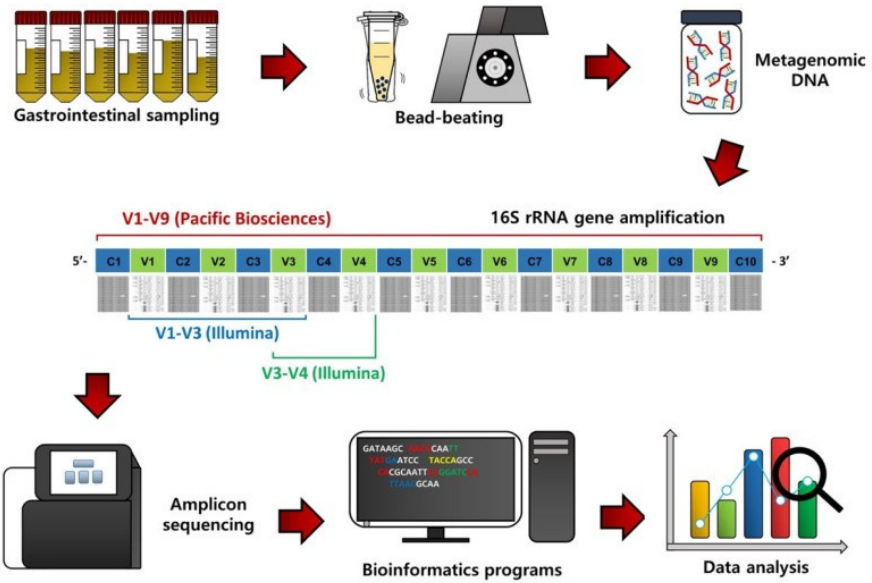
Ruminantlar ile bağırsak mikrobiyotaları arasındaki ilişki uzun yıllardır bilimde ilgi duyulan konular arasındadır. Araştırmalar

başlangıçta rumende bulunan mikrop türlerini ve bunların konakçının enerji metabolizmasındaki rollerini belirlemeye odaklanmıştır. Teknolojideki ilerlemelerle birlikte bilim insanları artık tüm rumen mikrobiyal topluluğunu incelemek için büyük ölçekli dizileme tekniklerini (metagenomik, metatranskriptomik, proteomik ve metabolomik) kullanarak daha ayrıntılı analizler gerçekleştirmektedir (Jami ve ark., 2014). Bu teknikler, diyet değişikliklerini ve konakçı genetiğinin rumen mikrobiyotasına ve sera gazı emisyonlarına, özellikle metan gazına olan katkısını nasıl etkilediğini anlamak için çeşitli ruminant üretim sistemlerine uygulanmışlardır (Denman ve ark., 2018). Rumen, yüksek düzeyde metabolik uzmanlaşmaya sahip anaerobik mikroorganizmalardan oluştuğu için rumen mikrobiyotasının araştırılması oldukça zordur. 16S rRNA gen dizilimi, metagenomik, denatüre edici gradyan jel elektroforezi (DGGE), terminal kısıtlama parçası uzunluk polimorfizmi (T-RFLP) ve floresan yerinde hibridizasyon (FISH) gibi modern tekniklerin kullanılması bu zorluğun üstesinden gelmemizi kolaylaştırabilir. Bu yöntemler kültürleme ihtiyacını ortadan kaldırır ve mikrobiyal topluluğun genetik materyalini doğrudan analiz edilmesine dayanır. 16S rRNA geni, prokaryotik organizmalarda bulunan ve ribozomun yapısındaki bir RNA molekülünü kodlayan bir gendir. Bu gen, tüm prokaryotlarda bulunması, evrimsel süreçte yavaş değişmesi ve yapısal olarak korunmuş olması nedeniyle mikrobiyal çeşitliliği incelemek için

ideal biyolojik bir belirteçtir. Özellikle mikrobiyom araştırmalarında, farklı ortamlardaki mikroorganizma topluluklarını tanımlamak ve sınıflandırmak için yaygın olarak kullanılır (Woese, 1987; Clarridge, 2004). Genin yaklaşık 1.550 baz çiftinden oluştuğu ve korunan ve değişken bölgelerden meydana geldiği bilinmektedir. Korunan bölgeler, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile genin çoğaltılması için primerlerin bağlandığı bölgelerdir. Değişken bölgeler ise farklı türler arasında farklılık göstererek, mikroorganizmaların birbirinden ayırt edilmesini sağlar. Bu yapı, korunan bölgelerin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile amplifikasyonu için primer hedefleme bölgeleri olarak kullanılması, değişken bölgelerin ise bilinen ve bilinmeyen türlerin tanımlanması ayrıca taksonomik sınıflandırması için kullanılması nedeniyle filogenetik bir belirteç olarak kullanılmaya çok uygundur (Schmidt ve Relman, 1994; Palys ve ark., 1997). Yeni Nesil Dizileme platformlarının geliştirilmesine kadar, 16S rRNA'nın kullanımı, öncelikle dizileme maliyeti ve klon kütüphanesi oluşturma nedeniyle kapsam ve ölçek açısından sınırlıydı. NGS, büyük miktarda veri üreterek daha kapsamlı mikrobiyal çeşitlilik analizleri yapmaya olanak tanıyan bir teknolojidir. Yeni Nesil Dizileme, Sanger dizileme platformlarından kat kat daha büyük dizi verimleriyle mikrobiyom araştırmalarında devrim yaratmış ve belirli bir ortamda daha kapsamlı tür teşhisine olanak sağlamıştır (Quail ve ark., 2012). Ancak, NGS'nin okuma uzunluklarının sınırlı olması nedeniyle genellikle 16S rRNA geninin

sadece bir kısmı hedeflenir. Taksonomik konumları elde edilen dizi verilerinin bilinen mikroorganizma dizileri ile karşılaştırılması ve en yakın akraba olan taksona atanması işlemidir. Bu işlem için Ribozomal Veritabanı Projesi (RDP) gibi veritabanları (yaklaşık 3 milyon referans 16S rRNA gen dizisi içermektedir) ve yazılımlar kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemin doğruluğu, veritabanında bulunan referans dizilerinin çeşitliliğine ve kalitesine bağlıdır. Özellikle yeni keşfedilmiş mikroorganizmalar için taksonomik atamanın belirsizliği söz konusu olabilmektedir (Cole ve ark., 2014). Rumen mikrobiyotasını incelemek için, amplifikasyonlu taksonomik belirteç genlerini analiz eden bir teknik olan metataksonomi yöntemi nispeten daha ucuz ve büyük ölçekli analize olanak tanımaktadır. Araştırmacılar genellikle bakteri ve arkeler için 16S rRNA genini ve ökaryotlar için 18S rRNA genini hedeflemektedir. Ancak, dizi benzerliği nedeniyle, anaerobik mantarlar 28S rRNA geninin dahili transkripsiyonlu ara parçasını veya D1/D2 bölgesini hedeflemektedir. DNA ekstraksiyonu, primer setleri, dizileme platformu ve biyoenformatik iş akışları gibi faktörler analizi etkilemektedir. Başlangıçta türleri tanımlamak için %97 dizi benzerliği kullanılmış olsa da, son zamanlarda moleküler tanımlamada bir türün benzerlik oranı %98,5 olarak önerilmektedir. 16S rRNA geninin V4 bölgesini hedeflemek, Illumina MiSeq platformuyla uyumluluğu nedeniyle yeni nesil dizileme platformlarında kullanılmaktadır (Şekil 1). Yeni nesil dizilemeden

elde edilen daha kısa diziler de, operasyonel taksonomik birimleri (OTU'lar) tanımlamak için genellikle %99-100 özdeşlik kullanılmaktadır (Větrovský ve Baldrian, 2013; Kozich ve ark., 2013).



Şekil 1. *Rumen içeriklerinin 16S rRNA gen amplikon dizilimini, biyoenformatik prosedürleri ve veri analizi şeması (Kim, 2023).*

Yüksek verimli shotgun dizileme teknolojilerinin geliştirilmesi, mikrobiyal ekolojiler hakkındaki anlayışımızı önemli ölçüde ilerletti (Delgado ve ark., 2019). Mikrobiyal ekolojiler için shotgun dizileme, mikroorganizma topluluklarının taksonomik bileşimini ve metabolik yeteneklerini incelemek amacıyla toplanan genom verilerini incelemek üzere DNA tabanlı bir yaklaşım olan

metagenomiğin geliştirilmesine olanak sağlamıştır (Handelsman, 2004). DNA tabanlı bir yaklaşım olan metagenomik, araştırmacıların geleneksel kültür tabanlı yöntemleri kullanmada, güvenli bir şekilde mikrobiyal populasyonun taksonomik bileşimini ve metabolik yeteneklerini incelemelerine olanak tanımaktadır. 16S rRNA gen tabanlı yöntemlerin aksine, metagenomik, PCR amplifikasyonu olmadan genomik DNA'yı doğrudan dizileme tekniğidir. Ancak, yüksek hacimli rastgele dizi okumaları nedeniyle metagenomik verilerin analizi daha karmaşıktır. Bu okumaları kümeleyerek ve barındırdıkları genleri açıklayarak araştırmacılar mikrobiyal türlerin metabolik potansiyelini tahmin edebilmektedirler (Handelsman, 2004). RAST gibi araçlar bu sürece yardımcı olur, metabolik yolların tanımlanmasını ve mikrobiyal topluluklar hakkında değerli bilgileri sağlar (Aziz ve ark., 2008). Örneğin, RAST sunucusunu kullanarak, bir çalışma insan ağız mikrobiyotası hakkında diğer çalışmalara kıyasal daha fazla bilgi elde edildiğini göstermiştir (Oliveira ve ark., 2021).

Hungate 1000 genom projesi, rumen mikrobiyomu hakkında değerli bilgiler sunarak, rumendeki bilinen cinslerin yaklaşık %75'inin genomik kapsamını ve bakterilerin karmaşık karbonhidratları parçalamadaki işlevsel rollerini ortaya koymuştur (Seshadri ve ark., 2018). Bu proje anlayışımızı önemli ölçüde ilerletmiş olsa da, rumenin mikrobiyal çeşitliliğinin yalnızca bir kısmını temsil

etmektedir (Stewart ve ark., 2018). Elde dilen verilerdeki genom verilerinin birleştirilmesiyle birlikte ORF'lerin yaklaşık %2,2'si, bakterilerin selüloz, hemiselüloz ve pektini parçalamadaki işlevsel rolünü yansıtan karbonhidrat aktif enzimler ve bağlayıcı proteinler olarak sınıflandırıldığı görülmüştür. Dahası, Bacteroidetes genomlarında N-bağlı tükürük glikoproteinlerinden enerji toplama yeteneği gösterilmiştir (Seshadri ve ark., 2018). Söz konusu projede dizilenen türler için metabolik fermantasyon yolu yeniden yapılandırılmış böylelikle de hem türleri hem de işlevsel kapasiteyi içeren rumen mikrobiyomu metabolik şemasının en eksiksiz hali ortaya çıkarılmıştır. Ancak, bu türlerin rumen içinde gerçekleşen karmaşık etkileşimlere yaptığı katkı düzeyi hala tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, rumen mikrobiyomundaki genlerin daha doğrusu kodlanan genlerin %90'ına yakının ortak olduğu belirlenmiştir (Li ve ark., 2020). Benzer şekilde, geviş getiren hayvanlardan metagenom-birleştirilmiş genom (MAG) üretimine odaklanan çeşitli çalışmalarda, geyik ve sığırlardan 99, 324 ve 913 MAG'ler için karbonhidrat aktif enzim bölgeleri belirlenmiştir (Svartström ve ark., 2017). Bakteriyel genomikteki ilerlemeye rağmen, protistler ve anaerobik mantarlar için genomik veriler sınırlı kalmaktadır. Bununla birlikte, uzun okuma dizileme teknolojilerindeki gelişmeler, karmaşık mantar genomlarının birleştirilmesini sağlamıştır. Karşılaştırmalı genomik ve proteomik çalışmalar, mantar selülozom kompleksinde ki bitki parçalayıcı

enzimlerin kapsamlı dizisini ortaya çıkarmış ve selüloz parçalanması için koordineli ve sinerjik mekanizmalar belirlemiştir. Transkriptomik çalışmalar, bu süreçlerin farklı substratlara ve metabolik koşullara yanıt olarak düzenlendiğini göstermiştir. Dizilenen türler için metabolik fermantasyon yolu yeniden yapılandırması artık hem türleri hem de işlevsel kapasiteyi içeren rumen mikrobiyomu metabolik şemasının en eksiksiz yeniden yapılandırılmasına yol açmıştır. Dahası, hidrolitik gen transkriptlerinin uyarlanması, transkripsiyona uğrayan yıkıcı genlerin sayısındaki ve işlevsel çeşitliliğindeki artışa yol açtığı ve bunu sağlayan sistemin de substratlara bağlı olduğu belirtilmiştir (Solomon ve ark., 2016).

Sonuç

Ruminant hayvanlar hayvancılıkta önemli bir faktördür. Ruminantlar, rumen içindeki mikroorganizmalarla simbiyotik bir ilişkiye sahiptir. Bu simbiyotik ilişki sayesinde, ruminantlar kullanılamaz bitki materyallerini insan toplumu için yararlı ürünlere dönüştürebilirler. Rumen, ruminant sindirim sisteminin ana bölmelerinden biridir. Ruminal mikroorganizmalar, bitki materyalini konak için yararlı ürünlere dönüştürür. Bitki materyallerinin yararlı ürünlere dönüştürülmesinin önemi nedeniyle, rumen mikrobiyomunu analiz etme metodolojileri önemli hale

gelmiştir. Hungate tüpünden Yeni Nesil Dizilemeye kadar, metodolojiler sürekli olarak geliştirilmektedir.

Kaynaklar

Andersen, T. O., Altshuler, I., Vera-Ponce de León, A., Walter, J. M., McGovern, E., Keogh, K., ... & Pope, P. B. (2023). Metabolic influence of core ciliates within the rumen microbiome. *The ISME journal*, *17*(7), 1128-1140.

Aziz, R., Bartels, D., Best, A. et al. (2008). The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. BMC Genomics, 9(75) https://doi.org/10.1186/1471- 2164-9-75

Aziz, R., Bartels, D., Best, A. et al. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. BMC Genomics 9, 75 (2008). https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75

Blom, E., Effects of small intestinal starch digestion and dietary lipid on efficiency of nitrogen use in cattle (2016). Electronic Theses and Dissertations. 1031. https://openprairie.sdstate.edu/etd/1031

Brooks, C., Garner, G., Gehrke, C., Muher, M., & Pfander, W. (1954). The effect of added fat on the digestion of cellulose and protein by ovine rumen microorganisms, Journal of Animal Science, 13(4), 758–764, https://doi.org/10.2527/jas1954.134758x

Buitenhuis B, Lassen J, Noel SJ, Plichta DR, Sørensen P, Difford GF, Poulsen NA. Impact of the rumen microbiome on milk fatty acid composition of Holstein cattle. Genet Sel Evol. 2019 May 29;51(1):23. doi: 10.1186/s12711-019-0464-8. PMID: 31142263; PMCID: PMC6542034.

Chellapandi, P., Bharathi, M., Sangavai, C., & Prathiviraj, R. (2018). Methanobacterium formicicum as a target rumen

methanogen for the development of new methane mitigation interventions: A review. Veterinary and Animal Science, 6, 86-94.

Clarridge J. E., 3rd (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. Clinical Microbiology Reviews, 17(4), 840–862. https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004

Cole, J. R., Wang, Q., Fish, J. A., Chai, B., McGarrell, D. M., Sun, Y., . . . Tiedje, J. M. (2014). Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. Nucleic Acids Res, 42(Database issue), D633-642. doi:10.1093/nar/gkt1244

Creevey, C.J., Kelly, W.J., Henderson, G. and Leahy, S.C. (2014). Targeting rumen bacteria for genome sequencing. Microbial Biotechnology, 7: 467-479. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12141

Dehority, B. A., & Grubb, J. A. (1977). Characterization of the predominant bacteria occurring in the rumen of goats (Capra hircus). Applied and Environmental Microbiology, 33(5), 1030–1036. https://doi.org/10.1128/aem.33.5.1030-1036.1977

Delgado, B., Bach, A., Guasch, I., González, C., Elcoso, G., Pryce, J., & Gonzalez- Recio, O. (2019). Whole rumen metagenome sequencing allows classifying and predicting feed efficiency and intake levels in cattle. Scientific Reports, 9(1), 11. https://doi.org/10.1038/s41598-018-36673-w

Denman, S. E., Morgavi, D. P., & McSweeney, C. S. (2018). Review: The application of omics to rumen microbiota function. Animal 12: 233–245.

Ekarius, C. (2010). *Small-scale livestock farming: a grass-based approach for health, sustainability, and profit*. Storey Publishing, LLC.

Enjalbert, F., Combes, S., Zened, A., & Meynadier, A. (2017). Rumen microbiota and dietary fat: a mutual shaping. Journal of Applied Microbiology, 123(4), 782–797. https://doi.org/10.1111/jam.13501 PMID: 28557277

Handelsman J. (2004). Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR, 68(4), 669–685. https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004

Hungate, R. E. (1944). Studies on cellulose fermentation: I. The culture and physiology of an anaerobic cellulose-digesting bacterium. Journal of bacteriology, 48(5), 499-513.

Jami, E., White, B. A., & Mizrahi, I. (2014). Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. PloS one, 9(1), e85423.

Kim, M. (2023). Assessment of the gastrointestinal microbiota using 16S ribosomal RNA gene amplicon sequencing in ruminant nutrition. *Animal bioscience*, *36*(2), 364.

Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., & Schloss, P. D. (2013). Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data

on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and environmental microbiology*, *79*(17), 5112-5120.

Li, J., Zhong, H., Ramayo-Caldas, Y., Terrapon, N., Lombard, V., Potocki-Veronese, G., ... & Morgavi, D. P. (2020). A catalog of microbial genes from the bovine rumen unveils a specialized and diverse biomass-degrading environment. *Gigascience*, *9*(6), giaa057.

Mackie, R. I., & Heath, S. (1979). Enumeration and isolation of lactate-utilizing bacteria from the rumen of sheep. Applied and Environmental Microbiology, 38(3), 416–421. https://doi.org/10.1128/aem.38.3.416-421.1979

Maczulak, A., Dehority, B., & Palmquist, D. (1981). Effects of long-chain fatty acids on growth of rumen bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 42(5), 856–862. https://doi.org/10.1128/aem.42.5.856-862.1981

Medlin, L. K., & Orozco, J. (2017). Molecular Techniques for the Detection of Organisms in Aquatic Environments, with Emphasis on Harmful Algal Bloom Species. Sensors (Basel, Switzerland), 17(5), 1184. https://doi.org/10.3390/s17051184

Oliveira, G., Nishiyama, R., Trigo, C., Mattos-Guaraldi, L., Dávila, R., Jardim, R., Aguiar F. Core of the saliva microbiome: an analysis of the MG-RAST data. BMC Oral Health. 2021 Jul 16;21(1):351. doi: 10.1186/s12903-021-01719-5. PMID: 34271900; PMCID: PMC8283749.

Palys, T., Nakamura, L., & Cohan, F. (1997). Discovery and classification of ecological diversity in the bacterial world: the role

of DNA sequence data. International Journal of Systematic Bacteriology, 47(4), 1145–1156. https://doi.org/10.1099/00207713-47-4-1145

Quail, M., Smith, M., Coupland, P., Otto, T., Harris, S., Connor, T., Bertoni, A., Swerdlow, H., & Gu, Y. (2012). A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers. BMC Genomics, 13, 341. https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-341

Rodney, R., Celi, P., Scott, W., Breinhild, K., & Lean, I. (2015). Effects of dietary fat on fertility of dairy cattle: A meta-analysis and meta-regression. Journal of Dairy Science, 98(8), 5601–5620. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9528.

Sanders E. R. (2012). Aseptic laboratory techniques: plating methods. Journal of visualized experiments : JoVE, (63), e3064. https://doi.org/10.3791/3064

Sauer, M., Marx, H., & Mattanovich, D. (2012). From rumen to industry. Microbial Cell Factories, 11, 121. https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-121.

Schmidt, T., & Relman, A. (1994). Phylogenetic identification of uncultured pathogens using ribosomal RNA sequences. Methods in Enzymology, 235, 205–222. https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)35142-2

Seshadri, R., Leahy, S. C., Attwood, G. T., Teh, K. H., Lambie, S. C., Cookson, A. L., ... & Kelly, W. J. (2018). Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection. *Nature biotechnology*, *36*(4), 359-367.

Simpson, J., Wong, K., Jackman, S., Schein, J., Jones, S., & Birol, I. (2009). ABySS: a parallel assembler for short read sequence data. Genome Research, 19(6), 1117–1123. https://doi.org/10.1101/gr.089532.108

Stewart, R. D., Auffret, M. D., Warr, A., Wiser, A. H., Press, M. O., Langford, K. W., ... & Watson, M. (2018). Assembly of 913 microbial genomes from metagenomic sequencing of the cow rumen. *Nature communications*, *9*(1), 870.

Svartström, O., Alneberg, J., Terrapon, N., Lombard, V., de Bruijn, I., Malmsten, J., ... & Andersson, A. F. (2017). Ninety-nine de novo assembled genomes from the moose (Alces alces) rumen microbiome provide new insights into microbial plant biomass degradation. The ISME journal, 11(11), 2538-2551.

Větrovský, T., & Baldrian, P. (2013). The variability of the 16S rRNA gene in bacterial genomes and its consequences for bacterial community analyses. PloS one, 8(2), e57923.

Woese C. R. (1987). Bacterial evolution. Microbiological Reviews, 51(2), 221–271. https://doi.org/10.1128/mr.51.2.221-271.1987

Ze, X., Le Mougen, F., Duncan, S. H., Louis, P., & Flint, H. J. (2013). Some are more equal than others: the role of “keystone” species in the degradation of recalcitrant substrates. Gut microbes, 4(3), 236-240.

BÖLÜM VI

Pestisitlere Tarihsel Bir Bakış

Özge TEMİZ[1]

Giriş

Tarihi süreçte pestisit olarak kullanılıp ilk bilinen kimyasallar arasında kükürt kullanıldığı ve günümüzde güncel olarak üzüm yetiştiriciliğinde uygulanan Orta Çağ'dan çok öncesine dayanır. Daha sonraki süreçlerde arsenik gibi birçok toksik metaller, uzun yıllar boyunca pestisit olarak kullanıldı (Bolognesi ve ark., 2011; Mostafalou & Abdollahi 2013; Narasimhamurthy ve ark., 2022).

Endüstriyel ve kimyasal alanlarda olan yeni araştırmalar ile krizantemlerden etken madde piretrum ve baklagillerden etken madde rotenon gibi doğal bitkisel kaynaklı toksik etken maddelerin pestisitler olarak kullanımı da daha kompleks bileşiklerle toksik

[1] Doç. Dr., Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü,
ORCID: 0000-0003-0668-5744

etkinin yaygın etkisini tarımda ve evsel haşere bertarafında kullanımı güncel olarak devam etmektedir (Ansari ve ark., 2021).

Daha sonrasında sentetik organik kimyasal pestisitler sentezlenmeye ve daha toksik özellik gösteren DDT kısaltmasıyla diklorodifeniltrikloroetan maddesi gibi böcek öldürücü ilaç olarak kullanımıyla çok çeşitli ve etkili kimyasal maddeler pestisit olarak kullanımı yaygın hale getirildi (Banaszkiewicz, 2010; Nagy ve ark., 2020).

O kadar çok çeşit pestisit türü oluşturuldu ki bu yüzden belirli sınıflamalar ile gruplar halinde etken özellik ve kimyasal yapılarına göre ayrıldılar. Bunlar; yabani otlar (herbisitler), kemirgenler (rodentisitler), böcekleri (insektisitler), mantarlar (fungisitler) veya diğer zararlı organizmaları küresel olarak yaygın bir şekilde bilinçli ya da bilinçsiz bir şekilde pestisit türleri olarak kullanılır (Lushchak ve ark., 2018; Alengebawy ve ark., 2021).

Endüstriyel, tarım ve sağlık sektörlerindeki insanların tüketimine sunulan yiyecek, giyecek ve sağlık alanları gibi birçok alanda organik ürünlerin eldesiyle insana kadar uzanan bir erişim gösterebilme durumu oluşturmaktedir. Çeşitli türlerde pestisitlerin birçok organizma türünü etkiler (Slotkin, 2004; Raffaele ve ark., 2010). Pestisit türleri küresel ölçekte hem yaygın hem de aşırı bir şekilde kullanılmaktadır. Doğaları gereği toksik etki gösteren bu kimyasallar istenmeyen organizmaları olumsuz yönde etkilemek üzere tasarlanmıştır fakat hedef olmayan insanlar, hayvanlar veya çevre üzerinde de olumsuz etkilere neden olmaktadır. Yaygın kullanımları nedeniyle, su, hava ve toprak, ayrıca toprak ve su ve de ilaçlama yoluyla sebzeler ve meyvelerdeki pestisit kalıntıları

veayrıca pestisitlere maruz kalan hayvanların dokuları yoluyla pestisitlere maruz kalabilir (Ansari ve ark., 2021).

Kimyasallar genel olarak, hücrelerde hücresel yapının bozulması, oksidatif stres indüklenmesi, kalsiyum, magnezyum, sodyum gibi iyonlarından dengesiz bir şekilde dağılımı ve bu nedenle mitokondriye zarar verebileceği gibi çeşitli mekanizmalarla hücre ölümüne neden olabildiği araştırmalar sonucu belirlenmiştir (Bjørling-Poulsen ve ark., 2008; Marutescu & Chifiriuc, 2017).

Organizmalara ulaşan ve etki eden bir kimyasal, organizmada zararlı etkilerini gidermek amacıyla eşitli biyokimyasal reaksiyonlarla detoksifikasyon, izolasyon biyotransformasyon gibi veya toksik madde atılımı ve bu yolakların bir kombinasyonu yoluyla toksisitenin zararlı etkilerinin bertaraf edilmesi veya hasarı yok etmek bir hedeftir. Tüm bu yolakların organizmaya verilen hasarı önlemeye veya yok etmeye yönelik olarak gerçekleştirilmesi sağlanmaya çalışılır (Van der Oost ve ark., 2003).

Sonuç

Sağlık ve çevre açısından, endüstriyel ve tarımsal yollarla pestisitler düzenli olarak çevreye entegre olduğu için bu konuda yapılan çalışmalar insan ve çevrenin ekotoksikolojik çalışmaları son yıllarda önemli hale gelmiştir. Pestisitler tarihsel süreçte daha yapay hale geldikçe ve çeşitlendikçe toksisitesi daha da birikim sağlayabilir ve ekosistemin doğal dengesini bozabilir önemli ekolojik değişikliklere neden olabilirler.

Kaynaklar

Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. Toxics, 9(3), 42.

Ansari, I., El-Kady, M. M., Arora, C., Sundararajan, M., Maiti, D., & Khan, A. (2021). A review on the fatal impact of pesticide toxicity on environment and human health. Global Climate Change, 361-391.

Banaszkiewicz, T. (2010). Evolution of pesticide use. Contemporary Problems of Management and Environmental Protection, 5, 7-18.

Bjørling-Poulsen, M., Andersen, H. R., & Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. Environmental Health, 7, 1-22.

