

Biyoloji Alanında Özgün Bilimsel Konular 2

Editör
ALİ BİLGİLİ



BİDGE Yayınları

Biyoloji Alanında Özgün Bilimsel Konular 2

Editör: ALİ BİLGİLİ

ISBN: 978-625-8567-50-2

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 2025-12-25

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

Ciğerotu-rotifer ilişkisi, pasif bir barınma ortaklığının çok ötesine geçerek, ekosistem mühendisliği boyutuna ulaşan bir etkileşimdir. Bu kapsamda bitkiler aleminin karasal öncüleri olan ciğerotları (*Marchantiophyta*) ile mikroskobik hayvanlar aleminin fırsatçı üyeleri rotiferlerin (*Rotifera*) oluşturduğu ve literatürde "briyosfer" olarak tanımlanan özelleşmiş mikro habitatın işleyişine yönelik önemli açıklamalara yer verildi.

Bu bölümde yapılan çalışma ile ülkemize ait beş makrofungusun optimum gelişim koşulları saptandı. Ayrıca kültürü yapılan bir makrofungusun da hasat dönemine göre sap ve şapka örneklerinin kuru madde ve ham lif miktarları değerlendirildi.

RNA moleküllerinin DNA onarımındaki rolü, son yıllarda önemli ölçüde aydınlatılmış olsa da birçok temel soru hala cevaplanmamıştır. Bu bağlamda DNA onarımında RNA'ların rolü üzerine özgün bilimsel çalışmalardan bilgiler aktarıldı.

Hücre döngüsü biyolojisi, kanser araştırmalarının geleceğini şekillendiren en güçlü kavramsal ve deneysel temellerden biridir. Hücre döngüsünün moleküler düzeyde anlaşılması, kanserin erken teşhisinden kişiye özel tedavilere kadar pek çok klinik uygulamaya kapı aralamaktadır. Gelecekte yapılacak araştırmalar, hücre döngüsünün yalnızca hücre çoğalmasını düzenleyen bir mekanizma olmadığını; aynı zamanda hücre kimliğinin, çevresel uyumun ve evrimsel esnekliğin temel belirleyicilerinden biri olduğunu gösterecektir.

Salvia sclarea L., uçucu yağ üreten ve farklı morfolojik yapılarla sahiptir. Bu çalışma kapsamında *Salvia sclarea* L. türünün uçucu yağ kompozisyonunun iki yıllık sonuçlarına göre ekolojik faktörlere bağlı olarak uçucu yağlarına yönelik olarak önemli bilgiler değerlendirildi.

Bu bölümde *Galleria mellonella* larvalarında beslenme temelli demir oksit nanopartiküllerinin protein, karbonhidrat ve lipit miktarı üzerindeki etkileri kapsamlı şekilde incelendi.

Deneyler, öğrencilerin solunum konusunu ve temel kavramları anlamalarına yardımcı olmaya odaklandı. Bu kapsamda evde yapılabilecek hücresel solunum deneyleri ile ilgili olarak özgün bilgiler açıklandı.

Hücre kültürünün sınıflandırılması, kullanım alanları, avantaj ve dezavantajları, temel aşamalarına yönelik olarak detaylı bilgiler verildi.

Prof. Dr. ALİ BİLGİLİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

DNA TAMİRİNDE RNA'LARIN ROLÜ ÜZERİNE BİR İNCELEME	1
--	---

FATMA ZİLİFDAR FOTO

HÜCRE DÖNGÜSÜNÜN DÜZENLENMESİ, BOZULMASI VE KANSERLEŞME SÜRECİNDE HÜCRESEL DİNAMİKLER	19
---	----

GİZEM AKMAN

HÜCRE KÜLTÜRÜ	38
---------------------	----

BERRİN ÜSTÜNDAĞ

ÇEVRESEL DEĞİŞKENLERİN BAZI MAKROFUNGUSLARDA HİF GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE HAM LİF MİKTARLARININ BELİRLENMESİ	50
---	----

FATİH KALYONCU, ERBİL KALMIŞ, DİLEK ŞEKER, GUNAY GASIMOVA

GALLERİA MELLONELLA LARVALARINDA BESLENME TEMELLİ (FORCE FEEDING) DEMİR OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN PROTEİN, KARBONHİDRAT VE LİPİT MİKTARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ	61
---	----

MUSTAFA COŞKUN, MEHMET SERTBAŞ

BRİYOSFER BİYOREAKTÖRÜ: CİĞEROTLARI (MARCHANTİOPHYTA) VE ROTİFERLER (ROTİFERA) ARASINDAKİ EKOLOJİK VE EVRİMSEL ORTAKLIK	79
---	----

ÖZCAN ŞİMŞEK

(SALVIA SPP.) TÜRLERİNDEN (SALVIA SCLAREA L.) TÜRÜNÜN UÇUCU YAĞ KOMPOZİSYONUN ÇEVRE ETKİLEŞİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI	105
--	-----

HASAN BASRİ KARAYEL, HASAN BASRİ KARAYEL

EVDE YAPILABİLECEK HÜCRESEL SOLUNUM DENEYLERİ	121
--	-----

FATİH SEZEK, KEMAL DOYMUŞ

BÖLÜM 1

DNA TAMİRİNDE RNA'LARIN ROLÜ ÜZERİNE BİR İNCELEME

Fatma ZİLİFDAR FOTO¹

Giriş

Hücreler, özellikle günümüzdeki teknolojik gelişmeler de göz önüne alındığında genom bütünlüğünü tehdit eden iç ve dış tehditler ile karşı karşıyadır. İnsan hücrelerinde her gün binlerce DNA lezyonu olduğu tahmin edilmektedir (Lindahl, 1993). Eğer metabolizmamız bu hasarları önleyecek ve oluştuğunda düzeltecek sistemlere sahip olmasaydı hücrelerin yaşam sürelerinin dramatik olarak azalacağı muhakkaktır. Çünkü DNA hasarları eğer onarılmazsa mutasyonlara ve kromozomal hasarlara dönüşür. Sonuçta da kanser, yaşlanma veya nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojilere yol açabilmektedir. Genom kararlılığının sürdürülmesi, DNA hasar yanıtı (DNA Damage Response, DDR) olarak bilinen karmaşık bir sinyal ağıyla sağlanır. DDR genel olarak birbirini takip eden hasarın algılanması, hücre döngüsünün durdurulması, uygun onarım yolunun seçilmesi ve onarım tamamlandıktan sonra da

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Selçuk Üniversitesi, Biyokimya Bölümü, Orcid: 0000-00027161-5286

hücrel homeostazın yeniden kurulması süreçlerini içerir (Jackson & Bartek, 2009)

Canlıdan canlıya çeşitlenmekle birlikte genel olarak hasarın türüne göre özelleşmiş DNA onarım mekanizmaları mevcuttur. Temel olarak DNA'daki anormal bazların giderilmesinde **baz eksizyon onarımı (BER)**, birden fazla bazın işe karıştığı daha büyük lezyonların onrılmasında **nükleotid eksizyon onarımı (NER)**, bazlardaki yanlış eşleşmelerde **yanlış eşleşmiş baz onarımı (MMR)**, çift zincir kırıklarında ise replikasyon sonrası onarım mekanizmaları olarak bilinen **homolog rekombinasyon (HR)** ve **homolog olmayan uç bağlanması (NHEJ)** yolları görev alır. Bunlar temel mekanizmalar olup bakterilerdeki SOS onarımı gibi ya da doğrudan onarım sistemleri gibi başka yollar da mevcuttur (Ciccia & Elledge, 2010). Tüm bu yollar incelendiğinde genellikle birden fazla protein ve enzimin işe karıştığı çok basamaklı sistemlerden söz edilmektedir. Ancak son yıllarda RNA moleküllerinin de bu sistemler içinde kritik roller üstlendiği düşünülmektedir. Enzimatik etki gösteren RNA molekülleri olan ribozimlerin ve küçük kodlanmayan RNA'ların keşfi bu düşüncenin çıkış noktasıdır. Özellikle transkripsiyonla ilişkili onarım, RNA-DNA hibrit yapılar (R-loop'lar) ve uzun kodlamayan RNA'ların (lncRNA) DNA hasar bölgelerinde lokalize olması gibi gözlemler RNA'nın onarım süreçlerine aktif biçimde katıldığını ortaya koymaktadır (Michelini ve ark., 2017). Bu bulgular, RNA'nın yalnızca genetik bilginin geçici taşıyıcısı değil, aynı zamanda genom stabilitesinin korunmasında dinamik bir düzenleyici olduğunu göstermektedir.

Bu bölüm kapsamında DNA onarım süreçlerinde devreye giren özel RNA moleküllerinin yapıları, görevleri ve DNA onarım sistemlerini anlamamızdaki rolleri üzerine odaklanılacaktır.

DNA onarımında görevli RNA Türleri

Hücrede sentezlenen neredeyse tüm RNA tipleri dolaylı ya da doğrudan DNA onarımına katkıda bulunabilir. Bunlar arasından kodlayıcı RNA olarak bilinen mRNA, küçük non-coding RNA'ların (sncRNA) ve uzun non-coding RNAların (lncRNA) bazı grupları özellikle hasarın algılanması ve hasar yanıtının regüle edilmesinde katkı sağlarlar.

Mesajcı RNA (mRNA)

Genetiğin merkezine yer alan santral dogmada mRNA, genetik bilginin DNA'dan ribozomlara taşınmasında görev alan bir aracı molekül olarak tanımlanmaktadır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, mRNA'nın yalnızca pasif bir bilgi taşıyıcısı olmadığını, DNA hasar yanıtı ve onarım süreçlerinde dolaylı da olsa düzenleyici bir role sahip olabileceğini göstermektedir.

NER sisteminin bir alt tipi olan **transkripsiyonla ilişkili onarım (Transcription-Coupled Repair, TCR)** mekanizması transkripsiyon sırasında devreye girer ve mRNA senteziyle doğrudan bağlantılıdır. RNA polimeraz, DNA üzerinde ilerlerken hasar görmüş bazlara rastladığında duraklar ve bu duraklama, bazı proteinlerinin hasar bölgesine toplanmasını tetikler (Hanawalt, 2002). Bu süreçte mRNA sentezi, DNA hasarının algılanmasını ve onarımın başlatılmasını sağlayan bir "algılayıcı mekanizma" olarak işlev görür. Hasar onarılma sürecinde ya sentez kısa bir süre duraklar ya onarım sonrası yeniden başlar ya da lezyon atlanarak transkripsiyon devam ederken lezyon onarılır (Gaillard & Aguilera, 2013).

Buna ek olarak, DNA hasarı sonrasında mRNA işlenmesi, taşınması ve stabilitesi de onarım süreçlerini etkileyebilir. DNA hasar yanıtı sırasında mRNA splay ve translasyon mekanizmaları yeniden düzenlenir; bu, özellikle DNA onarım genlerinin seçici olarak stabilize edilmesi veya translasyonunun artırılması yoluyla

DDR'nin güçlenmesine katkıda bulunur (Boucas ve ark., 2012). Bazı onarım genlerinin mRNA'ları DNA hasarına yanıt olarak alternatif splay ile farklı izoformlar oluşturur; bu da onarım yolunun seçimini etkileyebilir (Shkreta & Chabot, 2015). mRNA'nın daha etkin olduğu RNA-kalıplı DNA onarım mekanizmasında ise mRNA transkriptleri DNA onarımında kalıp olarak kullanılabilir. Burada hasarlı DNA bölgelerine karşılık gelen mRNA transkriptleri onarım için kullanılır. Bu mekanizma, özellikle homolog rekombinasyonun sınırlı olduğu hücrelerde alternatif bir onarım yolu olarak işlev görebilir (Keskin ve ark., 2014).

Kodlanmayan RNA'lar (ncRNA'lar)

İnsan genom projesinin sonuçlarına göre genomun %98'e kadarının protein kodlamadığı ortaya çıkmıştır. İşe yaramaz gibi görülen bu bölümün çoğunun günümüzde tekrar bölgeleri ve ncRNA'lerden oluştuğu ortaya çıkmıştır. ncRNA'lar uzunluklarına, biyogenezlerine, polaritelerine ve varsayılan işlevlerine göre birkaç sınıfa ayrılmasına rağmen temel sınıflandırma kriteri boyuttur: uzun ncRNA'lar tipik olarak 200 nt den büyükken, küçük ncRNA'lar daha uzun öncüllerden işlenerek küçülürler. Genetik regülasyonda işe karışan bu RNA'lar, hücrenin hayatta kalması ve tümör oluşumunun önlenmesi için gerekli olan genomik stabilitenin korunmasında da önemli bir rol oynarlar (Kung, Colognori, & Lee, 2013).

MikroRNA'lar (miRNA)

miRNA'lar, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda, gen ifadesini post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyen küçük RNA molekülleridir. miRNA'lar, hedef mRNA'ların 3'-UTR bölgelerine bağlanarak translasyonu baskılayarak veya mRNA'ları yıkıma uğratarak fonksiyon gösterirler. Genel olarak miRNA'lar, DNA onarımında iki ana mekanizma üzerinden işlev görür: Birincisi onarım genlerinin ekspresyonunun baskılanmasına neden olmasıdır. DNA hasarı meydana geldiğinde, hücredeki miRNA profili buna

uyum sağlayacak şekilde değişir. Bu farklılaşma, DNA onarım genlerinin aktivitesini yeniden düzenleyerek hücrenin hasara yanıtını şekillendirir. Bu durumda hasara göre hangi onarım sisteminin aktive olacağı ve diğer hangi hücresel süreçlerin modüle edileceği düzenlenmiş olur. İkincisi ise hasar durumunda DICER ve DROSHA kaynaklı miRNA gibi küçük RNA’ların DNA onarım komplekslerinin hasar bölgesine yönlendirilmesinde görev almasıdır (Francia ve ark., 2012; Visser & Thomas, 2021; Wan, Mathur, Hu, Zhang, & Lu, 2011).

Küçük interferenz RNA’lar (siRNAlar)

siRNAlar gen ifadesini baskılayabilen, genellikle 21–23 nükleotid uzunluğunda çift iplikli RNA molekülleridir ve miRNAlar gibi işlemden geçtikten sonra aktif formlarına ulaşırlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, siRNAların klasik gen susturma işlevlerinin ötesinde, özellikle DNA ift zincir kırıklarının (DSB) onarımı ve hasar yanıtı mekanizmalarında da rol oynayabileceğini göstermiştir. siRNA’lar miRNAların DNA onarımındaki rolünde bahsedilen 2 mekanizma üzerinden benzer etkiler gösterebilmekle birlikte transkripsiyonel susturma mekanizmaları yoluyla genom stabilitesinin korunmasına da katkı sağlar. Özellikle heterokromatin bölgelerinde, siRNA’lar kromatin metiltransferazlar ve histon modifikasyon enzimleriyle etkileşerek DNA hasar bölgelerinde epigenetik yeniden yapılanmayı düzenler Bu süreç, DNA onarım proteinlerinin hasar bölgesine erişimini kolaylaştıran bir platform sunar. Bu yönleriyle siRNA’lar, RNA temelli genom stabilite kontrolünün önemli bir bileşenini oluştırmakta ve DNA onarım araştırmalarında giderek daha fazla ilgi görmektedir (Castel & Martienssen, 2013; Francia ve ark., 2012; Ortega, Mrida-Cerro, Rondon, Gomez-Gonzalez, & Aguilera, 2021).

PIWI-etkileşimli RNA’lar (piRNA’lar)

PiRNA'lar, hayvan hücrelerinde ifade edilen küçük ncRNA moleküllerinin en büyük sınıfıdır. Bunlar, daha büyük olmaları (26-31 nt), dizi korunumundan yoksun olmaları ve daha karmaşık olmaları bakımından miRNA'lardan ayrılır. piRNA'lar, esas olarak **transpozon sessizleştirilmesi** ile ilişkilendirilmiş moleküllerdir. Transpozon kökenli dizilerin susturulmasındaki rolü özellikle germ hücrelerinde DNA kırıklarının ve mutasyonların önlenmesi açısından kritik öneme sahiptir (Siomi, Sato, Pezic, & Aravin, 2011; Wan, Liu, Han, Zhang, & Lu, 2014). Bunun yanı sıra, bazı çalışmalar piRNAların doğrudan DNA hasar yanıtı (DDR) ve onarım süreçlerine DNA onarım genlerinin epigenetik regülasyonuna katkıda bulunacak şekilde kromozom yeniden yapılanmasını teşvik ederek katıldığını göstermektedir (Abomalawa ve ark., 2025; Fang, Wang, Bracht, Nowacki, & Landweber, 2012).

Uzun Kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar)

lncRNA'lar, 200 nükleotidden büyük, ncRNA molekülleridir. Genel olarak genetik regülasyonda işe karışan bu RNA grubunun genom bütünlüğünün korunmasında da önemli düzenleyici roller üstlendiği bilinir. Bir lncRNA olan NORAD (Noncoding RNA Activated by DNA Damage), DNA replikasyon ve onarım genlerinin mRNA'larının aşırı baskılanmasını önleyerek genom stabilitesinin korunmasında kritik bir rol oynar (Lee ve ark., 2016). lncRNA'lar DNA onarımında hem transkripsiyonel düzeyde gen ekspresyonunu düzenleyerek hem de lokal düzeyde onarım proteinlerini DNA kırık bölgelerine yönlendirerek işlev görebilirler. DNA hasarı meydana geldiğinde **hasarla indüklenen lncRNA (dilncRNA)** olarak adlandırılan bazı lncRNA'lar doğrudan DNA kırık bölgelerinde sentezlenir. Bu RNA'lar, DICER/DROSHA aracılığıyla işlenerek **hasarla indüklenen small RNA'lar (diRNA)** oluşturabilir ve DNA onarım komplekslerinin hasar bölgelerine toplanmasına aracılık eder (Michelini ve ark., 2017). Buna ek olarak, belirli lncRNA'lar DNA onarım proteinleriyle doğrudan etkileşerek

onarımına özgü komplekslerin kurulmasını kolaylaştırır. DNA hasarına yanıt olarak p53 ile aktifleşen bazı lncRNA'lar ise, hücre döngüsü duraklaması ve onarım gen ekspresyonunun yeniden düzenlenmesi süreçlerinde rol oynar (Schmitt ve ark., 2016).