Bolognesi, C., Merlo, F. D., & Nrjagu, J. O. (2011). Encyclopedia of environmental health. Pesticides: human health effects. Burlington: Elsevier, 438-453.

Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: a mechanistic approach. EXCLI journal, 17, 1101.

Marutescu, L., & Chifiriuc, M. C. (2017). Molecular mechanisms of pesticides toxicity. In New Pesticides and Soil Sensors (pp. 393-435). Academic Press.

Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. Toxicology and applied pharmacology, 268(2), 157-177.

Nagy, K., Duca, R. C., Lovas, S., Creta, M., Scheepers, P. T., Godderis, L., & Ádám, B. (2020). Systematic review of comparative studies assessing the toxicity of pesticide active ingredients and their product formulations. Environmental Research, 181, 108926.

Narasimhamurthy, R. K., Andrade, D., & Mumbrekar, K. D. (2022). Modulation of CREB and its associated upstream signaling pathways in pesticide-induced neurotoxicity. Molecular and Cellular Biochemistry, 477(11), 2581-2593.

Raffaele, K. C., Rowland, J., May, B., Makris, S. L., Schumacher, K., & Scarano, L. J. (2010). The use of developmental neurotoxicity data in pesticide risk assessments. Neurotoxicology and teratology, 32(5), 563-572.

Slotkin, T. A. (2004). Guidelines for developmental neurotoxicity and their impact on organophosphate pesticides: a personal view from an academic perspective. Neurotoxicology, 25(4), 631-640.

Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental toxicology and pharmacology, 13(2), 57-149.

BÖLÜM VII

Ekstremobiosferin Eşsiz Sakinleri; Ekstremofilik Aktinobakteriler

Yeliz GENÇ BEKİROĞLU[1]
Fadime ÖZDEMİR[2]

Giriş

Ekstremobiosfer, Dünya'daki yaşamın bilinen fiziko-kimyasal uç sınırlarını tanımlamakta ve yoğun radyasyon, aşırı sıcaklık ve soğukluk, yüksek ve düşük pH, aşırı kuraklık, hiperbarik basınç, yüksek tuzluluk ve toksik elementlerin (ağır metal gibi) yüksek olduğu çevreler, anoksi, oligotrofi ve güçlü oksitleyici koşulların farklı kombinasyonlarıyla oluşan yaşam alanlarını ifade etmektedir (Bull & Goodfellow, 2019, Sayed & ark., 2020). Ekstremobiosferde yaşayabilen ve bu zorlu koşullarda gelişebilen organizmalara

[1] Dr. Öğr. Üyesi., Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Bafra Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Samsun/ Türkiye, https://orcid.org/0000-0003-0666-1857, yeliz.bekiroglu@omu.edu.tr
[2] Doç. Dr., Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik/ Türkiye, https://orcid.org/0000-0002-8557-5166, fadime.ozdemirkocak@bilecik.edu.tr

ekstremofilik organizmalar denmektedir. Ekstremofiller, bu fiziko-kimyasal parametrelerin uç noktalarına yakın koşullarda gelişebilecek şekilde evrimleşmiş ve biyogeokimyasal döngülerde kritik roller oynayan organizmalardır (Han & ark., 2024). Ekstremofiller, okyanusun 10 km'den fazla derinliğinde - 110 MPa'ya kadar basınçta; yerkabuğunun 6,7 km derinliğinde, aşırı asitten (pH 0) aşırı bazik koşullara (pH 12,8) kadar tespite edilmiştir (Rampelotto, 2013). Ekstremofiller, derin deniz hidrotermal bacaları, sıcak su kaynakları, solfatarik alanlar, soda gölleri, iç tuzlu su sistemleri, güneş tuzlaları, sıcak ve soğuk çöller, nükleer atık veya ağır metallerle yüksek oranda kirlenmiş ortamlar ve ayrıca litik veya kaya ortamları gibi canlılar için yaşanamaz olan ekolojik nişlerde gelişmeye adapte olmuş organizmalardır (Şekil 1; Raddadi & ark., 2015). Buna karşın, 'ekstremotrof' adı verilen bir grup mikroorganizma ise ekstrem koşullarda büyüyebilmekte ancak genellikle bu koşullara tamamen adapte olmamaktadır. Birden fazla aşırı ortamda hayatta kalabilen ekstremofiliklere 'poliekstremofilikler' denir (Mohammadipanah & Wink, 2016). Çöl, termal kaynaklar ve derin deniz dipleri ile antartika gibi buzul alanlarda yaşayabilen mikroorganizmalar poliekstremofilik özellik göstermektedir. Bunun nedeni ise birçok sıcak su kaynağı asidik veya alkali özellik gösterebilir ve genellikle metal içeriği bakımından da zengin ortamlardır. Aynı şekilde, derin okyanus suları genellikle soğuk, çok düşük besin içeriğine sahip ve yüksek basınçlı ortamlardır. Çöller ise yüksek sıcaklık yanında kuraklık, düşük besin içeriği veya yüksek tuz oranına sahip ortamlardır (Rampelotto, 2013). Bu aşırı ortamlarda hayatta kalabilmek için mikroorganizmalar farklı hücre içi ve hücre dışı düzenlemeler yaparak çeşitli stratejileri kullanırlar (Raddadi & ark., 2015). Bu mikroorganizmaların sentezledikleri ve hücre içinde birikim gösteren küçük organik moleküllere 'ekstremolit' denmektedir ve bu moleküller, ekstremofiliklerin makromoleküllerini ve hücre yapılarını koruyarak stabil olmasını sağlamaktadır (Becker & Wittmann, 2020). Ekstromofiller, ekstremobiosfer koşullarında hayatta kalabilmek için aşırı sıcaklık ve pH koşullarında son derece

stabil olan farklı organik ve denatüre edici ajanlara karşı dirençli enzimler üretirler, bu enzimlere ‘ekstremozimler’ adı verilmektedir. Bu enzimlerin, birçok farklı endüstriyel alanda biyokatalizör olarak kullanımları mevcuttur (Kochhar & ark., 2022). Ayrıca, ekstremofilik mikroorganizmaların farklı mineralleri çözebilme yetenekleri ve aşırı çevre şartlarına sağladıkları uyum mekanizmaları sayesinde tarım ve çevre biyoteknolojisinde de önemi gün geçtikçe artmaktadır (Devi & ark., 2024).

Ekstremofilik mikroorganizmalar, biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler göstererek bu ortamlara adapte olabilmekte ve lipid bileşimlerini değiştirme, belirli proteinler üretme ve iyon konsantrasyonlarını ayarlama gibi hayatta kalma stratejileri geliştirerek mikrobiyal çeşitlilik, evrim ve adaptasyon mekanizmaları hakkında hem ideal modeller oluşturmakta hem de araştırmacılar için ilgi odağı haline gelmektedir (Kochhar & ark., 2022; Devi & ark., 2024).

Ekstremofiller genellikle çevrelerinin aşırı koşullarına adapte olurken yeni ve biyolojik olarak aktif doğal ürünler üretirler. Bu metabolitlerin çoğu da büyük ölçüde bilinmediği için bunlara ‘metabolik karanlık madde’ denmektedir (Han & ark., 2024). Ekstremofil biyoprospeksiyon, 400’den fazla yeni biyolojik aktif metabolit ve kimyasal yapının keşfedilmesine yol açmıştır (Benaud & ark., 2022).

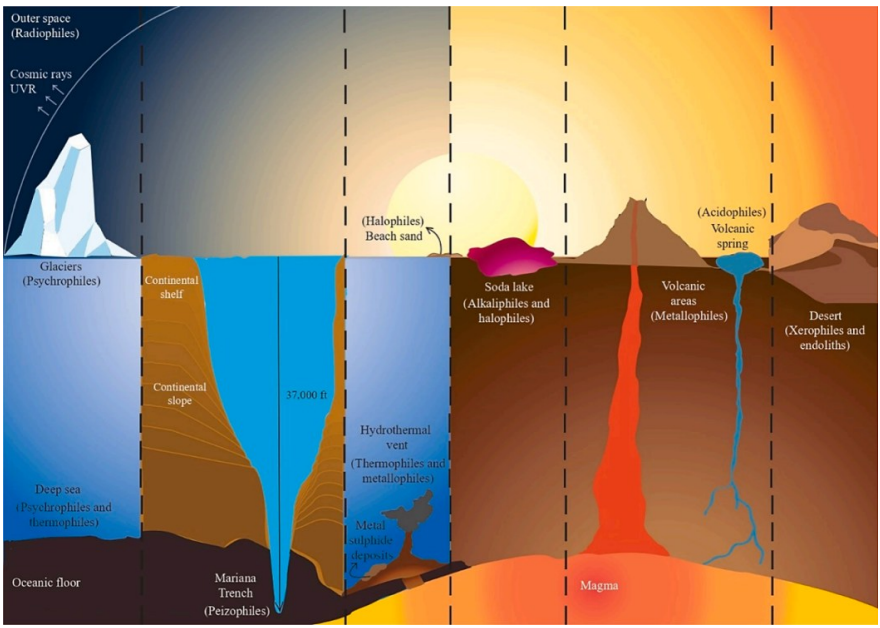
Bakteriler aleminin en büyük filumlardan biri olan Aktinobakteriler, 6 sınıf, 5 alt sınıf, 6 takım ve 14 alt takım ile 18 ana soyda sınıflandırılmıştır (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024). Çoğunlukla aerobik, kemoheterotrofik ve dallı miselyum yapısına sahip, sporla üreyebilen suşlar içermektedir. Doğada yaygın olarak bulunan aktinobakteriler, terregenik, sucul, havai ve ekstrem ortamları içeren çeşitli ekosistemlerde bulunabilmektedirler (Gacem & ark., 2021; El-Sayed, Elsayed & Gomaa, 2024). Ekstremobiosfer de dahil olmak üzere biyosferde yaygın bir dağılıma sahiptirler ve hücresel özellikleri ve metabolik çeşitlilikleri sayesinde toprak mikrobiyotasının önemli bileşenlerinden biri olarak kabul

edilmektedirler (Mohammadipanah & Wink, 2016; Farda & ark., 2022). Aktinobakteriler, bitki rizosferi (Özdemir Koçak, 2019), kompost (Özdemir Koçak & ark., 2023) ve ekstrem sucul ve kara ekosistemleri (Saygin & ark., 2019; Saygin & ark., 2020) gibi farklı habitatlarda yaşayabilen mikroorganizmalardır. Asidofilik (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024), alkalifilik (Hui & ark., 2021), halofilik (Meklat & ark., 2020), haloalkalifilik (Sorokin & ark., 2021), psikrofilik (Jiang & ark., 2022), termofilik (Özdemir Koçak & ark., 2023) ve kserofilik (Montero-Calasanz &ark., 2012) aktinobakterilerle ilgili farklı çalışmalar bulunmaktadır. Ekstrem çevrelerde yapılan izolasyon çalışmalarının çoğunda Aktinobakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu ortamlardan yapılan izolasyon çalışmalarında nadir olan türlerin elde edilmesinin yanı sıra bu türlerden yeni biyolojik aktif moleküllerin keşfedilme olasılığı oldukça yüksektir. Bu nedenle, ekstremobiyosferin çeşitliliği, uzun süre boyunca daha önce keşfedilmiş metabolitlerin yeniden keşfi sorununu çözme potansiyeline sahiptir. Dolasıyla, ekstrem ortamlarda gelişen aktinobakterileri araştırmak, henüz keşfedilmemiş suşları ve bunlardan elde edilecek yeni sekonder metabolitlerin keşfedilmesi amacıyla önerilmektedir (Mohammadipanah & Wink, 2016; El-Sayed, Elsayed & Gomaa, 2024).

Ayrıca, kültüre ederek izolatların eldesine bağlı yapılan çalışmalara ek olarak yeni nesil dizileme teknolojilerinin ve "metaomik" yöntemlerin kullanılması da, Aktinobakterilerin biyoteknolojik potansiyelini keşfetmeye yardımcı olmaktadır. Yapılan metagenomik çalışmalar, farklı ekstrem ortamlardaki (Mariana Çukuru'na ait tortular ve Orta And Dağları'nın yüksekliklerinden gelen topraklar) 'koyu' ve 'nadir' aktinobakteriler arasında muazzam taksonomik çeşitlilik ortaya koymuştur (Bull & Goodfellow, 2019; Devi & ark., 2024).

Bu bölümde ekstromobiosferde baskın olarak bulunan ekstromofilik Aktinobakteriler ele alınmıştır. Bunun nedeni ise, Aktinobakterilerin muazzam çeşitliliği, doğada her ortamda dağılım göstermeleri, yeni taksonomik birimlerin sürekli keşfi, doğal ürün biyosentetik gen

kümeleri (NP-BGC) açısından zengin genomlar içermeleri ve ekstrem çevrelerden elde edilecek Aktinobakteriyal sekonder metabolitlerin ekolojik ve ekonomik değere sahip olmalarıdır. Özellikle ekstromobiosferde baskın olarak bulunan ekstromofilik Aktinobakteriler ve adaptasyon mekanizmaları ele alınmıştır.



Şekil 1. *Ekstromofillerin farklı habitatları (Kochhar & ark., 2022)*

1. Termofilik Aktinobakteriler

Termofilik ve hipertermofilik mikroorganizmalar, derin deniz hidrotermal bacaları, sıcak su kaynakları, volkanik ortamlar ve çöller gibi çeşitli doğal ortamlarla birlikte kompost, reaktörler ve fabrikalardan çıkan sıcak su ortamlarında bulunabilmektedirler (Sayed & ark., 2020; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024). Termofilik organizmalar orta derecede termofilik (45-55 °C'de), termofilik (55-65 °C'de) ve hipertermofilik (80 °C'den yüksek) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Pikuta, Hoover & Tang, 2007 ; Shivlata & Satyanarayana, 2015; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Aktinobakteriler arasında termotolerant olanların ise 45-50 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda hayatta kalabildiği bildirilmiştir (Shivlata & Satyanarayana, 2015; Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Termofilik aktinobakteriler zorunlu aerob ve zorunlu kemoorganotrofik bakterilerdir. Bazı termofilik aktinobakteriler sadece CO_2+H_2 ve sülfür ile büyürlerken bazıları fakültatif kemoototrofi ve fakültatif metilotrofi gibi diğer beslenme şekillerine de sahiptirler. Bu metabolik özellikler, termofilik aktinobakterilere farklı habitatlarda yaşamlarını sürdürmede üstünlük sağlamanın yanı sıra, çöl veya hidrotermal alan gibi çoklu stres koşullarında da hayatta kalmalarına olanak sağlamaktadır (Shivlata & Satyanarayana, 2015; Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Dünyadaki karasal alanlar yüksek oranda kuraklıktan, soğuktan ve aynı zamanda tuzluluk, asidite ve mineral eksikliğinden de önemli derecede etkilenmiştir (Tuesta-Popolizio & ark., 2021). Dünyadaki kara yüzeyinin yaklaşık %33'ünü çöller oluşturmakta ve her kıtada bulunmaktadır (Gacem & ark., 2021). Çöl çevre koşulları aşırı yüksek veya düşük sıcaklıkların yanı sıra, çok düşük organik karbon kaynakları, besin eksikliği, UV radyasyonu, yüksek seviyelerde oksidanlar, pH veya tuzluluk, yüksek metal konsantrasyonları ve diğer abiyotik streslerle karakterize edilir (Xie & Pathom-Aree, 2021). Çin'deki Taklamakan Çölü, Türkiye'de Anadolu Çölü, Suudi Arabistan kurak alanı, Beni Suef Valiliği Çölü, Mısır'da Doğu Çölü, Cezayir'de Béni Abbès Çölü ve Şili'deki Atacama Çölü gibi ekstrem ortamlar farklı araştırıcılar tarafından araştırılmış ve en baskın bakteri grubunun Aktinobakteriler olduğunu belirlemişlerdir (Bull & Goodfellow, 2019). Çöl ortamlarından izole edilen bu ekstremofilik aktinobakteriler, termofilik, alkali-termofilik, termo-asidofilik, alkali-tolerant termofilik, termofilik radyasyon dirençli, halofilik ve haloalkalifilik bakterileri içermektedir (Gacem & ark., 2021). Bu ortamlardan belirlenen yeni türlerin %92'sinin çöl toprağından izole edildiği %8'inin ise çöl bitkilerinden, rizosfer toprağından ve kaya yüzeylerinden izole edildiği bildirilmiştir (Xie & Pathom-Aree, 2021). Nafis ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ağır metallerle

kirlenmiş topraklar, yüksek rakımlı bir alan, çöl ve deniz ortamı da dahil olmak üzere beş farklı habitat kullanmışlar ve yüksek sıcaklıklar, nano-molar besin konsantrasyonları, düşük su aktivitesi ve yoğun radyasyon özelliklerine sahip çöl toprağından sekiz *Streptomyces* izolatı elde etmişlerdir (Nafis & ark., 2019).

2000-2021 yılları arasında, yapılan tanımlama çalışmalarında dünya çapında 35 çölden 9 takım, 24 familya ve 52 cinse ait 129 tür belirlenmiştir. *Actinomycetales* takımı üyeleri en fazla sayıda yeni aktinobakteriyi temsil ederken, bunu *Geodermatophilales, Micrococcales* ve *Pseudonocardiales* takip etmektedir. Ayrıca, çöl ortamında en bol bulunan türler *Geodermatophilaceae, Microbacteriacea, Pseudonocardiaceae Streptomycetaceae* cinslerine aittir (Xie & Pathom-Aree, 2021). Çöllerden elde edilen en baskın iki aktinobakteri *Geodermatophilus* ve *Streptomyces* olduğu bildirilmiştir (Bull & Goodfellow, 2019; Xie & Pathom-Aree, 2021).

Zenova ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada zayıf gelişmiş tabakalı volkanik toprakların termal alanlarındaki aktinomiset çeşitliliği çalışılmış ve termofilik formlar yalnızca *Micromonospora* cinsi türlerle temsil edildiği belirlenmiştir. Çöl topraklarında, termofilik aktinomisetler arasında *Streptomyces* türleri ile birlikte nadir *Actinomadura*, *Saccharopolyspora* ve *Streptosporangium* cinslerinin temsilcileri bildirilmiştir (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011).

Kalsiyum sülfattan oluşan kristallerin varlığından dolayı Kristaller mağarası adı verilen ekstrem ortamlardan biri olan mağara ekosisteminde 53 °C sıcaklığa sahip sıcak su kütlesi bulunmaktadır. Hem sıcaklık (53 °C) hem de nem (%100) açısından benzersiz olan bu mağaradan yapılan izolasyon çalışmasında bir Aktinobakteri olan *Prauserella marina*'nın izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Quintana, Badillo & Maldonado, 2013).

Sıcak su kaynakları, genellikle aktif volkanların yakınında yağmur suyu veya jeotermal olarak ısınan yeraltı suları ve derin deniz

hidrotermal bacaları gibi habitatları içermektedir. Genellikle farklı tuzluluk konsantrasyonuna ve pH değerine (asidikten baziğe doğru değişen) sahip olabilen bu ortamlarda termofilik Aktinobakterilerin varlığı farklı çalışmalarla belirlenmiştir. Hui ve arkadaşlarının yaptığı derlemede farklı çalışmalardan örnekler verilmiş ve *Thermoactinospora* ve *Thermocatellispora* gibi iki yeni cinsin tanımlandığı belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise *Kocuria rosea* MG2 suşunun, İran'ın Ab-e-Siah radyoaktif sıcak su kaynağından izole edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen izolatların biyoteknolojik kullanım potansiyele sahip oldukları ifade edilmiştir (Hui & ark., 2021).

Termofilik Aktinobakterilerin bulunabildiği ekstrem ortamlardan biri olan volkanik mağaralardan alınan örneklerle yapılan çalışmada, 6 farklı Aktinobakteri soy hattı tanımlanmıştır (Riquelme & ark., 2015). Gacem ve arkadaşlarının yaptığı derleme de ise meteroid alanlar ve krater alanlarından yapılan çalışmalarda elde edilen Aktinobakterilerden bahsedilmektedir (Gacem & ark., 2021).

Termofilik Aktinobakterilerin bu geniş habitatlardan yapılan çalışmalarda en çok tanımlanan cinsleri *Acidothermus, Rubrobacteria, Thermotunica, Thermopolyspora*, *Thermocatellispora, Thermomonospora*, *Thermobispora* ve *Thermoleophilum* gibi cinsler sadece termofilik türleri içerirken, Actinobacteria filumuna ait diğer sınıflarda hem termofilik hem de mezofilik türler bulunmaktadır (Shivlata & Satyanarayana, 2015; (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Termotolerant/termofilik aktinobakteriler, rRNA ve tRNA'sında yüksek G+C içeriğine sahip olması, birinci ve üçüncü kodon pozisyonlarında G ve A için ters nükleotid pozisyonu, DNA'da pozitif süper sarmallar üreterek erime noktasını yükseltmeye yardımcı olan ters DNA giraz ve mezofillere göre daha küçük genomlara sahip olması gibi DNA seviyelerindeki benzersiz adaptasyonları sayesinde çok daha yüksek sıcaklıkları tolere edebilir ve hayatta kalabilirler (Shivlata & Satyanarayana, 2015; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024). DNA stabilitesi için termofiller, DNA'yı

nükleozomlar halinde sıkıştırmak ve yoğunlaştırmak için DNA bağlayıcı proteinler ve herhangi bir alkillenmiş, deamine edilmiş, birincil bölge veya oksitlenmiş baz ve çapraz bağlı ürünleri çıkarmak için DNA onarım proteinleri kullanırlar. Hücredeki poliaminler ve ozmolitler de DNA'yı stabilize etmeye ve proteinleri korumaya yardımcı olur. Metabolik olarak termofiller, glikolizle ilgili proteinleri yukarı doğru, elektron transfer proteinleri ve NADH dehidrojenaz gibi solunumla ilişkili proteinleri ise aşağı doğru düzenleyerek uyum sağlar. Ayrıca karbonmonoksit dehidrojenaz enzim senteziyle veya sülfürü enerji kaynağı olarak kullanıp bulundukları ortama adapte olurlar. Termofilik aktinomisetler, proteinlerinin disülfit, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimlerini artırarak yüksek sıcaklıklara uyum sağlar. Buna ek olarak, amino asit analizi, mezofilik ve termofilik suşların proteinler üzerinde polar amino asitlerden daha yüksek oranda yüklü amino asit kalıntıları (Glu, Asp, Lys ve Arg) içerdiğini ortaya koymaktadır (Shivlata & Satyanarayana, 2015). Bu tür bakteriler, yüksek sıcaklıklarda proteinlerinin kümelenmesini önlemek ve yüksek sıcaklıklar nedeniyle hasar gören denatüre olmuş proteinleri açığa çıkarmak için ısı şoku proteinleri olan 'şaperonlar' üretirler (Amina & Lotfi, 2024). Aktinobakteriler ayrıca proteinlerin katlanması sırasında güçlü bir şekilde bağlanan Trigger faktör benzeri şaperonlara sahiptir. (Gacem & ark., 2021). Membran adaptasyonları, membran sertliğini artırmak için doymuş ve uzun zincirli yağ asitlerinde bir artışı, termofilik lipidlerin (kaldarşaeol ve siklik arkeol) varlığını ve yüzey membranlarında daha fazla yüklü aminoasitleri içermesi şeklinde gerçekleşir. Ayrıca hücre duvarı bileşimi üzerine yapılan kemotaksonomik analizler, termofilik ve termotolerant suşların esas olarak tip-III ve tip-IV hücre duvarı bileşimi içerdiğini belirtmektedir (Amina & Lotfi, 2024; Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Termofilik ekstremofiller tıp, medikal, biyomadencilik, gıda ve yem, ilaç, deri, deterjan, tekstil, kağıt ve tarım gibi farklı endüstriyel uygulamalar için enzimler, antibiyotikler ve aktif biyolojik çeşitli metabolitler açısından sekonder metabolit taramalarında en fazla ilgi

gören gruptur (Raddadi & ark., 2015; Amina & Lotfi, 2024). Tarama çalışmalarında Aktinobakteriler tarafından sentezlenen, antifungal, antibakteriyel, antivirüs, anti-enflamatuar ve anti-MDR (Multi Drug Resistant; çoklu ilaç direnci) patojenleri, antitümör, antialerjik, sitotoksik aktiviteler de dahil olmak üzere potansiyel antimikrobiyal aktivitelere sahip onlarca yeni bileşik bulunmuştur. Özellikle selülazlar, proteazlar, kitinazlar, lipazlar ve amilazlar gibi ekstremofilik enzimler, yüksek sıcaklıklarda stabil ve aktif olmaları sayesinde endüstriyel ve çevre uygulamalarında kullanılmaktadır. Ayrıca, endüstriyel uygulamalarda yüksek sıcaklıklarda çalışılmasına olanak sağlaması kontaminasyon riskini azaltır ve bu da istenmeyen komplikasyonların önüne geçilmesini sağlar (Van Den Burg, 2003; Xie & Pathom-Aree, 2021; Amina & Lotfi, 2024; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Evrimsel ve filogenetik açıdan bakıldığında, ekstremofillerle ilgili çalışmalardan elde edilen sonuçlarda, bu organizmalardan bazılarının yaşam ağacının tabanında bir küme oluşturması nedeniyle yaşamın kökenine ilişkin çalışmalar için kritik öneme sahip oldukları düşünülmektedir (Rampelotto, 2013). Ayrıca, ekstremofillerin habitatlarını ve hücresel yapılarını anlamak, dünya dışındaki diğer gezegenler ve uydulardaki yaşamı araştırabilmek ve bu koşullara ilişkin hipotezler geliştirilebilmesine olanak sağlaması açısından astrobiyoloji alanında da oldukça önemli hale gelmiştir (Rampelotto, 2013; Kochhar & ark., 2022).

2. Psikrofilik Aktinobakteriler

Dünya'nın kalıcı olarak düşük sıcaklıklara sahip ekosistemleri arasında; kutup buz tabakaları, buzullar, Kuzey Kutbu ve Antarktika’nın permafrost bölgeleri, yüksek rakımlı dağlar, üst atmosferler, sığ yer altı bölgeleri (örneğin mağara sistemleri), derin deniz suları ve deniz çökeltileri yer almaktadır. Dünya genelinde toprakların yaklaşık %57’si soğuk strese maruz kalmaktadır ve permafrost olarak tanımlanan art arda iki veya daha fazla yıl boyunca

0 °C altında kalan donmuş toprak ve sediman zeminlerle kaplıdır (Pikuta, Hoover & Tang, 2007; Devi & ark., 2024).

Karaların yaklaşık %25'inin permafrost topraklarla kaplı olduğu tahmin edilmektedir (Sayed & ark., 2020). Psikrofiller, dünya yüzeyindeki bu soğuk alanlarda olduğu gibi soğutulmuş ekipmanlar ve derin dondurucular gibi yapay ortamlarda da yaşayabilen organizmalar olarak tanımlanır (Devi & ark., 2024; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Çöller dünya yüzeyinin büyük bir bölümünü kaplamakta ve sıcaklığı çok yüksek olan çöller olduğu gibi soğuk çöller de bulunmaktadır. McKelvey Vadisi'nin soğuk çölünde yapılan kültür-bağımsız bir araştırmada, dominant toplulukların *Acidobacteria, Alphaproteobacteria* ve *Actinobacteria* olduğunu belirlemişlerdir (Mohammadipanah & Wink, 2016). Hindistan Himalayaları'nın Lahaul-Spiti Vadisi soğuk çölünde yapılan farklı bir çalışmada da Aktinobakterilerin yoğun olarak bulunduğu gözlemlenmiştir (Thumar, Dhulia & Singh, 2010). Benaud ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Doğu Antarktika'da bulunan çorak ve kayalık alanlara sahip soğuk bir çöl olan Herring Adasından örnekleme yapılmış, iki farklı izolasyon yöntemi kullanılarak 166 suş elde edilmiştir. 16S rRNA dizileme çalışmaları sonucunda bu suşların %94'ünün Aktinobakteri grubu olduğunu belirlemişlerdir (Benaud & ark., 2022). Xie ve arkadaşlarının yaptığı derleme de Pakistanda yer alan soğuk çöllerden yapılan çalışmalarda *Dietzia*, *Streptomyces*, *Saccharothrix*, *Nocardioides* ve *Yuhushiella* cinslerine ait yeni türler keşfedildiği bildirilmiştir (Xie & Pathom-Aree, 2021).

Zenova ve arkadaşlarının yaptığı derlemede kışın sıcaklığın -30/ -40 derecelerde seyrettiği tundra topraklarında yüksek oranda Aktinobakterilerin baskın olduğu da bildirilmiştir. Aynı şekilde farklı soğuk ekosistem topraklarında da *Frigoribacterium*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Modestobacter*, *Promicromonospora* ve *Nocardia* cinslerine ait psikrofilik aktinomisetlerin bulunduğu belirtilmiştir (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011).

Dünyadaki en büyük düşük sıcaklık ekosistemi, okyanusların derin tabanlarıdır. Bu devasa ekosistemde 1.000 m derinliğin altında ve 4 °C sabit sıcaklıkta yaşayan psikrofiller, sadece düşük sıcaklıklara değil, aynı zamanda basınç ve tuzluluk gibi diğer çevresel şartlara da adapte olmuşlardır. Örneğin; derin deniz tabanında ve sedimentlerinde yaşayan psikrofiller aynı zamanda yüksek basınçla da baş edebilmektedir. Bu organizmalar piezo-psikrofil (veya baro-psikrofil) özellik göstermektedirler (Pikuta, Hoover & Tang, 2007).

Franco ve arkadaşlarının Karayip Denizi'nde 1681-2409 metre derinlikten aldıkları sediment örnekleri ile yaptıkları çalışmada, aralarında Actinobacteria'nında olduğu 5 farklı filum tanımlanmıştır (Franco & ark., 2020). Zenova ve arkadaşlarının yaptığı derlemede ise Antarktika'da 3590 m derinlikteki buzdan *Pseudonocardia antarctica* yeni türünün ve güney okyanus denizlerinin su ve buzundan ise barotolerant ve psikrofilik özelliklere sahip *Micromonospora* cins üyelerinin izole edildiği belirtilmiştir (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011). Bu tür çalışmalar, derin deniz bölgelerindeki farklı ekstromofilik koşulları tolere edebilen zengin poliekstremofilik mikrobiyal çeşitliliğin varlığını ve bolluğunu göstermektedir (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Mağara habitatları genellikle soğuk olmasının yanında yüksek neme sahip, oksijen ve organik materyaller bakımından ise fakir (oligotrofik) ortamlardır (Rachid & Güngör, 2023). Bu ortamlardan yapılan çalışmalarda, çoklu ekstromofilik özelliklerin bir arada olduğu görülmektedir. Türkiye'de bulunan Parsik Mağarası'ndan alınan örneklerle yapılan çalışmada, 41 izolat elde edilmiş ve bunlardan da 28'i Aktinobakteri olarak tanımlanmıştır (Rachid & Güngör, 2023). Long ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan araştırmada, mağaradan 45 izolat elde edilmiş ve bunlardan 7 cins ve 23 tür sınıflandırılmıştır. Bu izolatların %52'sinin *Streptomyces* olduğu, diğer izolatların ise *Agromyces*, *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Nocardioides*, *Oerskovia* ve *Rhodococcus* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. Hui ve arkadaşlarının yaptığı derlemede farklı soğuk habitatlardan yapılan çalışmalara örnekler

verilmiş ve bu ortamlardan çok sayıda Aktinobakteri çeşitliliği elde edildiği bildirilmiştir (Hui & ark., 2021).

Psikrotolerant mikroorganizmaların adaptasyon mekanizmalarının, düşük sıcaklıklar altında hızlı büyüme yeteneği, membran lipidlerindeki yüksek doymamış yağ asidi içeriği ve düşük sıcaklıkta işlev görmelerini sağlayan spesifik protein konformasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Choudhary, Bhatt & Chatterjee, 2024). Karasal ekosistemlerde, psikrotolerant bakteriler soğuk dönemlerde organik madde ayrışmasında önemli bir rol oynamaktadır. Psikrofil mikroorganizmalar soğuk ortamlara farklı mekanizmalar ile uyum sağlamaktadır. Bu mekanizmalar arasında; besin emilimini artırarak etki gösteren kryoprotektanların varlığı, membran fosfolipid bileşimlerinin ve çoklu doymamış/doymuş yağ asidi oranının artırılmasıyla hücre zarında meydana değişiklikler, buz çekirdekleme proteinleri, soğuk şok proteinleri ve donma noktasını azaltmak ve buz kristali büyümesini önlemek için buza bağlanan antifriz proteinlerinin varlığı ve RNA degradosomu gibi mekanizmalar bulunmaktadır (Devi & ark., 2024).

Metabolik açıdan önemli çeşitli moleküllerin translasyon ve transkripsiyon oranlarının artması ve metabolik yolların hızlanması gibi farklı adaptasyon yolları ile de bu ortamlara uyum sağlamaktadırlar (Devi & ark., 2024). Psikrofilik mikroorganizmalar enerjiyi trigliseritler, polifosfatlar, mum esterleri ve glikojen olarak depolayarak metabolizmalarını yavaşlatabilir ve besin alımını azaltabilir. Ayrıca, donma sıcaklıklarında, dallı ve doymuş yağ asidi üreterek hücre zarı akışkanlığını koruyabilirler (Sayed & ark., 2020). Psikrofilik Aktinobakteriler, peptidoglikan katmanının kalınlaşması dahil olmak üzere yapısal, fizyolojik ve moleküler değişiklikler yoluyla soğuk ortamlara adaptasyon gösterir. Bu ekstremofiller, mRNA'daki ikincil yapıları kararsız hale getirerek translasyon verimliliğini artırdığına inanılan soğuk şok proteinlerini sentezleyebilir. Gliserol, mannitol, trehaloz, sukroz ve glisin betain gibi uyumlu solütlerin birikmesi, sıfırın altındaki sıcaklıklarda hücresel dehidrasyona ve büzülmeyi önlemeye yardımcı olur. Psikrofiller, elektron taşıma zinciri, glikoliz ve pentoz fosfat yolu

dahil olmak üzere hayatta kalmak için birincil metabolik süreçleri baskılayabilir. Çekirdek algılama psikrofiller için çok önemlidir. Bu mekanizma hücre çevresindeki donma noktasını düşürebilen hücre dışı polisakkaritlerin üretimini artırarak düşük sıcaklıklarda hayatta kalmayı kolaylaştırır (Amina & Lotfi, 2024; Choudhary, Bhatt & Chatterjee, 2024).

Psikrofilik mikroorganizmalar ve onlardan elde edilen ürünler, endüstriyel, tarımsal ve tıbbi süreçlerde geniş bir uygulama potansiyeline sahiptir. Antarktika soğuk çöllerinden elde edilen Aktinobakterilerden antibiyotik özellikli antitümör antibiyotik frigosiklinon gibi 13 yeni bioaktif bileşik elde edilmiştir (Benaud & ark., 2022). Ayrıca soğuğa adapte olmuş bakterilerden elde edilen soğuk-aktif enzimler enerji tüketimini azaltmaya yönelik çalışmalar sonucunda endüstriyel uygulamalar için ilgi çekici hale gelmiştir. Örneğin, psikrofilik enzimlerin deterjanlarda uygulanması ile daha düşük sıcaklıklarda daha etkin deterjanların eldesi mümkün olmuştur. Psikrofillerden elde edilen proteazlar, amilazlar veya lipazlar gibi enzimler kâğıt, selüloz ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Van Den Burg, 2003). Ayrıca, yüksek degradasyon özellikleri nedeniyle doğal ekosistemlerin ve kirli ortamların biyoremediasyonunda önemli bir rol oynayabilecekleri de bildirilmiştir (Rachid & Güngör, 2023).

3. Asidofilik Aktinobakteriler

Asidofiller, 3 veya altındaki pH seviyelerinde gelişen fakat neredeyse nötr bir iç pH seviyesine sahip olan mikroorganizmalardır (Amina & Lotfi, 2024). Sanayi Devrimi ile birlikte artan kirletici oranları toprakta ve havada yüksek oranda kirliliğe yol açmıştır. Bu kirlilik asit yağmurlarının oluşmasına ve toprağın asitlik oranı 4-6.5'a kadar düşmesine neden olmuştur. Dünya yüzeyinde bulunan yüksek asidik ortamlar; genellikle volkanik bacalar, asit gölleri, minerallerin kimyasal teknikler kullanılarak çıkarıldığı madenler, asit maden atıkları, sıcak su kaynakları, aşırı gübre kullanımına bağlı asitleşen topraklar ve atık boşaltma alanlarıdır (Sayed & ark., 2020;

Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Asidofiller arasında hipertermofilik, orta derecede termofilik ve mezofilik türler yer almaktadır. Spor oluşturan ve spor oluşturmayan, aerobik, mikroaerofilik veya zorunlu olarak anaerobik olan bu mikroorganizmalar, hidrojen, demir, sülfür veya organik moleküllerden enerji elde edebilirler. Genellikle mineral ve kayalardan sülfür ve demirin dönüştürülmesi sürecine (biyolojik liç) katılan asidofiller asidik ortam oluştururlar. Bazı asidofilik mikroorganizmalar sitoplazma içinde iç pH'ı 5 ila 7'de muhafaza etme yeteneğine sahiptir. Ancak ekstra hücresel proteinler genellikle yüksek asitliğe adaptasyon gösterir ve optimum işlevleri düşük pH'da gerçekleştirir (Pikuta, Hoover & Tang, 2007; Norris & ark., 2011).

Aktinomisetlerin çoğu nötrofilik ve hafif alkali koşullarda yetişmektedir. Bununla birlikte, 0,2 mol/L NaCl'nin üzerindeki tuz konsantrasyonları ile 3,5 - 6,5 pH aralığında büyüyen asidofilik türler de vardır (Zhulamanova & ark., 2020). Asidofilik aktinobakteriler nötro-tolerant asidofiller ve sıkı asidofiller olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Tipik nötro-tolerant asidofiller, pH 4,5-7,5 arasındaki ortamlarda büyüme gösterirken, sıkı asidofilikler ise pH 3,5 ile 6,5 arasındaki ortamlarda büyüme göstermektedirler (Veyisoğlu & Tatar, 2021). Asidofilik aktinomisetlerin spesifik ekolojik özellikleri ve toprak mikrobiyal kompleksinin aktivitesine katkıları hala araştırılmaktadır. En sık bulunan asidofilik aktinomisetler *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinslerine ait üyelerdir (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011).

Bir çay kültürü altındaki asidik toprağın biyoçeşitliliğinde, asidotolerant aktinomisetler arasında Streptomisetlerin daha sık bulunduğunu; asidofilik olanlar arasında *Actinoplanes* ve *Glycomyces* cinslerinin temsilcilerinin tespit edildiğini gösteren veriler bulunmaktadır. Filogenetik ve kemotaksonomik analizlerin kullanılması, topraklarda tespit edilen asidofilik aktinomisetlerin yeni *Streptoacidophilus* cinsi olarak tanımlanmasına olanak

sağlamıştır (Goodfellow & Kim, 1999). Çam ormanları altındaki topraklardan izole edilen tüm aktinomisetler arasında asidofilik aktinomisetlerin oranının %80; geniş yapraklı-iğne yapraklı ormanların altındaki topraklarda %63; sürülmüş topraklarda ise %33'e ulaşabildiği belirtilmiştir (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011). Türkiye'de Çorum ili yakınında bulunan Osmancık'taki çeltik tarlası toprağından yapılan izolasyon çalışmasında 22 asidofilik izolat elde edilmiş ve bunların 21'nin *Streptomyces* sp. ve birinin *Rhodococcus* sp. olduğu belirlenmiştir (Veyisoğlu & Tatar, 2021). Farklı bir çalışmada da İran'ın kuzeyindeki yarı tropikal şeritte bulunan çay ve pirinç tarlalarından 83 asidik toprak örneği (pH 3.9-6.8) kullanılmış ve fenotipik ve moleküler tanımlama testlerine göre, elde edilen aktinobakteriyel izolatların *Streptomyces* ve *Kitasatospora* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir (Hwang & ark., 2019).

Demir oksitleyici bir asidofil olan *Acidimicrobium ferrooxidans için* 16S rRNA genlerinin analizi yoluyla Acidimicrobidae alt sınıfı oluşturulmuş ve bu alt sınıfta bulunan "*Acidithiomicrobium*" suşlarının optimum büyüme sıcaklıklarının yaklaşık 50 °C olduğu belirtilmiştir. *Am. ferrooxidans*'ın istisnai olarak yüksek G+C (%68) içeriği ile diğer asidofillerden ayrıldığı görülmektedir (Norris & ark., 2011).

Şili'nin kuzeyindeki hiperarid Atacama bölgesinde bulunan Salar de Gorbea, yüksek asitlik ve tuz konsantrasyonunun yanı sıra sülfür ve hidrotermal değişimlerin varlığı gibi benzersiz özellikleri ile alışılmadık aşırı bir ortamdır. Bu bölgeden alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışmalarında *Dunaliela, Francisella*, *Leifsonia*, *Mycobacterium*, *Novosphingobium* ve *Rickettsia* cinslerinin en yakın akrabaları olan yeni Proteobacteria ve Actinobacteria suşlarının varlığı belirlenmiştir (Davis-Belmar & ark., 2013).

Farklı maden alanlarında yapılan çalışmalarda da asidofilik Aktinobakteriler elde edilmiştir. Bir kömür madeni katmanındaki son derece asidik topraktan yapılan çalışmada nadir aktinobakterilerden *Actinospica*, *Actinomadura*, *Aciditerrimona*s,

Actinoallomurus, *Ferrimicrobium* ve *Streptacidiphilus* cinslerine ait üyeler tespit edilmiştir (Pikoli, Sugoro & Suharti, 2020). Reaktif piritik maden atığından izole edilen demir indirgeyici, orta derecede asidofilik (pH 4.0'da gelişim gösteren) bir aktinobakterinin (IT2) filogenetik analizleri sonucunda yine asidik maden atıklarıyla ilişkili olarak *Curtobacterium ammoniigenes* suşu ile akraba olduğu belirlenmiştir. IT2 suşu anaerobik koşullar altında ferrik demiri indirgeyebilmiştir, ancak demir veya elementel (sıfır değerlikli) sülfürün oksidasyonunu katalize etmediği ve zorunlu heterotrofik olduğu bulunmuştur (Nancucheo & Johnson, 2020).

Yaygın olarak tanımlanan asidofilik aktinobakterilere ilişkin önceki raporlarda elde edilen izolatların, *Amycolatopsis*, *Micromonosporas, Mycobacterium*, *Nocardia*, *Nonomuraea*, *Saccharopolyspora, Streptomyces* ve *Verrucosispora* cins üyelerine ait olduğu bildirilmiştir (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Aşırı pH değerlerinde hayatta kalmak, çeşitli eko-fizyolojik zorlukların üstesinden gelmek için sofistike hücresel adaptasyonlar gerektirir. Bu organizmalar iç pH seviyelerini düzenlemek için benzersiz yapısal ve işlevsel adaptasyonlar sergilerler. Dış ortamlarının aşırı asiditesine rağmen, asidofiller makromoleküler stabiliteden ödün vermeden bu tür asidik koşulları kendi içlerinde sürdüremezler. Bu sınırlama, asidi hücreden dışarı atarak hücre içerisinde nötr ila hafif asidik koşulları koruyan mekanizmaların evrimleşmesine neden olmuştur. Hücrenin pH homeostazını korumak için asidofiller proton akışını iyileştirmek, ikincil taşıyıcıların ekspresyonunu artırmak, hücre zarının proton geçirgenliğini azaltmak ve sitoplazmik tamponlamayı artırmak, plazma membranı boyunca bir pH gradyanını sürdürmek üzere hücre dışına asit salmak gibi farklı adaptasyon stratejileri kullanırlar (Shivlata & Satyanarayana, 2015; Amina & Lotfi, 2024; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

ATPaz aktivitesi ve seviyeleri daha yüksek olduğunda asit tolerans potansiyeli artar. Ayrıca asidofiller, asidik koşullarda enzim ve protein stabilitesini korumak için, negatif yüzey yükünü artırarak

yüzey yüklerindeki değişiklikler de dahil olmak üzere çeşitli protein yapısı adaptasyonlarına sahiptir. Böylece peptit eklemelerini ve asidik amino asit içeriğini arttırırlar. Acidobacteriota, Bacillota ve Actinomycetota gibi asidofillerde protein 'holdase şaperonları' için genlerin proteazları kodlayan genlerle kümelenmesi, protein bozunması ve korunmasıyla ilgili faaliyetlerin koordineli bir şekilde düzenlendiğini göstermesi ve böylece katlanmamış proteinlerin toksisitesini ve birikimini önlemesi de dikkat çekicidir (Amina & Lotfi, 2024). Ayrıca asidik ortamlar metallerin çözünürlüğünü arttırdığı için asidofilik bakteriler metallere karşı hücresel direnç sağlayan, enzimatik dönüşüm, toksik metalin hücre dışına atılması, hücresel hedeflerin duyarlılığında azalma, hücre içi veya dışı sekestrasyon, geçirgenlik bariyeri ile dışlama olarak beş temel mekanizmaya sahiptirler (Pikuta, Hoover & Tang, 2007).

Biyoyakıt, ilaç, gıda ve yem endüstrileri, lignoselülozik biyokütleyi depolimerize etmek için termostabil ve asidofilik enzimler tercih etmektedir (El-Sayed, Elsayed & Gomaa, 2024). Asidofillerden elde edilen enzimler, deterjan üretimi gibi yüksek asidik veya yüksek alkali reaksiyon koşullarında yapılan uygulamalar için de faydalı olabilir (Van Den Burg, 2003). Aynı zamanda asidofillerden elde edilen sekonder metabolitler ilaç endüstrisinde de önem arz etmektedir. Veyisoğlu ve Tatar'ın yaptıkları çalışmada elde edilen asidofilik aktinobakterilerin *Fusarium moniliforme* ve *Rhizoctonia solani'*ye karşı antifungal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir (Veyisoğlu & Tatar, 2021).

Asidofilik ve asit toleranslı *Streptomyces* ve *Kitasatospora* cinslerine ait suşlarla yapılan bir çalışmada *Helicobacter pylori*'ye karşı antimikrobiyal etkinlikleri belirlenmiştir (Eftekharivash, Hamedi & Bakhtiari, 2021). Asidofilik bir Aktinobakteri olan *Streptacidiphilus rugosus*'tan elde edilen asidifilamid A ve asidifilamid E'nin otofaji inhibitörleri olduğu belirlenmiştir (Hwang & ark., 2019).

4. Alkaliflik Aktinobakteriler

Alkalifiller, pH 8-11.5 arasında değişen alkali koşullara sahip ortamlarda yaşayabilen organizmalardır. Bu ortamlar, doğal olarak oluşan alkali ötrofik soda gölleri (Mandal & Jawed, 2023), kurak ve mineral bakımından zengin alkalin topraklar (Meklat & ark., 2020), yüksek karbonatlı topraklar, çöl toprakları ve ayrıca yapay olarak üretilen sanayi kaynaklı sular gibi aşırı koşullara sahip ortamlardır (Devi & ark., 2024). Genellikle bu tür ortamlarda kalsiyum (Ca^{2+}) ve magnezyum (Mg^{2+}) iyonları CO_2 tarafından ayrıştırılarak OH^- açığa çıkar ve bu da toprak pH'ını 11,5'e kadar yükseltir (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

pH tercihine göre, alkalifiller iki gruba ayrılır: 7.0–9.0 pH aralığında en iyi şekilde gelişebilen ancak pH 9.5'in üzerinde gelişemeyen 'alkali-tolerantlar' ve pH 10.0 ile 12.0 arasında en iyi şekilde gelişebilen 'alkalfilikler' (Devi & ark., 2024). Buna karşın bazı yazarlar aktinomisetleri asitlik ihtiyaçlarına göre pH 10-11'de optimum büyüme ve pH 7.0'de imkansız büyüme gösteren 'alkalifilik aktinomisetler', pH 10'da optimum büyüme ve pH 7.0'de zayıf büyüme gösteren 'orta derecede alkalifilik aktinomisetler' ve pH 6.0 ila 11.0 arasında büyüme gösteren 'alkaliresistant aktinomisetler' olarak ayırmışlardır. Alkalifilik bakteriler üzerine yapılan son çalışmalar ise, doğada bulunan alkalifillerin çoğunlukla alkali-termofiller, alkali-halofiller ve alkali-psikrofiller gibi poliekstremofilik olduğunu belirtmektedir (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

En çok tanımlanan alkalifilik bakteri cinsleri *Streptomyces* s, *Micromonospora*, *Nocardioides*, *Nesterenkonia*, *Isoptericola*, *Microcella*, *Streptosporangium*, *Georgenia*, *Corynebacterium*, *Nocardiopsis*, *Cellulomonas*, *Saccharothrix*, *Arthrobacter* ve *Saccharomonospora*'dır (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024). Ayrıca, *Streptoverticillium, Elytrosporangium, Microellobosporia*, *Chainia*, *Sporichthia* ve *Micromonospora* cinsleri de alkalifilik formlara sahiptir (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011). Meklat ve arkadaşlarının (2020) yayınladığı derlemede alkalifilik ve

alkalitolerant aktinobakterilerden pek çok cins ve tür tanımlandığı; bunlar arasında *Bogoriella caseilytica*, *Kocuria aegyptia*, *Nesterenkonia alba*, *Nesterenkonia alkaliphila*, *Nitriliruptor alkaliphilus*, *Nocardiopsis algeriensis*, *Nocardiopsis alkaliphila*, *Nocardiopsis metallicus*, *Nocardiopsis valliformis*, *Streptomyces aburaviensis*, *Streptomyces fukangensis* ve *Streptomyces sodiiphilus* olduğu bildirilmiştir.

Xie ve Pathom-aree'nın (2021) yayınladığı derlemede *Streptomyces aburaviensis*, *Streptomyces fukangensis* ve *Streptomyces sannurensis'*in pH 9 ila 11,5 aralığında optimum büyüme gösteren alkalifilik aktinomisetler olduğu, ayrıca Atacama Çölü'nden izole edilen *Streptomyces altiplanensis*, *Streptomyces atacamensis*, *Streptomyces deserti* ve *Streptomyces bullii* de dahil olmak üzere pek çok Streptomisetin pH 11'e kadar optimum büyüme sağladıkları bildirilmiştir. Ayrıca Mısır'daki çöl toprağından izole edilen *Citricoccus alkalitolerans* YIM 70010T, *Nocardiopsis alkaliphila* YIM 80379T ve *S. sannurensis* WS 51T, Fukang'ın tuzlu-alkali çölünden izole edilen *Nesterenkonia rhizosphaerae* YIM 80379T, *S. fukangensis* EGI 80050T ve *Reaumuria soongorica,* Kutch tuzlu çölünden izole edilen *S. aburaviensis* ve Sahra çölünden izole edilen *Saccharothrix algeriensis* dikkat çeken halofillerdendir (Xie & Pathom-aree, 2021).

Neredeyse tüm alkalifilik bakteriler, çevrelerindeki yüksek pH değerine rağmen, hücrelerini nötre yakın bir pH değerinde tutabilmek için, protonları hücrelerin içine taşıyan ve metabolik olarak asit üreten taşıyıcılar ve enzimler kullanırlar (Rawat, Chauhan & Pandey, 2024). Bu şekilde negatif yüklü bir hücre duvarı geliştirerek çevredeki pH'ı etkili bir şekilde düşürürler. Bu yüksek negatif yüklü hücre duvarı yapısı, H^+ gibi katyonlarla etkileşime girerek hücre yüzeyinden H^+ kaybını azaltır. Ayrıca ATP üretimi ve pH düzenlemesi için sodyum ve proton iyon pompalarını kullanarak, öncelikle hücresel fizyolojik tepkiler yoluyla alkali strese karşı koyarlar. H^+/Na^+ antiporterleri dış H^+ ile iç Na^+'yı değiştirerek ve Na^+'nın membran boyunca yer değiştirmesini katalize ederek pH

homeostazı sağlarlar. Dış ortamdaki düşük H^+ konsantrasyonu, ATP üretimi için bir pH gradyanının korunmasını zorlaştırır (Amina & Lotfi, 2024). Elektrokimyasal gradyan, H^+ 'nin membran yüzeyine yakın tutulmasına yardımcı olur ve ATP üretimine katkıda bulunur (Salwan & Sharma 2022).

Alkalifiller, sınırlı H^+ iyonu ve oksijen konsantrasyonu koşulları altında verimli ATP üretimi için sitokrom c ile ilişkili bir 'H^+ kapasitör mekanizması' kullanır. Ayrıca ATP üretimini kolaylaştırmak için ATP sentazların yakınına proton pompalanmasına yardımcı olan, büyük miktarlarda karotenoid üretimi de dahil olmak üzere, farklı mekanizmalar da içerirler. Benzer şekilde, alkali ortama difüzyonu önlemek için H^+'yi hücre zarının yakınında tutmaya yardımcı olan bir gliserofosfolipid olan kardiyolipin içerirler (Salwan & Sharma 2022). Sitoplazmadaki deaminaz ve poliaminlerin kullanılması, alkalifilin hayatta kalmasıyla ilişkili diğer mekanizmalardır. Birçok alkalifilin amino asit deaminaz, ATP sentaz, oksidoredüktaz gibi enzimler yardımıyla ve farklı şekerlerin fermantasyonu yoluyla sitoplazmada asit ürettiği bulunmuştur (Amina & Lotfi, 2024). Alkalifilik aktinomisetlerde hücre duvarlarının amino asit bileşiminin araştırılması, bazılarında diaminopimelik asidin (DAPa) bir mezoizomerinin varlığını ortaya çıkarmıştır (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011). Ayrıca, galakturonik asit, glukonik asit, glutamik asit, aspartik asit ve fosforik asit gibi maddelerin alkalifilik bakterilerin hücre duvarı kompozisyonunda bulunmasının bakteriyel hücreyi koruduğu belirlenmiştir (Gacem & ark., 2021).