RNA-Aracılı DNA Onarım Mekanizmaları

Çift zincir kırıklarının (DSB) Onarımında RNA'ların rolü

DSB, hücre için en tehlikeli DNA hasarları arasında yer alır. Bu tip hasarlar tamir edilmediğinde genom bütünlüğü için önemli bir tehditken, hatalı tamir edildiğinde de kromozom yeniden düzenlenmelerine sebep olabilir ki bu durum kanser gelişiminin temel yollarından biridir. Çift zincir kırıklarının onarımı için hücrede birkaç farklı onarım sistemi kullanılabilir: (i) homolog rekombinasyon (HR), (ii) homolog olmayan uç birleşmesi (NHEJ), (iii) tek zincir uzaması (SSA) (Yang & Qi, 2015).

HR onarımı hücrenin yalnızca kardeş kromatitlerin mevcut olduğu S ve G2 fazlarında aktif olan en az düzeyde hata oranı ile çalışan bir sistemdir. Sistem kırık bölgesinin hata bulunmayan homolog DNA kalıbı ile düzeltilmesi esasına dayanır. Diğer iki sistem olan NHEJ ve SSA onarım yollarının her ikisi de hataya meyilli olarak çalışır. NHEJ hücrenin G1 fazında baskınken tüm fazlarda aktif ve hızlı çalışan sistemdir. Onarım için HR'de olduğu gibi bir kalıba ihtiyaç duymaz ve kırık uçları doğrudan birleştirir. SSA ise HR'a alternatif bir yol olarak kabul edilir. Kırığın iki yanında uzun homolog tekrarlar varsa çalışır. Uçlar işlenip tekrar bölgeleri eşleştikten sonra aradaki DNA silinir ve ligasyon ile kırık onarılmış olur. Bu 3 yolda da kırık bölgelerin tanınmasından onarılmaya kadar olan süreçte RNA'ların düzenleyici rolü söz konusudur (Chapman, Taylor, & Boulton, 2012; Scully, Panday, Elango, & Willis, 2019).

lncRNA ve miRNA'lar, HR'de önemli düzenleyici moleküllerdir. Son çalışmalar, DSB oluşumunun birden fazla

miRNA'nın ifade seviyelerinde bir kaymaya neden olduğunu göstermiş ve miRNA'lar başta olmak üzere çeşitli RNA'ların, DNA hasarı yanıtının başlatılmasını bu yolla düzenlediği ileri sürülmüştür. miRNA'lar, hem H2A histon ailesi üyesi X'in (H2AX) mRNA seviyesini hem de protein kinazların ekspresyonunu kontrol ederek histon fosforilasyon sürecini ve dolayısıyla hasar onarımı için gerekli kromozom regulasyonunu etkiler. PCAT1 adlı lncRNA, BRCA2 proteininin düzeyini düşürerek homolog rekombinasyon verimliliğini etkiler. miR-223, PARP1 gen ekspresyonunu azaltarak tamir yeteneğini modüle eder. Yine miR-1255b, miR-193b, miR-148b gibi miRNA'lar, BRCA1, BRCA2, RAD51 gibi HR için kritik proteinlerin ifadesini baskılayarak tamir dengelerini etkileyebilir. LncRNA'lar bazı durumlarda doğrudan tamir proteinlerine bağlanır: örneğin HITT lncRNA'sı ATM kinazına bağlanarak HR sürecini negatif düzenleyebilir. Bazı organizmalarda (örneğin mayalarda) lncRNA'lar homolog bölgelerin eşleşmesini kolaylaştırarak HR'nin yönünü belirleyebilir (Du ve ark., 2024; Prensner ve ark., 2014).

miRNA ve lncRNAlar dışında DSB onarımı sırasında devreye giren 3 düzenleyici özel RNA tipi daha mevcuttur: hasar kaynaklı uzun kodlamayan RNA'lar (dilncRNA'lar), DNA hasarı cevap RNA'ları (DDRNA'lar) ve DSB indüklü siRNAlar (diRNA'lar) (Rzeszutek & Betlej, 2020). DNA kırılması meydana geldiğinde, hasar bölgelerindeki transkripsiyon, transkripsiyon ve onarım mekanizmaları arasındaki çatışmaları önlemek ve genom yeniden düzenlenmesini ve tümör oluşumunu önlemek için durur. Hasarlı bölgedeki yeniden modellenmiş ve yoğunlaştırılmış kromatin, transkripsiyonel lokuslardakine benzer ve hasarlı bölgede küçük RNA'lar üretilir. RNA Pol II DSB bölgesinde birikir ve kırık uçlardan transkripsiyonu başlatarak dilncRNA'lar üretirler. dilncRNA'lar tamir proteinlerinin kırık bölgesine bağlanmasını kolaylaştırırken, kromatin açılması, tamir kompleksi oluşumu ve onarım yolunun seçimi üzerinde de etkilidir. dilncRNA'lar kendileri

etkili oldukları gibi DROSHA ve DICER ile işlendikten sonra DDRNA'ların üretiminde de öncül olarak kullanılabilirler. 20-30 nükleotid uzunluğunda olabilen DDRNA'lar, NHEJ ve HR sistemlerinde DNA hasar bölgesinin “biyokimyasal işaretleri” gibi davranarak kromatin yeniden şekillenmesine ve tamir proteinlerinin doğru yere yönlendirilmesine yardımcı olur (Esposito ve ark., 2025).

diRNA'lar ise özellikle bitkiler ve bazı canlı gruplarında DSB bölgelerinde üretilen ve siRNA benzeri işlevler gösteren RNA'lardır. Genellikle DSB yakınındaki transkriptlerden ya da RNA polimerazlar tarafından sentezlenen RNA'lardan siRNA benzeri işleme basamakları ile türetilirler. Bitkilerde ve bazı türlerde, Argonaute proteinlerini hasar bölgesine yönlendirerek hasar sinyalinin kurulmasına ve kromatin modifikasyonlarının yapılmasına destek olurlar (Hawley, Lu, Wilczynska, & Bushell, 2017).

RNA-kalıplı DNA Onarımı

Geleneksel olarak, DNA hasarı tamirinde kullanılan kalıp DNA'nın kendisidir. Ancak son yıllarda artan kanıtlar, özellikle hasar bölgesine yakın veya hasar sonrası üretilen RNA'ların doğrudan tamir şablonu olarak işlev görebileceğini göstermektedir (Storici, Bebenek, Kunkel, Gordenin, & Resnick, 2007). DNA ipliğinde kayıp veya kırık bölgeler, ilgili RNA transkriptleri kullanılarak doğru dizilerle yeniden sentezlenebilir. Bu RNA-templated repair mekanizması, özellikle homoloji temelli onarımda (homolog rekombinasyon) etkili olup, genetik değişiklikleri azaltarak genom kararlılığını sağlar (Keskin ve ark., 2014).

Araştırmalar, hem RNA içeren oligonükleotid şablonların hem de tam uzunlukta mRNA'ların bu amaçla kullanılabildiğini göstermektedir. Bu süreçte Pol ζ , ters transkriptaz benzeri aktivite göstererek RNA dizilimini DNA'ya kopyalayabilir. Bu yol, özellikle transkripsiyon düzeyi yüksek genlerde ve homolog DNA

şablonunun olmadığı durumlarda hatayı azaltmak için alternatif bir tamir mekanizması olarak önemlidir (Jalan ve ark., 2025). Yine Pol η, transkripsiyon-bağımlı klasik NHEJ (TC-NHEJ) yoluyla, yeni sentezlenen RNA'dan DNA sentezi yaparak hatasız bir şekilde kırık bölgesini onarabilir. Bu sırada Pol η, RNA Pol II ve NHEJ faktörleriyle oluşturduğu çoklu protein kompleksi ve tamir substratı olarak kullanılan RNA ile doğrudan etkileşim kurmaktadır (Chakraborty ve ark., 2023).

Daha spesifik bir başka mekanizma da “RNA-aracılı DNA baz hasarı tamiri”dir. Bir RNA molekülü, hasar görmüş DNA dizilimine baz düzeyinde yön verir ve DNA polimerazlar bu RNA'ya dayanarak DNA sentezi yapar. Bu süreçte DNA polimerazları, RNA şablonu boyunca küçük kesik noktalarında sentez ve yer değiştirme (nick translation) olayı ile yeni DNA zinciri oluşturur ve bu yeni zincir ligaz ile bağlanır (Tsegay ve ark., 2023).

RNA-DNA Hibritleri (R-loop) ile Hasar İşaretlemesi

R-loop'lar, RNA-DNA hibritleri ve tek iplikli DNA bölgelerinden oluşan yapılardır. Transkripsiyon sırasında, RNA Pol II'nin gerisinden çıkan yeni transkript, DNA ile hibrit oluşturabilir ve böylece klasik sarmalın bozulduğu bu üçlü yapı meydana gelir (Murashko ve ark., 2021). Düzensiz ya da fazla R-loop birikimi, tamir sistemlerini zorlayıp, mutajenik olaylara yol açabilirken, kontrollü R-loop oluşumu tamir faktörlerini doğru bölgelere çekerek genom stabilitesi için faydalı bir mekanizma oluşturabilir. Özellikle DSB'da hasarlı DNA bölgelerinin işaretlenmesine yardımcı olur ve onarım proteinlerinin lokalizasyonunu kolaylaştırmaları önemlidir. DSB hasarı özellikle aktif olarak transkribe edilen bölgelerde ise R-loop bu alanlarda birikir ve bölgeye RAD52, XPG gibi tamir proteinlerini çeker. R-loop üzerindeki RNA moleküllerinin modifikasyonu da tamiri etkiler: Örneğin, R-loop'taki RNA'nın m6A metilasyonu, HR faktörlerinin (BRCA1, RAD51) bölgeye

toplanmasını düzenler (Lim ve ark., 2023). R-loop'ların oluşumundan sonra ortadan kaldırılması RNaz H1 ve H2 gibi enzimler yardımıyla R-loop-bağlayan proteinlerin rehberliğinde gerçekleştirilmektedir. R-loop'ların ortadan kaldırılması, tamir yolları yanlış seçilebilmesi veya hasarın tekrarlanabilmesi açısından kritiktir (Marnef & Legube, 2021).

RNA modifikasyonlarının DNA onarımına katkısı

Şimdiye kadar 100'den fazla RNA modifikasyonu tanımlanmış olup rRNA ve tRNA üzerindeki modifikasyonlar uzun zamandır bilinmektedir. Ancak son yıllarda regülasyonla ilişkili ncRNAlar üzerindeki modifikasyonlar ve regülasyondaki rolleri üzerine çalışmalar da yapılmaktadır. 6-metiladenozin (m6A), N1-metiladenozin (m1A), 5-metilsitozin (m5C), iç 7-metilguanozin (m7G), 2'-O-metilasyon (2'-OMe) ve psödouridin (ψ) en yaygın olanlardır. Bu modifikasyonlar, RNA'nın stabilitesi, translasyon verimliliği, splays ve hücrel stres yanıtı gibi süreçleri düzenler (Jimeno, Balestra, & Huertas, 2021).

DNA hasar yanıtıyla en çok ilişkilendirilen ve üzerinde en çok çalışılan RNA modifikasyonu m⁶A'dır. Çift zincir kırıkları (DSB) ve replikasyon stresi gibi DNA hasarlarında, METTL3 hızla hasar bölgelerine lokalize olur ve bu bölgede RNA moleküllerine m⁶A ekler Bu lokal m⁶A işaretleri, YTHDC1 ve diğer m⁶A bağlayıcı proteinler tarafından tanınarak onarım komplekslerinin DSB bölgelerine yönlendirilmesini kolaylaştırır ve özellikle HR yolunun etkinliğini artırır. m⁶A işaretli RNA, kromatin yapısını geçici olarak gevşeterek onarım proteinlerinin DNA'ya erişimini kolaylaştırır ve aynı zamanda DNA-RNA hibritleri üzerinde de etkili olarak replikasyon çakışmalarını önler. Ayrıca, m⁶A DDR genlerinin mRNA stabilitesini ve translasyon verimliliğini artırarak ATM, ATR, BRCA1 gibi kritik onarım proteinlerinin üretimini destekler. Bu mekanizmalar sayesinde m⁶A modifikasyonu, DNA hasar yanıtının

doğruluğunu ve hızını optimize eder (Qu & Liu, 2025; Wilkinson, Cui, & He, 2022).

5-metilsitozin (m^5C) ve pseudouridin (Ψ) modifikasyonları da RNA'nın yapısal stabilitesini ve transkripsiyon verimliliğini artırarak DNA onarım süreçlerinde kritik roller oynar. m^5C , özellikle NSUN ailesi ve DNMT2 tarafından tRNA ve mRNA'ya eklenir ve bu modifikasyon, RNA stabilitesini ve transkripsiyon doğruluğunu artırarak onarım genlerinin etkin biçimde ifade edilmesini sağlar. Pseudouridin (Ψ) ise PUS enzimleri tarafından RNA'ya eklenir ve özellikle stres koşullarında ribozom doğruluğunu ve transkripsiyon verimliliğini optimize ederek hatalı protein üretiminin neden olabileceği DNA hasarını azaltır. Ψ modifikasyonları, tRNA ve rRNA'da yapısal stabilite sağlayarak DNA onarım proteinlerinin doğru sentezlenmesine dolaylı katkıda bulunur. Bu iki modifikasyon, RNA'nın hem yapısal bütünlüğünü hem de fonksiyonel kapasitesini artırarak DNA onarım yollarının etkinliğini destekler ve genomik bütünlüğün korunmasında tamamlayıcı roller üstlenir (Guzzi ve ark., 2018).

SONUÇ

RNA moleküllerinin DNA onarımındaki rolü, son yıllarda önemli ölçüde aydınlatılmış olsa da birçok temel soru hala cevaplanmamıştır. Öncelikle, farklı RNA türlerinin (lncRNA, diRNA, R-loop'lar) spesifik onarım yollarıyla olan etkileşimlerinin mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Örneğin, RNA-aracılı tamirin hangi koşullarda aktif olduğu ve bu mekanizmanın hangi enzimlerle koordineli çalıştığı hala araştırılmaktadır (Keskin ve ark., 2014; Storicci ve ark., 2007). Buna ek olarak, R-loop birikiminin hem faydalı hem zararlı etkileri, genom stabilitesinin korunması açısından kritik bir soru olarak ortaya çıkmaktadır. Kontrollü R-loop oluşumu, onarım proteinlerinin lokalizasyonunu kolaylaştırırken, aşırı birikim

mutajenik olaylara yol açabilir (Crossley, Bocek, & Cimprich, 2019). Bu dengeyi sağlayan moleküler düzenleyicilerin belirlenmesi, hem temel biyoloji hem de klinik uygulamalar açısından büyük önem taşımaktadır. Klinik araştırmalarda ise RNA bazlı terapötik yaklaşımlar, DNA onarım yollarını modüle ederek kanser ve genetik hastalıkların tedavisinde potansiyel sunmaktadır. Antisens oligonükleotidler, RNA-aracılı onarım araçları ve CRISPR tabanlı RNA aracılı araçlar, henüz laboratuvar düzeyinde olsa da, önümüzdeki yıllarda preklinik ve klinik çalışmalarda test edilmeye başlanabilecektir (Francia ve ark., 2012). Son olarak, RNA ve DNA onarımı arasındaki etkileşimin hücre ve doku tipine göre değişkenlik gösterip göstermediği, epigenetik faktörlerin bu süreçleri nasıl etkilediği gibi sorular da gelecekteki araştırmaların odak noktaları arasında yer alacaktır. Bu soruların yanıtlanması, hem temel bilimsel bilgi birikimini artıracak hem de RNA-temelli terapötik stratejilerin güvenli ve etkili bir şekilde geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Kaynakça

Abomalawa, B. Y., Eldous, H. G., Elango, R., Vishnubalaji, R., Rashid, S., Ouararhni, K., Al Haj Zen, A., & Alajezi, N. M. (2025). Piwi-interacting RNA 775 (piR-775) predicts favorable prognosis and regulates cell cycle and DNA damage response pathways in breast cancer. *Biomarker Research*, 13(1), 139. doi:<https://doi.org/10.1186/s40364-025-00856-1>

Boucas, J., Riabinska, A., Jokic, M., Herter-Sprie, G. S., Chen, S., Höpker, K., & Reinhardt, H. C. (2012). Posttranscriptional regulation of gene expression—adding another layer of complexity to the DNA damage response. *Frontiers in genetics*, 3, 159. doi:Posttranscriptional regulation of gene expression—adding another layer of complexity to the DNA damage response

Castel, S. E., & Martienssen, R. A. (2013). RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond. *Nature Reviews Genetics*, 14(2), 100-112.