DNA diziliminin gelişimi, ekstremofillerin fizyolojik adaptasyon bulmacasının genomik düzeyde çözülmesinde devrim yaratmıştır. Genel olarak, karşılaştırmalı genomik çalışmalar alkalifillerde karbonhidrat ve amino asit metabolizmasıyla ilgili genlerin genom düzeyinde genişlediğini ortaya koymuştur (Salwan & Sharma 2022). Buna ek olarak, organizmanın genomunda benzersiz bir gen setinin bulunması herhangi bir ortama adaptasyonun en önemli katkısıdır. Bazı alkalifiller daha zengin bir dizi ve ekstra kromozomal genetik

materyaller (plazmidler) içerir, bu da hayatta kalma ve çevresel aşırılıklara tolerans için büyük avantajlar sağlar. Ayrıca, çoğu alkalifil plazmidinde bol miktarda bulunan integrazlar, transpozonlar ve diğer hareketli elementler, alkalifil genomlarının plastisitesinde ve uyarlanabilirliğinde de önemli bir rol oynamaktadır (Amina & Lotfi, 2024).

Alkalifilik ve alkalitolerant aktinobakteriler, antibiyotikler, kanser karşıtı, tümör indükleyici ve immünsüpresif ajanlar, antioksidanlar, antiparazitikler, sitotoksik bileşikler, enzimler, herbisitler, böcek ilaçları ve nanoparçacıklar gibi değerli doğal bileşikler üretme yeteneğine sahip mikroorganizmadır (Meklat & ark., 2020). Bazı alkalifillerden elde edilen alkalifilik enzimler, yüksek pH'da optimal aktiviteye sahiptir ve bu özellik biyoteknolojide oldukça sık kullanılmaktadır (Pikuta, Hoover & Tang, 2007). Özellikle de deterjan ve çamaşırhane endüstrilerinde yaygın olarak uygulanan enzimlerin çoğu alkalifilik enzimlerdir (Raddadi & ark., 2015).

Ayrıca, alkalifilik *Nocardiopsis* sp. YIM 80133'ün insan lösemi ve akciğer adenokarsinom hücre hatları üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip griseusin D olarak bilinen yeni bir piranonaftokinon ürettiği bildirilmiştir (İbrahim, Aishwarya & Kannan, 2023). Alkalifilik *Streptomyces* sp. AK409 kaynaklı bir bileşik 'Pyrocoll'ün, çeşitli *Arthrobacter* suşlarına ve filamentli mantarlara karşı etkili olmuştur ve ayrıca *Plasmodium falciparum*'a karşı antimalaryal etkiye ve *Trypanosoma cruzi*'ye karşı diğer antiparazitik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Belyaeva & ark., 2022).

5. Halofilik Aktinobakteriler

Halofiller, ekstremofiller içerisinde tuzlu ortamlarda büyümeye uyum sağlamış ilginç bir gruptur. Bu ortamlar, orta derecede tuzlu deniz ortamlarından tuz gölleri, madenler gibi yüksek tuzlu alanlara kadar değişebilir (Amina & Lotfi, 2024). Tuz gölleri, suyun buharlaşması, yağış, su seviyelerinin sürekli dalgalanması, artan tuz konsantrasyonu ve toprak üzerinde kurak kristal tuz tortulaşması oluşumuna neden olan yoğun UV radyasyonu gibi doğal süreçler

nedeniyle en sert ekolojik nişlerden biridir. Ayrıca tuz çölleri daha yüksek konsantrasyonlarda Ca, $Cl^{-,}$ HCO_3, K, Mg, Na ve SO_4 iyonları içerir. Halotolerant ve halofilik mikroorganizmaların çoğu bu tür çevresel koşullarda gelişir (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Tuzlar, ozmotik basıncın düzenlenmesindeki etkileri nedeniyle mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürmesinde büyük öneme sahiptirler. Aktinomiset hücrelerindeki yüksek ozmotik basınç, nem eksikliğinde ve yüksek tuzlu topraklarda hayatta kalmalarını sağlar (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011). Ortamdaki aşırı tuzluluk mikroorganizmada stres durumuyla sonuçlanabilir ve çevrelerinin düşük ozmotik potansiyeli nedeniyle hücrelerin kurumasına ve parçalanmasına neden olabilir (Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Genel olarak, halofiller tuz tolerans seviyelerine göre 'hafif halofiller' (0,5-2,5 M NaCl), 'orta halofiller' (1,5-4 M NaCl) ve 'aşırı halofiller' (2,5-5,5 M NaCl) olarak sınıflandırılmıştır (Matmoura & ark., 2023). Ayrıca büyümek için tuz gereksinimi olmayan ancak genellikle çok yüksek tuz konsantrasyonlarında iyi büyüyebilen ve 100 g/L tuza (yaklaşık 1.7 M NaCl'ye eşdeğer) dayanabilen organizmalar da 'halotolerantlar' olarak kategorize edilir (Hamedi, Mohammadipanah & Ventosa, 2013). Aşırı halofilik bakteriler 300 g/L tuza kadar yüksek tuz seviyesini tolere edebilir (Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Tuz, proteinlerin kararlılığını, çözünürlüğünü, şeklini ve işlevsel yeteneklerini önemli ölçüde etkiler. Zaman içinde halofiller, halo-daptasyon olarak bilinen bir süreç aracılığıyla çevrelerindeki yüksek ozmotik basınca uyum sağlamak ve hayatta kalmak için karmaşık stratejiler geliştirmişlerdir (Menon & Jobby, 2022). Halofiller arasında farklı adaptasyon stratejileri vardır, bazıları yüksek seviyelerde solüt ve iyon birikimi yaparak hücre içi tuzu dış ortamla eşitlerken, halotoleranslı veya ılımlı halofiller de dahil olmak üzere diğerleri ozmotik dengeyi sağlamak için organik solütler üretir (Amina & Lotfi, 2024). İlk stratejide ozmotik dengeyi korumak için,

glisin betain, ektoin ve hidroksiektoin gibi ozmotik solütler ve/veya K^+ ve Cl^- iyonları ortamla izotonik olacak şekilde yüksek konsantrasyonlarda biriktirilir (Salwan & Sharma 2022). İkincisinde ise tuz sitoplazmadan dışarı atılır ve/veya organik çözücüler sentezlenip biriktirilir, böylece enzimatik aktivitelerle etkileşime girmezler (Gacem & ark., 2021). Ortamın ozmotik basıncını yüksek konsantrasyonlarda organik ozmotik solütlerle dengeleyen mikroorganizmalar, hücre içi iyonik konsantrasyonu düşük tutmak ve inorganik tuzların membranlarından difüzyonuna karşı koymak için iyon pompalarında enerji harcamak zorundadır. Na^+/H^+ antiporterleri, hücre içi Na^+ konsantrasyonlarının düşük tutulmasında önemli bir rol oynar (Pikuta, Hoover & Tang, 2007). Ek olarak, biyofilm oluşturmak için ekzopolimerik madde (EPS) üretimi, halofiller için yüksek tuz stresine dayanmalarını sağlayan bir başka hayati adaptif mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır (Amina & Lotfi, 2024).

Zhou ve arkadaşları (2023), halotolerans mekanizmalarını karşılaştırmalı genom analizi ile araştırdıkları çalışmalarında halotolerans ile doğrudan bağlantılı olan bazı genler belirlemişlerdir. Bu genler; ozmolit sentezi, iyon taşınımı, membran geçirgenlik kontrolü, polisakkarit biyosentezi, hücre içi sinyalizasyon ve SOS (yüksek tuz konsantrasyonlarının neden olduğu DNA hasarına yanıt olarak aktive olan mutajenez sistemi) yanıtında yer alan genlerdir. Halotoleranstaki genomik adaptasyonlar arasında poliploidi, organik osmolitlerin biyosentezi için gen bataryası, inorganik osmolitlerin ve taşıyıcı sistemlerin işlevselliği bulunmaktadır. Bu tür habitatlarda halofillerin genomları, timidinin UV dimerizasyonunu önlemek için >%60 G+C içeriğine sahiptir. Ayrıca, gen düzeyinde, halofillerin genomu ozmotik strese karşı koyacak genler içerir (Salwan & Sharma 2022).

Halofillerden elde edilen yeni moleküllerin biyoteknolojik önemi nedeniyle, hiper-tuzlu ekosistemlerden yeni suşların izolasyonu ile ilgili çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir. Genel olarak, aktinobakteriler tipik kıyı bölgelerinde iyi gelişim gösterirler ve bu bölgelerde *Streptomyces* sp., *Micromonospora* sp., *Rhodococcus* sp.

ve *Nocardia* sp. gibi aktinobakteriler pek çok çalışmada izole edilmiştir. Yaygın olarak tanımlanan ana cinsler ise *Actinomadura*, *Nonomuraea*, *Nocardiopsis*, *Promicromonospora, Saccharomonospora ve Saccharothrix* cinsleridir (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

Kore'nin alkali topraklarından, %0,5 NaCl varlığında pH 8,0'da büyüyebilen *N. lentus* ve *N. debius*, Çindeki tuzlu topraklardan *Nocardiopsis xinjiagensis* ve *N. salina*, tanımlanmıştır (Zenova, Manucharova & Zvyagintsev, 2011). Hipersalin habitatlarda yapılan çalışmalarda elde edilen bakteriler arasında Actinobacteria üyelerinden özellikle *Streptomyces* en yaygın bulunan cins olduğu bildirilmiştir (Sayed & ark., 2020). Buryatiya'daki geçici tuzlu göletlerin tuzlu toprakları gibi çeşitli kurak ekosistemlerden *Micromonospora, Saccharothrix, Streptosporangium* ve *Cellulomonas* gibi aktinobakteriler izole edilmiştir. Ayrıca, Hindistan'daki Kutch tuzlu çölünden izole edilen *Streptomyces aburaviensis* suşları, yüksek tuzluluk (%15 NaCl) ve alkalin pH (9'a kadar) koşullarında önemli bir büyüme gösterirken, non-halofilik suşlar bu tür koşullarda büyüyememiştir (Mohammadipanah & Wink, 2016). *S. aburaviensis* ve *Streptomyces desertarenae* yüksek tuzlu ortamlarda yaşamaya uyum sağlayabilen, *Streptomyces asenjonii* ve *Streptomyces leeuwenhoekii* ise yeni kimyasal yapılara sahip biyoaktif bileşiklerin sentezi için kullanılabilecek önemli halotolerant türlerdir (Xie & Pathom-aree, 2021).

NaCl toleransı çöl aktinobakterileri arasında da yaygın bir özelliktir Xie ve Pathom-aree' nin (2021) yayınlamış oldukları derlemede farklı çöllerden izole edilen halofilik aktinobakterilere yer verilmiştir. Sincan Çölü'nden izole edilen ve %14'e kadar NaCl'de gelişebilen *Ornithinicoccus halotolerans* EGI 80423T, Gurbantunggut Çölü'nden *Blastococcus, Desertimonas, Microbacterium* ve *Streptomyces* cinsleri, Türkiye'den izole edilen *Nonomuraea terrae*, Suudi Arabistan kurak çölünden izole edilen *Georgenia alba* SYSU D8008T, *Georgenia deserti* SYSU D8004T ve *Saccharopolyspora deserti* SYSU D8010T bunlardan bazılarıdır. Ayrıca Kuzey Afrika'daki dokuz çölden *Actinophytocola,*

Saccharothrix ve *Streptosporangium* cinslerinin üyeleri, Cezayir Sahra toprağından *Actinopolyspora* cinsinin bir üyesi olan *Actinopolyspora mzabensis* H55T, yine Cezayir'deki Béni Isguen (Mzab) çölünden *Prauserella isguenensis* H225T, Taklamakan Çölü'nden *Desertihabitans brevis* diğer bazı örneklerdir. Himalayalar'daki Kunjam Geçidi soğuk çölünden *Dietzia,* Pakistan'daki Thal Çölü'nden *Nocardioides* ve Hindistan'daki Kutch tuzlu çölünden *Streptomyces* cinslerine ait yeni türlerin de izole edildiği bildirilmiştir.

Yüksek tuzluluk gibi aşırı çevresel bir ortamda hayatta kalabilme yetenekleri halofilleri biyoteknolojik uygulamalar için değerli adaylar yapmaktadır. Halofilik mikroorganizmalar antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin yanı sıra halosinler, siklopeptitler, alkaloidler ve diğer metabolitleri üreten biyoaktiviteler de göstermişlerdir (Amina & Lotfi, 2024).

Gansu'daki bir çöl toprağı örneğinden izole edilen halotolerant bir aktinobakteri olan *J. gansuensis* YIM 002T'nin tüm genom analizinde, stafilokok enfeksiyonları için etkili olduğu bilinen bir antibiyotik olan pristinamisin ve diğer antibiyotikleri üretme potansiyeline sahip 60 fonksiyonel gen kümesi belirlenmiştir. Kurak ve tuzlu Tunus arazisinden elde edilen halotolerant *Janibacter* sp. FAS23 suşu 300 mg/L'ye kadar PCP (Pentaklorofenol)'yi parçalayabilmiştir ve PCP ile kirlenmiş ortamlarda biyoremediasyon için kullanılabileceği belirtilmiştir (Xie & Pathom-aree, 2021). Trenozhnikova ve arkadaşları (2024), Kazakistan'ın çeşitli ekstrem habitatlarından 160 örnekten elde edilen 667 aktinomiset izolatının antibakteriyel ve antifungal özellikleri metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *E. coli*, *C. albicans* ve *A. niger*'e karşı nötr, tuzlu ve alkali koşullar altında incelemiştir. Bu izolatların 113'ü antibakteriyel, 109'u ise antifungal özellik göstermiştir.

Halofilik mikroorganizmalar, bilinen proteinlerin çoğunu çökerten veya denatüre eden yüksek tuz konsantrasyonları altında çalışabilen stabil enzimler (DNAses, lipazlar, amilazlar, jelatinleştiriciler ve proteazlar) üretir ve bu enzimlerin çoğu 1M'nin altındaki NaCl

konsantrasyonlarında inaktive ve denatüre olur. Ektoin, trehaloz ve biyosürfaktan gibi uyumlu çözücüler, hücre ve hücre yapılarının (enzim, DNA ve membran gibi) stabilizatörü olarak kullanılmaktadır. Örneğin; polimeraz zincir reaksiyonunu ektoin tarafından stabilize edilirken trehaloz, kriyoprotektan olarak görev yapmaktadır. Petrolle kirlenmiş toprak ve suyun iyileştirilmesinde biyosürfaktanlar ve halofilik ekzopolisakkaritler etkilidir. Bazı halofiller ise kirleticilerin halojenli organik bileşiklerle biyoremediasyonu için kullanılmaktadır (Pikuta, Hoover & Tang, 2007). Halofilik ekstremozimlere örnek olarak selüloz, ksilan ve nişastanın hidrolizi için yüksek öneme sahip polisakkarit hidrolize edici enzimler verilebilir. Lipazlar ve esterazlar gibi bazı halofilik enzimler, gıda endüstrisinde çoklu doymamış yağ asitleri veya biyodizel üretimi de dahil olmak üzere geniş bir uygulama alanına sahiptir (Raddadi & ark., 2015). Bu grubun bazı türlerinin, domateste bitki büyümesini iyileştirdiği ve tuzluluğa karşı toleransı artırdığı da bulunmuştur (Tuesta-Popolizio & ark., 2021).

Ojo de Liebre Lagünün'den izole edilen Aktinobakteriyel kültürlerden elde edilen etil asetat ham ekstraktları üretilmiş ve altı kanser hücre hattına karşı sitotoksik aktivite açısından taranmıştır. Suşlar akciğer (H1299), servikal (SiHa), kolon (Caco-2) ve karaciğer (HepG2) kanser hatları üzerinde etkili sonuçlar vermiştir (Zamora-Quintero & ark., 2022). Shinui Adası'ndaki (Kore Cumhuriyeti) bir tuzladan elde edilen *Streptomyces* suşlarının kimyasal incelemesi, yeni bir klorlu manumisin olan salternamid A ve yeni bir indoloskuiterpen olan xiamisin D' nin izole edilmesini sağlamıştır. Salternamide A insan kolon ve mide kanseri hücre hatlarına karşı güçlü sitotoksisite gösterirken, xiamycin D domuz epidemik diyare virüsüne karşı güçlü antiviral aktivite sergilemiştir (Sayed & ark., 2020).

Saccharopolyspora spinosa, spinosin A ve spinosin D üreten halofilik bir aktinobakteridir. Spinosadlar, asetilkolinin uygun reseptör bölgelerine bağlanmasını engeller, bu da böceklerde ve çoğu tırtılda, hem temas hem de yutma yoluyla felce ve ölüme yol açar. Ekstremofilik aktinobakteriler, aynı zamanda antifungal

bileşiklerin keşfedilmemiş bir kaynağı olarak da görülmektedir. Halotolerant aktinobakterilerden, tütün mozaik tobamovirüsü ve patates Y potyvirüsüne karşı antiviral aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Hamedi, Mohammadipanah & Ventosa, 2013).

6. Radyofilik Aktinobakteriler

Radyofiller kapsamlı DNA hasarını onarma yetenekleri sayesinde yüksek oksidatif stres ve radyasyon (UV, gama ve X-ışınları) ortamlarında gelişebilirler (Raddadi & ark., 2015). Aktinobakterilerin gama ve UV ışınları gibi son derece zararlı radyasyonlara tolerans gösterdikleri bilinmektedir ve çeşitli radyoaktivite alanlarından izole edilmişlerdir.

Yüksek rakımlı And Göllerinde gelişen mikrobiyal suşların UV direncinin incelendiği bir çalışmada, UV direncinin mekanizmaları genomik analizlerle ve biyokimyasal ve fizyolojik deneylerle kısmen karakterize edilmiştir. Daha sonra, ultraviyole ışığa maruz kalmanın tetiklediği bir fizyolojik ve moleküler mekanizmalar ağının varlığı ortaya konmuş ve bu 'UV-resistom' olarak adlandırılmıştır. Bu mekanizmalar ağı 5 farklı alt sistemin bir kısmını veya tamamını içermektedir. Bunlar; (i) UV algılama ve etkili yanıt düzenleyicileri, (ii) UV'den kaçınma ve korunma stratejileri, (iii) hasar toleransı ve oksidatif stres yanıtı, (iv) enerji yönetimi ve metabolik sıfırlama ve (v) DNA hasar onarımı olarak sısnıflandırılmaktadır. Tanımlanan UV direncinde yer alan genler yakın zamanda, yüksek UV-B dozlarına karşı hayatta kalmanın yanı sıra etkili foto-onarım kabiliyeti gösteren bir aktinobakteri olan *Nesterenkonia* sp. Act20 genomunda tanımlanmıştır. *Nesterenkonia* sp. Act20' nin adaptif tepkisinde yer alan moleküler olayların incelenmesine yardımcı olacak foto-ürün ölçümleri ile birlikte proteomik bir yaklaşım kullanılarak yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar, UV-B maruziyetinin iyi tanımlanmış bir dizi proteinin aşırı bolluğuna neden olduğunu göstermiştir. Bu karmaşık moleküler ağda yer alan proteinler UV dirençli alt sistemler içinde kategorize edilmiş ve bu sistemlerin, hasar toleransı ve oksidatif stres yanıtı,

enerji yönetimi ve metabolik sıfırlama ve DNA hasarı onarımını içerdiği tespit edilmiştir. Gerçekten de UV'ye maruz kalan kültürlerde RecA ve diğer rekombinasyon proteinlerinin yüksek bolluk seviyelerinin DNA onarımının birincil mekanizması olduğu gösterilmiştir (Zannier & ark., 2022).

Kurak ve alkali topraktan yapılan izolasyon çalışmasında Kuzey İrlanda; Boho), elde edilen yeni bir alkalifilik *Streptomyces* suşunun pH 10.5'te yoğun UV-C radyasyonu (4 kGy) altında gelişebildiği belirlenmiştir. Ayrıca bu suştan elde edilen metabolitlerin ESKAPE patojenlerini inhibe edebildiğide bildirilmiştir (Terra & ark. 2018). Ayrıca, *R. radiotolerans, R. xylanophilus* ve *R. taiwanensis* gibi üç termofilik *Rubrobacter* türünün de radyotolerant olduğu bildirilmiştir (Shivlata & Satyanarayana, 2015).

Çöl aktinobakterilerinin bir diğer baskın grubu, aynı dönemde tanımlanan dokuz yeni tür ile *Geodermatophilus* cinsidir. Bu taksonun üyelerinden *Geodermatophilus pulveris* BMG 825T ve *Geodermatophilus sabuli* BMG 8133T gama radyasyonuna dirençli özellikler gösterirken, *Geodermatophilus tzadiensis* CF5/2T ise UV radyasyonuna dirençli aktinobakterilerdir (Xie & Pathom-aree, 2021).

Kuzey Şili'deki Orta And Dağları'nın yüksek dağlık Cerro Chajnantor bölgesi, dünyanın en yoğun güneş radyasyonuna maruz kalan ve toprakları ciddi şekilde kurumuş bölgelerdir. Deniz seviyesinden 3000 ila 5000 m yükseklikteki topraklardaki aktinobakteriyel topluluk yapılarını tanımlamak amacıyla yapılan pirosekanslama çalışmalarında, bu yüksekliklerde yeni aday aktinobakteriyel sınıfları, takımları ve aileleri içeren olağanüstü derecede mikrobiyal çeşitlilik ortaya çıkarılmıştır. Ultraviyole-B ışınımı ve bir dizi edafik faktörün, aile ve cins düzeylerindeki topluluk kompozisyonlarını belirlemede oldukça önemli olduğu belirtilmiştir (Bull & ark., 2018).

Rasuk ve arkadaşları (2017), yüksek rakımlı And Gölleri (HAAL)'ndeki aktinobakterilerin ekstremofilik profillerini ve antibiyotik üretme kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışmada,

HAAL'lerdeki çeşitli göllerden elde edilen 51 izolatın *Arthrobacter, Blastosoccus, Brevibacterium, Citrococcus, Kocuria, Microbacterium, Micrococcus, Micromonospora, Nesterenkonia, Rhodococcus* ve *Streptomyces* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların poliekstremofilik özellikleri değerlendirilmiş ve tüm izolatların UV-B radyasyonuna yüksek direnç gösterdiği belirlenmiştir.

Yüksek UV radyasyon içeren ortamlarda gelişebilen radyofillerin, nükleer atıklarla kirlenmiş ortamların yönetiminde oldukça büyük uygulama potansiyeline sahip oldukları düşünülmektedir (Raddadi & ark., 2015).

7. Kserofilik Aktinobakteriler

Çöller, Dünya yüzeyinin yaklaşık beşte birini kaplayan inanılmaz derecede kuru ortamlardır (yıllık ortalama yağış miktarı 25 cm'den az). Sıcak ve kurak olmalarının yanı sıra çöller, bazı bölgelerde yıl boyunca soğuk olabilirler ve subtropikal, soğuk, kıyı ve yarı kuru çöller olarak dört kategoriye ayrılabilirler (Hui & ark., 2021). Kurak bölgeler ise genellikle bitki örtüsüne sahip yarı-kurak alanlarla biyolojik olarak verimsiz hiper-arid çöller arasında bir geçiş alanı oluşturur (Neilson & ark., 2017).

Prokaryotların bölünme kabiliyeti 0,91'in altındaki su aktivitesi (aw) seviyelerinde önemli ölçüde engellenir. Aşırı ortamlarda yapılan araştırmalar, bu kriterlerden önemli ölçüde daha düşük aw seviyelerinde etkili bir şekilde gelişmeyi başaran mikroorganizmaları ortaya çıkarmıştır. 'Kserofil' olarak adlandırılan bu organizmalar kurak ve nemden yoksun koşullarda çoğalmak üzere özelleşmişlerdir. Hücreler, kurumayı önlemek için, makromolekülleri ve zarları stabilize etmede suyun yerine geçen tuzları ve ozmoprotektanları üretip biriktirerek, protein ve DNA hasarına karşı koruma sağlamak için ustaca stratejiler kullanır. Bu stratejiler, yalnızca makromolekülleri ve zarları stabilize etmekle kalmaz, aynı zamanda hücre içi difüzyon hızlarını azaltarak

hidroksil radikallerinin oluşumunu da engeller (Wang & ark., 2023). Düşük su aktivitesine sahip nişlerde yaşayan bakteriler, belirli bir miktarda su biriktirmek için daha fazla enerji harcamak zorundadır ve bu bakteriler, su aktivitesi 0.88 aw altına düştüğünde metabolize olmayı bırakıp ancak canlı kalabilen bir duruma (hidrobiyoz) geçerler (Mohammadipanah & Wink, 2016).

Prokaryotlar, kuraklığa eşlik eden çevresel değişimlere uyum sağlarken, yapıcı (anabolik) metabolizmadan yıkıcı (katabolik) metabolizmaya geçiş yaparak metabolik yollarını modüle ederler. Glikoz miktarı azaldığında, hücreler trehaloz sentezi için glikozu yeniden sentezler. Bu adaptasyon, yağ asidi oksidasyonunun yüksek verimli alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılmasına yol açarak karbon atomu başına glikozdan daha fazla sayıda ATP molekülü sağlar. Ayrıca, lipit bileşimlerini değiştirerek, özellikle de trans-sismono doymamış yağ asitleri ve doymuş-doymamış yağ asitleri oranını artırarak azalan su aktivitesine uyum sağlarlar. Ek olarak membranlarındaki negatif yüklü fosfolipid seviyelerini de arttırırlar. Lipid bileşimindeki bu ayarlama, orta dereceli kuruma sırasında membranın sıvı kristal halinin korunmasına yardımcı olur ve böylece membran çift tabakasının yapısal bütünlüğünü korur. Bu organizmalar biyofilmler oluşturarak, ekzopolisakkarit (EPS) üretimini artırarak ve EPS'nin suyu tutma yeteneği ile daha hidratlı bir mikro ortam yaratarak da kuru koşullarda hayatta kalma şanslarını artırırlar (Amina & Lotfi, 2024).

Bu ekstremofilik bölgeler, yeni biyolojik aktif metabolitler üreten keşfedilmemiş kserofilik, termofilik, halofilik ve alkalifilik aktinobakteriler için barınak sağlar. Özellikle çöl habitatları, yeni ekstremofilik aktinobakteri suşlarının izole edilmesi için hedef ekosistemlerden biridir ve izole edilen bu türler daha yeni metabolitler üretme potansiyeline sahiptir. Aktinobakteriler, bakteriler arasında kuraklık ve çözünmüş madde stresine karşı özel bir toleransa sahip olup, pek çok çalışmada çöl gibi zorlu ortamlardan izole edilmiştir. Bu ortamlar, Mars gibi potansiyel yaşam alanlarının analoğu olarak kabul edilmektedir. Çöllerin aşırı kurutma koşulları, DNA onarım mekanizmalarının evrimini

tetiklemiş ve bu mekanizmalar, bazı çöl kökenli aktinobakterilerin iyonlaştırıcı radyasyona (UV ve gama) karşı direnç göstermesini sağlamıştır, Bu tür ekosistemlerin en dirençli cinsleri, *Deinococcus* ve *Geodermatophilus* türleridir (Bull & ark., 2018).

Hiper-arid Atacama Çölü'nden izole edilen *Streptomyces deserti, Streptomyces bullii* gibi türler, aktinobakterilerin aşırı kuraklık koşullarına karşı gösterdiği dayanıklılığı temsil eden türlerdir. Mongolistan çöl toprağından izole edilen *Streptomyces* sp. 315, ılımlı termofilik ve kserotolerant özellikler göstererek bu cinsin çevresel adaptasyon yeteneğini bir kez daha vurgulamaktadır (Mohammadipanah & Wink, 2016).