Chakraborty, A., Tapryal, N., Islam, A., Sarker, A. H., Manohar, K., Mitra, J., Hegde, M. L., & Hazra, T. (2023). Human DNA polymerase η promotes RNA-templated error-free repair of DNA double-strand breaks. *Journal of Biological Chemistry*, 299(3), 102991.

Chapman, J. R., Taylor, M. R., & Boulton, S. J. (2012). Playing the end game: DNA double-strand break repair pathway choice. *Molecular cell*, 47(4), 497-510.

Ciccia, A., & Elledge, S. J. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Molecular cell*, 40(2), 179-204.

Crossley, M. P., Bocek, M., & Cimprich, K. A. (2019). R-loops as cellular regulators and genomic threats. *Molecular cell*, 73(3), 398-411.

Du, J., Chen, F., Chen, Z., Zhao, W., Wang, J., & Zhou, M. (2024). LncRNA LINC01664 promotes cancer resistance through facilitating homologous recombination-mediated DNA repair. *DNA repair*, 143, 103770.

Esposito, F., Capozzo, I., Riccardi, A., Gioia, U., Modafferi, S., Manfredi, L., Colantoni, A., Tavella, S., Cabrini, M., & Iannelli, F. (2025). DROSHA, DICER, and damage-induced long ncRNA control BMI1-dependent transcriptional repression at DNA double-strand break. *Cell Reports*, 44(12).

Fang, W., Wang, X., Bracht, J. R., Nowacki, M., & Landweber, L. F. (2012). Piwi-interacting RNAs protect DNA against loss during Oxytricha genome rearrangement. *Cell*, 151(6), 1243-1255.

Francia, S., Michelini, F., Saxena, A., Tang, D., De Hoon, M., Anelli, V., Mione, M., Carninci, P., & D'adda Di Fagagna, F. (2012). Site-specific DICER and DROSHA RNA products control the DNA-damage response. *Nature*, 488(7410), 231-235.

Gaillard, H., & Aguilera, A. (2013). Transcription coupled repair at the interface between transcription elongation and mRNP biogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1829(1), 141-150.

Guzzi, N., Cieřła, M., Ngoc, P. C. T., Lang, S., Arora, S., Dimitriou, M., Pimková, K., Sommarin, M. N., Munita, R., & Lubas, M. (2018). Pseudouridylation of tRNA-derived fragments steers translational control in stem cells. *Cell*, 173(5), 1204-1216. e1226.

Hanawalt, P. C. (2002). Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene*, 21(58), 8949-8956.

Hawley, B. R., Lu, W.-T., Wilczynska, A., & Bushell, M. (2017). The emerging role of RNAs in DNA damage repair. *Cell Death & Differentiation*, 24(4), 580-587.

Jackson, S. P., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461(7267), 1071-1078.

Jalan, M., Brambati, A., Shah, H., McDermott, N., Patel, J., Zhu, Y., Doymaz, A., Wu, J., Anderson, K. S., & Gazzo, A. (2025). RNA transcripts serve as a template for double-strand break repair in human cells. *Nature Communications*, 16(1), 4349.

Jimeno, S., Balestra, F. R., & Huertas, P. (2021). The emerging role of RNA modifications in DNA double-strand break repair. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 664872.

Keskin, H., Shen, Y., Huang, F., Patel, M., Yang, T., Ashley, K., Mazin, A. V., & Storici, F. (2014). Transcript-RNA-templated DNA recombination and repair. *Nature*, 515(7527), 436-439.

Kung, J. T., Colognori, D., & Lee, J. T. (2013). Long noncoding RNAs: past, present, and future. *Genetics*, 193(3), 651-669.

Lee, S., Kopp, F., Chang, T.-C., Sataluri, A., Chen, B., Sivakumar, S., Yu, H., Xie, Y., & Mendell, J. T. (2016). Noncoding RNA NORAD regulates genomic stability by sequestering PUMILIO proteins. *Cell*, 164(1), 69-80.

Lim, G., Hwang, S., Yu, K., Kang, J. Y., Kang, C., & Hohng, S. (2023). Translocating RNA polymerase generates R-loops at DNA double-strand breaks without any additional factors. *Nucleic Acids Research*, 51(18), 9838-9848.

Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362(6422), 709-715.

Marnef, A., & Legube, G. (2021). R-loops as Janus-faced modulators of DNA repair. *Nature cell biology*, 23(4), 305-313.

Michelini, F., Pitchiaya, S., Vitelli, V., Sharma, S., Gioia, U., Pessina, F., Cabrini, M., Wang, Y., Capozzo, I., & Iannelli, F. (2017).

Damage-induced lncRNAs control the DNA damage response through interaction with DDRNAs at individual double-strand breaks. *Nature cell biology*, 19(12), 1400-1411.

Murashko, M. M., Stasevich, E. M., Schwartz, A. M., Kuprash, D. V., Uvarova, A. N., & Demin, D. E. (2021). The role of RNA in DNA breaks, repair and chromosomal rearrangements. *Biomolecules*, 11(4), 550.

Ortega, P., Mérida-Cerro, J. A., Rondon, A. G., Gomez-Gonzalez, B., & Aguilera, A. (2021). DNA-RNA hybrids at DSBs interfere with repair by homologous recombination. *Elife*, 10, e69881.

Prensner, J. R., Chen, W., Iyer, M. K., Cao, Q., Ma, T., Han, S., Sahu, A., Malik, R., Wilder-Romans, K., & Navone, N. (2014). PCAT-1, a long noncoding RNA, regulates BRCA2 and controls homologous recombination in cancer. *Cancer research*, 74(6), 1651-1660.

Qu, F., & Liu, Y. (2025). The crosstalk of m6A-modified RNA with DNA damage repair. *Trends in biochemical sciences*.

Rzeszutek, I., & Betlej, G. (2020). The role of small noncoding RNA in DNA double-strand break repair. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8039.

Schmitt, A. M., Garcia, J. T., Hung, T., Flynn, R. A., Shen, Y., Qu, K., Payumo, A. Y., Peres-da-Silva, A., Broz, D. K., & Baum, R. (2016). An inducible long noncoding RNA amplifies DNA damage signaling. *Nature genetics*, 48(11), 1370-1376.

Scully, R., Panday, A., Elango, R., & Willis, N. A. (2019). DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(11), 698-714.

Shkreta, L., & Chabot, B. (2015). The RNA splicing response to DNA damage. *Biomolecules*, 5(4), 2935-2977.

Siomi, M. C., Sato, K., Pezic, D., & Aravin, A. A. (2011). PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defence. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 12(4), 246-258.

Storici, F., Bebenek, K., Kunkel, T. A., Gordenin, D. A., & Resnick, M. A. (2007). RNA-templated DNA repair. *Nature*, 447(7142), 338-341.

Tsegay, P. S., Hernandez, D., Qu, F., Olatunji, M., Mamun, Y., Chapagain, P., & Liu, Y. (2023). RNA-guided DNA base damage repair via DNA polymerase-mediated nick translation. *Nucleic Acids Research*, 51(1), 166-181.

Visser, H., & Thomas, A. D. (2021). MicroRNAs and the DNA damage response: How is cell fate determined? *DNA repair*, 108, 103245.

Wan, G., Liu, Y., Han, C., Zhang, X., & Lu, X. (2014). Noncoding RNAs in DNA repair and genome integrity. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(4), 655-677.

Wan, G., Mathur, R., Hu, X., Zhang, X., & Lu, X. (2011). miRNA response to DNA damage. *Trends in biochemical sciences*, 36(9), 478-484.

Wilkinson, E., Cui, Y.-H., & He, Y.-Y. (2022). Roles of RNA modifications in diverse cellular functions. *Frontiers in cell and developmental biology*, 10, 828683.

Yang, Y.-G., & Qi, Y. (2015). RNA-directed repair of DNA double-strand breaks. *DNA repair*, 32, 82-85.

BÖLÜM 2

HÜCRE DÖNGÜSÜNÜN DÜZENLENMESİ, BOZULMASI VE KANSERLEŞME SÜRECİNDE HÜCRESEL DİNAMİKLER

GİZEM AKMAN¹

Giriş

Hücre döngüsü, yaşamın temelini oluşturan dinamik bir süreçtir. Bu süreç, yalnızca hücrelerin çoğalmasını değil, aynı zamanda organizmaların büyümesini, gelişmesini, dokuların yenilenmesini ve yaşamın sürekliliğini sağlayan temel mekanizmaları da temsil eder (Alberts & ark., 2022: 1). Hücre döngüsü bu temel mekanizmalarla birlikte, genetik bilginin doğru aktarımı gibi görevleri nedeniyle biyolojik işlev açısından oldukça önemlidir (Suski & ark., 2021: 759).

Hücrenin büyümesi ve gelişmesi, organizmanın hacimsel ve kütleli olarak artmasını sağlarken, hücrelerin farklılaşarak belirli görevler üstlenmesine, dokuların ve organların oluşmasına olanak tanır (Cooper & Adams, 2022: 1). Bu nedenle hücre döngüsü, yalnızca organizmanın büyümesini değil, aynı zamanda onun biyolojik kimliğini ve yapısal bütünlüğünü de sağlamaktadır.

¹ Öğr. Gör. Dr., İstanbul Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0003-4301-5862

Özellikle hızlı yenilenen dokularda, hücre döngüsü, doku dengesini korumak için sürekli aktiftir. Hücreler, yenilenme ya da onarım gereksinimi oluştuğunda hızla döngüye girmekte, yeni hücreler üreterek hasarlı bölgelerin onarılmasını ve dokunun bütünlüğünün yeniden sağlanmasını mümkün kılar (Cooper & Adams, 2022: 651). Ayrıca, hücre döngüsünün en kritik işlevlerinden biri, genetik bilginin hatasız şekilde yeni hücrelere aktarılmasıdır. DNA'nın kopyalanması ve kromozomların ayrılması sırasında görev yapan çok sayıdaki moleküler denetim noktası, hataların onarılmasını ve hücresel dengenin sürdürülmesini güvence altına almaktadır (Chao & ark., 2017: 445).

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla başlayan ve bu süreçte tümör oluşumu, çevre dokuların istilası (invazyon) ile uzak organlara yayılım (metastaz) gösteren kompleks bir hastalık grubu olarak tanımlanmaktadır (Almalki, 2023: 154854; Brown & ark., 2023: 1142). Normal bir hücre, organizmanın fizyolojik gereksinimlerine yanıt olarak ve hücre döngüsünü yöneten hassas kontrol mekanizmaları tarafından sıkı biçimde düzenlenerek bölünmektedir. Bu kontrol sistemi, hücrelerin yalnızca gerektiğinde ve uygun koşullar altında çoğalmasını sağlamaktadır. Kanser, hücre döngüsünü denetleyen biyolojik mekanizmaların işlevini yitirmesi sonucu düzenleme ağının bozulmasıyla ortaya çıkmaktadır (Almalki, 2023: 154854). Bu bozulmalar, hücre döngüsünü kontrol eden genlerdeki mutasyonlar ve sinyal iletim ağlarındaki aksaklıklar sonucunda ortaya çıkabilmektedir (Icard & ark., 2019: 490). Bunun sonucunda, hücre döngüsünün fizyolojik denetimi ortadan kalkarak, hücreler kontrolsüz bir biçimde çoğalmaya başlamaktadır.

Hücre biyolojisi açısından bakıldığında kanser, hücre döngüsünün düzenlenmesindeki aksaklıkların bir ürünü ve yaşam döngüsünün doğal kontrol mekanizmalarının bozulmuş bir yansıması olarak değerlendirilmektedir (Hanahan & Weinberg, 2011: 646). Bu nedenle, hücre döngüsünün anlaşılması yalnızca

temel biyolojinin bir konusu değil, aynı zamanda kanserin kökenini ve ilerleyişini anlamada da karşımıza   çıkmaktadır.

Normal Hücre Döngüsünün Biyolojisi

Hücre döngüsü, ökaryotik hücrelerde büyüme, DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi süreçlerini koordineli biçimde yürüten, sıkı biçimde düzenlenmiş bir biyolojik mekanizmadır. Bu mekanizma, hücrenin yaşam döngüsünü dört ana evre üzerinden gerçekleştirmektedir: G₁, S, G₂ ve M (mitoz). Hücre döngüsünde koordinasyon, siklinler, siklin-bağımlı kinazlar (CDK'lar) ve bunların inhibitörleri gibi temel moleküler düzenleyiciler tarafından hassas bir biçimde denetlenmektedir.

Hücre yaşamının büyük bir bölümünü interfaz adı verilen dönemde geçirir ve G₁, S, G₂ evrelerini içerir. Bu evrede hücre büyüyerek, DNA'sını sentezlemekte ve bölünme için gerekli biyokimyasal hazırlıkları yapmaktadır. Mitoz (M) evresi ise genetik materyalin eşit biçimde yavru hücrelere dağıtıldığı bölünme aşamasıdır.

Birinci aralık olarak da isimlendirilen G₁ evresinde, hücre metabolik olarak aktiftir; protein sentezi artmakta, ribozomlar çoğalmakta ve organeller duplikasyona uğramaktadır (Wang, 2021: 3327). G₁ evresi, hücrenin hem dış çevreden hem de içsel metabolik durumundan gelen çok sayıda sinyale yanıt verdiği kritik bir aşamadır. Bu evrede çevresel faktörler, hücresel stres ve metabolik denge gibi uyarılar, hücrenin büyüme, farklılaşma ya da döngüye devam etme yönündeki kararlarını şekillendirmektedir. Hücre, bu sinyalleri entegre ederek kendisi için üç temel biyolojik karardan birini vermektedir: yenilenmek, farklılaşmak veya yaşam döngüsünü sonlandırmak (apoptoz) (Wang, 2021: 3327). Ancak hücrenin yenilenme kararı olarak DNA sentezinin gerçekleştiği S evresine geçebilmesi için yerine getirmesi gereken temel koşul, siklin-bağımlı kinazların (CDK'lerin) etkinleştirilmesidir (Massagu ,

2004: 298-306; Limas & Cook, 2019: 2853-2854; Wang, 2021: 3327). Bu aktivasyon, hücre döngüsünün devamı için geri dönüşü olmayan bir sürecin başlangıcını ifade etmektedir.

S (sentez) evresinde hücre, oldukça düşük gen ekspresyonu ve protein sentezi aktivitesine sahiptir ancak birçok histon proteini bu evrede sentezlenmektedir (Wang, 2021: 3327). Genetik materyalin eksiksiz bir kopyası oluşturularak, her kromozom, iki kardeş kromatidden oluşacak şekilde replikasyon tamamlanır (Alberts & ark., 2022: 1075-1080). DNA sentezinin yüksek doğrulukla gerçekleşmesi, genetik bilginin korunması ve hücresel kararlılığın sürdürülmesi açısından hayati bir öneme sahiptir.

S evresinin tamamlanmasının ardından hücre, bölünmeye hazırlık aşaması olan G₂ evresine (ikinci aralık) geçer. Bu evrede bölünme için gerekli yapısal ve metabolik düzenlemeler gerçekleştirilir. G₂ evresi boyunca yoğun protein ve lipid sentezi sürdürülür; hücre hacmi artar ve bölünmeye yönelik son kontroller yapılır. Protein sentezinin engellenmesinin hücreyi G₂ evresinde durdurduğu bilinmektedir. Ancak yakın tarihli araştırmalar, bu etkinin doğrudan protein sentezi eksikliğinden değil, p38 kinaz yolunun inhibisyonundan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu da mitoz girişinin, protein sentezine mutlak bağımlı olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca G₂ evresi, DNA çift zincir kırıklarının onarıldığı kritik bir kontrol sürecini içerir. Replikasyon sırasında ya da sonrasında biriken DNA hasarları, hücre G₂/M kontrol noktasına ulaşmadan önce onarılmadığı takdirde bölünme ilerlemez. Bu mekanizma, genetik bütünlüğün korunmasında temel rol oynar.