Nafis ve arkadaşlarının (2019) yapmış olduğu çalışmada, yüksek sıcaklıklar, nanomolar besin konsantrasyonları, düşük su aktivitesi ve yoğun radyasyon ile bilinen kurak bir bölge olan Merzouga çöl toprağından alınan örneklerde, *Streptomyces* cinsine ait sekiz tür izole edilmiştir. Kurapova ve arkadaşları (2012), Moğolistan çöl toprağından orta derecede termofilik kserotoleranslı *Streptomyces* sp. 315 izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu yazarlar ayrıca Negev ve Mojave çöl topraklarından *Actinoplanes* ve *Geodermatophilus* ile *Streptomyces* türlerini de izole etmişlerdir.

Aşırı kurak ortamlarda yaşamın devam etmesi, organizmaların aşırı çevresel streslere dayanabilmelerini sağlayan özel hayatta kalma mekanizmalarına sahip olmasını gerektirir (Hui & ark., 2021). Bu organizmalar, hayatta kalabilmek adına lipid bileşimlerini değiştirme, belirli proteinler üretme ve iyon konsantrasyonlarını ayarlama gibi çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Ayrıca, çevrelerinin aşırı koşullarına adapte olurken ve besin bakımından yetersiz ortamlarda sınırlı kaynaklar için rekabet ederken, genellikle yeni ve biyolojik olarak aktif doğal ürünler de üretirler (Han & ark., 2024). Örneğin, Abenquines adlı yeni bioaktif metabolitler, *Streptomyces sp.* DB634 suşundan izole edilmiştir. Bu suş, dünyanın en kurak yerlerinden biri olan Atacama Çölü'nün Salar de Tara bölgesinden alınan toprak örneğinden elde edilmiştir. Abenquinler, antioksidan ve antikanser özelliklere sahip olup, ayrıca anti-enflamatuar etkiler

de göstermektedir. Abenquinler A ve D, fosfodiesteraz tip 4b (PDE4B) inhibitörleri olarak seçici etki göstermekte ve enflamatuar hastalıklar için yeni anti-enflamatuar ajanlar olarak kullanılabilir (Hui & ark., 2021).

Çöllerde yaşayan aktinobakteriler, pH veya tuzluluk gibi seçici koşullarda büyüyebilme yeteneğine sahip olup, benzersiz antibakteriyel aktiviteye sahip bileşikler üretmek için önemli gen kümeleri barındırırlar (Thumar, Dhulia & Singh, 2010). 2010 yılından bu yana, araştırılan biyoaktif moleküllerin çoğu, hiper kurak Atacama Çölü topraklarından elde edilen aktinobakterilerden rapor edilmiştir. Bunlar arasında *Streptomyces leeuwenhoekii* C34T suşu ansamisin tipi makrosiklik poliketidler ve aminoglikozid antibiyotikleri sentezleyebilmektedir. Atacama Çölü Streptomisetlerinden elde edilen yeni biyoaktif moleküllerin diğer örnekleri arasında bakterilere ve dermatofitik mantarlara karşı inhibitör aktivite gösteren aminobenzokinonlar, abenkinler A, B1, B2, C ve D yer almaktadır. *S. leeuwenhoekii* C58 suşundan, insan akciğer kanseri hücrelerine karşı önemli in vitro inhibitör aktivite sergileyen yeni bir biyoaktif molekül sentezlenmiştir. Son zamanlarda, *S. asenjonii* 42.f suşu kültür suyu ekstraktının biyo-yönlendirmeli fraksiyonasyonu sonucunda, Gram-pozitif bakterilere karşı güçlü antibakteriyel etkiler gösteren asenjonamid A-C'nin izole edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, bir dizi biyoaktif asillenmiş 4-aminoheptosil-b-N-glikozit ve spikamisin A-E ilk kez saf halde izole edilmiştir. Bu antibiyotikler ilk olarak *Streptomyces alanosinicus*'tan elde edilen yedi bileşiğin ayrıştırılamaz bir karışımı olarak bulunmuştur (Sayed & ark., 2020).

Başka bir çalışmada, *Streptomyces* sp. C34 suşundan dört farklı ansamisin tipi poliketid bileşiği (caksamisinler A–D) izole edilmiştir. Ansamisinler, Hsp90 adlı ısı şoku proteinini hedef alarak tümör hücrelerini öldüren antitümör aktivitelerine sahiptirler. Caksamisin D, özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA) bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktivite göstermektedir. Bu sonuçlar, çöllerden izole edilen aktinobakterilerin, yeni antibiyotikler ve kanser ilaçları için

umut verici biyoprospeksiyon kaynakları olduğunu göstermektedir (Hui & ark., 2021).

Düşük su aktivitesi koşullarıyla başa çıkabilen çöl ekstremofillerinin tarımda kuraklık stresi altındaki bitkilerin su yönetimini iyileştirmek için kullanılabileceği öngörülmüştür (Raddadi & ark., 2015). Çöl ve kurak bölgelerdeki bitkilerden izole edilen su stresi toleranslı endofitik Actinobacteria türleri, *Streptomyces coelicolor* DE07*, S. olivaceus* DE10 ve *S. geysiriensis* DE27'nin bitki büyümesini teşvik ettiği ve su stresi toleransına (−0.05 ile −0.73 MPa arasında) sahip olduğu belirtilmiştir (Mohammadipanah & Wink, 2016).

8. Piezofilik (Barofilik) Aktinobakteriler

Basınç, hem mikroorganizmaların hem de makroorganizmaların evrimini ve dağılımını etkileyen önemli bir fiziksel parametredir. Barofilik bakteriler 40 MPa'dan daha yüksek basınçlarda optimum büyüme gösteren bakteriler olarak tanımlanırken, barotolerant bakteriler 40 MPa'dan daha düşük basınçlarda optimum büyüme gösterir ve bir atmosfer basınçta iyi büyüyebilirler (Pikuta, Hoover & Tang, 2007). Yüksek basınçlı ortamlar derin gölleri ve derin yeraltı bölgelerini, derin deniz bacalarını, dağlık bölgeleri ve oksijen eksikliği olan alanları içerir. Bunlar arasında Sibirya, Rusya'daki Baykal Gölü ve Antarktika'daki Vostok Gölü bulunmaktadır (Pikuta, Hoover & Tang, 2007; Rawat, Chauhan & Pandey, 2024). Derin deniz bakterileri, optimum büyüme basınçlarına göre piezotolerant bakteriler (0,1-10 MPa arasında basınçlarda büyüyen), piezofiller (10-70 MPa arasında basınçlarda büyüyen) ve süper piezofiller (50 MPa'nın altındaki basınçlarda büyüyemeyen) olarak kategorize edilir. Piezotolerant bakteriler, görece yüksek çeşitliliğe sahip olup daha az katı basınç gereksinimlerine sahiptir (Han & ark., 2024). Derin denizde, ışığın nüfuz edemediği ve olağanüstü yüksek basınç koşullarının hâkim olduğu bu ekstrem ortamda bazı aktinobakteri grupları, bu zorlu koşullara uyum sağlayabilmiş ve büyük biyosentetik kapasiteler sergileyebilmiştir (Hui & ark., 2021).

Piezofiller (barofiller), uyumlu solütler, çoklu doymamış yağ asitleri, multimerik ve antioksidan proteinler üreterek çok yüksek hidrostatik basınçlar altında hayatta kalabilen ekstremofilik bir gruptur (Raddadi & ark., 2015). Derin denizin dibi son derece yüksek basınç ve düşük sıcaklığa (+2 ˚C) maruz kalan bir ortamdır, ancak hidrotermal bacaların etrafındaki bölgelerde sıcaklık 400 ˚C'ye kadar yükselebilir (Pikuta, Hoover & Tang, 2007).

Güney Kolombiya Karayip Denizi'nde 1681-2409 metre derinlikte yapılan derin sediment analizi, 36 filum, 89 sınıf, 93 takım, 104 aile, 90 cins ve 53 türün varlığını ortaya çıkarmıştır. Bunlar arasında *Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi Firmicutes ve Proteobacteria* seçilen derin deniz sedimentlerinde tanımlanan ilk 5 filum olmuştur (Anand, Jayasri & Suthindhiran, 2024).

İspanya'nın Avilés Kanyonu'ndan 1500-4700 metre derinlikten alınan deniz suyu, mercanlar ve deniz yıldızlarından 18 deniz aktinobakterisi izole edilmiştir. 16S rRNA dizileme ile yapılan incelemede, bu bakterilerin çoğu *Streptomyces* cinsine aitken, geri kalanların *Micromonospora*, *Myceligenerans* ve *Pseudonocardia* cinslerine ait olduğu bulunmuştur (Hui & ark., 2021).

Piezofiller, yüksek basınç koşullarıyla başa çıkmak için genlerin ifadesini modüle etme kapasitesi, şaperon kodlu genler, basınçla düzenlenen genlerin veya operonların varlığı, hücre içi zarlarda stres algılama mekanizmaları ve basınç miktarına yanıt olarak ozmotolerans dahil olmak üzere bir dizi adaptasyon geliştirmişlerdir. Örneğin bazı piezofiller, yüksek basınç altında daha az uçucu veya aktif olan proteinler oluşturan genler içerirken, diğerleri hücre duvarı ve zarlarının korunmasına yardımcı olan proteinler oluşturan genlere sahiptir (Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Günümüzde ‘piezostabil enzimler’ olarak adlandırılan barofilik enzimler, yüksek basınçlarda kararlıdır ve çoğu termofilik veya psikrofilik olan ve 1 atmosferin üzerinde optimum büyümeye sahip olan çeşitli organizmalardan izole edilmişlerdir. Derin deniz ekosistemlerinden elde edilen yeni keşifler tıp ve biyoteknoloji alanlarında önemli uygulamalara sahiptir (Pikuta, Hoover & Tang,

2007). Bazı proteinlerin artan basınçla özel bir stabilizasyon göstermesi nedeniyle, özellikle yüksek basınç uygulanması yapılan gıda işleme ve sterilizasyon uygulamalarında faydalı olabileceği düşünülmektedir (Van Den Burg 2003).

2134 m derinlikte aynı yerden izole edilen iki *Streptomyces* suşundan elde edilen üç spirotetronat poliketid, loboforin E, F ve H' nin bir Gram-pozitif bakteri paneline karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, Mariana Çukuru tortusundan izole edilen yeni bir piezotolerant aktinobakteri olan *Dermacoccus abyssi*, yeni fenazin metabolitleri olan dermacozines A-J üretmiştir; dermacozines F ve G, lösemi hücre hattı K562'ye karşı ilginç antiproliferatif aktivite göstermiştir (Sayed & ark., 2020).

Ahmed ve ark. (2012); yaptıkları çalışmada izole ettikleri suşlardan elde edilen etil asetat ekstraktlarının, HeLa (rahim kanseri hücre hattı) ve HCT116 (kolon kanseri hücre hattı) üzerinde yapılan sitotoksik testlerde, en yüksek sitotoksik aktiviteyi *Streptomyces cyaneofuscatus* M-157 ve M-192 suşlarının gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, *Streptomyces xiamenensis* M186 ve *S. cyaneofuscatus* M190'nın klinik olarak beyin ve meme kanseri tedavisinde kullanılan β-elemen bileşiğini üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir (Ahmed & ark., 2012). Metabolit profil analizlerinde, cosmomycin, daunomycin ve galtamycin gibi antitümör aktiviteye sahip üç bileşik, *S. cyaneofuscatus* M192'nin etil asetat ekstraktında tespit edilmiştir. Ayrıca, bu suşlardan elde edilen ektraktların antimikrobiyal aktivite testlerinde, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi çok çeşitli patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. *Micromonospora tulbaghiae* M194 ve *Streptomyces halstedii* M204 ise *S. cerevisiae* üzerinde orta düzeyde antifungal etki sergilemiştir (Hui & ark., 2021).

Xu ve arkadaşları (2018), derin denizden toplanan 50 aktinobakteri suşunu incelemiş ve bunlardan 19' unun *Streptomyces* cinsine ait olduğunu belirlemişlerdir. Bu suşların 27'si antimikrobiyal aktivite sergilemiş ve lanthanum klorür ($LaCl_3$) (2 mM) eklenmesiyle 15

suşun antibakteriyel aktivitesi güçlenirken, 11 suşun aktivitesi zayıflamıştır. Örneğin, *Streptomyces* sp. R818, $LaCl_3$ kullanılarak antifungal aktivite (MIC 25 µg/mL) sergileyen ve antimisin-benzeri metabolit uraúchimycin D üreten bir suştur. Ayrıca, *Salinispora* M864 suşu, *Clostridium difficile*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (MIC: 0.125 µg/mL), bu değer metronidazol ve vankomisin'den dört kat daha düşük bir aktiviteyi temsil etmektedir (Hui & ark., 2021).

9. Metalofilik Aktinobakteriler

Demir, bakır, kobalt, çinko, manganez, nikel ve molibden gibi metaller, sınırlı konsantrasyonlardaki çeşitli enzimlerin kofaktörü olarak davranır. Ancak yüksek konsantrasyonlarda bu metaller mikroorganizmalar için toksik etkiye sahiptir. Metalofiller, metal açısından zengin ortamlarda yaşayan ve yüksek metal konsantrasyonlarına dayanabilen metale dirençli mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar karasal termal kaynaklar ve derin deniz alanları gibi doğal kaynaklarda ve sanayi bölgeleri gibi insan yapımı alanlarda da bulunabilmektedirler (Rawat, Chauhan & Pandey, 2024). Metalofillerin metalle kirlenmiş alanlarda yaşayabilmeleri, yüksek konsantrasyonlardaki ağır metallere karşı adaptasyon mekanizmaları geliştirmesi ile gerçekleşmektedir (Raddadi & ark., 2015).

Metalofiller sekestrasyon, çökelme, dönüşüm ve efflux pompası gibi çeşitli mekanizmalar ile bulundukları ortama adaptasyon geliştirmişlerdir. Metalofiller aynı zamanda, hücre içi metal bağlayıcı protein olan metallothioneinleri (MTs) üretir ve hücreleri zararlı metallerden korumada rol oynayan smt genlerini içerir (Rawat, Chauhan & Pandey, 2024).

Nafis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Fas'taki kurşun, bakır, çinko ve çinko oksit içeren ağır metal kirliliğine sahip bir bölge olan Draa Sfar maden sahasından *Actinomadura*, *Prauserella* ve *Streptomyces* cinslerine ait aktinobakterileriler izole edilmiştir. Bu

sonucun, *Amycolatopsis, Frankia, Micromonospora, Nocardia,* ve *Streptomyces* gibi çeşitli aktinobakteriyel cinslere ait metale dirençli suşları rapor eden önceki araştırmalarla tutarlı olduğu bildirilmiştir (Nafis & ark., 2019).

Yüksek konsantrasyonlardaki ağır metallere adaptasyonları nedeniyle, metalofiller/asidofiller şu anda biyoremediasyon ve biyomadencilik için kullanılmaktadır (Raddadi & ark., 2015).

Sonuç

Bu kitap bölümünde, soğuk, yüksek sıcaklıklar, asidite, alkalinite, kuraklık ve tuzluluk gibi zorlu koşullar altında hayatta kalabilen ekstremofilik Aktinobakterilerden bahsedilmektedir. Aktinobakteriler, büyüdükleri koşullara göre, termofiller, psikrofililer, alkalofiller, asidofiller, kserofiller, halofiller vb. olarak sınıflandırılır ve farklı ekstrem koşulların kombinasyonlarının var olduğu çöl, derin deniz dipleri gibi ortamlarda da poliekstremofilik özellik göstermektedirler. Poliekstromofiller alkali-termofilik, termo-asidofilik, alkali-tolerant termofilik, termofilik radyasyon dirençli, haloalkalifilik ve alkali-halofiller gibi bulundukları ortama göre farklı toleransları bir arada bulundururlar. Aktinobakteriler, zar yapıları, proton akışını iyileştirme, sitoplazmik tamponlamayı artırma, metabolik süreçlerdeki adaptasyonlar, proteinler ve nükleik asitlerdeki değişiklikler gibi çeşitli adaptasyon stratejileri kullanarak hayatta kalırlar. Birçok farklı adaptasyon stratejisi keşfedilmiş olsa da, hala çok şey bilinmemektedir. Bu nedenle, ekstremofiller alanında yapılan kapsamlı araştırmalar, bu mikroorganizmaların nasıl adapte olduklarını, hayatta kaldıklarını ve aşırı koşullarda nasıl işlev gördüklerini anlamak için gereklidir.

Ekstromofilik Aktinobakterilerden elde edilen sekonder metabolitler, ekstromoenzimler ve farklı biyoaktif bileşikler, farmasötik, tıp, medikal, tarım, kağıt, gıda, deterjan ve biyoteknolojik uygulamalarda oldukça önemlidir. Özellikle yeni biyoaktif madde taramalarında araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir. Son on yılda yapılan ekstromobiyosferdeki Aktinobakteri keşif çalışmaları

ile yüzlerce yeni biyoaktif molekül keşfi gerçekleştirilmiştir. Gelişen moleküler teknikler ve omik teknolojileri ile yapılan çalışmalardaki tarama ve yeni keşiflerin yapılması daha kolay hale gelmiştir. Gelecekte de henüz dünya üzerinde çalışılmamış ekstromobiyosfer alanlarının daha detaylı çalışılması ile yeni türlerin ve yeni biyoaktif moleküllerin keşfi gerçekleştirilecektir.

Kaynaklar

Ahmed, Z., Sedik, Z., Alharery, M., Khalaf, M., Nasr, S.A. & Abdelrahman, H. (2012). Microbial ecology of composting dead poultry and their wastes. *Global Veterinaria,* 9, 683–690.

Amina, M., & Lotfi, G. (2024). An Overview of Extremophile: Microbial Diversity, Adaptive Strategies, and Potential Applications. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 52(3), 233-254.

Anand, K. P., Jayasri, M. A., & Suthindhiran, K. (2024). Role and Mechanism of Action of Extremophilic Marine Actinobacteria in Plant Growth Promotion. In Danish, S. (Eds), *Updates on Organic Farming,*1-24. IntechOpen

Becker, J. & Wittmann, C. (2020). Microbial production of extremolytes—High-value active ingredients for nutrition, health care, and well-being. *Current Opinion in Biotechnology,* 65, 118–128.

Belyaeva, K. V., Nikitina, L.P., Gen, V. S., Tomilin, D. N., Sobenina, L. N., Afonin, A. V. et al. (2022). 1-Methylimidazole as an Organic Catalyst for [3+3]-Cyclodimerization of Acylethynylpyrroles to Bis(acylmethylidene) dipyrrolo[1,2-a:1’,2’-d]pyrazines. *Catalysts*, 12, 1604.

Benaud, N., Chelliah, D. S., Wong, S. Y., & Ferrari, B. C. (2022). Soil substrate culturing approaches recover diverse members of Actinomycetota from desert soils of Herring Island, East Antarctica. *Extremophiles*, 26(2), 24.

Bull, A. T., Idris, H., Sanderson, R., Asenjo, J., Andrews, B. & Goodfellow, M. (2018). High altitude, hyper-arid soils of the Central-Andes harbor mega-diverse communities of actinobacteria. *Extremophiles*, 22, 47–57

Bull, A. T., & Goodfellow, M. (2019). Dark, rare and inspirational microbial matter in the extremobiosphere: 16 000 m of bioprospecting campaigns. *Microbiology*, 165(12), 1252-1264.

Choudhary, P., Bhatt, S., & Chatterjee, S. (2024). From freezing to functioning: cellular strategies of cold-adapted bacteria for surviving in extreme environments. *Archives of Microbiology*, 206(7), 329.

Davis-Belmar, C. S., Pinto, E., Demergasso, C., & Rautenbach, G. (2013). Proteo and Actinobacteria diversity at a sulfide, salt and acid-rich lake in the north of Chile. *Advanced Materials Research*, 825, 37-41.

Devi, R., Kaur, T., Negi, R., Sharma, B., Chowdhury, S., Kapoor, M., ... & Yadav, A. N. (2024). Biodiversity, mechanisms, and potential biotechnological applications of minerals solubilizing extremophilic microbes: A Review. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 12(5), 23-40.

Eftekharivash, L., Hamedi, J., Gh, Z., & Bakhtiari, R. (2021). Acidophilic and acid tolerant actinobacteria as new sources of antimicrobial agents against Helicobacter pylori. *Archives of Razi Institute*, 76(2), 261.

El-Sayed, M. H., Elsayed, D. A., & Gomaa, A. E. R. F. (2024). *Nocardiopsis synnemataformans* NBRM9, an extremophilic

actinomycete producing extremozyme cellulase, using lignocellulosic agro-wastes and its biotechnological applications. *AIMS microbiology*, 10(1), 187.

Farda, B., Djebaili, R., Vaccarelli, I., Del Gallo, M., & Pellegrini, M. (2022). Actinomycetes from caves: an overview of their diversity, biotechnological properties, and insights for their use in soil environments. *Microorganisms*, 10(2), 453.

Franco, N. R., Giraldo, M. Á., López-Alvarez, D., Gallo-Franco, J. J., Dueñas, L. F., Puentes, V., & Castillo, A. (2020). Bacterial composition and diversity in deep-sea sediments from the Southern Colombian Caribbean Sea. *Diversity*, 13(1), 10.

Gacem, M. A., Ould-El-Hadj-Khelil, A., Abd-Elsalam, K. A., & Wink, J. (2021). Actinobacteria in the Algerian Sahara: Diversity, adaptation mechanism and special unexploited biotopes for the isolation of novel rare taxa. *Biologia*, 1-13.

Goodfellow, M., & Kim, S. B. (1999). Phylogenetic analysis of acidophilic and netrotolerant actinomycetes isolated from soil and coal wastes. *In The 11th International Symposium on the Biology of Actinomycetes*, Heraclion, Greece.

Han, J. R., Li, S., Li, W. J., & Dong, L. (2024). Mining microbial and metabolic dark matter in extreme environments: a roadmap for harnessing the power of multi-omics data. *Advanced Biotechnology*, 2(3), 26.

Hamedi, J., Mohammadipanah, F. & Ventosa, A. (2013). Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinomycetes. *Extremophiles*, 17, 1–13.

Hui, M. L. Y., Tan, L. T. H., Letchumanan, V., He, Y. W., Fang, C. M., Chan, K. G., ... & Lee, L. H. (2021). The extremophilic actinobacteria: from microbes to medicine. *Antibiotics*, 10(6), 682.

Hwang, S., Yun, Y., Choi, W. H., Kim, S. B., Shin, J., Lee, M. J., & Oh, D. C. (2019). Acidiphilamides A–E, Modified Peptides as Autophagy Inhibitors from an Acidophilic Actinobacterium, *Streptacidiphilus rugosus*. *Journal of Natural Products*, 82(2), 341-348.

Ibrahim, K.S., Aishwarya, M., Kannan, R. P. B. (2023). Secondary metabolites from extremophiles with therapeutic benefits. *Recent Advances and Future Perspectives of Microbial Metabolites*, 249-267.

Jiang, P., Ren, X., Wang, W., Niu, G., & Li, J. (2022). *Arthrobacter terrae* sp. nov., a psychrophilic actinobacterium with multi copies of cap A gene isolated from Antarctic soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 115(5), 635-644.

Kochhar, N., Shrivastava, S., Ghosh, A., Rawat, V. S., Sodhi, K. K., & Kumar, M. (2022). Perspectives on the microorganism of extreme environments and their applications. *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100134.

Kurapova, A. I., Zenova, G. M., Sudnitsyn, I. I., Kizilova, A. K., Manucharova, N. A., Norovsuren, Z., Zvyagintsev, D. G. (2012). Thermotolerant and thermophilic actinomycetes from soils of Mongolia desert steppe zone. *Microbiology*, 81, 98–108.

Long, Y., Jiang, J., Hu, X,. Zhou, J., Hu, J., Zhou, S. (2019). Actinobacterial community in Shuanghe Cave using culture-

dependent and-independent approaches. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(10), 153.

Mandal, S. & Jawed, J. J. (2023). Alkaliphiles: diversity, adaptation and applications. *Extremophiles: Diversity, Adaptation and Applications,*120–145.

Matmoura, A., Yekkour, A., Boufadi, M.Y., Bouras, N., Zitouni, A., Mokrane, S., et al.(2023). Exploration of actinobacteria communities in seawater and sediments of mediterranean basin from Algerian coast displays hight diversity with new taxa and antibacterial potential. *Biologia*, 78(8), 2219-2231.

Meklat, A., Bouras, N., Mokrane, S., Zitouni, A., Djemouai, N., Klenk, H. P., ... & Mathieu, F. (2020). Isolation, classification and antagonistic properties of alkalitolerant actinobacteria from Algerian Saharan soils. *Geomicrobiology Journal*, 37(9), 826-836.

Menon, N.R., Jobby, R. (2022). Halophiles: properties, adaptations, diversity, and applications. *Extremophiles,* 1, 43-64.

Mohammadipanah, F. & Wink, J. (2016). Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1541.

Montero-Calasanz, M., Göker, M., Pötter, G., Rohde, M., Spröer, C., Schumann, P., ... & Klenk, H. P. (2012). *Geodermatophilus arenarius* sp. nov., a xerophilic actinomycete isolated from Saharan desert sand in Chad. *Extremophiles*, 16, 903-909.

Nancucheo, I., & Johnson, D. B. (2020). Characteristics of an iron-reducing, moderately acidophilic actinobacterium isolated from

pyritic mine waste, and its potential role in mitigating mineral dissolution in mineral tailings deposits. *Microorganisms*, 8(7), 990.

Nafis, A., Raklami, A., Bechtaoui, N., El Khalloufi, F., El Alaoui, A., Glick, B. R., ... & Hassani, L. (2019). Actinobacteria from extreme niches in Morocco and their plant growth-promoting potentials. *Diversity*, 11(8), 139.

Neilson, J. W., Calif, K., Cardona, C., Copeland, A., Treuren, W. V., Josephson, K. L., Knight, R., Gilbert, J.A., Quade, J.G., et al. (2017). Significant Impacts of Increasing Aridity on the Arid Soil Microbiome. *mSystems*, 2(3), e00195–16.

Norris, P. R., Davis-Belmar, C. S., Brown, C. F., & Calvo-Bado, L. A. (2011). Autotrophic, sulfur-oxidizing actinobacteria in acidic environments. *Extremophiles*, 15, 155-163.

Özdemir Koçak, F. (2019). Identification of *Streptomyces* strains isolated from *Humulus lupulus* rhizosphere and determination of plant growth promotion potential of selected strains. *Turkish Journal of Biology*, 43(6), 391-403.

Özdemir Koçak, F., Tanir, S. G. E., Cetin, A. K., & Degirmenci, L. (2023). Simulatenous evaluation of composting experiments and metagenome analyses to illuminate the effect of *Streptomyces* spp. on organic matter degradation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(3), 70.

Pikoli, M. R., Sugoro, I., & Suharti, S. (2020). Diversity Analysis of an Extremely Acidic Soil in a Layer of Coal Mine Detected the Occurrence of Rare Actinobacteria. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST),* 17(6), 529-542.

Pikuta, E. V., Hoover, R. B., & Tang, J. (2007). Microbial extremophiles at the limits of life. *Critical reviews in microbiology*, 33(3), 183-209.

Quintana, E. T., Badillo, R. F., & Maldonado, L. A. (2013). Characterisation of the first actinobacterial group isolated from a Mexican extremophile environment. Antonie Van Leeuwenhoek, 104, 63-70.