Mitoz evresi, hücre döngüsünün bölünme aşamasını temsil eder ve mitoz ve sitokinez olmak üzere iki temel süreçten oluşur. Mitoz, nükleusunun bölünmesini sağlayarak genetik materyalin iki yavru hücreye eşit biçimde aktarılmasını güvence altına alır; sitokinez ise sitoplazmanın fiziksel olarak bölünmesiyle iki yeni hücrenin oluşumunu tamamlar. Mitoz, sırasıyla profaz, prometafaz,

metafaz, anafaz ve telofaz olmak üzere beş alt evrede gerçekleşir. Her bir alt evre, hücrenin kromozomlarının düzenlenmesi, ayrılması ve sonucunda iki hücreye dönüşmesi sürecinde kritik işlevlere sahiptir. Profaz evresi, mitozun başlangıcını temsil eder. Bu evrede kromatin iplikleri yoğunlaşarak görünür kromozomlara dönüşür. Her kromozom, sentromer bölgesinde birbirine bağlı iki kardeş kromatitten oluşur. Aynı zamanda mitotik iğ iplikleri (mikrotübüller) oluşmaya başlar ve hücre iskeleti yeniden düzenlenir. Nükleus zarı hâlâ bütünlüğünü korumaktadır, ancak çözülmeye hazırlanmaktadır. Prometafaz evresi, nükleus zarının parçalanmasıyla başlar. Bu aşamada mikrotübüller, sentrozomlardan uzanarak kromozomlardaki kinetokor yapılarına bağlanır. Bu bağlantılar, kromozomların hücrenin ekvator düzlemine hizalanmasını sağlayan dinamik bir etkileşim ağını oluşturur. Prometafaz, kromozom hareketliliğinin en yoğun olduğu evrelerden biridir. Metafaz evresi, kromozomların hücre ekvatorunda dizilerek metafaz plağını oluşturmasıyla karakterizedir. Bu hizalanma, kardeş kromatidlerin her birinin karşı kutuplara eşit biçimde ayrılmasını garanti eder. Metafaz, aynı zamanda mitozun en kritik kontrol noktalarından birini (spindle checkpoint) barındırır. Bu kontrol sistemi, tüm kromozomların iğ ipliklerine doğru biçimde bağlanıp bağlanmadığını değerlendirir; hatalı bağlanma saptandığında anafazın başlaması engellenir. Anafaz evresinde, kardeş kromatidler birbirinden ayrılarak hücrenin zıt kutuplarına çekilir. Bu hareket, kinetokor mikrotübüllerinin kısılması ve motor proteinlerin etkisiyle gerçekleşir. Sonuç olarak her kutupta, genetik olarak özdeş kromozom setleri birikir. Anafaz, kromozom segregasyonunun tamamlandığı evredir ve genetik bütünlüğün korunmasında kritik bir dönüm noktasıdır. Telofaz evresi, mitozun son aşamasıdır. Bu evrede ayrılmış kromozomlar kutuplarda toplanır ve etraflarında yeniden nükleus zarı oluşur. Kromozomlar gevşeyerek tekrar kromatin ipliklerine dönüşür. Hücrenin nüklear organizasyonu yeniden kurulur ve mitoz süreci tamamlanır. Telofazı takiben gerçekleşen

sitokinez, hücre sitoplazmasının fiziksel olarak bölünmesini sağlar. Hayvan hücrelerinde bu süreç, aktin ve miyozin filamentlerinin oluşturduğu bölünme halkası aracılığıyla sitoplazmanın ortadan daralmasıyla gerçekleşir. Bitki hücrelerinde ise hücre plağı adı verilen yeni bir hücre duvarı yapısı gelişir. Sitokinez tamamlandığında iki genetik olarak özdeş yavru hücre oluşur ve döngü yeniden G₁ evresiyle başlar.

Kontrol Noktaları (Checkpoint'ler) ve İşlevleri

Mitozun doğru ilerleyebilmesi, hücre döngüsünde işleyen çok katmanlı kontrol sistemlerinin etkinliğine bağlıdır. Her kontrol noktası, hücrenin bir sonraki evreye geçmeden önce gerekli koşulları yerine getirip getirmediğini denetleyen biyolojik bir güvenlik mekanizması gibi çalışır. Bu sistemler, DNA hasarı, kromozom hizalanma hataları veya replikasyon eksiklikleri gibi durumlarda döngünün geçici olarak durdurulmasını sağlayarak genetik istikrarı korur.

Hücre döngüsünün farklı evrelerinde çeşitli kontrol noktaları tanımlanmıştır: G₁/S kontrol noktası, S evresi kontrol noktası, G₂/M kontrol noktası ve iğ ipliği (spindle) kontrol noktası. Bu denetim sistemleri, siklin–CDK kompleksleri, tümör baskılayıcı proteinler (özellikle p53 ve Rb) ve DNA hasarına yanıt veren sinyal yollarıyla (örneğin ATM/ATR kinazları) sıkı biçimde ilişkilidir.

G₁/S kontrol noktası, hücrenin bölünme kararı verdiği en kritik aşamadır. Hücre, DNA replikasyonu için uygun çevresel koşulların, enerji seviyesinin ve büyüme faktörlerinin yeterliliğini değerlendirmektedir. Eğer DNA hasarı tespit edilirse, p53 proteini aktive olarak, p21 aracılığıyla CDK2/siklin E kompleksi inhibe edilir, böylece hücre hasar onarılmadan S evresine geçemez. p53'ün işlev kaybı kanser gelişiminde sıklıkla bozularak, DNA hasarı taşıyan hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesine neden olmaktadır.

S evresi kontrol noktasında, replikasyon stresi veya DNA hasarı algılandığında, G2/M geçişi geciktirilerek genom bütünlüğü korunmaktadır. Bu yanıtın temel hedefleri arasında CDK2 aktivitesinin düzenlenerek düşürülmesi şekilde düzenlenmesi yer almaktadır (Petermann, Woodcock, & Helleday, 2010: 16090; Beck & ark., 2012: 4235; Saxena & Zou, 2022: 2301-2302).

G2/M kontrol noktası, S evresi tamamlandıktan sonra DNA replikasyonunun eksiksiz olup olmadığını ve DNA hasarının onarılıp onarılmadığını değerlendirmektedir. Eğer DNA çift zincir kırıkları mevcutsa, ATM ve ATR kinazları, Chk1/Chk2 protein kinazlarını aktive ederek Cdc25 fosfatazını inhibe etmektedir. Bunun sonucunda CDK1/siklin B kompleksi aktif hale gelemez ve hücre mitoz öncesi durdurulur. Bu mekanizma, hatalı DNA'nın yavru hücrelere geçmesini engelleyerek genetik bütünlüğü korumaktadır.

İğ İpliği (Spindle) kontrol noktası, metafaz–anafaz geçişinde görev yaparak, tüm kromozomların iğ ipliklerine doğru biçimde bağlanıp bağlanmadığını denetlemektedir. Eğer herhangi bir kromozom kinetokora düzgün tutunmamışsa, anafaz ilerletici kompleks (APC/C) inhibe edilerek kardeş kromatidlerin erken ayrılması önlenmektedir. Tüm kromozomlar hizalandığında APC/C aktif hale gelerek, kromatidler güvenli biçimde ayrılmaktadır.

Bu kontrol mekanizmaları, hücre döngüsünün sadece ileriye doğru değil, aynı zamanda doğru koşullar altında ilerlemesini de sağlamaktadır. Her bir kontrol noktası, hücresel bütünlüğü ve genetik kararlılığı koruyan bir biyolojik “fren sistemi” olarak görev yapmaktadır. Ancak kanser hücrelerinde bu sistemler sıklıkla bozulur; p53, Rb veya checkpoint kinaz genlerindeki mutasyonlar, hücrelerin DNA hasarına rağmen döngüde ilerlemesine neden olmaktadır. Bu durum, kontrolsüz proliferasyonun ve genomik instabilitenin (genetik kararsızlık) temel nedenlerinden biridir.

Genomik instabilite, kanserin en belirgin hücrel ve moleküler özelliklerinden biridir. Bu kavram, hücrelerin DNA'sında meydana gelen mutasyonların, kromozomal yeniden düzenlenmelerin ve sayısal anormalliklerin artışıyla karakterize edilen bir durumdur. Normal hücrelerde DNA replikasyonu, onarımı ve kromozom ayrılması yüksek doğrulukla gerçekleşirken, kanser hücrelerinde bu süreçler sıklıkla hatalı işlemektedir. Bu nedenle genomik instabilite, hem tümör oluşumunun başlatıcısı hem de ilerlemesini hızlandıran bir faktör olarak kabul edilmektedir (Negrini, Gorgoulis, & Halazonetis, 2010: 220). Genomik instabilitenin biyolojik sonucu, tümör hücrelerinde heterojenite ve adaptasyon yeteneğinin artmasıdır. Genetik olarak farklı alt klonların oluşumu, tümörün değişen çevresel koşullara, ilaç tedavilerine ve immün baskılara uyum sağlamasını kolaylaştırmaktadır (Burrell & ark., 2013: 339). Bu nedenle genomik instabilite, yalnızca tümör başlangıcını değil, aynı zamanda tedaviye direnç, metastaz ve kanserin tekrarlaması gibi süreçleri de doğrudan etkilemektedir. Bu bağlamda, hücre döngüsü, DNA onarımı ve genomik stabilite üçlüsü birbirine sıkı şekilde bağlıdır; biri başarısız olduğunda diğerlerinde çökme riski doğmakta ve bu da özellikle kanser gibi hastalıklarda kritik bir rol oynamaktadır.

Hücre Döngüsünü Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar

Hücre döngüsü, hücrelerin yaşam döngüsündeki aşamaları doğru ve kontrollü biçimde tamamlamasını sağlayan karmaşık bir moleküler sistem tarafından düzenlenmektedir. Bu düzenleme; siklinler, CDK'lar, CDK inhibitörleri (CKI'lar), tümör baskılayıcı proteinler ve onkogenler arasındaki hassas dengeye dayanmaktadır. Bu sistemdeki küçük aksaklıklar bile, hücrel proliferasyonun denetimden çıkmasına ve kanserleşme sürecinin başlamasına neden olabilir (Malumbres & Barbacid, 2009: 153).

Siklinler ve CDK'lar, hücre döngüsünün ilerleyişinde görev yapan temel düzenleyici komplekslerdir. CDK'lar, tek başlarına inaktifken uygun siklin proteini ile eşleştğinde aktif hale gelerek, belirli faz geçişlerini tetiklemektedir. Siklinlerin sentez ve yıkım döngüsü, siklusun zamanlamasını belirleyen en kritik mekanizmalardandır. CDK aktivitesinin hassas biçimde kontrolü, hücrelerin doğru zamanda bölünmesini sağlayarak genetik bütünlüğü korur (Hydbring, Malumbres, & Sicinski, 2016: 280).

CDK inhibitörleri, hücre döngüsünün durdurucu mekanizmaları olarak işlev görmektedir. INK4 ailesi (p15, p16, p18, p19) CDK4/6 komplekslerini doğrudan inhibe ederken; CIP/KIP ailesi (p21, p27, p57), CDK2 ve CDK1 gibi diğer kinazları da baskılamaktadır (Besson, Dowdy, & Roberts, 2008: 159). Özellikle p21, DNA hasarı sonrası p53 tarafından aktive edilerek hücre döngüsünü G₁ fazında durdurmakta ve hücreye DNA onarımı için zaman kazandırmaktadır (Sherr, Beach, & Shapiro, 2016: 354).

Hücre döngüsü düzeninde p53 ve Rb proteinleri, hücresel stabilitenin korunmasında merkezi bir rol oynamaktadır. p53, genotoksik stres durumlarında aktive olmakta, p21 ekspresyonunu artırarak CDK aktivitesini inhibe etmekte ve hücre döngüsünü duraklatmaktadır. Onarım başarısız olduğunda apoptozu başlatarak mutasyonların kalıcı hale gelmesini önlemektedir (Levine, 2020: 474). Öte yandan Rb proteini, G₁/S kontrol noktasında hücre döngüsünü yönlendirmekte; fosforilasyon yoluyla E2F faktörlerini serbest bırakarak DNA sentezini başlatmaktadır (Dick & Rubin, 2013: 297-298). Bu iki tümör baskılayıcı sistemin kaybı, hücre döngüsü kontrolünün bozularak DNA hasarlarının birikmesine ve tümör gelişimine yol açmaktadır (Vousden & Lane, 2007: 275-276).

Onkogenler, normal hücresel büyüme sinyallerini aşırı aktive ederek döngü düzenini bozan genlerdir. Özellikle RAS ve MYC gibi genlerin mutasyon veya aşırı ekspresyonu, CDK aktivitesinin artarak Rb'nin sürekli fosforile durumda kalmasına neden olmaktadır

(Pylayeva-Gupta, Grabocka, & Bar-Sagi, 2011: 766). Bu durumda hücreler, büyüme faktörü sinyallerine ihtiyaç duymadan sürekli bölünür hale gelmektedir (Hanahan & Weinberg, 2011: 646-647). Ayrıca PI3K/AKT/mTOR gibi onkogenik sinyal yolları, hücre döngüsü proteinlerinin sentezini ve enerji metabolizmasını etkileyerek hücresel proliferasyonu desteklemektedir (Sherr, 2004: 242). Sonuç olarak, onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu, kanserin moleküler temelini oluşturan çift yönlü bir dengesizlik yaratmaktadır.

Hücre Döngüsü Bozukluklarının Kanser Biyolojisine Yansımaları

Hücre döngüsünün düzgün işleyişi, hücrelerin büyüme sinyallerine yanıt olarak kontrollü bir şekilde bölünmesini, gerek duyulduğunda duraklamasını ya da onarımın ardından yeniden başlatılmasını sağlamaktadır. Ancak, bu karmaşık mekanizmanın bozulması, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına ve kanser gelişimine yol açabilmektedir. Hücre döngüsündeki düzen, siklinler, CDK'lar, tümör baskılayıcı genler, kontrol noktaları ve DNA onarım mekanizmaları arasındaki dengeye dayanmaktadır. Bu denge bozulduğunda hücre, genetik stabilitesini kaybetmekte, onarılmamış DNA hasarları birikmekte ve apoptozdan kaçarak tümör oluşum sürecine girmektedir (Kastan & Bartek, 2004: 316; Malumbres & Barbacid, 2009: 153).

Hücre döngüsünün düzgün ilerleyebilmesi için kontrol noktaları kritik öneme sahiptir. Hücre döngüsünün çeşitli evrelerinde görev yapan bu noktalar, hücreye DNA hasarını onarması veya replikasyon hatalarını düzeltmesi için zaman kazandırmaktadır. Bu düzenleyici mekanizmaların bozulması, hasarlı DNA'nın replikasyonuna izin vermektedir. Kontrol noktalarının kaybı sadece hücre döngüsü düzenini değil, aynı zamanda kemoterapi ve

radıyoterapiye karşı direnç mekanizmalarını da tetikleemektedir (Zhou & Elledge, 2000: 437).

DNA hasarı, hücre döngüsünde doğal olarak ortaya çıkan bir olaydır; ancak güçlü onarım sistemleri ve kontrol noktaları sayesinde bu hasarlar genellikle tamir edilmektedir. Normal koşullarda DNA hasarları, baz eksizyon onarımı (BER), nükleotid eksizyon onarımı (NER), homolog rekombinasyon (HR) ve non-homologous end joining (NHEJ) gibi mekanizmalarla onarılmaktadır. DNA onarım genlerinde meydana gelen mutasyonlar, hücrelerin genomik bütünlüğü koruma yeteneğini zayıflatarak, özellikle S fazında artan replikasyon stresiyle birleştğinde, çift zincir kırıkları ve kromozomal yeniden düzenlenmelerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Jeggo, Pearl, & Carr, 2016: 39). Onarılmamış DNA hasarları hücre döngüsü kontrol noktalarından kaçarak sonraki hücre kuşaklarına aktarılmakta, böylece “mutasyon döngüsü” adı verilen bir süreç oluşmaktadır (Ciccio & Elledge, 2010: 180-181). Bu döngü, kanserin erken aşamalarında genetik çeşitliliği artırarak tümör hücrelerinin adaptasyon yeteneğini güçlendirmekte, uzun vadede bu birikmiş genetik değişiklikler hücresel homeostazın çökmesine, proliferasyon sinyallerinin artmasına ve tümör progresyonunun hızlanmasına neden olmaktadır (Negrini, Gorgoulis, & Halazonetis, 2010: 227). Dolayısıyla DNA hasarının birikmesi ve mutasyon döngüsünün oluşumu, hücre döngüsü kontrolünün bozulması ile kanserin moleküler temelleri arasındaki en kritik biyolojik bağlantılardan birini temsil etmektedir.

Apoptoz, hücrelerin DNA hasarı, stres ya da anormal proliferasyon sinyalleri sonucunda kontrollü bir biçimde ölmesini sağlayan, organizmanın dengesini koruyan temel bir biyolojik süreçtir. Normal koşullarda, hücre döngüsü kontrol noktaları DNA hasarını onaramadığında apoptoz mekanizması devreye girerek hasarlı hücrelerin eliminasyonunu sağlamaktadır. Ancak kanser hücrelerinde bu süreç sıklıkla bozulmuştur. Bu durum, hasarlı

DNA'ya sahip hücrelerin yaşamını sürdürmesine olanak tanımaktadır (Elmore, 2007: 496). Hücre döngüsü ve apoptoz arasındaki en önemli bağlantı, p53 aracılı sinyal yolları üzerinden sağlanmaktadır. DNA hasarına yanıt olarak aktive edilen p53, p21 ekspresyonunu artırarak CDK aktivitesini baskılamakta ve hücre döngüsünü durdurmaktadır. Hasarın onarılamadığı durumlarda ise BAX, PUMA ve NOXA gibi proapoptotik genlerin transkripsiyonunu ile mitokondriyal apoptoz yolu başlamaktadır (Vousden & Lane, 2007: 277). p53 mutasyonları veya işlev kaybı, bu denetim mekanizmasını devre dışı bırakarak hücrenin onarım veya apoptoz yerine kontrolsüzce çoğalmasına neden olmaktadır (Levine, 2020: 475, 478). Dolayısıyla, apoptozun devre dışı kalması sadece hücrelerin ölümden kaçmasını değil, aynı zamanda hücre döngüsünün kontrolsüz ilerlemesini de mümkün kılmaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, hücre döngüsü bozukluklarının yalnızca tümör hücreleri içinde değil, tümör mikroçevresi ile kurulan etkileşimler üzerinden de kanserin evrimini şekillendirdiğini göstermiştir. Fibroblastlar, immün hücreler, endotel hücreleri ve ekstraselüler matriks bileşenleri, hücre döngüsünü modüle eden sinyaller üretmekte ve tümör hücrelerine büyüme avantajı kazandırmaktadır (de Visser & Joyce, 2023: 375). Hücre kültürü modelleri ve hayvan çalışmaları, bu etkileşimlerin, hücre döngüsü düzenleyici genlerin ekspresyonunda önemli değişiklikler yarattığını ve kanserin ilerleyişinde belirleyici olduğunu ortaya koymuştur (Katt & ark., 2016: 2). Bir yandan hücre içi sinyal ağlarının bozulması sonucu hücre döngüsünün denetimi kaybolurken, diğer yandan mikroçevre kaynaklı faktörler bu süreci pekiştirmektedir. Bu çift yönlü etki, tümör hücrelerinin proliferatif üstünlüğünü, direnç mekanizmalarını ve çevresel adaptasyon kabiliyetini artırmaktadır. Dolayısıyla hücre döngüsü bozukluklarının anlaşılması, yalnızca kanserin patogenezi değil,

aynı zamanda hedefe yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesini de doğrudan etkilemektedir (Farooq, Li, & Chang, 2025: 2401)

Sonuç ve Gelecek Perspektifler

Hücre döngüsü biyolojisi, modern kanser araştırmalarının temelini oluşturan dinamik bir bilim alanıdır. Hücrelerin farklı süreçlerini düzenleyen bu döngü, yaşamın sürekliliğini sağlayan en kritik moleküler ağlardan biridir. Günümüzde hücre döngüsü yalnızca hücresel bir mekanizma olarak değil, aynı zamanda kanserin moleküler patogenezi anlamada, yeni biyobelirteçler geliştirmede ve hedefe yönelik tedavi stratejileri oluşturmada merkezi bir araştırma alanı olarak kabul edilmektedir (Malumbres & Barbacid, 2009: 153; Hanahan & Weinberg, 2011: 646).