Rachid, N. A., & Güngör, N. D. (2023). Screening of Bioactive Compounds for Biomedical and Industrial Uses from Actinobacteria Isolated from the Parsık Cave, Turkey: identifying novel compounds from extreme environments. *Johnson Matthey Technology Review*, 67 (2): 159–70.

Raddadi, N., Cherif, A., Daffonchio, D., Neifar, M., & Fava, F. (2015). Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 7907-7913.

Rampelotto, P. H. (2013). Extremophiles and extreme environments. *Life*, *3*(3), 482-485.

Rasuk, M. C., Ferrer, G. M., Kurth, D., Portero, L. R., Farías, M. E. & Albarracín, V. H. (2017). UV-resistant actinobacteria from high-altitude Andean Lakes: Isolation, characterization and antagonistic activities. *Photochemistry and Photobiology*, 93, 865–880.

Rawat, M., Chauhan, M., & Pandey, A. (2024). Extremophiles and their expanding biotechnological applications. *Archives of Microbiology*, 206(6), 247.

Riquelme, C., Marshall Hathaway, J. J., Enes Dapkevicius, M. D. L., Miller, A. Z., Kooser, A., Northup, D. E., ... & Cheeptham, N. (2015). Actinobacterial diversity in volcanic caves and associated geomicrobiological interactions. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1342.

Salwan, R. & Sharma, V. (2022). Genomics of prokaryotic extremophiles to unfold the mystery of survival in extreme environments. *Microbiological Research*, 264, 127156

Sayed, A. M., Hassan, M. H., Alhadrami, H. A., Hassan, H. M., Goodfellow, M., & Rateb, M. E. (2020). Extreme environments: microbiology leading to specialized metabolites. *Journal of Applied Microbiology*, 128(3), 630-657.

Saygin, H., Ay, H., Guven, K., Cetin, D., & Sahin, N. (2019). *Desertiactinospora gelatinilytica* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Streptosporangiaceae isolated from the Karakum Desert. *Antonie van Leeuwenhoek*, 112, 409-423.

Saygin, H., Ay, H., Guven, K., Cetin, D., & Sahin, N. (2020). *Streptomyces cahuitamycinicus* sp. nov., isolated from desert soil and reclassification of *Streptomyces galilaeus* as a later heterotypic synonym of *Streptomyces bobili*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2750-2759.

Shivlata, L., & Satyanarayana, T. (2015). Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1014.

Sorokin, D. Y., Khijniak, T. V., Zakharycheva, A. P., Elcheninov, A. G., Hahnke, R. L., Boueva, O. V., ... & Evtushenko,

L. I. (2021). *Natronoglycomyces albus* gen. nov., sp. nov, a haloalkaliphilic actinobacterium from a soda solonchak soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(5), 004804.

Terra, L., Dyson, P.J., Hitchings, M.D., Thomas, L., Abdelhameed, A., Banat, I.M., Gazze, S.A., Vujaklija, D. et al. (2018). A novel alkaliphilic *Streptomyces* inhibits ESKAPE pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2458.

Thumar, J. T., Dhulia, K. & Singh, S. P. (2010). Isolation and partial purification of an antimicrobial agent from halotolerant alkaliphilic *Streptomyces aburaviensis* strain Kut-8. *World Journal of Microbiology and Biotechnology,* 26 (11), 2081–2087.

Trenozhnikova, L. P., Baimakhanova, G. B., Baimakhanova B. B., Balgimbayeva, A. S., Daugaliyeva, S. T., Faizulina, E. R., Tatarkina, L. G., Spankulova, G. A., Berillo, D. A. & Beutler, J. A. (2024). Beyond traditional screening: Unveiling antibiotic potentials of actinomycetes in extreme environments. *Heliyon,* 10, e40371

Tuesta-Popolizio, D. A., Velázquez-Fernández, J. B., Rodriguez-Campos, J., & Contreras-Ramos, S. M. (2021). Isolation and identification of extremophilic bacteria with potential as plant growth promoters (PGPB) of a geothermal site: a case study. *Geomicrobiology Journal*, 38(5), 436-450.

Xie, F., & Pathom-Aree, W. (2021). Actinobacteria from desert: diversity and biotechnological applications. *Frontiers in Microbiology*, 12, 765531.

Van Den Burg, B. (2003). Extremophiles as a source for novel enzymes. *Current opinion in microbiology*, 6(3), 213-218.

Veyisoğlu, A., & Tatar, D. (2021). Screening of acidophilic Actinobacteria that show activity against paddy pest fungi. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(3), 425-432.

Wang, Y., Ling, N., Jiao, R., Zhang, X., Ren, Y., Li, H. et al. (2023). Transcriptomic analysis reveals novel desiccation tolerance mechanism of Cronobacter based on type VI secretion system inhibition. *Food Research International*, 172 (5), 113143.

Xu, D., Han, L., Li, C., Cao, Q. Zhu, D., Barrett, N.H., Harmody, D., Chen, J., Zhu, H. & McCarthy, P.J. (2018). Bioprospecting deep-sea actinobacteria for novel anti-infective natural products. *Frontiers in Microbiology*, 9, 787.

Zamora-Quintero, A. Y., Torres-Beltrán, M., Guillén Matus, D. G., Oroz-Parra, I. & Millán-Aguiñaga, N. (2022). Rare actinobacteria isolated from the hypersaline Ojo de Liebre Lagoon as a source of novel bioactive compounds with biotechnological potential. *Microbiology*,168, 001144

Zannier, F., Portero, L. R., Douki, T., Gärtner, W., Farías, M. E. & Albarracín, V. H. (2022). Proteomic Signatures of Microbial Adaptation to the Highest Ultraviolet-Irradiation on Earth: Lessons From a Soil Actinobacterium. *Frontiers in Microbiology,* 13, 791714.

Zenova, G. M., Manucharova, N. A., & Zvyagintsev, D. G. (2011). Extremophilic and extremotolerant actinomycetes in different soil types. *Eurasian Soil Science*, 44, 417-436.

Zhou, P., Bu, Y.X., Xu, L., Xu, X.W. & Shen, H.B. (2023). Understanding the mechanisms of halotolerance in members of Pontixanthobacter and Allopontixanthobacter by comparative genome analysis. *Frontiers in Microbiology,* 14, 1111472.

Zhulamanova, A., Koshenov, Z., Shamkeeva, S., Markhametova, Z., Abdukhakimova, D., Trenozhnikova, L., & Azizan, A. (2020). Extremophilic actinomycetes isolated from soil in Kazakhstan: Classification and antimicrobial activities. *Microbiology Research*, 11(1), 8356.

BÖLÜM VIII

Probiyotik İçecekler: Geleceğin Fonksiyonel Gıdaları

Tuba AVCI[1]
Ebru UYAR[2]

Giriş

Hipokrat'ın "*Besinler ilacınız, ilacınız besininiz olsun*" ve "*Bütün hastalıklar bağırsakta başlar*" aforizmalarıyla uyumlu olarak tüketiciler, özellikle son yıllarda sağlık ile beslenme arasındaki ilişkinin farkına varmışlardır. Bu nedenle tüketiciler; sağlık sorunlarını önlemek, yaşam süresini ve yaşam kalitesini iyileştirmek amacıyla daha besleyici özelliklere ve belirli bileşenlere sahip olan ürünleri talep etmektedirler. Artan talep, temel beslenmenin ötesinde sağlığa faydası olan ve tüketicinin beklentisini karşılayan ürünler için de yeni fırsatlar sunarak fonksiyonel gıda pazarının büyümesine yol açmıştır (Vilano & ark., 2016). Fonksiyonel gıdalar farklı şekillerde tanımlanmış olmasına rağmen

[1] Biolog, Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa/Türkiye, Orcid: 0000-0002-7170-8116, tubbaavci@hotmail.com
[2] Doç. Dr., Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa/Türkiye, Orcid: 0000-0002-4022-3845, ebruuyar@harran.edu.tr

bu terimin uluslararası kabul görmüş bir tanımı bulunmamaktadır (Baker & ark., 2022). Ayrıca, düzenlemeye ilişkin tüm çabalara rağmen fonksiyonel gıdalar, nutrasötikler ve diyet takviyeleri arasında ayrım yapmak için bilimsel bir fikir birliği de bulunmamaktadır (Zeisel & ark., 1999; Hill & ark., 2014). Ancak uzmanlar genel olarak fonksiyonel gıdaların, gıdanın kendisinde var olan temel besin bileşenlerine ek olarak sağlık için faydalar sağlayan probiyotikler gibi canlı mikroorganizmaları da içeren bileşenlere sahip olduğu konusunda hemfikirdirler (Damian & ark., 2022).

Probiyotiklere rağbet son yıllarda belirginleşmesine karşın bu ürünlerin tarihi fermente gıdaların keşfine dayanmaktadır (Kumar & ark., 2015). Özellikle Yunanlılar ve Romalılar tarafından yoğurt, peynir gibi fermente süt ürünleri çocuklar ve nekâhat dönemindeki hastalar için kullanılmıştır (Gismonda & ark., 1998). Probiyotiklerin sağlığa olan faydaları, 1907'de Elli Metchnikoff'un fermente sütün otointoksifikasyon adı verilen vücut içinde açığa çıkan veya atılma imkânı bulunamayan toksik nitelikte metabolizma artıklarının kan ve dokularda birikimi sonucu oluşan zehirlenmeyi iyileştirdiğini öne sürmesiyle açığa çıkmıştır (Kumar & ark., 2015). İlk defa 1953 yılında Kollath tarafından kullanılan ve "yaşam için" anlamına gelen probiyotik terimi, "pro" ve "biotic" kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuş yunanca kökenli bir kelimedir. Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization-FAO ve Dünya Sağlık Örgütü (World Heath Organization-WHO) tarafından ise yeterli miktarda vücuda alındığında insan sağlığı üzerinde fayda sağlayan mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır (FAO/WHO 2001).

Yapılan çok sayıda araştırma probiyotiklerin; gastrointestinal enfeksiyonlara karşı koruma sağladığını, laktoz intoleransını iyileştirdiğini, kolestrolü düşürdüğünü, immün sistemi stimüle ettiğini ve bağırsak hastalıklarını baskıladığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte; antimikrobiyal, antimutajenik, antikarsinojenik, antidiyabetik ve antidiyare gibi birçok özelliği de sergilediğini göstermiştir (Gotcheva & ark., 2002; Nomoto & ark., 2005; Shah &

ark., 2007). Probiyotiklerin terapötik etkilerine ilişkin bazı örnekler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bazı probiyotik suşlar ve faydaları

Terapötik etkiler	**Probiyotik tedavi**	**Temel Bulgular**
Bulaşıcı ishalin önlenmesi	*Bifidobacterium longum* BORI ve *Lactobacillus acidophilus* AD301	Koreli genç çocuklarda rotavirüs ishalinin süresinin kısalması
Tip B gastrit ve peptik ülser semptomlarını hafifletilmesi ve mide kanserinin önlenmesi	*Bifidobacterium lactis* Bb12	6 haftalık tedavi sonrasında mide asidinde *Helicobacter pylori*'nin hayatta kalması için gerekli anahtar enzim olan üreaz aktivitesinde azalmaya yol açararak büyümesinin engellenmesi
İnflamatuar bağırsak sendromlarının hafifletilmesini	*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis* ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*	Hasta dışkısında artan laktobasil, bifidobakteri ve *Streptococcus salivarius*'un gözlemlenmesiyle mikrobiyal floranın normal seviyeye döndürülmesi ve bu sayede kronik poşitis semptomlarının azalması
	Lactobacillus GG	*Lactobacillus* GG (10^{10} cfu/g) içeren tabletlerin 4 hafta boyunca kullanılmasıyla Crohn hastalığının aktivitesinde belirgin azalma ve bağırsak geçirgenliğinin artması
Kansere karşı alternatif korunma	*Lactobacillus rhamnosus* strain GG ve LC-705	Günlük probiyotik suş alımından sonra tavuk duodenumunda

		kanserojen aflatoksin seviyesinin azalması
Konakçının immün modülasyonu	*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Streptococcus thermophilus*	T ve B hücrelerinin hiporeaktivitesinin indüklenmesi; Th1, Th2 ve Th17 sitokinlerinin apoptotik olmayan down regülasyonu; $CD4^{+}CD25^{+}$Treg'lerin supresör aktivitesinin artması
Alerjinin önlenmesi ve tedavisi	*B. longum* NCC 3001 ve *Lactobacillus paracasei* NCC 2461	Polisensitize farelerin mukoza zarında hava yolu iltihabına katkıda bulunan alerjene özgü olan immün yanıtın down regülasyonu
	Bifidobacterium lactis Bb-12 ve *Lactobacillus* strain GG	Atopik egzama hastası olan bebeklerde 2 ay probiyotik mama takviyesi sonrasında cilt durumunda iyileşme
Bakteriyel vajinozis tedavisi	Yoğurt (özellikle *Lactobacillus* sp. içeren)	1-2 aylık intravajinal tedaviden sonra laktobasil florasının artması ve vajinal pH'nın düzenlenmesi

Kaynak: Mojikon & ark., 2022

Yetişkin bir insanın gastrointestinal sisteminde 400'den fazla bakteri türü bulunabilmekte ve şaşırtıcı bir şekilde insan dışkısının ıslak ağırlığının yaklaşık %50'si bakteriyel biyokütleden oluşmaktadır. Bağırsak mikroflorası, "kolonizasyon direnci" veya "bariyer etkisi" olarak adlandırılan bir mekanizma ile patojen bakterilerin kolonizasyonunu engellemek suretiyle kendi popülasyon yoğunluğunu korumaktadır. Bu nedenle probiyotikler, genellikle kurutulmuş formda veya canlı kültür halinde bulunan

yararlı bakteriyal takviyeler olup gıdalarla birlikte alındığında kötü mikroorganizmalara karşı konakçının bağırsak mikrobiyotasının yürüttüğü önleyici mekanizmaya da yardımcı olabilmektedirler (Baker & ark., 2022). Bununla birlikte probiyotik uygulaması, merkezi sinir sisteminin nöropsikolojik fonksiyonlarını düzenleyebilmekte ve çift yönlü bağırsak beyin ilişkisi dolayısıyla bağırsak mikroflorası popülasyonundan da etkilenebilmektedir. Stres koşulları altında bir grup fareye fluoksetin hidroklorür diğer bir grup fareye ise 8 hafta boyunca günlük olarak çoklu probiyotik türlerinin verildiği bir çalışmada, probiyotiklerle muamele edilen farelerin kan serumlarındaki düşük kortikosteron seviyeleri nedeniyle daha az depresif davranış gösterdiği belirlenmiştir. Probiyotik uygulaması yapılan grupta daha yüksek sayıda dışkı mikrobiyotası tespit edilmesi, farelerin kanındaki kortikosteron seviyelerini düşürebilecek bazı bileşikler salgılamış olabileceğini düşündürtmüştür. Sonuç olarak, probiyotiklerle desteklenen farelerin, probiyotik verilmeyen gruba kıyasla depresyonun azaldığını ortaya çıkarılmıştır (Liu & ark., 2020).

Probiyotikler, yaygın olarak canlı mikroorganizmalar şeklinde tanımlanmaktadırlar (Zuntar & ark., 2020). Bu tanım hem diyet takviyeleri ve ilaçlarını hem de insan beslenmesinin bir parçası olarak fermente gıdalarda bulunan mikroorganizmaları ifade etmektedir. Probiyotik bakteri içeren fermente içecekler dünya çapında insan beslenmesi açısından oldukça önemlidir. Çünkü fermantasyon; gıdanın korunmasına, besin değerinin iyileştirilmesine ve duyusal özelliklerinin geliştirilmesine yardımcı olan ekonomik bir teknolojidir (Gadaga & ark., 1999). Ayrıca, fermente gıdalar bağırsak enfeksiyonlarını önlemek, kolesterol seviyesini düşürmek, laktoz metabolizmasını, bağışıklığı, kalsiyum emilimini ve bazı vitaminlerin (B vitamini, nikotinik asit, folik asit gibi) emilimini arttırmak ve gıda patojenlerini önlemek gibi çok yönlü işlevlere sahip faydalı mikroorganizmalara ev sahipliği yapmaktadır. Fermente gıdaların bazıları tahıl bazlı olmakla birlikte çoğunluğu süt ürünlerinden, sebze ve meyvelerden elde edilmektedir (Akhtar & ark., 2021).

Yeni probiyotik ürünlere yönelik talepteki artışın bir sonucu olarak probiyotik mikroorganizmalar, besin değerini arttırmak amacıyla gıdalara eklenmektedir. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakteriler bu amaç için gıdalarda yaygın olarak kullanılan ticari suşlardandır (Gadaga & ark., 1999). Probiyotikler geleneksel olarak süt ürünlerine eklenmesine karşın son zamanlarda gıda endüstrisinde bu amaca uygun başka gıda matrislerinin de geliştirilmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Mantzourani & ark., 2018; Chugh & ark., 2020). Probiyotik kültürlerin değişik gıda matrisine sahip içeceklere uygulanması büyük bir zorluk teşkil edebilmektedir. Farklı probiyotik türler; substratın asitliğine, çözünmüş oksijene, fermente içeceklerdeki sonradan asitleşmeye, metabolizma ürünlerine, sıcaklıklara, kuru ve gastrointestinal sistem koşullarına karşı farklı hassasiyetler göstermektedirler (Guerin & ark., 2003; Vinderola & ark., 2003). Bununla birlikte, probiyotik içeceklerde bulunan bakterilerin, raf ömrü süresi içerisinde canlılığını koruması ve gastrointestinal sistemde gerçekleşen sindirim boyunca da hayatta kalabilmesi beklenmektedir (Tannock & ark., 2020). Probiyotik içeren içeceklerin sağlık açısından faydalı kabul edilebilmesi için raf ömrü süresince minimum 10^6-10^7 koloni oluşturan birim (kob, cfu)/mL olacak şekilde canlı probiyotik hücre sayısında sahip olması gerektiği rapor edilmiştir (Madureira & ark., 2011).

Artan farkındalıkla beraber tüketicilerin hastalık riskini azaltan faydalı gıdalara yönelmesi, küresel probiyotik içecek pazarındaki artışa katkı sağlamıştır. Temel olarak probiyotik içecekler, süt ürünleri ve süt ürünleri içermeyen bileşenlerden oluşabilmektedir. Bu kapsamda gerçekleştirilen market araştırmaları, küresel probiyotik içecek pazarının 2020'de 11.047 milyon ABD doları olduğunu ve 2031 yılına kadar %6.6'lık yıllık birleşik büyüme oranı ile 23.405 milyon ABD dolarına ulaşacağını öngörmektedir (Allied market research, 2024).

Çoğunluğu fermentasyon yoluyla ticari ve/veya geleneksel yöntemlerle üretilen probiyotik içecekler şunlardır;

1. Süt ve Yoğurt Bazlı Probiyotik İçecekler

Probiyotik fermente sütler ve yoğurtlar; kalsiyum, fosfor, potasyum, A vitamini, B2 ve B12 vitamini açısından zengin içeceklerdir. Genellikle *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* gibi canlı bakteriler tarafından asitlikleri artar ve fermente edilirler. Bu fermantasyon sonucunda daha kıvamlı ve uzun raf ömrüne sahip ürünler meydana gelmiş olur. Yoğurt ve fermente süt tüketiminin başta bağırsak sağlığı ve immün sistemin modülasyonu olmak üzere osteoporoz, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi dahil birçok fayda sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Hadjimbei & ark., 2022).

Dünya genelinde en popüler yiyecekler arasında yer alan yoğurt, tadı ve sağlığa olan faydaları sayesinde geniş bir tüketici kitlesine sahiptir. Yoğurt kelimesi muhtemelen Türkçe'de koyulaştırma anlamına gelen "yoğurmak" teriminden gelmektedir (McGee & ark., 2004). Yoğurdun milattan önce 5000-10000 yılları arasında süt veren hayvanların evcilleştirilmesiyle birlikte tesadüfen çobanların, sütü bağırsaktan yapılmış çuvallarda taşıması ve bağırsak salgılarıyla sütün temas etmesi sonucu yoğurda dönüştüğü tahmin edilmektedir. Ayrıca bağırsak salgılarıyla temas eden süt doğal olarak korunabilmiş ve daha uzun süre saklanmasına olanak sağlamıştır (Weerathilake & ark., 2014; Fisberg & ark., 2015).

İyi bir probiyotik taşıyıcısı olan yoğurtlar, geleneksel ve biyo/probiyotik yoğurtlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yoğurt ve diğer fermente sütlerin tüketiminin uzun süredir bilinen faydalarına rağmen, ilk endüstriyel yoğurt üretimi 1919 yılında İspanya'nın Barselona kentinde Danone adlı bir şirkette gerçekleştirilmiştir (Fisberg & ark., 2015). Günümüzde piyasada sade yoğurtlar, meyveli yoğurtlar ve sade/meyveli yoğurtlu içecekler olmak üzere üç çeşit yoğurt bulunmaktadır. Sağlık açısından çok sayıda faydası bulunan yoğurdun kabızlığı ve ishali azalttığı, inek sütünden hazırlanan yoğurdun yağ oranı düşük olduğundan bağışıklığı güçlendirerek soğuk algınlığı ve öksürüğe karşı koruma sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, kan basıncı, kötü kolestrol ve kalp

krizi riskini de düşürmeye yardımcı olmaktadır. Düzenli yoğurt tüketimi, kolonda hastalığa sebep olan bakterileri dışarı atmak suretiyle kolon kanseri riskini azaltmaktadır (McKinley, 2005; Corrieu & ark., 2016).

Geleneksel yoğurtlar *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* gibi bakterilerin kültivasyonlarıyla elde edilirken probiyotik yoğurtlar *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus acidophilus*'un kültüre edilmesiyle üretilmektedir (Hadjimbei & ark., 2022). *L. acidophilus* (önceki adıyla *Bacillus acidophilus*), ilk olarak biberonla beslenen bebeklerin dışkısından izole edilmiştir (Soleman & ark., 2003). Daha sonra bu bakterinin sindirim sistemi bozukluklarının düzeltilmesinde yararlı bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Kopeloff & ark., 1922). O zamandan beri *L. acidophilus* içeren ürünler giderek popülerlik kazanmıştır. Cheplin & ark., (1923), *L. acidophilus* ile fermente edilmiş sütü tüberküloz gibi hastalıkların tedavisinde kullanmışlardır. Japon mikrobiyolog Dr. Minoru Shirota, 1930 yılında *Lactobacillus casei* Shirota (LcS)'yı izole etmiş ve 1935 yılında "Yakult" adlı ticari probiyotik sütlü içeceği piyasaya sürmüştür. Bu tarihten itibaren küresel piyasaya çok sayıda probiyotik türleri içeren birçok probiyotikli süt ürünü sunulmuştur. Probiyotik fermente sütler, geleneksel fermente sütten elde edilirler ve canlı mikroorganizmaların substrat olarak süte eklenmesiyle üretilmektedirler (Marco & ark., 2021). Üretimde; inek, manda, keçi, koyun, sığır, at vb. sütleri kullanılabilmektedir. Karakteristik özellikleri bulunan bu sütlerden kefir ve kımız gibi geleneksel ürünler de yapılabilmektedir (Ma & ark., 2023). Randomize çift kör kontrollü olarak Alzheimer hastaları ile gerçekleştirilen bir denemede 12 hafta boyunca 4 farklı probiyotik bakteri içeren (*Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus fermentum*, her biri için $2x10^9$ kob/g) sütten 200 mL/gün olacak şekilde tüketilmiştir. Uygulama süresi sonunda probiyotikli süt içen grubun kontrol grubuna kıyasla Mini Mental Durum Testi (Mini Mental State Examination-MMSE)'nde gelişim olduğu rapor edilmiştir (Akbari & ark., 2016).

Genel olarak fermente süt ürünü tüketiminin kanser, özellikle de kadınlarda dünya çapında önemli bir mortalite oranına sahip meme kanseri riskini azalttığı görülmüştür (Reddy & ark., 1987). Yapılan çalışmalar, fermente süt ürünlerinin antikarsinojenik etkisini fermente sütün içeriğinde bulunan biyoaktif peptidler, organik asitler ve az miktarda bulunan vitamin ve minerallerin varlığına atfetmiştir. Svensson & ark. (1999) tarafından yürütülen bir çalışmada çeşitli bakteri kültürlerinden elde edilen ve bir fermente süt ürünü olan kefirin kanser hücrelerine karşı antimutajenik etkisi olduğunu doğrulanmıştır.

1.1. Kefir

Türkçe "keyif" kelimesinden türetilen ve "iyi duygu, zevk veya refah" anlamına gelen kefir, etkili bir takviye olarak kabul edilen fermente probiyotik süt ürünüdür. Son zamanlarda kefer, keyfr, kepi, knapon, kippi gibi isimlerle de anılan kefirin üretimine ilişkin M.Ö. 1900 yıllarında Orta Asya ve Çin'in Özerk bölgesi Sincan'da olduğunu belirten yazılar bulunmakla birlikte geçmişinin M.Ö. 100 yılına kadar dayandığı tahmin edilmektedir (Loretan & ark., 2003). Genellikle beyazımsı veya hafif sarımsı renktedir ve fermantasyon koşullarına, karbonatlaşma derecesine bağlı olarak tadı asidik ile ekşi arasında değişir. Geleneksel olarak inek, manda koyun, deve sütü gibi farklı türlerden elde edilen sütlere karbonhidrat içeriğini fermente eden çok sayıdaki simbiyotik mikroflorayı içeren kefir mayasının eklenmesi sonrasında gerçekleşen laktik asit fermantasyonuyla üretilmektedirler (Sharifi & ark., 2017). Fermantasyon işlemi sırasında önemli miktarda alkol, diasetil, asetaldehit, ve asetoin gibi bileşikler açığa çıkar ve bu bileşikler kefirin tat, kıvam ve aromasına katkıda bulunur (Farnworth, 2005; Walsh & ark., 2016). Vitaminler (karoten, vitamin A, K, B_1, B_2, B_5, B_{12}, C ve folik asit), mineraller (Mg, Ca, P, Zn, Cu, Mn, Fe, Co ve Mo) ve amino asitler (serin, lizin, alanin, treonin, triptofan, valin, metiyonin, fenilalanin ve izolözin) açısından oldukça zengindir (Otles & ark., 2003). Ancak kefir fermantasyonu sırasında kullanılan sütün kalitesi, hazırlama yöntemi ve kefir mayasında bulunan mikroorganizmalar üretilen kefirin

içeriğindeki vitaminlerin türü ve miktarının yanı sıra minerallerin kompozisyonunu da belirlemektedir (Sarkar & ark., 2007).