Son otuz yılda yapılan moleküler biyoloji, genetik ve biyoinformatik tabanlı araştırmalar, hücre döngüsünün kontrolsüz hale gelmesinde görev alan siklinler, CDK'lar, tümör baskılayıcı genler ve DNA onarım mekanizmaları arasındaki ilişkileri derinlemesine ortaya koymuştur. Bu ilişkiler, kanserin yalnızca bir hücre döngüsü hastalığı değil, aynı zamanda genetik istikrarsızlık, metabolik dengesizlik ve mikroçevresel adaptasyonun birleşimi olduğunu göstermektedir (Dang, 2012: 877).

Hücre döngüsü biyolojisi, kanserin temel mekanizmalarını anlamada disiplinler arası bir köprü işlevi görmektedir. Özellikle yüksek çözünürlüklü mikroskopi, tek hücre RNA dizileme ve yapay zekâ destekli biyoinformatik analizler sayesinde, hücre döngüsü ilerleyişi hücresel heterojenlik düzeyinde izlenebilmektedir. Bu teknikler, tümör hücrelerinin yalnızca genetik değil, aynı zamanda epigenetik olarak da döngüsel davranış sergilediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, hücre döngüsü biyolojisi, kanserin erken tanısında da kullanılmaktadır. Özellikle siklin D1, Ki-67, p21 ve p27 gibi proteinlerin ekspresyonu, tümör proliferasyon hızının belirlenmesi ve prognoz tahmininde klinik olarak değerlendirilen

önemli biyobelirteçler haline gelmiştir (Vermeulen, Van Bockstaele, & Berneman, 2003: 142-143). Bu biyobelirteçler, tedavi yanıtının öngörülmesinde vazgeçilmezdir.

Bunun yanında hücre döngüsü araştırmalarının klinik onkolojiye aktarılması, kanser tedavisinde yeni bir dönem başlatmıştır. Hücre döngüsünde görev yapan moleküller, klinik uygulamalarda doğrudan tedavi hedefi haline gelmiştir. Ayrıca, hücre döngüsü proteinlerinin hedeflenmesi yalnızca kanser tedavisinde değil, radyoterapi ve immünoterapi gibi diğer stratejilerle kombinasyon halinde de değerlendirilmektedir. Hücre döngüsü fazına özgü radyoduyarlılık (örneğin S fazında artan DNA hasar duyarlılığı) sayesinde, radyoterapinin etkinliği hücre döngüsü zamanlamasına göre optimize edilebilmektedir.

Benzer şekilde, hücre döngüsünün düzenlenmesi, immün kontrol noktası inhibitörlerinin etkinliğini de artırabilmektedir; proliferatif hücreler daha fazla neoantijen sunarak bağışıklık sisteminin tanıma kapasitesini güçlendirmektedir (Goel & ark., 2018: 471, 475).

Özetle, hücre döngüsü biyolojisi, kanser araştırmalarının geleceğini şekillendiren en güçlü kavramsal ve deneysel temellerden biridir. Hücre döngüsünün moleküler düzeyde anlaşılması, kanserin erken teşhisinden kişiye özel tedavilere kadar pek çok klinik uygulamaya kapı aralamaktadır. Gelecekte yapılacak araştırmalar, hücre döngüsünün yalnızca hücre çoğalmasını düzenleyen bir mekanizma olmadığını; aynı zamanda hücresel kimliğin, çevresel uyumun ve evrimsel esnekliğin temel belirleyicilerinden biri olduğunu gösterecektir.

Kaynakça

- Alberts, B., Heald, R., Johnson, A., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2022). *Molecular biology of the cell (7th ed.)*. New York, NY: W. W. Norton & Company.
- Almalki, S. G. (2023). The pathophysiology of the cell cycle in cancer and treatment strategies using various cell cycle checkpoint inhibitors. *Pathology - Research and Practice*, 251, 154854.
- Beck, H., Nähse-Kumpf, V., Larsen, M., O'Hanlon, K., Patzke, S., Holmberg, C., . . . Sørensen, C. (2012). Cyclin-Dependent Kinase Suppression by WEE1 Kinase Protects the Genome through Control of Replication Initiation and Nucleotide Consumption. *Molecular and Cellular Biology*, 32(20), 4226-4236.
- Besson, A., Dowdy, S. F., & Roberts, J. M. (2008). CDK inhibitors: cell cycle regulators and beyond. *Developmental Cell*, 14(2), 159-169.
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the definition of cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142-1147.
- Burrell, R., McGranahan, N., Bartek, J., & Swanton, C. (2013). The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature*, 501(7467), 338-345.
- Chao, H. X., Poovey, C. E., Privette, A. A., Grant, G. D., Chao, H. Y., Chao, J. G., & Purvis, J. E. (2017). Orchestration of DNA damage checkpoint dynamics across the human cell cycle. *Cell Systems*, 445-459.

- Ciccia, A., & Elledge, S. J. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Molecular Cell*, 40(2), 179-204.
- Cooper, G. M., & Adams, K. W. (2022). *The cell: a molecular approach (9th ed.)*. New York, NY: Oxford University Press.
- Cory, S., & Adams, J. M. (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 647-656.
- Dang, C. V. (2012). Links between metabolism and cancer. *Genes & Development*, 26(9), 877-890.
- de Visser, K. E., & Joyce, J. A. (2023). The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer Cell*, 41(3), 374-403.
- Dick, F. A., & Rubin, S. M. (2013). Molecular mechanisms underlying RB protein function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(5), 297-306.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516.
- Farooq, U., Li, J., & Chang, Z. (2025). Disrupting cell cycle machinery: CREPT is an emerging target in cancer therapy. *Cancers*, 17(14), 2401.
- Goel, S., DeCristo, M. J., McAllister, S. S., & Zhao, J. J. (2018). CDK4/6 inhibition in cancer: beyond cell cycle arrest. *Trends in Cell Biology*, 27(11), 911-925.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.

- Hydbring, P., Malumbres, M., & Sicinski, P. (2016). Non-canonical functions of cell cycle cyclins and cyclin-dependent kinases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 17(5), 280-292.
- Icard, P., Fournel, L., Wu, Z., Alifano, M., & Lincet, H. (2019). Interconnection between metabolism and cell cycle in cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, 44(6), 490-501.
- Jeggo, P. A., Pearl, L. H., & Carr, A. M. (2016). DNA repair, genome stability and cancer: a historical perspective. *Nature Reviews Cancer*, 16(1), 35-42.
- Kastan, M. B., & Bartek, J. (2004). Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 432(7015), 316-323.
- Katt, M. E., Placone, A. L., Wong, A. D., Xu, Z. S., & Searson, P. C. (2016). In vitro tumor models: advantages, disadvantages, variables, and selecting the right platform. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 4, 12.
- Levine, A. J. (2020). p53: 800 million years of evolution and 40 years of discovery. *Nature Reviews Cancer*, 20, 471-480.
- Limas, J. C., & Cook, J. G. (2019). Preparation for DNA replication: the key to a successful S phase. *FEBS Letters*, 593(20), 2853-2867.
- Malumbres, M., & Barbacid, M. (2009). Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nature Reviews Cancer*, 9(3), 153-166.
- Massagué, J. (2004). G1 cell-cycle control and cancer. *Nature*, 432(7015), 298-306.
- Negrini, S., Gorgoulis, V., & Halazonetis, T. D. (2010). Genomic instability-an evolving hallmark of cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(3), 220-228.

- Petermann, E., Woodcock, M., & Helleday, T. (2010). Chk1 promotes replication fork progression by controlling replication initiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(37), 16090-16095.
- Pylayeva-Gupta, Y., Grabocka, E., & Bar-Sagi, D. (2011). RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nature Reviews Cancer*, 11(11), 761-774.
- Saxena, S., & Zou, L. (2022). Hallmarks of DNA replication stress. *Molecular Cell*, 82(12), 2298-2314.
- Sherr, C. J. (2004). Principles of tumor suppression. *Cell*, 116(2), 235-246.
- Sherr, C. J., Beach, D., & Shapiro, G. I. (2016). Targeting CDK4 and CDK6: from discovery to therapy. *Cancer Discovery*, 6(4), 353-367.
- Suski, J. M., Braun, M., Strmiska, V., & Sicinski, P. (2021). Targeting cell-cycle machinery in cancer. *Cancer Cell*, 39(6), 759-778.
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R., & Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation*, 36(3), 131-149.
- Vousden, K. H., & Lane, D. P. (2007). p53 in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(4), 275-283.
- Wang, Z. (2021). Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signalling. *Cells*, 10(12), 3327.

Zhou, B. B., & Elledge, S. J. (2000). The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature*, 408(6811), 433-439.

BÖLÜM 3

HÜCRE KÜLTÜRÜ

1. BERRİN ÜSTÜNDAĞ¹

Giriş

Hücre kültürü, bilimin gelişmesi ile kullanımı yaygınlaşan, canlı organizmalardan elde edilen hücrelerin fizyolojik koşulları taklit eden kontrollü laboratuvar ortamlarında in vitro olarak yaşatılması ve çoğaltılmasına dayanan deneysel yaklaşımdır (Seegeritz & Vallier, 2017). Bu yöntem, hücrelerdeki proliferasyon, farklılaşma, gen ekspresyonu ve hücre–madde etkileşimlerinin ayrıntılı biçimde incelenmesine olanak sağlayarak başta kanser biyolojisi olmak üzere farmakoloji toksisite ve moleküler biyoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Yalçın & Yılmaz, 2018).

Tarihçesi

¹ Öğretim Görevlisi Doktor, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, berrinustundag@yyu.ed.tr 0000-0001-5211-7874

Hücre kültürünün bilinen ilk çalışması tarihçesi 1800'lü yıllardadır. İlk olarak 1866 yılında in vitro doku kültürü çalışılmış ve amfibi kan hücrelerinin 35 gün canlı kalabilmesi sağlanmıştır. Wilhelm Roux'un 1885 yılında ılık tuz içersindeki tavuk embriyosunun medüller tabakasını elde etmek için yaptığı deney kaydedilmiş ilk eksplantasyondur. Aynı yıllarda Arnold kurbağalara kemik iliği fragmanları implante etmiştir. Bunlar lökositlerin saldırısına uğrayınca ılık tuz solüsyonu dolu bir tabağa almış, fragmanların göç ettiğini ve bir süre canlı kaldığını gözlemlemiştir (Smith & Meyer, 2019).

Bu iki deney kendi dönemlerinde oldukça önemli olan iki çalışmadır. Ancak 1898 yılında Ljungren in in vitro şartlarda insan derisinin asidik sıvıda yaşayabileceğinin ispatlamasın sonucunda artık tamamen bilim dünyası tarafından kabul görmüştür. Hemen ardından Jolly (1903) in vitro koşullarda hücre yaşamı ve hücre bölünmesi ile ilgili ilk detaylı gözlemleri yapmıştır ve bilim tarihinde bir ilki daha gerçekleştirmiştir. Semenderden aşılı damlalar şeklinde bir ay boyunca lökosit elde etmiştir. Bu çalışma birçok bilim adamının dikkatini çekmiştir. Bu bilim insanlarından ikisi Ewing ve Beebe 1906 da t doku kültürü kavramına ilk gerçek teşebbüsü gerçekleştirmişlerdir. Bugün yaygın olarak kullanılan yöntemin temelini oluşturmuşlardır (Jędrzejczak-Silicka, 2017).

Bundan sonra çalışmalar hız kazanmış ve temel hücre, doku ve organ kültürlerinde önemli adımlar atılmıştır. Aseptik koşullarda çalışmalar yapılmış ve 1914 yılında da gerçek anlamda ilk olarak doku kültürü yapılmıştır. 1926'lı yıllarda da ise artık çalışmalar hücre üretme vasatları üzerinde yoğunlaşmıştır. Fisher, analitik yöntemlerle hücre kültür vasatlarını hazırlamıştır (Duruel et al., 2021).

1952'de insan serviks karsinomasından ilk devamlı hücre kültürü hazırlanmıştır. 1955-1960 yılları arasında Eagle bugün kullandığımız anlamda temel hücre kültürü vasatlarını hazırlamıştır.

Bu durum hücre kültürü çalışmalarından önemli bir gelişme olarak bilimsel çalışmalarda yerini almıştır. 1960'lı yıllarda hücre füzyonu çalışmaları ile monoklonal antikor üretimine öncülük edilmiş ve ilk olarak 1961 yılında Barskib ve arkadaşları in vitro koşullarda somatik hücre hibridlerinin eldesini gerçekleştirmişlerdir (Gao et al., 2020).

1979 yılında Green ve arkadaşları epidermal hücre kültürleri hazırlamışlardır. 1980'li yıllarda endotelyal hücrelerden kapiller damarların oluşturulmasına çalışılmış ve 1989 yılında hücre kültürü teknolojisi, homogreft yapımı ve rekonstrüktif cerrahide kullanılmaya başlanmıştır. 1990 yılından sonra genetik olarak modifiye edilmiş hücreleri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanmaya başlamışlardır. Günümüzde çalışılan son yöntemlerin temelini atmışlardır (Rao, 2018).

Günümüzde hücre kültürünün tanımı, organ veya dokudan alınan küçük bir parçanın, uygun fizikokimyasal ve biyolojik işlemler sonucu in vitro koşullarda üretilmesi işlemidir. Hücre kültürü ile ilgili çalışmalar 1907 yılında Ross Harrison'un kurbağa embriyolarında yapmış olduğu çalışmalara dayanır. İlerleyen kontaminasyon sorununun çözülmesiyle birlikte ve bu yöntem, hastalıkların patogenezinin araştırılmasında, farmakolojide ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önemli bir yöntem olarak değerlendirilmektedir.

Hücre Kültürünün Sınıflandırılması

Primer kültürler; hücre ya da doku izole edildikten sonra üretilen ya da hazırlanan ilk kültürdür. Primer kültürde yapılan pasajlamalar sonunda hücreler yaşlanarak ölürler. Bu nedenle primer

hücrelerle belirli bir sayıda pasajlama yapılabildiğinden deneyler bu dönemde yapılmalıdır (Pamies, 2021).

Primer hücreler pasajlamalar sonunda ölümsüz (immortalize) olabilirler. Bu durumda hücre hatları (cell line) elde edilmiş olur. Buna in vitro transformasyon denir. Bu hücreler anöploiddirler. Bunlara Primer aortik, mikrovasküler ya da göbek kordonu endotel hücreleri, primer hepatositler, primer düz kas hücreleri örnek verilebilir. Primer kültürden spontan mutasyonlar sonucunda kendiliğinden ya da kimyasal ajanlar ya da virüsler eklenerek insan eliyle oluşturulurlar. Tümör dokusundan alınan hücrelerden de elde edilirler. Hücre hatları, primer kültürlerden; kültürde yüksek hücre yoğunluğuna ulaşabilmeleri, büyüme faktörleri ve seruma daha az gereksinim duymaları, çoğalmak için bir zemine tutunma gereksinimlerinin görece daha düşük olması ve sonsuz çoğalma yetenekleri sayesinde tümör hücrelerine benzer özellikler sergilemeleri bakımından farklılık göstermektedir (Maliszewska-Olejniczak et al., 2018).

Bunlara ek olarak kan, dalak, kemik iliği ve oligonlaşmamış hücreler süspansiyon kültürler olarak üretilmektedir. Ayrıca ekdoderm ve endodermden oluşan hücreler (fibroblast ve epitel hücreleri) ekstrasellüler matrix olarak adlandırılan ve kollagen, fibronectin, laminin, proteoglikanlar gibi makromoleküllerin bir karışımı olan kompleks bir yapı üzerinde bu yapıdaki moleküllerle membran reseptörleri aracılığı ile etkileşerek büyürler. Bu kültürler de Monolayer (tutunarak büyüyen) kültürlerdir (Karamanos et al., 2021).

Hücre kültürünün kullanım alanları

Hücre kültürleri günümüzde biyomedikal ve biyoteknolojik araştırmaların vazgeçilmez bir parçası hâline gelmiş olup çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Viral aşılarda geliştirilmesi ve viral

hastalıkların tanısında, monoklonal antikorlar ile çeşitli antikorların üretiminde, interferon ve farklı enzimlerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra hücre içi aktivitelerin ölçülmesi, DNA ve RNA replikasyon mekanizmalarının araştırılması ve protein sentez süreçlerinin aydınlatılması hücre kültürü temelli çalışmalarla gerçekleştirilmektedir. Hücre kültürleri; interleukinler gibi immüno-regulator moleküllerin, hormonların ve büyüme faktörlerinin üretiminde, hücreler arası sinyal iletim mekanizmaları ve hücreler arası haberleşmenin incelenmesinde de önemli bir rol oynamaktadır (Zhao, 2023). Ayrıca somatik gen tedavisi uygulamaları, tümör aşısının geliştirilmesi ve canlı hücrelerin grefting amaçlı kullanımı (eritrositlerin organizma dışında transfüzyon için hazırlanması, kanser tedavisinde kemik iliği kullanımı ve Parkinson hastalığında beyin hücrelerinden yararlanılması gibi) hücre kültürlerinin klinik uygulamalarına örnek teşkil etmektedir. Bununla birlikte organizma dışında hücre modifikasyonu, yapay deri, kıkırdak ve karaciğer gibi kompleks üç boyutlu dokuların üretilmesi, sitogenetik analizler ile genetik manipülasyon ve immortalizasyon çalışmaları da hücre kültürü tekniklerinin yaygın olarak kullanıldığı alanlar arasında yer almaktadır (Seegeritz & Vallier, 2017).

Hücre Kültürlerinin Avantaj ve Dezavantajları

Hücre kültürü çalışmaları bilim dünyasına çok şey katmış ve birçok deneysel yöntemde oldukça sık kullanılmaktadır. Hücre kültürü ortamında fizikokimyasal çevre ve buna bağlı olarak fizyolojik koşullar daha iyi kontrol edilebilir. Sıcaklık, pH, ozmotik basınç, O₂ ve CO₂ kısmi basınçları gibi fizikokimyasal koşullar hücre kültüründe daha kolay sağlanırken, canlı vücutta sabit bir çevreyi oluşturarak birtakım testleri yapmak daha zordur. Örneğin homojenitesinin kontrolü sağlanabilir. Doku örnekleri çoğunlukla

heterojendir. Ancak, bir-iki pasaj sonra kültüre edilmiş hücreler, homojen hale gelirler. Hücrelerin homojenitesi, elde edilen ürünlerin homojenitesi açısından son derece önemlidir. Hücre kültürleri ekonomiktir. In vivo sistemlerde test için canlı organizmaya verilen maddenin bir kısmı çeşitli yollarla dışarıya atılacak, bir kısmı da organizmanın bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılacaktır. Bu koşullarda canlı bir organizmada, verilen maddenin ancak % 10'una bir cevap alınabilirken, hücre kültürlerinde bu oran % 90'lara kadar çıkabilecektir. Hücre kültürlerinin bir diğer avantajı da ürün eldesinde endüstriyel amaçlı olarak kullanılabilmesidir. Son yıllarda geliştirilen teknikler ile bu, çok daha kolay başarılabilmektedir (Bajwa, 2021).

Bunların yanı sıra hücre kültürünün bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Primer kültür ile başladığımızda birbirini izleyen pasajlarda hücreler farklılaşır ve bir miktar ölüm her zaman gerçekleşir. Yani hücre kültürlerinde zamana bağlı bir kararsızlık söz konusudur. Hücre kültürlerinde hijyen çok önemli olduğu için, primer kültürlerin elde edildiği doku ve bunların bulunduğu koşullar hücre kültürlerini etkiler. Deneyim çok önemli bir faktördür. *In vitro* çalışmalarda sterilite, kültürlerin hazırlanması ve mikroskopik inceleme bir uzmanlığı gerektirir. Hücre kültürleri ekonomik gibi görünmesine rağmen aslında ekonomik değildir. Çünkü kullanılan hücre üretme vasatları ve diğer malzemeler son derece pahalıdır. Buna karşın elde edilen ürünün saf olması son derece önemli bir avantajdır. Ancak son yıllarda bu teknolojinin gelişmesi, kullanılan malzemelerin geliştirilmesine ve giderek daha da ucuzlamasına olanak tanımaktadır (Wacogne et al., 2022).

Hücre Kültürü Yönteminin Temel Aşamaları

Hücreler karanlıkta inkübe edilmelidirler çünkü ışık besiyerindeki ve hücre yapısındaki bazı organik yapıları bozarak

hücre için toksik hale gelebilir. Hücre kültürleri günlük olarak kontrol edilir, morfolojik görünüm, medium rengi ve hücrelerin yoğunluğu incelenir. Büyüme kontrolü invert mikroskopla, canlılık testleri trypan blue ile yapılırsa ışık mikroskobuyla, etidyum bromür-akridin oranj ile yapılırsa floresan mikroskopta kontrol edilir (Yıldız et al., 2014).

Kültürde hücreler; hücre tipine, ekilme yoğunluğuna, ortamın yoğunluğuna ve daha önceki işlemlere bağlı olarak önce sessiz (inaktif) ya da “lag fazı” denilen bir döneme girerler. Bunu, en yüksek metabolik aktivitenin gözlemlendiği “log fazı” yani logaritmik artış (üreme) dönemi izler. Bundan sonra da hücreler hücre sayısının sabit kaldığı “plato fazı” yani bir durağan evreye girer (tüm üreme yüzeyleri kaplanmıştır). Hücrelerin nüfus yoğunluğu üremeyi baskıladığı zaman besiyerinden alınırlar (*harvesting*). İdeal olanı hücrelerin durağan evreye girmeden önce kültürden alınmalarıdır. Hücrelerin kültür kabından alınmaları için değişik yöntemler kullanılabilmektedir (Balli & Yamak, 2020).

Bu yöntemlerden bir tanesi mekanik yöntemlerdir. Bir spatül kullanarak hücreler yüzeyden fiziksel olarak ayrılabilir. Ancak hızlı bir yöntem olmasıyla birlikte bu yöntemde hücreler zarar görebilirler. Bu nedenle ancak hücre canlılığının önemli olmadığı koşullarda bu yöntem tercih edilebilir (Üçgül & Elibüyük, 2017).

Diğeri proteolitik enzimler ile müdahaledir. Tripsin, kollajenaz ya da pronaz genellikle EDTA ile kombine edildiğinde hücrelerin üreme yüzeyinden ayrılmasına neden olur. Bu yöntem de hızlı ve güvenilir olmasına karşın hücre yüzeyine zarar verebilir. Proteolitik reaksiyon serum içeren tam kültür ortamının katılmasıyla hızlı bir biçimde sona erdirilebilir (Kurashina et al., 2019).

Tek başına EDTA kullanılarak da hücreler yüzeyden ayrılabilir. Kültür kapları CO₂ etüvüne (37°C; % 5 CO₂) konduğu zaman gaz giriş çıkışı için kapların ağzı hafif açık olmalıdır. Ayrıca

ortamın nemli olması ve görünür ışıktan sakınılması da gereklidir. Hücre kültürü çalışmalarında da tüm laboratuvar çalışmalarında olduğu gibi güvenlik önlemlerine dikkat edilmelidir (Geraghty et al., 2014).

Hazırlanması zor, son derece titizlik gerektiren ve hassas çalışmaları içeren hücre kültür teknolojisi, bugün birçok alanda uygulanabilmesi nedeniyle büyük öneme sahiptir. Günümüzde çok sayıda insan, organ kayıplarının ya da çeşitli organların fonksiyonel bozukluğunun sonuçlarına maruz kalmaktadır. Bunların tedavisindeki alternatif çözümlerden birisi de doku ve organ transplantasyonlarının yapılmasıdır. Doku mühendisliğindeki gelişmeler ile bu artık bütün bir organ ya da dokunun transplantasyonu yerine, izole edilen fonksiyonel hücrelerin doğrudan veya çeşitli polimerik matriksler içinde canlıya implantasyonu şeklinde olmaktadır. Bütün bu yapıların elde edilebilmesi, hücre kültürü teknolojisindeki gelişmeler ile olabilmektedir.

Genel Değerlendirme

Hücre, canlı organizmaların yapı ve işlev bakımından en küçük temel birimi olup tüm biyolojik süreçlerin gerçekleştiği dinamik bir sistemdir. Hücre kavramı ilk kez 1665 yılında Robert Hooke tarafından mantar dokusu üzerinde yapılan gözlemlerle tanımlanmış, daha sonra Theodor Schwann ve Matthias Schleiden'in çalışmalarıyla hücre teorisi geliştirilmiş ve tüm canlıların hücrelerden oluştuğu bilimsel olarak ortaya konmuştur.

Hücre ve hücre kültürü temelli çalışmaların en önemli avantajları; kontrollü ve tekrarlanabilir deney koşulları sunması, hücresel düzeyde mekanizmaların ayrıntılı olarak incelenmesine olanak sağlaması ve hayvan deneylerine kıyasla etik açıdan daha kabul edilebilir olmasıdır. Buna karşın, in vitro ortamın canlı

organizmanın karmaşık yapısını tam olarak yansıtamaması, uzun süreli kültürlerde genetik ve fenotipik değişimlerin ortaya çıkabilmesi ve kontaminasyona açık olması başlıca dezavantajlar arasında yer almaktadır.

Hücre çalışmaları primer hücre kültürleri ve sürekli hücre hatları kullanılarak yürütülmekte olup adherent ve süspansiyon kültürleri, iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) kültür sistemleri gibi farklı yöntemleri kapsamaktadır. Bu yöntemler sayesinde hücre proliferasyonu, farklılaşma, gen ekspresyonu, ilaç ve toksisite analizleri ile hastalık mekanizmaları güvenilir ve sistematik bir şekilde araştırılabilmektedir.

Kaynakça

Bajwa, M. N. (2021). Elicitation, A Mechanistic Approach to Change the Metabolic Pathway of Plants to Produce Pharmacological Important Compounds in In-vitro Cell Cultures. *Global Journal of Engineering Sciences*, 8(1). <https://doi.org/10.33552/gjes.2021.08.000678>

Balli, F., & Yamak, A. T. U. (2020). Assessment of the Antimicrobial Effectiveness of Hypericum Perforatum L. and Secondary Metabolites against Pathogenic Oral Bacteria. *DergiPark (Istanbul University)*. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bshealthscience/issue/55047/746614>

Duruel, H. E. E., Çağan, N. S., Işık, S., & Kayhan, F. E. (2021). Hücre Kültürlerine Genel Bakış. *DergiPark (Istanbul University)*. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/sufefd/issue/65581/935531>

Gao, J., He, J., Wang, Q., & Liu, W. (2020). Monoclonal antibodies: Emergence, present and outlook. *Chinese Science Bulletin (Chinese Version)*, 65, 3085. <https://doi.org/10.1360/tb-2020-0490>

Geraghty, R. J., Capes-Davis, A., Davis, J. M., Downward, J., Freshney, R. I., Knežević, I., Lovell-Badge, R., Masters, J. R., Meredith, J., Stacey, G., Thraves, P., & Vias, M. (2014). Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *British Journal of Cancer*, 111(6), 1021. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.166>

Jędrzejczak-Silicka, M. (2017). History of Cell Culture. In *InTech eBooks*. <https://doi.org/10.5772/66905>

Karamanos, N. K., Theocharis, A. D., Piperigkou, Z., Manou, D., Passi, A., Skandalis, S. S., Vynios, D. H., Orian-Rousseau, V., Ricard-Blum, S., Schmelzer, C. E. H., Duca, L., Durbeej, M., Afratis, N. A., Troeberg, L., Franchi, M., Masola, V., & Onisto, M. (2021). A guide to the composition and functions of the extracellular matrix

[Review of *A guide to the composition and functions of the extracellular matrix*]. *FEBS Journal*, 288(24), 6850. Wiley. <https://doi.org/10.1111/febs.15776>

Kurashina, Y., Imashiro, C., HIRANO, M., Kuribara, T., Totani, K., Ohnuma, K., Friend, J., & Takemura, K. (2019). Enzyme-free release of adhered cells from standard culture dishes using intermittent ultrasonic traveling waves. *Communications Biology*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0638-5>

Maliszewska-Olejniczak, K., Brodaczewska, K., Bielecka, Z. F., Solarek, W., Kornakiewicz, A., Szczylik, C., Porta, C., & Czarnecka, A. M. (2018). Development of extracellular matrix supported 3D culture of renal cancer cells and renal cancer stem cells. *Cytotechnology*, 71(1), 149. <https://doi.org/10.1007/s10616-018-0273-x>

Pamies, D. (2021). Guidance document on Good Cell and Tissue Culture Practice 2.0 (GCCP 2.0). *ALTEX*. <https://doi.org/10.14573/altex.2111011>

Rao, G. H. (2018). Biomedical Research and Healthcare: Opportunities, Expectations, and Limitations. *International Journal of Biomedicine*, 8(4), 273. [https://doi.org/10.21103/article8\(4\)_ra1](https://doi.org/10.21103/article8(4)_ra1)

Segeritz, C.-P., & Vallier, L. (2017). Cell Culture. In *Elsevier eBooks* (p. 151). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803077-6.00009-6>

Smith, L., & Meyer, G. A. (2019). Skeletal muscle explants: ex-vivo models to study cellular behavior in a complex tissue environment [Review of *Skeletal muscle explants: ex-vivo models to study cellular behavior in a complex tissue environment*]. *Connective Tissue Research*, 61, 248. Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1080/03008207.2019.1662409>

Üçgül, İ., & Elibüyük, S. A. (2017). Deselülerizasyon Yöntemleri Ve Dokularda Kullanımı. *DergiPark* (Istanbul University). <https://dergipark.org.tr/tr/pub/anka/issue/33406/354053>

Wacogne, B., Vaccari, N., Belinger-Podevin, M., Koubevi, C., Rouleau, A., & Frelet-Barrand, A. (2022). *Online Monitoring of T-Cell Growth: Assessment of the Concentration and Quality, and Real-Time Detection of Contamination*. 32. <https://doi.org/10.3390/engproc2022021032>

Yalçın, C. Ö., & Yılmaz, S. (2018). The Uses of Stem Cells in Toxicology Studies. *ANADOLU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY –C Life Sciences and Biotechnology*, 7(1), 90. <https://doi.org/10.18036/aubtdc.334686>

Yıldız, C., Bahçe, M., Şehirlioğlu, A., Tunay, S., Erler, K., Başbozkurt, M., Ogur, G., & Gür, E. (2014). Injectable chondrocyte. *DergiPark* (Istanbul University). <https://doi.org/10.3944/aott.v32i2.2233>

Zhao, C. (2023). Cell culture: in vitro model system and a promising path to in vivo applications. *Journal of Histotechnology*, 46(1), 1. <https://doi.org/10.1080/01478885.2023.2170772>

BÖLÜM 4

ÇEVRESEL DEĞİŞKENLERİN BAZI MAKROFUNGUSLARDA HİF GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE HAM LİF MİKTARLARININ BELİRLENMESİ

1. Fatih KALYONCU¹

2. Erbil KALMIŞ²

3. Dilek ŞEKER³

4. Gunay GASIMOVA⁴

Giriş

Ekolojik rolleri temelde ayrıştırıcılık olan fungusların bugüne değin tanımlanmış yüz bin kadar farklı türü bulunmaktadır. Son çalışmalar ışığında fungal âlem içinde *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Uncinellales*, *Microspora*, *Zygomycota*, *Glomeromycota*, *Ascomycota* ve *Basidiomycota* olmak üzere dokuz

¹ Prof. Dr., Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0003-3912-9373

² Doç. Dr., TC Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı İzmir İl Müdürlüğü, Orcid: 0000-0001-5144-1779

³ Dr., Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0002-2769-786X

⁴ MSc, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0009-0007-9358-0292

phylum yer almaktadır (Blackwell & ark., 2016: 829; Hibbett & ark., 2017: 509). Tüm fungal organizmaların on bin kadarı ise makrofungus olarak rapor edilmiştir.

Funguslar organik artıkları bitkilerin kullanımına sunmak için basit yapıli bileşiklere dönüştürerek yaşamın devamlılığını sağlarlar. Ayrıca pek çok gıdanın üretilmesinde, bazı endüstriyel enzimlerin, bitki büyüme hormonlarının, antibiyotiklerin ve organik asitlerin eldesinde funguslardan yararlanılır ve bu sayede insanın yaşam standardının artmasına katkıda bulunurlar (Sarıkürkçü & ark., 2008: 6651). Ancak bunların yanı sıra funguslar her yıl tonlarca gıda maddesini kullanılamayacak hale getirerek, bitki, hayvan ve insanlarda enfeksiyona sebep olarak yaşam kalitesini düşürücü etki de göstermektedirler (Rosa & ark., 2015: 983).

Bir organizmanın tanınabilmesi için morfolojik açıdan değerlendirilmesi, habitat özelliklerinin ve ekolojisinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmaları takiben laboratuvar ortamında fizyolojisi üzerinde çalışmalar yapılabilir. Doğadan bir makrofungusun periyodik olarak toplanması, ekolojik özelliklerinin incelenmesi ve fungaryum örneğinin oluşturulması çalışmaların ilk aşamasını oluşturmaktadır. Ayrıca makrofungusun doku veya spor örneklerinden hif formuna ulaşılması da çalışmaların bir diğer önemli safhasıdır. Benzer şekilde makrofungusların kimyasal analizleri ve biyoaktif bileşiklerinin belirlenmesi gibi çalışmalar da yapılabilir (Kalyoncu & Oskay, 2008: 31).