İnsanlığın ve teknolojinin evrilmesiyle birlikte kefir üretiminde farklı yöntemler geliştirilmekle birlikte geleneksel yöntemler de küçük modifikasyonlarla hala uygulanmaktadır. Üretimdeki ilk ve en önemli basamak, farklı kaynaklardan temin edilen ve ham madde olarak kullanılan sütün içerisindeki mikroorganizmaların dekontaminasyonu için gerçekleştirilen pastörizasyondur. Geleneksel olarak kefir üretimi, pastörize edilen süte kefir danecikleri halinde bulunan aktif starter kültürün (mayanın) %5 oranında ve genellikle oda sıcaklığındayken ilavesini içermektedir. Elde edilen karışım yaklaşık 24 saat boyunca fermentasyona bırakılmaktadır. Fermentasyon sonunda kefir danelerinin bir kısmı, daha sonra gerçekleştirilecek aşılamalarda kullanılmak üzere uzaklaştırılmaktadır. Fermentasyonla üretilen kefir ise şişelenerek buzdolabı koşullarında muhafaza edilmektedir. Günümüzde, kontaminasyon kaynaklı kayıpları en aza indirgemek ve ürünü en iyi şekilde depolamak için üretim sonrasında çeşitli teknikler uygulanmaktadır. Buzdolabında saklama, dondurarak kurutma ve dondurma gibi bazı yöntemler kefir ve kefir danelerinin uzun süreli saklama koşullarında canlı kalmasını sağlayan yöntemlerden bazılarıdır. Bunlar arasında en umut verici depolama yaklaşımı ise hücreleri yaklaşık 8 aya kadar canlı tutabilen liyofilizasyon tekniğidir. (Otles & ark., 2003; Turan & ark., 2007).

Kefir üretiminin temel bileşeni olan kefir danesi, mikrobiyatasında yaygın olarak *Lactobacillus kefiri, Lactobacillus kefiranofaciens, Lactobacillus kefirgranum* ve *Lactobacillus parakefiri* gibi *Lactobacillus* cinslerini içermektedir (Köktaş & ark., 2012). Kefirde bulunan karakteristik mayalar ise *Saccharomyces* spp. ve *Kluyveromyces marxianus*'tur. Kefirde çoğunlukla *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* bakteri cinsleri bulunmaktadır. Hem kefirde hem de starter kültür olarak kullanılan kefir danesinde baskın olarak bulunan bakteri türleri ise *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus*

helveticus, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. kefiri*, *L. kefir*, ve *L. brevis*' dir. Ayrıca laktik asit bakterilerine ek olarak *Acetobacter* gibi çeşitli bakteri cinsleri de bulunmaktadır (Withun & ark., 2005; Marsh & ark., 2013). Tüm bakteri kültürleri arasında homofermantatif *Lactobacillus,* bakteri florasını en önemli kısmını oluşturur ve *L. kefiranofaciens* kefir danelerinin topaklaşmasına ve oluşumuna yardımcı olduğu için fermantasyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (Karatepe & ark., 2012).

Kefir kompleksinin bileşenleri; peptidler, polisakkaritler ve sfingolipidler gibi antikanser etkiye sahip biyoaktif bileşiklerin sentezinde rol almakla beraber farklı sinyal yolakları ile apoptozis, proliferasyon ve transformasyon gibi biyolojik hücre proseslerinde de hayati roller oynamaktadırlar (Chen & ark., 2007; Garrote & ark., 2010; Furuya & ark., 2011). Bu nedenle kefir, kanserin tedavisinde ve önlenmesinde etkili bir ajan olarak görev alabilmektedir. Kefir danelerinin faydalı etkileri arasında antibakteriyal, antifungal ve anti-inflamatuar etkiler de sayılmaktadır. İlave olarak, kefirin kolorektal kanser, malign T lenfositleri, meme kanseri ve akciğer kanseri gibi kanser türleri üzerinde etkili olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Dünya çapında ikinci mortalite oranına sahip ve kadınlar arasında en sık görülen meme kanserine yönelik yürütülen bir çalışmada, 4T1 fare meme kanseri hücresi ile aşılanmış farelere oral yoldan kefir verilmiştir. Çalışmanın sonunda kefir ile muamele edilen grupta kontrol grubuna kıyasla tümör boyutunda ve ağırlığına önemli bir azalma rapor edilmiştir. Bununla birlikte, yardımcı T hücreleri ve sitotoksik T hücrelerinin sayısında belirgin artışlar gözlendiği bildirilmiştir. Ayrıca, kefir uygulanan grupta proinflamatuar ve proanjiogenik belirteçlerin önemli ölçüde azaldığı da gözlenmiştir. Kanser hücrelerinin apoptozu ile tümör proliferasyonunu in vitro ve in vivo olarak azaltmasının yanı sıra T hücreleri ve yardımcı T hücrelerini uyarmak suretiyle immün modülasyonu sağlaması, anti-inflamatuar, antimetastatik ve antianjiyogenik etkilere sahip olması kefirin kanser tedavisindeki potansiyelini ortaya çıkarmıştır (Zamberi & ark., 2016).

Kefirin anti-karsinojenik özelliğinin yanı sıra anti-alerjik ve anti-obezite gibi aktivitelere de sahiptir (Sharifi & ark., 2017). Obez fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, kefir verilen deney grubundaki obez farelerin vücut ağırlıklarında süt verilen kontrol grubuna kıyasla belirgin azalmalar kaydedilmiştir. İlave olarak, kefir verilen grubun bağırsak mikroflorasında adipoz doku gelişiminde azalmalara ve bunun bir sonucu olarak vücut ağırlığında gerilemeye neden olan yağ asidi oksidasyonunun artmasından sorumlu maya ve *Lactobacillus*/*Lactococcus* kolonizasyonunda da artış görülmüştür (Lim & ark., 2017).

1.2. Kımız

Kımız (kumis), fermente edilmiş kısrak sütünden yapılan ve yaklaşık 25 yüzyıl önce İskit kabileleri (Orta Asya Bozkırları) tarafından içilen alkolik bir içecektir. Geleneksel bir Türk içeceği olan ve Türkistan bozası olarak da adlandırılan kımızın Türk tarihinde popüler bir yeri bulunmaktadır (Robinson & ark., 2005). Güçlü müshil etkisine sahip olması nedeniyle kısrak sütü çiğ olarak tüketilmemektedir (Tesyafe & ark., 2019). Bunun yerine, fermente edilerek kımıza dönüştürülmektedir. Kısrak sütü inek sütüne göre daha az miktarda kazein ve yağlı madde içermektedir. Kısrak sütünün şeker oranının yüksek olmasından dolayı diğer fermente süt ürünlerine kıyasla laktik asit ve alkol içeriği yüksektir (Uniacke & ark., 2010). Kefire kıyasla daha yumuşak bir tada sahip olan kımızın alkol içeriği de (~%3'e kadar) kefirden yüksektir. Eş zamanlı olarak yüksek miktarda üretilen karbondioksit de kımızın karakteristik özelliğine katkı sağlamaktadır. Kısrakların sağım dönemi genellikle Temmuz'dan Ekim ayına kadar gerçekleşmektedir (Minjigdorj & ark., 2012). Kımız talebinin artmasıyla birlikte kısrak sütünün sınırlı olmasından dolayı kımız üretiminde farklı hayvansal sütler de kullanılmaktadır (Meybodi & ark., 2021).

Geleneksel olarak kımız üretimi, hayvan derisinden yapılan torbalarda kısrak sütünün doğal veya uyarılmış asidifikasyon sürecinin meydana gelmesiyle gerçekleşmektedir (Watanebe & ark., 2008). Kımızın hazırlanmasında kullanılan ve kımıza karakteristik

özelliğini veren mayanın yapılması oldukça karmaşık ve zor bir süreçtir. Çoğunlukla eski kımızlar maya olarak kullanılmaktadır. Mayalanmış kımız sonbahar aylarında kapağı sıkıca kapatılarak saklanmaktadır. Yaz aylarında ise taze kısrak sütü ile 1:1 oranında karıştırılarak ılık bir yerde 24 saat bekletilmektedir. İkinci gün iki katı kadar taze süt eklenmektedir. Normal şartlarda bakteriyel üreme 3-4 gün sonra başlamaktadır (Dhewa & ark., 2015). Endüstriyel olarak hazırlanan kımızlarda ise kısrak/inek sütü 90-92 °C'ye kadar ısıtıldıktan sonra 26-28 °C'ye kadar soğutulmaktadır. LAB ve mayalardan oluşan karışık starter kültür hazırlanarak pastörize süte %30 oranında eklenmektedir. 25 °C'de gerçekleştirilen fermantasyon boyunca yaklaşık her 2 saatte bir düzenli olarak karıştırılma işlemi uygulanmaktadır. Paketleme sonrasında şişeler, 18-20 °C'de 2-3 saat bekletilerek fermentasyon işlemi devam ettirilmektedir. Ardından 4-6 °C'ye kadar soğutularak tüketim zamanına kadar muhafaza edilmektedir. 1960'lı yıllardan beri endüstriyel kımız üretiminde saf kültürler kullanılmaktadır (Hou & ark., 2019). Starter kültür pastörize süte %30 oranında eklenir. Fermantasyon sürekli karıştırılarak 2 saatte Paketlemeden sonra yaklaşık 2-3 saat kadar daha fermantasyon devam eder. Ardından 4-6 °C' ye soğutulur ve kullanılıncaya kadar kaldırılır (Hou & ark., 2019).

Kımız fermanyasyonunda çok çeşitli mikroorganizmalar rol almakla birlikte orijinal kımızdaki ana mikroflorada *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus*. *acidophilus* ve laktozu fermente eden mayalar (*Torula koumiss* ve *Saccharomyces lactis*) olmak üzere üç ana grup mikroorganizma yer almaktadır. Ancak *Streptococcus lactis* de kaliteli kımız üretiminde kullanılan bir başka türdür (Dhewa & ark., 2015). Kımızın mikroflorası, ürünün kaynağı ve üretimin gerçekleştiği alanların çevresel durumu ile yakından ilişkilidir. Kımızdaki mikroorganizma miktarı, bakteri ve mayalar için sırasıyla $5x10^7$ cfu/mL ve $1\text{-}2x10^7$ cfu/mL olacak şekildedir (Hou & ark., 2019). Kımızda da kefire benzer şekilde hem laktik asit fermantasyonu hem de alkol fermantasyonu meydana gelir. Fermantasyon sırasında *L. bulgaricus* sütü asitlendirirken,

Saccharomyces lactis ise sütü hafif alkollü bir içeceğe dönüştürür (Ishii & ark., 2014). Kımız laktik asit içeriğine göre üç ana gruba ayrılır: güçlü (pH 3.3–3.6), orta (pH 3.9–4.5) ve hafif (pH 4.5–5.0) (Meybodi & ark., 2021).

Kımızda bulunan ana mikrobiyal gruplardan biri olan mayalar, kımızın terapötik etkilerine katkı sağlayarak fermentasyon da da önemli rol oynamaktadırlar. Kımızdan izole edilen *Kluyveromyces marxianus* ve *Saccharomyces cereviase* türü mayaların ürettiği antibakteriyal bileşiklerin *E. coli* sışlarını da içerisine alan farklı gram- pozitif ve gram-negatif bakteriler üzerinde geniş spektrumlu bir antibakteriyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Metabolik olarak üretilen killer toksinler ve organik asit gibi bileşiklerin bu antimikrobiyal etkide rol oynadığı düşünülmektedir (Etienne & ark., 2011; Chen & ark., 2017; Chen & ark., 2019; Chen & ark., 2021).

Kımız içeriğinde vitaminler (C, A, B, E, B_1, B_2, B_{12}, pantotenik asit), mineraller (P, Cl, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu), enzimler, bakteriyosinler, esansiyel yağ asitleri, laktoz gibi çeşitli organik ve inorganik maddeler bulunur. Üretimde kullanılan sütün çeşidine göre değişmekle birlikte %1.1- %3.9 yağ, %3.3-%3.5 protein ve %4.7- %6.1 oranında şeker ve 20-120 mg kadar da kalsiyum ihtiva edebilmektedir. Linoleik ve linolenik asit gibi esansiyel yağ asitlerini de içermektedir. Bu tür yağ asitleri insan sağlığını teşvik etmektedir. Kısrak sütü; laktoalbumin, pepton, amino asitler, esansiyel yağ asitleri açısından da inek ve koyun sütüne kıyasla daha zengindir (Lv & ark., 2009; Dhewa & ark., 2015). Ayrıca, insanlar için gerekli olan tüm amino asitleri içermesi nedeniyle tüketicinin ihtiyacı olan amino asit miktarını da karşılamaktadır. Kızımın yüksek C vitamini içeriği belirli farmakolojik etkilerine de katkı sağlamaktadır (Dhewa & ark., 2015). İnsan sağlığı üzerinde yararlı etkileri bulunan probiyotikler açısından da zengindir. Probiyotik doğasının yanı sıra antibakteriyal ve antifungal aktivitelere sahiptirler. Bağışıklık sistemini, kolesterolü, kan basıncını ve şeker seviyesini düzenlermekle birlikte sağlıklı bir sindirim sisteminin devamlılığını da sağlamaktadır (Afzaal & ark., 2021).

Dünya çapında görülen başlıca ölüm nedenlerinden birisi malignite olarak bilinen kötü huylu tümörlerin vücutta kontrolsüz bir şekilde büyümesidir. Kımız probiyotiklerinin karsinojenik kimyasalları ihbibe ederek ve bağışıklık sistemini destekleyerek tümör büyümesini engellediğine inanılmaktadır (Leite & ark., 2013). Laktik asit bakterileri, fermantasyon sırasında ürettikleri bakteriyosinler, etanol, asetik asit, aroma bileşikleri, ekzopolisakkaritler, biyoaktif peptidler, vitaminler ve bazı enzimler gibi sekonder metabolitler dolayısıyla bu proseslerde anahtar rol oynamaktadır (Leroy & ark., 2004; Stanton & ark., 2005). Kımız kültüründe bulunan *Lactobacillus helveticus* NS8 bakterisinin *in vitro* koşullarda kolorektal kansere karşı etkili olduğu, enterosit büyümesini inhibe ettiği, apoptozu indüklediği, NF-B aktivasyonunda belirgin baskılamalar yaptığı ve anti-inflamatuar sitokin IL-10'un yeniden düzenlendiği rapor edilmiştir (Rong & ark., 2015; Rong & ark., 2019).

2. Süt Ürünü İçermeyen Probiyotik İçecekler

Süt bazlı probiyotik içeceklerin laktoz intoleransı, süt ürünlerine karşı alerji ve vejeteryanlık ile ilgili dezavantajları alternatif probiyotik taşıyıcıların geliştirilmesine yönelik teşebbüsleri ortaya çıkarmıştır (Granato & ark., 2010). Ayrıca, geçmiş çalışmalar sütün yüksek yağ oranından dolayı probiyotik kültürlerin, özellikle yoğurttaki *Bifidobacterium bifidum* BBI için inhibitör etki gösterdiğini açığa çıkarmıştır (Vindorela & ark., 2000). Süt bazlı probiyotik ürünlerin dezavantajlarını hafifletmek için içeriğinde süt bulunmayan fermente gıdalar geliştirilmiştir. Dünya çapında süt ürünü olmayan gıdalar incelemiş ve fermente gıdalar arasında meyve ve sebze bazlı, tahıl ve soya bazlı gıdaların önem kazandığı bildirilmiştir. Meyve suyu bazlı probiyotik içecekler gibi süt bazlı olmayan içeceklerin temel avantajları; sağlıklı olmaları, hidrasyon özelliği ve bir probiyotik taşıyıcı olarak duyusal karakteristiklerinin tüketiciler tarafından çekici bulunmasıdır (Prado & ark., 2008; Gupta & ark., 2012; Gawkowski & ark., 2013).

2.1. Probiyotik Meyve Suları

Son on yılda meyve suyu tüketimi oldukça artmıştır. Bu artışın nedeni meyvede bulunan yararlı bileşenlerin hızlıca alınmasına bağlanabilmektedir. Meyve suyuna ilave edilen probiyotikler vitaminler, antioksidanlar, amino asitler ve peptitler gibi değişik biyoaktif bileşikler ürettikleri için bu tür meyve suları yeni bir fonksiyonel gıda çeşidi olarak değerlendirilmektedir (Zuntar & ark., 2020). Meyve suları (%100 meyve içerenler), nektarlar (%25-99 oranda meyve içereenler) ve meyve suyu içecekleri (%25'e kadar meyve içerenler) gıda endüstrisindeki en büyük sektörlerden biri haline gelmiştir. Özellikle %100 oranında meyve içeren meyve suları kayda değer miktarda diyet lifleri, antioksidanlar, polifenoller, mineraller ve vitaminler içerirmekle birlikte probiyotik ilavesiyle ürünün faydaları daha da arttırılabilir hale gelmiştir. Meyve suları en belirgin avantajı, probiyotik suşları stabilizasyonunu mümkün iyi bir çevre sağlamasıdır (Pereira & ark., 2018). Meyve suyu bazlı probiyotik içecekleri hazırlamak için kullanılan meyveler arasında ananas, kızılcık, çilek, tatlı limon, mango, elma, siyah frenk üzümü, şeftali, nar, üzüm, portakal, muz, papaya ve armut yer almaktadır (Patel & ark., 2017; Aspri & ark., 2020).

2.2. Probiyotik Sebze Suları

Probiyotikli sebze suları, sağlık ve sağlıklı yaşam sektörlerinde birbirleriyle bağlantılı olarak gelişen bir trenddir. Bu sular, tüketildiği zaman insan sağlığı üzerinde fayda sağladığı düşünülen bakteriler tarafından sebzelerin fermente edilmesiyle formülize edilmektedirler. Sebze suları, lif oranı yüksek ve neredeyse yağsız olmaları sebebiyle az yağlı beslenmeyi tercih edenler için uygundur (Goderska & ark., 2022). Turşu suyu ve şalgam gibi geleneksel fermente sebze ürünleri doğal probiyotik mikroorganizmalar için potansiyel kaynaklardır. İçerdiği zengin vitaminler ve mineraller aracılığıyla immün sistemi güçlendiren ve kansere neden olan serbest radikalleri yok eden turşu suyu güçlü bir probiyotiktir (Erdem & ark., 2021). İlave olarak, sebzeler içerdikleri mineraller, karbohidratlar, vitaminler ve diğer gerekli bazı

bileşenleri dolayısıyla vücudun alkali rezervini onarmak, tamamlamak ve muhafaza etmek amacıyla süt ürünleri yerine kullanılabilmektedirler (Patel & ark., 2017). Probiyotik sebze ve meyve suları üzerine çok sayıda araştırma bulunmakla birlikte yapılan bir çalışmada, probiyotik tüketiminin obez bireylerde vücut kitle indeksinde, kiloda ve bel ölçüsünde önemli azalmalar sağladığı bildirilmiştir (Borgeraas & ark., 2018).

2.2.1. Şalgam

Yapımında bulgur unu, tuz, su, mor havuç ve bazen de kırmızı pancar kullanılan şalgam, laktik asit fermantasyonu ile üretilen ekşi ve koyu kırmızı renkli geleneksel bir Türk içeceğidir. Şalgam suyunun fermantasyonunda *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Levilactobacillus brevis* ve *Limosilactobacillus fermentum* gibi çeşitli LAB'lerinin rol oynadığı rapor edilmiştir (Akman & ark., 2021; Ekinci & ark., 2016). İyi bir probiyotik ve besin kaynağı olan şalgam, ekşi tadını veren laktik asit sayesinde sindirim sisteminin pH'sını düzenlemeye de katkı sağlamaktadır. Bu doğal probiyotik bileşenlerinin, gastrointestinal faydalarının ötesinde kolestrolün düşürülmesi ve kabızlığın giderilmesi dahil olmak üzere çok yönlü etkisi bulunmaktadır (Gök, 2023). β-karoten, B grubu vitaminleri, kalsiyum, potasyum ve demir içermektedir (Yardımcı & ark., 2015; Ekinci & ark., 2016; Coşkun, 2017). Şalgamdaki kalsiyum, potasyum, demir kemikleri ve dişleri güçlendirmektedir. İçeriğindeki antiseptik maddeler sindirimde rol alan organları temizlediği ve rahatlattığı için insanlar tarafından ilaç olarak da kullanılmaktadırlar (Yardımcı & ark., 2015). Ayrıca şalgam yapımında kullanılan siyah havuç kaynaklı antisiyoninler ve laktik asit bakterileri sayesinde kanser ve kalp damar hastalıkları riskinin azalmasına da yardımcı olmaktadır (Gobetti & ark., 2010; Ekinci & ark., 2016).

Şalgam suyundan izole edilen LAB'lerinin probiyotik özellikleriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, tüketilen şalgamlardan izole edilen ve probiyotik potansiyel vaad eden suşlar arasında *Pediococcus acidilactici*,

Lacticaseibacillus sp., *Lacticaseibacillus paracasei*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus* sp., *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus parafarraginis* ve *Enterococcus* sp. olduğu rapor edilmiştir (Akman & ark., 2021; Erdem & ark., 2021; Kiray, 2016; Yetiman & ark., 2022; Yetiman & Ortakci, 2023; Sengün & ark., 2024).

2.2.2. Kombucha Çayı

Geleneksel Çin Tıbbı'nda "ölümsüzlük çayı" ve "yaşam iksiri" olarak bilinen kombucha çayı genellikle *Camellia sinensis* bitkisinin ekstraktı ile şekerin maya ve bakterilerden oluşan ve "SCOBY" olarak adlandırılan aktif simbiyotik bir kültür tarafından fermente edilmesiyle elde edilen bir çaydır (Soltani & ark., 2021; Greenwalt & ark., 2000). Milattan önce 220 civarında kuzeydoğu Çin'de ortaya çıktığına inanılan bu çay, canlandırıcı ve detoksifiye edici etkileri nediyle oldukça değerlidir. Milattan sonra 414 yılında Dr. Kombu tarafından imparator Ingyo'nun sindirim problemlerini tedavi etmek amacıyla Çin'den Japonya'ya getirtilmiştir (Selvaraj & ark., 2023). II. Dünya Savaşı sırasında ise bu içeceğin tüketimi Avrupa ülkeleri, Rusya ve Kuzey Afrika'ya kadar yayılmıştır (Blanc, 1996). Bu savaşın sonrasında bir Alman doktorun diyabetten kansere kadar çeşitli hastalıkların tedavisinde kombucha çayı geleneksel ilaç olarak kullanması sonucu 1950'li yıllardan sonra Avrupa'da popüler bir içecek haline gelmiştir (Jayabalan & ark., 2014; Dutta & ark., 2019). Yıllar sonra ise İsviçreli araştırmacılar, bağırsakta faydalı bakterilerin büyümesini teşvik eden asitlerin varlığı nedeniyle kombucha çayının yoğurt kadar faydalı olduğunu belirtmişlerdir (Frank, 1995).

Organik asitler, amino asitler, vitaminler, probiyotikler, şekerler, polifenoller ve antioksidanların da yer aldığı zengin içeriğiyle biyoaktif bileşiklerin kaynağı olan bu köpüklü içecek, hafif oranda asidik ve tatlıdır (Selvaraj & ark., 2023; Sreeramulu & ark., 2001). Kombucha çayı ve SCOBY'nin bileşimi bölgeye, sıcaklığa, bakteri ve maya suşları ile inokulum kaynağına bağlı olarak değişmektedir (Goh & ark., 2012). Kombucha çayı; *Brettanomyces* spp., *Candida* spp., *Lachancea* spp., *Pichia* spp.,

Saccharomyces spp., *Schizosaccharomyces* spp. ve *Zygosaccharomyces* spp. gibi ozmofilik maya suşları ile *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Komagataeibacter* spp. ve *Lactobacillus* spp. gibi asetik asit bakterilerinden oluşmaktadır (Jayabalan & ark., 2014; Teoh & ark., 2004). Ozmofilik mayalar çaydaki şekeri fermente ederek etanol üretirken bakteriler de alkolü okside ederek asetik asit oluşturmaktadırlar (Teoh & ark., 2004). Asetik asite ilave olarak glukonik, laktik, malik, sitrik ve tartarik asit gibi antibakteriyal aktiviteye sahip olan ve kombucha çayına patojenik bakterilerin kontaminasyonunu engelleyen organik asitler de üretilmektedir (Neffe & ark., 2017; Villarreal & ark., 2018).

Kombucha çayının faydalı etkileri asetik ve laktik asit bakterilerini içeren probiyotik miroorganizmalar, antibiyotikler, amino asitler, çaydaki polifenoller, şekerler, organik asitler, etanol, suda çözünebilir vitaminler ve fermantasyon sürecinde üretilen çeşitli mikrobesinlerin varlığından kaynaklanmaktadır (Jayabalan & ark., 2008; Fu & ark., 2014). Kombucha çayı çeşitli profilaktik ve tedavi edici faydaları bulunan fonksiyonel bir besin olmakla birlikte sağladığı faydaları ham maddeye, şekerin türüne, fermantasyon süresine ve starter kültürün bileşimine bağlı olarak değişmektedir (Chakravorty & ark., 2016; Vazquez-Cabral & ark., 2017). Kombucha çayının sağlık üzerindeki faydaları 20. yüzyılın sonlarından bu yana araştırılmaktadır. Bu nedenle, kombucha çayının etkili bir antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuar ve yaşlanma karşıtı bileşikler içeren etkili bir kaynak olmakla birlikte bağışıklık sistemini iyileştirebildiği, diyabet, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar gibi bazı hastalıkları da önleyebileceği kanıtlanmıştır (Villarreal & ark., 2018; Chakravorty & ark., 2019).

2.3. Tahıl Bazlı Probiyotik İçecekler

Genel olarak probiyotik gıdalar süt bazlı olup süt ile fermente ürünlerin karışımından oluşmaktadırlar. Bununla birlikte, yeni ürünlerin geliştirilmesinde diyetteki hayati önemi dolayısıyla tahıl bazlı fermente gıda ve içeceklere odaklanılmıştır. Tahıl bazlı

fermente yiyecek ve içecekler bol miktarda lif, karbonhidrat, protein, vitamin, fruktan ve biyoaktif bileşikler içermektedir. Ayrıca, veganlık ve laktoz intoleransı gibi tercih sebebi olan durumlara tahıl bazlı probiyotik içeceklerin minimal kolestrol içermesi avantajının da eklenmesiyle söz konusu ürünlere yönelim daha da artmaktadır (Enujiugha & Badejo 2017). Dünya çapında yetiştirilen başlıca tahıl ürünleri arasında pirinç, buğday, arpa, mısır, tritikale, sorgum, yulaf ve çavdar gibi tahıl ürünleri yer almaktadır. Probiyotik mikroorganizma ve probiyotik maddeler açısından zengin olan tahıl bazlı fermente ürünler, antik çağlardan beri Asya ve Afrika'da tüketilmektedir. Tahıl bazlı probiyotik yiyecek ve içecekler gastrointestinal enfeksiyonların semptomlarının hafifletilmesinde, diyareyi önlemede, serum kolesterol seviyesini düşürmede, immün sistemin uyarılmasında, mikroorganiza ve mutasyonlara karşı korumada, imflamatuar bağırsak hastalığı ve laktoz metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (Raungresmee & ark., 2022). Kuzey Nijerya'da tüketilen geleneksel olarak buğday, darı ve sorgum gibi tahıllardan yapılan Kunun-zaki, 10. Yüzyıldan beri Rusya'da ferahlatıcı bir içecek olarak tüketilen kvass, gibi dünya çapında çok çeşitli tahıl bazlı probiyotik içecekler bulunmakla birlikte ülkemizde boza son derece popülerdir (Zweers & Vene, 2021).

2.3.1. Boza

Türkiye, Arnavutluk, Romanya, Bulgaristan gibi Güneydoğu Avrupa'da popüler olan probiyotiklerle zenginleştirilmiş bu içeceğin, bağırsak florası üzerinde olumlu etkisi olduğuna inanılmaktadır. Çavdar, mısır, buğday ve şekerin bir karışımı olan bu içeceğin fermentasyonu çoğunlukla LAB'lerinin *Lactobacillaceae* (*Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp.) ve *Streptococcaceae* (*Lactococcus* spp.) familyaları tarafından gerçekleştirilmektedir (Gotcheva & ark., 2000; Todorov & ark., 2008; Raungresmee & ark., 2022; Kumari & ark., 2024). Boza yapımında ağırlıklı olarak besin değeri yüksek olan durum buğdayı kullanılmaktadır. Buğdayda bol miktarda lif ve fitokimyasalların yanı sıra beslenme için önemli olan amino asitler,

mineraller ve multivitaminler de bulunmaktadır. Bozadan izole ettikleri başta *Lactobacillus rhamnosus* spp., *Lactobacillus plantarum* spp., *Lactobacillus pentosus* spp. ve *Lactobacillus paracasei* spp. olmak üzere LAB'lerinin potansiyel probiyotik kaynağı olduğu rapor edilmiştir (Todorov & ark., 2008; Bayat & ark., 2019). Ek olarak, ev yapımı bozadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşunun antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, *Lacticaseibacillus paracasei* RAMULAB30 ve *Limosilactobacillus fermentum* RAMULAB29 suşlarının α-glikosidaz ve α-amilaz enzimlerine karşı inhibitör etkiler göstermesi, fermente bir içecek olarak bozanın diyabet ile mücadelede probiyotik LAB izolatları için potansiyel bir kaynak olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Kumari & ark., 2024).

Sonuç

Son yıllarda gıda içeriklerinin güvenilirliğine ilişkin kaygılar artarak devam etmektedir. Bununla birlikte, hem bireysel hem de toplumsal olarak sağlıklı beslenme konusundaki farkındalığın artışı tüketicileri çok yönlü terapötik etkilere sahip doğal kaynaklara yönelterek probiyotik bazlı gıdalara olan talebin artmasına neden olmuştur. Bireysel farklılıklar dolayısıyla çeşitlilik gösteren tüketici tercihleri, geleneksel probiyotik gıdalara alternatif olabilecek yeni nesil probiyotik yiyecek ve içeceklerin de yakın gelecekte şekillenmesine zemin hazırlamaktadır. Küresel olarak her geçen gün artan pazar payı ile ivme alan probiyotikler, sağlık alanında yeni faydalarının ortaya çıkarılmasıyla modern dünyanın vazgeçilmez gıdalarından biri haline gelecektir.

Kaynaklar

Afzaal, M., Saeed, F., Anjum, F., Waris, N., Husaain, M., Ikram, A., Ateeq, H., Anjum, F. M., & Suleria, H. (2021). Nutritional and ethnomedicinal scenario of koumiss: A concurrent review. *Food Science & Nutrition*, *9*(11), 6421-6428. Doi: 10.1002/fsn3.2595

Akbari, E., Asemi, Z., Daneshvar Kakhaki, R., Bahmani, F., Kouchaki, E., Tamtaji, O. R., Hamidi, G. A., & Salami, M. (2016). Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind and controlled trial. *Frontiers in aging neuroscience*, *8*, 256. Doi: 10.3389/fnagi.2016.00256

Akhtar, G., Bhat, N. A., Masoodi, F. A., & Gani, A. (2021). Small-and Large-Scale Production of Probiotic Foods, Probiotic Potential and Nutritional Benefits. In *Advances in Probiotics* (pp. 365-395). Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-822909-5.00023-X

Akman, P. K., Ozulku, G., Tornuk, F., & Yetim, H. (2021). Potential probiotic lactic acid bacteria isolated from fermented gilaburu and shalgam beverages. *LWT*, *149*, 111705. Doi: 10.1016/j.lwt.2021.111705

Allied market research, 2022. Probiotic Drinks Market Size, Share, Competitive Landscape and Trend Analysis Report, by Type, by Flavor, by Sales Channel: Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2020-2031. (Erişim tarihi: 12.12.2024, erişim adresi: https://www.alliedmarketresearch.com/probiotic-drinks-market-A15898).

Aspri, M., Papademas, P., & Tsaltas, D. (2020). Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. *Fermentation*, *6*(1), 30.

Baker, M. T., Lu, P., Parrella, J. A., & Leggette, H. R. (2022). Consumer acceptance toward functional foods: A scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(3), 1217. Doi: 10.3390/ijerph19031217

Bayat, G., & Yıldız, G. (2019). The special fermented Turkish drink: Boza. *Journal of Tourism & Gastronomy Studies*, *7*(4), 2438-2446. Doi: 10.21325/jotags.2019.480

Blanc, P. J. (1996). Characterization of the tea fungus metabolites. *Biotechnology letters*, *18*, 139-142.

Borgeraas, H., Johnson, L. K., Skattebu, J., Hertel, J. K., & Hjelmesaeth, J. (2018). Effects of probiotics on body weight, body mass index, fat mass and fat percentage in subjects with overweight or obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity Reviews*, *19*(2), 219-232. Doi: 10.1111/obr.12626

Caballero, B., Trugo, L., & Finglas, P. (2003). *Encyclopedia of food sciences and nutrition: Volumes 1-10* (No. Ed. 2, pp. 6601-pp). Elsevier Science BV.

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International journal of food microbiology*, *220*, 63-72. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Bhattacharya, D., Sarkar, S., & Gachhui, R. (2019). Kombucha: a promising functional beverage prepared from tea. In *Non-alcoholic beverages* (pp. 285-327). Cambridge. Woodhead Publishing. Doi: 10.1016/B978-0-12-815270-6.00010-4

Chen, C., Chan, H. M., & Kubow, S. (2007). Kefir extracts suppress in vitro proliferation of estrogen-dependent human breast cancer cells but not normal mammary epithelial cells. *Journal of medicinal food*, *10*(3), 416-422. Doi: 10.1089/jmf.2006.23

Cheplin, H. A., Post, C. D., & Wiseman, J. R. (1923). *Bacillus acidophilus* milk and its therapeutic effects. *The Boston Medical and Surgical Journal, 189*(12), 405-411. Doi: 10.1056/NEJM192309201891204

Chugh, B., & Kamal-Eldin, A. (2020). Bioactive compounds produced by probiotics in food products. *Current Opinion in Food Science, 32*, 76-82. Doi: 10.1016/j.cofs.2020.02.003

Corrieu, G., & Béal, C. (2016). Yogurt: the product and its manufacture. *The Encyclopedia of Food and Health, 5,* 617-624. Elsevier Ltd.

Coskun, F. (2017). A traditional Turkish fermented non-alcoholic beverage,"Shalgam". *Beverages*, *3*(4), 49. Doi: 10.3390/beverages3040049

Damián, M. R., Cortes-Perez, N. G., Quintana, E. T., Ortiz-Moreno, A., Garfias Noguez, C., Cruceño-Casarrubias, C. E., Pardo, M. E., & Bermúdez-Humarán, L. G. (2022). Functional foods, nutraceuticals and probiotics: a focus on human

health. *Microorganisms, 10*(5), 1065. Doi: 10.3390/microorganisms10051065

Dhewa, T., Mishra, V., Kumar, N., & Sangu, K. P. S. (2015). Koumiss: the nutritional and therapeutic values. *Fermented Milk and Dairy Products*, *6*, 483-496.

Dutta, H., & Paul, S. K. (2019). Alina Maria (Ed.). Kombucha drink: Production, quality, and safety aspects. In *Production and management of beverages* (pp. 259-288).Cambridge. Woodhead Publishing. Doi: 10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0

Ekinci, F. Y., Baser, G. M., Özcan, E., Üstündağ, Ö. G., Korachi, M., Sofu, A., Blumberg, J. B., & Chen, C. Y. O. (2016). Characterization of chemical, biological, and antiproliferative properties of fermented black carrot juice, shalgam. *European Food Research and Technology*, *242*, 1355-1368. Doi: 10.1007/s00217-016-2639-7

Enujiugha, V. N., & Badejo, A. A. (2017). Probiotic potentials of cereal-based beverages. *Critical reviews in food science and nutrition*, *57*(4), 790-804. Doi: 10.1080/10408398.2014.930018

Erdem, B., Kıray, E., Kariptaş, E., Tulumoğlu, Ş., & Akıllı, A. (2021). Characterization of probiotic abilities of lactic acid bacteria from traditional pickle juice and shalgam. *Research & Reviews in Science and Mathematics*, *33*.

Farnworth, E. R. (2006). Kefir–a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Fu*, *2*(1), 1-17.

Fisberg, M., & Machado, R. (2015). History of yogurt and current patterns of consumption. *Nutrition reviews, 73*(suppl_1), 4-7. Doi: 10.1093/nutrit/nuv020

Frank, G. W. (1991). *Kombucha: healthy beverage and natural remedy from the Far East; its correct preparation and use*. Ennsthaler.

Fu, C., Yan, F., Cao, Z., Xie, F., & Lin, J. (2014). Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, *34*, 123-126. Doi: 10.1590/S0101-20612014005000012

Furuya, H., Shimizu, Y., & Kawamori, T. (2011). Sphingolipids in cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, *30*, 567-576. Doi: 10.1007/s10555-011-9304-1

Gadaga, T. H., Mutukumira, A. N., Narvhus, J. A., & Feresu, S. B. (1999). A review of traditional fermented foods and beverages of Zimbabwe. *International journal of food microbiology*, *53*(1), 1-11. Doi: 10.1016/S0168-1605(99)00154-3

Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2010). Microbial Interactions in Kefir: A natural probiotic drink. In Fernanda Mozzi (Ed.), *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*, *327*. USA: Blackwell.

Gawkowski, D., & Chikindas, M. L. (2013). Non-dairy probiotic beverages: the next step into human health. *Beneficial microbes*, *4*(2), 127-142. Doi: 10.3920/BM2012.0030

Gismondo, M. R., Drago, L., & Lombardi, A. (1998). Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *Antimicrobics and Infectious Diseases Newsletter*, *17*(10), 79. Doi: 10.1016/S0924-8579(99)00050-3

Gobbetti, M., Cagno, R. D., & De Angelis, M. (2010). Functional microorganisms for functional food quality. *Critical reviews in food science and nutrition*, *50*(8), 716-727. Doi: 10.1080/10408398.2010.499770

Goderska, K., Dombhare, K., & Radziejewska-Kubzdela, E. (2022). Evaluation of probiotics in vegetable juices: tomato (Solanum lycopersicum), carrot (*Daucus carota* subsp. *sativus*) and beetroot juice (*Beta vulgaris*). *Archives of Microbiology*, *204*(6), 300. Doi: 10.21203/rs.3.rs-907042/v1

Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A. A., & Bhat, R. (2012). Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, *19*(1).

Gok, I. (2023). Functional potential of several turkish fermented traditional foods: biotic properties, bioactive compounds, and health benefits. *Food Reviews International*, *39*(5), 2568-2593. Doi: 10.1080/87559129.2021.1962340

Gotcheva, V., Pandiella, S. S., Angelov, A., Roshkova, Z. G., & Webb, C. (2000). Microflora identification of the Bulgarian cereal-based fermented beverage boza. *Process Biochemistry*, *36*(1-2), 127-130. Doi: 10.1016/S0032-9592(00)00192-8

Gotcheva, V., Hristozova, E., Hristozova, T., Guo, M., Roshkova, Z., & Angelov, A. (2002). Assessment of potential probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains. *Food Biotechnology*, *16*(3), 211-225. Doi: 10.1081/FBT-120016668

Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. D. A. F., & Shah, N. P. (2010). Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *9*(5), 455-470. Doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x

Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H., & Ledford, R. A. (2000). Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of food protection*, *63*(7), 976-981. Doi: 10.4315/0362-028X-63.7.976

Guérin, D., Vuillemard, J. C., & Subirade, M. (2003). Protection of bifidobacteria encapsulated in polysaccharide-protein gel beads against gastric juice and bile. *Journal of food protection, 66*(11), 2076-2084. Doi: 10.4315/0362-028X-66.11.2076

Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2012). Probiotic fermentation of plant based products: possibilities and opportunities. *Critical reviews in food science and nutrition*, *52*(2), 183-199. Doi: 10.1080/10408398.2010.499779

Hadjimbei, E., Botsaris, G., & Chrysostomou, S. (2022). Beneficial effects of yoghurts and probiotic fermented milks and their functional food potential. *Foods, 11*(17), 2691. Doi: 10.3390/foods11172691

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology.* Doi: 10.1038/nrgastro.2014.66

Hou, Q., Li, C., Liu, Y., Li, W., Chen, Y., Bao, Y., Saqila, W., Zhang, H., Menghe, B., & Sun, Z. (2019). Koumiss consumption modulates gut microbiota, increases plasma high density cholesterol, decreases immunoglobulin G and albumin. *Journal of Functional Foods*, *52*, 469-478. Doi: 10.1016/j.jff.2018.11.023

Ishii, S., HOSINO, B., Komiyama, H., Uehara, A., & NURTAZIN, S. (2014). Study on production and properties of kumiss of herders in Mongolian dry steppe. *砂漠研究*, *24*(1), 195-197.

Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, *109*(1), 227-234. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.037

Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *13*(4), 538-550. Doi: 10.1111/1541-4337.12073

Karatepe P, Yalçın H, Patır B. (2012). Kefir and microbiology of kefir. *Electronic Microbiology Journal, 10*(1):1–10.

Kiray, E. (2016). The Investigation of Some Probiotics Proporties of Lactic Acid Bacteria Izolated from Traditionally Produced Shalgam Juice in Mersin Region. *SCIENTIFIC COMMITTEE*, 29.

Kopeloff, N., & CHENEY, C. O. (1922). Studies On The Therapeutıc Effect Of *Bacillus Acidophilus* Milk And Lactose: Prelımınary Communıcatıon. *Journal of the American Medical Association, 79*(8), 609-611. Doi: 10.1001/jama.1922.02640080011004

Köktaş, T., Ekıncı, F. Y., & Guzel-Seydım, Z. B. (2012). Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2011.00733.x

Kumari VB, C., Huligere, S., MK, J., Goh, K. W., Desai, S. M., HL, K., & Ramu, R. (2024). Characterization of Lactobacillus spp. as Probiotic and Antidiabetic Potential Isolated from Boza, Traditional Fermented Beverage in Turkey. *International Journal of Microbiology*, *2024*(1), 2148676. Doi: 10.1155/2024/2148676

Leite, A. M. D. O., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian journal of microbiology*, *44*, 341-349. Doi: 10.1590/S1517-83822013000200001

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, *15*(2), 67-78. Doi: 10.1016/j.tifs.2003.09.004

Lim, J., Kale, M., Kim, D. H., Kim, H. S., Chon, J. W., Seo, K. H., Song, K. Y., & Kim, H. (2017). Antiobesity effect of exopolysaccharides isolated from kefir grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, *65*(46), 10011-10019. Doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.02.014

Loretan, T., Mostert, J. F., & Viljoen, B. C. (2003). Microbial flora associated with South African household kefir. *South African Journal of Science*, *99*(1), 92-94.

Lv, J. P., & Wang, L. M. (2009). Bioactive components in kefir and koumiss. In Young W. P. (Ed.). *Bioactive components in milk and dairy products*, 251-262. USA. Wiley-Blackwell. Doi: 10.1002/9780813821504

Ma, S., Vidanarachchi, J. K., & Ranadheera, C. S. (2023). Probiotic Fermented Milk. In *Probiotic Foods and Beverages: Technologies and Protocols* (pp. 1-33). New York, NY. Springer US. Doi: 10.1007/978-1-0716-3187-4_1

Madureira, A. R., Amorim, M., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International, 44*(1), 465-470.

Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., & Plessas, S. (2018). Potential of the probiotic *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice. *Foods, 8*(1), 4. Doi: 10.3390/foods8010004

Marco, M. L., Sanders, M. E., Gänzle, M., Arrieta, M. C., Cotter, P. D., De Vuyst, L. Hill, C., Holzapfel, W., Lebeer, S., Merenstein, D., Reid, G., Wolfe, B. E., & Hutkins, R. (2021). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *18*(3), 196-208. Doi: 10.1038/s41575-020-00390-5

Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2013). Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources. *PloS one*, *8*(7), e69371. Doi: 10.1371/journal.pone.0069371

McGee, H., Dorfman, P., Greene, J., & McGee, A. (2004). Fresh fermented milks and creams. *Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen. New York: Scribner,* 44-51.

Mckinley, M. C. (2005). The nutrition and health benefits of yoghurt. *International journal of dairy technology, 58*(1), 1-12. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2005.00180.x

Meybodi, N. M., Nasab, S. S., Khorshidian, N., & Mortazavian, A. M. (2021). Probiotic beverages: Health benefits and current trends in the Middle East. In *Probiotic Beverages* (pp. 99-126). Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-818588-9.00011-5

Minjigdorj, N., Baldorj, O., & Austbø, D. (2012). Chemical composition of Mongolian mare milk. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A–Animal Science*, *62*(2), 66-72. Doi: 10.1080/09064702.2012.720999

Mojikon, F. D., Kasimin, M. E., Molujin, A. M., Gansau, J. A., & Jawan, R. (2022). Probiotication of nutritious fruit and vegetable juices: an alternative to dairy-based probiotic functional products. *Nutrients*, *14*(17), 3457. Doi: 10.3390/nu14173457

Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *Cyta-journal of food*, *15*(4), 601-607 Doi: 10.1080/19476337.2017.1321588

Nomoto, K. (2005). Prevention of infections by probiotics. *Journal of bioscience and bioengineering*, *100*(6), 583-592. Doi: 10.1263/jbb.100.583

Otles, S., & Cagindi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan journal of nutrition*, *2*(2), 54-59.

Patel, A. R. (2017). Probiotic fruit and vegetable juices-recent advances and future perspective. *International Food Research Journal*, *24*(5).

Pereira, A. L. F., & Rodrigues, S. (2018). Turning fruit juice into probiotic beverages. In *Fruit juices* (pp. 279-287). Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-802230-6.00015-1

Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, *41*(2), 111-123. Doi: 10.1016/j.foodres.2007.10.010

Raungrusmee, S., Kumar, S. R., & Anal, A. K. (2022). Probiotic Cereal-based Food and Beverages, their Production and

Health Benefits. P. Panesar & A. Kumar (Eds,). *Probiotics, prebiotics and synbiotics: Technological advancements towards safety and industrial applications*, 186-212. USA. John Wiley & Sons. Doi: 10.1002/9781119702160.ch9

Reddy DC, Rag MR, Reddy CR. (1987). *Indian Journal of Dairy Science, 40*:393: REDFERN.

Robinson, R. K. (Ed.). (2005). *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*. USA. John Wiley & Sons.

Rong, J., Zheng, H., Liu, M., Hu, X., Wang, T., Zhang, X., Jin, F., & Wang, L. (2015). Probiotic and anti-inflammatory attributes of an isolate Lactobacillus helveticus NS8 from Mongolian fermented koumiss. *Bmc Microbiology*, *15*, 1-11. Doi: 10.1186/s12866-015-0525-2

Rong, J., Liu, S., Hu, C., & Liu, C. (2019). Single probiotic supplement suppresses colitis-associated colorectal tumorigenesis by modulating inflammatory development and microbial homeostasis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *34*(7), 1182-1192. Doi: 10.1111/jgh.14516

Sarkar, S. (2007). Potential of kefir as a dietetic beverage–a review. *British Food Journal*, *109*(4), 280-290.

Selvaraj, S., & Gurumurthy, K. (2023). An overview of probiotic health booster-kombucha tea. *Chinese herbal medicines*, *15*(1), 27-32. Doi: 10.1016/j.chmed.2022.06.010

Sengun, I. Y., Yalcin, H. T., Kilic, G., Ozturk, B., Peker, A. K., Terzi, Y., & Atlama, K. (2024). Identification of lactic acid

bacteria found in traditional Shalgam juice using 16S rRNA sequencing and evaluation of their probiotic potential in vitro. *Food Bioscience*, *60*, 104300. Doi: 10.1016/j.fbio.2024.104300

Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International dairy journal*, *17*(11), 1262-1277. Doi: 10.1016/j.idairyj.2007.01.014

Sharifi, M., Moridnia, A., Mortazavi, D., Salehi, M., Bagheri, M., & Sheikhi, A. (2017). Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. *Medical Oncology, 34*, 1-7. Doi: 10.1007/s12032-017-1044-9

Soleman, N., Laferl, H., Kneifel, W., Tucek, G., Budschedl, E., Weber, H., Pichler, H., & Mayer, H. K. (2003). How safe is safe?–A case of Lactobacillus paracasei ssp. paracasei endocarditis and discussion of the safety of lactic acid bacteria. *Scandinavian journal of infectious diseases*, *35*(10), 759-762. Doi: 10.1080/00365540310015872

Soltani, M., Farshadfar, M., Shirvani, H., & Yaghotipoor, A. (2021). Evaluation of the antibacterial effect of a beneficial compound based on the probiotic kombucha and honey. *Honeybee Science Journal*, *11*(21). Doi: 10.22092/hbsj.2021.125166

Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2001). Characterization of antimicrobial activity in Kombucha fermentation. *Acta Biotechnologica*, *21*(1), 49-56. Doi: 10.1002/1521-3846(200102)21:1<49::aid-abio49>3.0.co;2-g

Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their

biogenic metabolites. *Current opinion in biotechnology*, *16*(2), 198-203. Doi: 10.1016/j.copbio.2005.02.008

Svensson, M., Sabharwal, H., Håkansson, A., Mossberg, A. K., Lipniunas, P., Leffler, H., Svanborg, C., & Linse, S. (1999). Molecular characterization of α–lactalbumin folding variants that induce apoptosis in tumor cells. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(10), 6388-6396.

Tannock, G. W., Munro, K., Harmsen, H. J. M., Welling, G. W., Smart, J., & Gopal, P. K. (2000). Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. *Applied and environmental microbiology, 66*(6), 2578-2588. Doi: 10.1128/AEM.66.6.2578-2588.2000

Taş, T. K., Ekinci, F. Y., & Guzel-Seydim, Z. B. (2012). Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR. *International Journal of Dairy Technology*, *65*(1), 126-131. Doi: 10.1111/j.1471-0307.2011.00733.x

Teoh, A. L., Heard, G., & Cox, J. (2004). Yeast ecology of Kombucha fermentation. *International journal of food microbiology*, *95*(2), 119-126. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.020

Tesfaye, W., Suarez-Lepe, J. A., Loira, I., Palomero, F., & Morata, A. (2019). Dairy and nondairy-based beverages as a vehicle for probiotics, prebiotics, and symbiotics: Alternatives to health versus disease binomial approach through food. In *Milk-based beverages* (pp. 473-520). Cambridge. Woodhead Publishing. Doi: 10.1016/B978-0-12-815504-2.00014-1

Todorov, S. D., Botes, M., Guigas, C., Schillinger, U., Wiid, I., Wachsman, M. B., Holzaphel, W. H ., & Dicks, L. M. T. (2008). Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, *104*(2), 465-477. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03558.x

Turan I, Ilter T. (2007). Kefir, from the Caucasus Mountains to present day. *Current Gastroenterology,11*(2):65–75.

Uniacke-Lowe, T., Huppertz, T., & Fox, P. F. (2010). Equine milk proteins: chemistry, structure and nutritional significance. *International Dairy Journal*, *20*(9), 609-629. Doi: 10.1016/j.idairyj.2010.02.007

Vázquez-Cabral, B. D., Larrosa-Pérez, M., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., González-Laredo, R. F., Rutiaga-Quiñones, J. G., Rutiaga-Quiñones, J. G., Gamboa-Gómez, C. I., & Rocha-Guzmán, N. E. (2017). Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. *Chemico-Biological Interactions*, *272*, 1-9. Doi: 10.1016/j.cbi.2017.05.001

Vijaya Kumar, B., Vijayendra, S. V. N., & Reddy, O. V. S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products-a review. *Journal of food science and technology*, *52*, 6112-6124.

Vinderola, C. G., Bailo, N., & Reinheimer, J. A. (2000). Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Research International*, *33*(2), 97-102. Doi: 10.1016/S0963-9969(00)00011-9

Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of

probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International, 36*(9-10), 895-904. Doi: 10.1016/S0963-9969(03)00098-X

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: a review. *Journal of food science*, *83*(3), 580-588. Doi: 10.1111/1750-3841.14068

Walsh, A. M., Crispie, F., Kilcawley, K., O'Sullivan, O., O'Sullivan, M. G., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2016). Microbial succession and flavor production in the fermented dairy beverage kefir. *Msystems*, *1*(5), 10-1128. Doi: 10.1128/msystems.00052-16

Watanabe, K., Fujimoto, J., Sasamoto, M., Dugersuren, J., Tumursuh, T., & Demberel, S. (2008). Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in Airag and Tarag, traditional fermented milk products of Mongolia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *24*, 1313-1325. Doi: 10.1007/s11274-007-9604-3

Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U., & Munasinghe, M. A. D. D. (2014). The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications, 4*(4), 1-10.

Witthuhn, R. C., Schoeman, T., & Britz, T. J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International dairy journal*, *15*(4), 383-389. Doi: 10.1016/j.idairyj.2004.07.016

Zamberi, N. R., Abu, N., Mohamed, N. E., Nordin, N., Keong, Y. S., Beh, B. K., Zakaria, Z.A., Nik Abdul Rahman, N.M., &

Alitheen, N. B. (2016). The antimetastatic and antiangiogenesis effects of kefir water on murine breast cancer cells. *Integrative cancer therapies*, *15*(4), NP53-NP66. Doi: 10.1177/1534735416642

Zeisel, S. H. (1999). Regulation of" nutraceuticals". *Science, 285*(5435), 1853-1855. Doi: 10.1126/science.285.5435.1853

Yardımcı, H.; Özfer Özçelik, A.; Özçelik, F.A. Special Drink: Turnip juice and its effects on health. In Proceedings of the 3rd International Symposium on "*Traditional Foods from Adriatic to Caucasus*", Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 1–4 October 2015; p. 577.

Yetiman, A. E., Keskin, A., Darendeli, B. N., Kotil, S. E., Ortakci, F., & Dogan, M. (2022). Characterization of genomic, physiological, and probiotic features *Lactiplantibacillus plantarum* DY46 strain isolated from traditional lactic acid fermented shalgam beverage. *Food Bioscience*, *46*, 101499. Doi: 10.1016/j.fbio.2021.101499

Yetiman, A. E., & Ortakci, F. (2023). Genomic, probiotic, and metabolic potentials of *Liquorilactobacillus nagelii* AGA58, a novel bacteriocinogenic motile strain isolated from lactic acid-fermented shalgam. *Journal of bioscience and bioengineering* , *135*(1), 34-43. Doi: 10.1016/j.jbiosc.2022.10.008

Zamberi, N. R., Abu, N., Mohamed, N. E., Nordin, N., Keong, Y. S., Beh, B. K., Zakaria, Z. A. B., Rahman, N. M. A. N. A., & Alitheen, N. B. (2016). The antimetastatic and antiangiogenesis effects of kefir water on murine breast cancer cells. *Integrative*

Cancer Therapies, *15*(4), NP53-NP66. Doi: 10.1177/15347354166428

Žuntar, I., Petric, Z., Bursać Kovačević, D., & Putnik, P. (2020). Safety of probiotics: functional fruit beverages and nutraceuticals. *Foods*, *9*(7), 947. Doi: 10.3390/foods9070947

Zweers, S. K. T., & Vene, K. (2021). Odour-active compounds in homemade Kvass. *EC Nutrition*, *16*, 59-73.

BIDGE