Bu çalışmada Akdeniz bölgesinde yetişen makrofunguslardan üretilen hif kültürlerinin bazı çevresel gelişim parametreleri saptanmaya çalışılmıştır. Ayrıca ticari olarak üretimi yapılan bir makrofungus türüne ait sap ve şapka yapılarının kuru madde ve ham lif içerikleri analiz edilmiştir. Çalışmamız ile ulaşılacak verilerin bu fungusların kültüre alınmasında, farklı bilim dallarında kullanımlarında, biyoaktif madde kökenli tıbbi araştırmalarda kullanılması olanağı da ortaya çıkabilecektir.

Yöntem

Araştırmamızın çevresel parametrelerin etkisinin incelenmesi bölümünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde korunan makrofungus hif koleksiyonundaki beş yabancı makrofungusun [*Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst.; *Paxillus involutus* (Batsch) Fr.; *Russula fellea* (Fr.) Fr.; *Stropharia inuncta* (Fr.) Quel.; *Tricholoma caligatum* (Viv.) Ricken] hif kültürleri kullanılmıştır. Kuru madde ve ham lif tayini için ise yine koleksiyonumuzda yer alan ve ticari üretimi yapılan bir makrofungusun [*Pleurotus eryngii* (DC.) Quel] sap ve şapka yapıları hasat dönemi boyunca üç kez toplanarak analiz edilmiştir. Bu fungusların isimleri ve koleksiyon kodları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 Makrofungus isimleri ve kod numaraları

<i>Meripilus giganteus</i> (Pers.) P. Karst.	MCC-08
<i>Paxillus involutus</i> (Batsch) Fr	MCC-52
<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quel.	MCC-50
<i>Russula fellea</i> (Fr.) Fr.	MCC-43
<i>Stropharia inuncta</i> (Fr.) Quel.	MCC-14
<i>Tricholoma caligatum</i> (Viv.) Ricken	MCC-11

Araştırmada ilk olarak +4⁰C'de saklanan hif kültürleri aktive edilmiştir. Bu amaçla hifler Patates Dekstroz Agar (PDA) içeren Petri kaplarına aşılansak 27⁰C'de 7-10 gün süre ile inkübe edilmişlerdir (Kalmış & Kalyoncu, 2008: 115). Aktivasyonu takiben hif kültürleri çalışmanın devamında standardizasyonu sağlamak adına Minimal Agar'a aktarılmış ve benzer koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Hiflerin çevresel isteklerinin saptanmasında sırasıyla; sıcaklık (15, 20, 25, 30, 35⁰C), pH (4; 4.5; 5; 5.5; 6) şeker (glikoz, früktoz, laktoz, maltoz, galaktoz, sükroz, arabinoz, ksiloz), NaCl (% 1, 5, 10) ve besiyeri hacmi (10 ml, 15 ml, 20 ml) testleri uygulanmıştır (Kalmış & Kalyoncu, 2008: 115). Çevresel

parametrelerin belirlenmesi çalışmaları katı besiyerlerinde gerçekleştirilmiştir. Katı besiyeri denemelerinde hif gelişimi koloni çapının mm cinsinden ölçülmesi ile belirlenmiştir (Kalyoncu & ark., 2010: 415). Tüm denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bir makrofungusa ait sap ve şapka örnekleri hasat dönemi boyunca üç kez toplanmış ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü laboratuvarında kuru madde ve ham lif içeriği yönünden analiz edilmiştir.

Bulgular

Makrofungus Kültürlerinin Farklı Sıcaklık Değerlerinde Gelişimleri

Çalışmamızda kullanılan beş makrofungusa ait hiflerin katı besiyerinde, 14. günde, beş farklı sıcaklık değerinde (15, 20, 25, 30, 35°C) ölçülen koloni gelişim değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2 Hiflerin farklı sıcaklıklardaki gelişim düzeyleri (mm)

	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
MG	39.0	73.0	85.0	81.0	38.0
Pİ	55.0	85.0	73.0	51.0	31.0
RF	41.0	70.0	85.0	79.0	39.0
Sİ	38.0	71.0	85.0	75.0	43.0
TC	34.0	67.0	77.0	85.0	64.0

MG:*Meripilus giganteus*; Pİ:*Paxillus involutus*; RF:*Russula fellea*; Sİ:*Stropharia inuncta*; TC:*Tricholoma caligatum*

Farklı sıcaklık değerlerinde gelişim denemelerinde üç makrofungus (*M. giganteus*, *Russula fellea*, *Stropharia inuncta*) 25°C’de, *Paxillus involutus* 20°C’de ve *Tricholoma caligatum* ise 30°C’de optimum gelişim değerlerini göstermişlerdir.

Makrofungus Kùltürlerinin Farklı pH Değerlerinde Gelişimleri

Çalışmamızda araştırılan beş makrofungus suşuna ait hiflerin katı ortamda, önceden saptanan optimum sıcaklık değerlerinde, 14. günde, beş farklı pH’da (4.0; 4.5; 5.0; 5.5; 6.0) ölçölen koloni gelişim değerleri mm olarak Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3 Hiflerin farklı pH değerlerindeki gelişim düzeyleri

pH	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
MG	54.0	68.0	76.0	85.0	81.0
Pİ	61.0	71.0	85.0	78.0	72.0
RF	53.0	64.0	76.0	85.0	78.0
Sİ	63.0	75.0	85.0	80.0	79.0
TC	47.0	62.0	71.0	80.0	85.0

MG:*Meripilus giganteus*; Pİ:*Paxillus involutus*; RF:*Russula fellea*; Sİ:*Stropharia inuncta*; TC:*Tricholoma caligatum*

pH denemelerinde *M. giganteus* ve *R. fellea* 5.5 pH’da; *P. involutus* ve *S. inuncta* 5.0 pH’da ve *T. caligatum* ise 6.0 pH’da en iyi koloni gelişim değerlerini vermişlerdir.

Makrofungus Kùltürlerinin Farklı şeker Kaynaklarında Gelişimleri

Araştırmamızda kullanılan beş makrofungus türüne ait hiflerin önceden belirlenen optimum sıcaklık ve pH değerlerinde, 14. günde, sekiz farklı şeker kaynağını içeren katı besiyerinde (glikoz, früktoz, laktoz, maltoz, galaktoz, süktroz, arabinoz, ksiloz) ölçölen koloni gelişim değerleri mm cinsinden Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4 Hiflerin farklı şeker kaynaklarındaki gelişimleri (mm)

	G	F	L	M	GL	S	A	K
MG	79.0	85.0	67.0	61.0	81.0	71.0	51.0	61.0
Pİ	85.0	77.0	66.0	57.0	74.0	77.0	51.0	59.0
RF	81.0	81.0	71.0	67.0	77.0	85.0	52.0	77.0
Sİ	74.0	77.0	72.0	75.0	85.0	81.0	61.0	62.0
TC	85.0	81.0	67.0	58.0	73.0	74.0	47.0	61.0

G: glikoz; F: früktoz; L: laktoz; M: maltoz; GL: galaktoz; S: sükroz; A: arabinoz; K: ksiloz

Şeker kaynağı deneylerinde *M. giganteus* früktoz içeren, *P. involutus* ve *T. caligatum* glikoz içeren, *R. fellea* sükroz içeren, *S. inuncta* ise galaktoz içeren ortamda optimum gelişim göstermişlerdir.

Makrofungus Hiflerinin Farklı NaCl Oranlarındaki Gelişimleri

Araştırmamızda beş makrofungusa ait hiflerin optimum sıcaklık ve pH değerinde, 14. günde, üç farklı NaCl konsantrasyonunu içeren katı besiyerinde (%1, %5, %10) ölçülen koloni gelişimleri mm cinsinden Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5 Misellerin farklı NaCl değerlerindeki gelişim düzeyleri

	%1	%5	%10
MG	81.0	43.0	21.0
Pİ	84.0	34.0	19.0
RF	83.0	38.0	13.0
Sİ	78.0	40.0	17.0
TC	80.0	25.0	12.0

MG:*Meripilus giganteus*; Pİ:*Paxillus involutus*; RF:*Russula fellea*; Sİ:*Stropharia inuncta*; TC:*Tricholoma caligatum*

Farklı NaCl konsantrasyonlarındaki koloni gelişimi denemelerinde makrofunguslar % 1 tuz içeren besiyerinde petri kabını doldururken tuz konsantrasyonu arttıkça misel gelişiminin belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

Makrofungus Misellerinin Farklı Besiyeri Miktarlarında Gelişimleri

Araştırma sürecinde kullanılan beş yabani makrofungusa ait hiflerin optimum sıcaklık ve pH değerlerinde, 14. günde, üç farklı besiyeri miktarını içeren Petri kaplarında (10 ml, 15 ml, 20 ml) ölçülen koloni büyüme değerleri Tablo 6’da verilmiştir.

Farklı besiyeri miktarı içeren Petri kaplarındaki koloni gelişimi denemelerinde makrofunguslar 20 ml besiyeri içeren Petri kabını doldururken besiyeri miktarı azaldıkça misel gelişimi de gerilemiştir.

Tablo 6 Misellerin farklı besiyeri miktarlarındaki gelişim düzeyleri

	10 ml	15 ml	20 ml
MG	68	78	84
Pİ	71	76	82
RF	70	81	85
Sİ	65	75	83
TC	67	75	82

MG:*Meripilus giganteus*; Pİ:*Paxillus involutus*; RF:*Russula fellea*; Sİ:*Stropharia inuncta*; TC:*Tricholoma caligatum*

Şap ve şapka örneklerinin kuru madde ve ham lif analizleri

Pleurotus eryngii'nin birbirini izleyen üç hasat döneminde elde edilen şap ve şapka örneklerinin kuru madde ve ham lif analizi sonuçları Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7 *P. eryngii* kuru madde ve ham lif analizi sonuçları (%)

	1. Hasat		2. Hasat		3. Hasat	
	KM	LİF	KM	LİF	KM	LİF
Şap	92.29	4.73	92.75	3.50	92.47	2.48
Şapka	91.72	4.80	91.94	4.36	91.61	3.45

Tablodan da görüleceği üzere *P. eryngii* makrofungusunda hasat dönemlerine göre şap ve şapka örneklerinin kuru madde içerikleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, ham lif miktarları incelendiğinde ilk hasatı takip eden süreçte belirgin bir azalma olduğu görülmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Araştırmamız kapsamında beş yabancı makrofungusa ait hif kültürleri kültürel ve ekolojik özellikleri açısından incelenmişlerdir. Çalışmamız katı ortamda yapılan optimum sıcaklık, pH, tuzluluk, farklı şeker kullanımı ve besiyeri hacmi testleri yanında bir makrofungusun şap ve şapka örneklerinin kuru madde ve ham lif miktarı analizini de içermektedir. Kültürlerin optimum sıcaklık olarak 20, 25 ve 30°C'de, asidite olarak 5.0; 5.5 ve 6.0 pH'da, karbon kaynağı olarak glikoz, früktoz, galaktoz ve sükroz içeren ortamda, tuzluluk olarak % 1 tuz konsantrasyonunda ve 20 ml besiyeri içeren Petri kaplarında en iyi gelişimleri gösterdikleri belirlenmiştir.

Çalışmamızla paralel olarak Ayodele & Ojogoro (2007: 1278) Afrika ve güney Avrupa'dan toplanan *Tricholoma caligatum* numunelerinin hif kültürlerinin optimum gelişimi 25°C'de gösterdiğini ve 30°C üzerinde hif büyümesinin yavaşladığını rapor etmiştir. Bir fungusun gelişimi veya bir metabolitin üretilmesi optimum sıcaklık değerinde çalışan enzimler ile kontrol edilen işlemlerin sonucudur. Bu sebeple bir fungusun optimum gelişim gösterdiği çevresel parametrelerin saptanması fungus üretiminde ve fungal ürün eldesinde önemli rol oynamaktadır.

Literatürdeki farklı bir çalışmada Winder (2006: 612) *Morchella elata*'nın JB4 kodlu suşunun optimum sıcaklık değerinin 16°C, diğer suş DE4'ün ise 20°C olduğunu rapor etmiştir. Kim & ark., (2002: 389) ascomycetes üyesi *Paelomyces sinclairii* için optimum sıcaklık değerinin 25°C olduğunu belirlemişlerdir. Bae & ark., (2000: 482) ise *Paecilomyces japonica* için optimum hif gelişim sıcaklığının yine 25°C olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmamız kapsamında incelediğimiz tüm şeker kaynaklarını içeren ortamlarda hif gelişimleri gözlenmiştir. Ancak, fruktoz, glukoz ve sükroz diğer şekerlere göre hif gelişimi üzerinde daha etkili olmuştur. Chou & Grace (1988: 883) ve Bending & ark., (2002: 219) çalışmalarında *Suillus luteus* ve *S. grevillei*'nin mannoz ve sellobioz kullanımları arasında dikkate değer farklılıklar olduğunu rapor etmişlerdir.

Matsuda & ark., (2006: 212) bazı ektomikorizal fungusların gelişimi üzerinde tuzluluğun etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada 100mM NaCl'nin *Pisolithus tinctorius*'us hif gelişimini diğer konsantrasyonlara göre belirgin bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir. Bu araştırmacılar ayrıca *Cenococcum geophilum* ve *Suillus luteus* makrofunguslarına ait misellerin gelişimlerinin tuz konsantrasyonunun artışı ile ters orantılı olarak yavaşladığını da rapor etmişlerdir. Miselin geliştiği ortamdaki tuz konsantrasyonunun artması ile miselde gelişimin durması veya yavaşlamasına ozmotik veya iyonik etkilerin tek tek veya birlikte neden olabileceği önceki çalışmalarda rapor edilmiştir.

Araştırmamız ile haklarında benzer bir çalışma bulunmayan ülkemize ait beş makrofungusun optimum gelişim koşulları saptanmaya çalışılmıştır. Ayrıca kültürü yapılan bir makrofungusun da hasat dönemine göre sap ve şapka örneklerinin kuru madde ve ham lif miktarları belirlenmiştir. Bu araştırma ile elde edilen verilerin ileride yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Kaynakça

Ayodele, S.M., Ojogoro, O.J. (2007). Salt stress effects on the vegetative growth of *Pleurotus tuberregium* (FR) Sing. *Journal of Biological Science*, 7(7), 1278–1281.

Bae, J.T., Sinha, J., Park, J.P., Song, C.H., Yun, J.W. (2000). Optimization of submerged culture conditions for exo-biopolymer production by *Paecilomyces japonica*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 10(4), 482–487.

Bending, G.D., Poole, E.J., Whipps, J.M., Read, D.J. (2002). Characterisation of bacteria from *Pinus sylvestris* – *Suillus luteus* mycorrhizas and their effects on root-fungus interactions and plant growth. *FEMS Microbiology Ecology*, 39, 219–227.

Blackwell, M., Hibbett, D.S., Taylor, J.W., Spatafora, J.W. (2006). Research coordination Networks: a phylogeny for kingdom Fungi (deep hypha), *Mycologia*, 98(6), 829–837.

Chu-Chou, M., Grace, L.J. (1988). Mycorrhizal fungi of radiata pine in different forests of the north and south islands in New Zealand. *Soil Biology Biochemistry*, 20(6), 883–886.

Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi, *Mycological Research*, 111, 509–547.

Kalmış, E., Kalyoncu, F. (2008). The effects of some environmental parameters on mycelial growth of two ectomycorrhizal fungi, *Tricholoma caligatum* and *Morchella angusticeps*, *Mycologia Balcanica*, 5, 115–118.

Kalyoncu, F., Oskay, M. (2008). Antimicrobial activities of four wild mushroom species collected from Turkey. *Proceedings of the 6th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*, 31–35, Bonn, Germany.

Kalyoncu, F., Oskay, M., Sağlam, H., Erdoğan, T.F., Tamer, A.Ü. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of mycelia of 10 wild mushroom species. *Journal of Medicinal Food*. 13(2), 415 – 419.

Kim, S.W., Hwang, H.J., Xu, C.P., Na, Y.S., Song, S.K., Yun, J.W. (2002). Influence of nutritional conditions on the mycelial growth and exopolysaccharide production in *Paecilomyces sinclairii*. *Letters Applied Microbiology*, 34, 389–393.

Matsuda, Y., Sugiyama, F., Nakanishi, K., Ito, S. (2006). Effects of sodium chloride on growth of ectomycorrhizal fungal isolates in culture. *Mycoscience*, 47, 212–217.

Rosa, L.H., Cota, B.B., Machado, K.M.G., Rosa, A.C., Zani, C.L. (2005). Antifungal and other biological activities from *Oudemansiella canarii* (Basidiomycota). *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 21, 983-987.

Sarıkürkçü, C., Tepe, B., Yamaç, M. (2008). Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir – Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron*, *Bioresource Technology*, 99(14), 6651–6655.

Winder, R.S. (2006). Cultural studies of *Morchella elata*. *Mycological Research*, 110, 612–623.

BÖLÜM 5

***Galleria mellonella* LARVALARINDA BESLENME TEMELLİ (FORCE FEEDING) DEMİR OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN PROTEİN, KARBONHİDRAT VE LİPİT MİKTARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Mustafa COŞKUN¹
Mehmet SERTBAŞ²

Giriş

Beslenme, besin maddelerinin organizma tarafından vücut bileşenlerine dönüştürülmesini sağlayan kimyasal ve fizyolojik faaliyetleri içerir. Böcek beslenmesine yönelik çalışmalar, metabolik süreçlerin başlatılması ve devamlılığı için gerekli besin bileşenleri ile böceğin sentez kapasitesi arasındaki ilişkiye odaklanmaktadır.

Besinsel araştırmalarda yaygın olarak, besine belirli bileşenlerin eklenmesi, çıkarılması ya da farklı oranlarda kullanılması esasına dayanan teknikler uygulanmaktadır. Bu kapsamda özellikle aksenik koşullar altında hazırlanan, kimyasal

¹ Prof.Dr., Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0001-5044-6295

² Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0001-5743-6727

bileşimi tanımlı meridik ve holidik besinler (Cohen, 2004:124) tercih edilmektedir. Bu tür besinlerin içeriğinde yapılan kontrollü değişikliklerin böceklerde meydana getirdiği morfolojik, fizyolojik ve metabolik yanıtların izlenmesi, türlerin besinsel gereksinimlerine ilişkin önemli bilgiler sunmaktadır. (Teder, Vellau & Tammaru, 2014:3218; Oonincx & ark., 2015:2).

Besinsel proteinlerin kalitesi çeşitlilik göstermekte ve türler arasında kullanım önceliği açısından farklılık gösterebilmektedir. Farklı karbonhidratların besleyici değerleri, karbonhidratın fagositimülant (besin almayı uyarıcı etkisinin) özelliğinin, enerji üretimi için metabolize edilebilir monosakkaritlerin veya ilgili moleküllerin ve kompleks karbonhidratları, yapısını oluşturan monomerlere hidrolize edecek uygun sindirim enzimlerinin olup olmaması gibi üç unsur ile yakından ilişkilidir.

Böcekler lipit kullanırlar ve genellikle de bunları proteinler ve karbonhidratlardan sentezleyebilirler. Bununla beraber, belirli türler özellikle linoleik ve linolenik (Sayah, 2008:55) gibi belirli yağ asitlerini sentezleyemezler. Bu bakımdan bu gibi yağ asitlerini dış kaynaklardan almak zorundadırlar.

Galleria mellonella (L.) Lepidoptera takımının Pyralidae familyasına ait holometabol o bir böcek türüdür (Coskun & ark., 2006:856). Bal mumu güvesinin dünya genelinde geniş bir dağılım gösterdiği; özellikle arıcılık faaliyetlerinin yoğun olarak yürütüldüğü bölgelerde popülasyon yoğunluğunun daha yüksek olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca, bu türün çevresel koşullara uyum sağlama kapasitesinin oldukça gelişmiş olduğu bildirilmektedir. *G. mellonella* ile etkili bir mücadele için böceğin biyokimyası ve fizyolojik yapısının anlaşılabilmesi için son yıllarda yapılan çalışmalar oldukça artmıştır (Ellis, Graham & Mortensen, 2013:1; Hosamani & ark., 2017:3811). *G. mellonella*'nın laboratuvar ortamında çok fazla yumurta vermesi, gelişim döngüsünün kısa olması, besinin az maliyetli olup kolay hazırlanmasıyla birlikte

memelilere bağışıklık sistemi, hücre yapısı ve metabolik olarak benzediğinden daha çok tercih edilen bir model organizma olmuştur (Kayis & ark., 2015:570; Emre & ark., 2013:371). Azaltma (Reduction), İyileştirme (Refinement) ve Yerine Koyma (Replacement) ilkelerini içeren 3R prensipleri doğrultusunda, *G. mellonella* farmakolojik araştırmalar, ilaç etkililik ve toksisite deneyleri ile immünolojik çalışmalar için uygun ve etik bir alternatif model olarak öne çıkmaktadır. (Moya-Andérico & ark., 2021:129235; Champion, Wagley & Titball, 2016:840; Sheehan & ark., 2018:1625; Wojda & ark., 2020)

Galleria mellonella gelişim döngüsü bulunduğu ortamdaki farklı sıcaklık ve neme bağılı olarak 3 - 5 ay arası sürmektedir. Erginlerin yumurta bırakmasını takiben 7-11 gün sonra larvalar gelişmeye başlamaktadır. Yumurtaları beyazımtırak veya krem renginde olup küre şeklindedir. Larval evre 14-28 gün sürmektedir. Larvalar segmentli bir yapıya sahip olup büyüdükçe segmentler belirginleşir ve renkleri gün geçtikçe koyulaşır. Larval evrede peteklerdeki yapısal bozulma üst düzey iken diğer evrelerde yok denilecek kadar azdır. *G. mellonella*'nın pupa evresi 8-15 gün sürmektedir. Pupa koyu sarımsı-turuncu renkli olup ve evrenin sonuna doğru pupa koyulaşır. Ergin Ömürleri 10-25 gündür, Dişi bireyler erkek bireylere göre daha iri ve daha koyu renklidir. Ergin bireyler yaşam süreleri boyunca yaklaşık 250-650 arası yumurta bırakmaktadır.

Nanoteknoloji günümüzde önemli bir yere sahip olup araştırma ve geliştirme için önemli yatırımların yapıldığı bir alandır. "Nano" terimi küçük anlamına gelirken nanoteknolojiye küçük parçacıkların teknolojisi de diyebiliriz (Buzea, Blandino & Robbie, 2007:17). Nanometre (nm), 1 metrenin milyarda birine karşılık gelen (10^{-9} m) bir uzunluk birimidir (Taniguchi, 1974:19). Literatürde nanopartikül tanımına ilişkin farklı yaklaşımlar bulunmaktadır; bazı araştırmacılar boyutu 50 nm'ye kadar olan yapıları nanopartikül

olarak değerlendirirken (Kittelson, 2001), diğerleri ise bu üst sınırı 100 nanometre ya da 1 mikron (μm) olarak kabul etmektedir (Buzea, Blandino & Robbie, 2007:18). Nanoparçacıkların kullanımı, endüstride hem verimliliği artıran hem de daha kaliteli, uzun ömürlü ve güvenilir ürünlerin ortaya çıkmasını sağlayan yenilikçi çözümler sunmaktadır. Bununla birlikte biyoloji, tıp, eczacılık, kozmetik, matematik, fizik, kimya, elektronik, tarım ilaçları, bilişim, otomobil gibi birçok alanda kullanımı yaygındır (Jia & Schüth, 2011:5794; Mabrouk & ark., 2021:1077; Peters & ark., 2014:621; Stark & ark., 2015:5793).

Magnetit (Fe_3O_4), magemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) ve hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), literatürde en yaygın olarak tanımlanan başlıca demir oksit formlarıdır. Özellikle Fe_3O_4 ve $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, üstün manyetik yanıtları ve biyolojik yapıları nedeniyle en çok tercih edilen demir oksit molekülleridir (Gürmen & Ebin, 2008:32; Valdiglesias & ark., 2016:54). Demir oksit nanopartikülleri özellikleri ve güvenilir izlenebilirlikleri sayesinde biyomedikal ve tarım alanda yaygın olarak uygulanmaktadır. (Gahlawat & Choudhury, 2019:12944; Kato & Suzuki, 2020:589).

Demir oksit nanoparçacıklarının çekirdek yapısı, yüzey kaplaması ve transfeksiyonu kolaylaştıran ajanların optimize edilmesi, nanoparçacıkların hücre alımını ve biyolojik etkinliğini artırmaktadır. Bununla birlikte, farklı demir oksit nanoparçacık türlerinin toksikolojik özellikleri; in vitro koşullarda hücreler tarafından alımı, hücre içi dağılımı ve metabolizması açısından belirgin farklılıklar göstermektedir.

Fe_2O_3 ve Fe_3O_4 nanoparçacıkları biyolojik, kimyasal ve fiziksel olarak farklı yöntemlere göre üretilir (Roy & ark., 2001:1764647). Bu yöntemler partikülün kararlılığı ve yapısı biyolojik uyum için oldukça önemlidir. Bunların sentezinde hidrotermal, sonokimyasal, mikroemülsiyon, birlikte çöktürme ve elektrokimyasal biriktirme gibi çeşitli yöntemler yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bu metodlar demir oksit parçacıklarını daha verimli elde etmek için kullanılır. Bu metotlarla birlikte mikroorganizma veya bakteriyel sentez ve lazer piroliz teknikleri de kullanılır (Gürmen & Ebin, 2008:34; Alyüz & Veli, 2005:95; Güven, 2005:210; Can, 2005:130).

Galleria mellonella üzerine yapılan çalışma modellerinde larva üzerine uygulama yapılırken 3 farklı metot kullanılmaktadır. Besinsel uygulamada test edilen materyal besinle karıştırılarak larvalara verilebilmekte; ancak alınan gerçek dozun kesin olarak belirlenememesi bu yöntemin güvenilirliğini sınırlamaktadır. Enjeksiyon yoluyla doz kontrolü sağlansa da, doğal bulaşma koşullarını tam olarak yansıtmamaktadır. Bu anlamda yapılan çalışmada, doğal alım yoluna daha yakın ve doz kontrolünün sağlanabildiği force-feeding (zorla besleme) yöntemi tercih edilerek Fe₂O₃ nanopartikülleri doğrudan larvalara ağız yoluyla verilmiştir. Bu kapsamda, farklı konsantrasyonlarda uygulanan Fe₂O₃ nanopartiküllerinin *G. mellonella* larvalarında total karbonhidrat, total protein ve total lipid düzeyleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada kullanılan demir oksit nanopartikülleri, yapılan denemeler sonucunda 1, 2, 5, 10, 20, 50 µg dozları olarak belirlendi. Hazırlanan konsantrasyonlar 10 µl Hamilton marka enjektör yardımıyla alınıp force-feeding yöntemi ile 7. evre *G. mellonella* larvalarına verildi. Kontrol grubundaki larvalara işlem uygulanmadı ve negatif kontrol için alınan larvalara 10 µl saf su verildi. Force-feeding yöntemi sonrasında larvalar 4 ve 24 saat boyunca % 65±5 bağıl nem 30±2°C sıcaklık ve karanlık ortama sahip laboratuvar ortamında bekletildi. Beklenen süre sonunda larvalar alınıp yaş ağırlığı belirlendikten sonra biyokimyasal analizler için -80°C’de saklandı. Her bir konsantrasyon için beş larva ve her bir konsantrasyon için beş tekrar şeklinde deney yapıldı. Farklı tozlarda

demir oksit nanopartiküllerinin uygulandığı -80°C’de muhafaza edilen larvalar, karbonhidrat miktarı, lipit miktarı, protein miktarı tayini için hazırlandı.

Karbonhidrat ve lipit miktarı için önceden yaş ağırlıkları alınan -80°C’de muhafaza edilen *G. mellonella* larvaları kullanıldı. Fenilthioure kristali eklenen larvalar 24000 devir/dk da 10 dakika homojenize edildi. Bu işlem sonrasında 1/2 oranında hazırlanan kloroform/metanol çözeltisinden 8 ml eklenerek 10 dakika 9000 devir/dk da santrifüj edildi. Santrifüj sonrası karbonhidrat analizi için 0.2 ml lipit analizi için 0.2 ml süpernatant alındı.

Karbonhidrat miktarı tayini için (Van Handel, 1985a:299), lipit miktarı tayini (Van Handel, 1985b:302) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Karbonhidrat ve Lipit tayini için homojenizasyon işlemi sonrası santrifüj edilen numunelerden 0.2 ml cam tüplere konuldu. Cam tüpler 90°C’deki benmariye konuldu ve kloroform/metanol çözeltisi tamamen buharlaşmaya kadar beklendi ve tüpler soğumaya bırakıldı. Soğuma işlemi gerçekleştikten sonra Karbonhidrat miktarının belirlenmesi için tüplere 1 ml antron çözeltisi eklendi ve tüpler 90°C’de 15 dakika benmaride bekletildi. Bu işlem sonrasında tüpler soğumaya bırakıldı ve numuneler 625 nm absorbansta spektrofotometrede okundu. Elde edilen değerler regresyon denkleminde yerine konularak toplam karbonhidrat miktarı belirlendi.

Lipit miktarı tayini için ise buharlaşma işlemi tamamlanınca tüplere 0.04 ml sülfürik asit çözeltisi konulduktan sonra iyice karıştırıldı ve 2 dakika 90°C’lik sıcak su banyosundan bekletilip soğutulan örneklerin üzerine vanilin - fosforik asit çözeltisinden 960 ml eklendi ve 30 dakika beklendikten sonra köre karşı spektrofotometrede 525 nanometrede okundu. Bu değerler standart eğrisinde yerine konuldu ve lipit miktarı tespit edildi.

Protein miktarı tayininde Lowry & ark., 1951:265 tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. Deney tüpüne 300 µl örnek konuldu üzerine 3 ml çözelti c eklenip karıştırıldı, 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda folin-ciocalteu çözeltisinden 300 µl eklendi ve spektrofotometrede 750 nanometrede okundu. Elde edilen veriler standart eğrisinde yerine konularak protein miktarı belirlendi.

Verilerin değerlendirilmesinde varyans analiz yöntemi, Student Newman Keul's (SNK) testi ile SPSS 20.00 istatistik paket programı kullanıldı.

Bulgular

Farklı konsantrasyonlardaki, force-feeding yöntemiyle, *G. mellonella* larvalarına verilen Fe₂O₃ NP molekülünün protein, karbonhidrat ve lipit miktarına 4 saat sonundaki etkileri Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 1. Demir oksit Nanopartikülünün G. mellonella larvalarının protein, karbonhidrat ve lipit miktarlarına 4 saat sonundaki etkileri.

Fe ₂ O ₃ NP (µg/Larva)	Protein mg	Karbonhidrat mg	Lipit mg
0.00*	14.14±0.59cd	11.80±0.19a	1.28±0.05ab
0.00**	14.03±0.39cd	9.20±0.04b	1.11±0.06bc
1.00	15.12±0.35bcd	7.91±0.32cd	1.42±0.10a
2.00	15.80±0.39bc	8.57±0.41bc	0.95±0.04c
5.00	16.17±0.57ab	8.92±0.29bc	0.95±0.04c
10.00	15.09±0.54bcd	7.78±0.25cd	1.15±0.11bc
20.00	17.45±0.31a	7.30±0.78d	0.99±0.03c
50.00	13.58±0.32d	7.16±0.26d	0.98±0.39c

* : Kontrol, ** : Negatif Kontrol

SNK: a. Aynı harfi içeren veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistiksel ayırım vardır.

Protein miktarına etkilerinin incelendiği deney serisinde; yüksek konsantrasyondaki Fe₂O₃ NP konsantrasyonlarının besin yoluyla verilmesi sonucu kontrole göre

protein miktarında değişimler göze çarpmaktadır. En düşük protein miktarı 50.00 µg/larva olan konsantrasyonda 13.58 mg olarak gerçekleşmiştir. Larvalara verilen 1.00 ve 2.00 Fe₂O₃ NP protein miktarına kontrole göre herhangi bir etkide bulunmamıştır. Konsantrasyonun 20.00 µg/larva olduğu durumda ise protein miktarı kontrole göre önemli bir şekilde artış göstermiştir.

Karbonhidrat miktarı 4 saat sonunda uygulanan tüm konsantrasyonlarda kontrole göre önemli bir şekilde düşmüştür. Bazı konsantrasyonlarda istatistiki bir ayrım görülmemesine rağmen, konsantrasyon artışına bağlı olarak lineer bir düşüş göze çarpmaktadır. En düşük karbonhidrat miktarı en yüksek konsantrasyon olan 50.00 µg/larva olması durumunda 7.16 mg olarak gözlenmiştir. En yüksek karbonhidrat miktarı kontrol grubunda 11.80 mg olarak gerçekleşmiştir.

Lipit miktarı 4 saat sonunda 1.00 ve 10.00 µg/larva uygulama dozu dışındaki oranlarda kontrole göre düşmüştür. Söz konusu Fe₂O₃ NP dozları lipit miktarına olumlu veya olumsuz yönde bir etkide bulunmamıştır. Kontrol ve negatif kontrol verileri arasında istatistiki bir ayrım söz konusu değildir.

Force-feeding yöntemiyle son evre larvalarına verilen farklı demir oksit nanopartikül (Fe₂O₃ NP) moleküllerinin (1.00, 2.00, 5.00, 10.00, 20.00, 50.00 µg/larva) 24 saat sonraki etkileri Tablo 2' de gösterilmiştir.

Protein miktarı yüksek dozdaki Fe₂O₃ NP uygulamalarında kontrole göre yükselmiştir. En yüksek protein miktarı 18.90 mg olarak 20.00 µg/larva Fe₂O₃ NP verilen böceklerde ölçülmüştür. En düşük protein miktarlarından biri de en yüksek Fe₂O₃ NP konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. Benzer bir şekilde Fe₂O₃ NP oranının 1.00 µg/larva olduğu grupta da protein miktarı diğer konsantrasyonlara göre önemli oranda düşmüştür. Denenen Fe₂O₃ NP oranları protein miktarını kontrol grubuna göre etkide

bulunmuştur. Söz konusu durum genellikle artış şeklinde kendini göstermiştir.

Tablo 2 Fe₂O₃ NP'nin G. mellonella larvalarının protein, karbonhidrat ve lipit miktarlarına 24 saat sonundaki etkileri

Fe ₂ O ₃ NP (µg/Larva)	Protein mg	Karbonhidrat mg	Lipit mg
0.00*	15.84±0.43d	11.28±0.45a	1.50±0.07a
0.00**	16.06±0.54bc	9.09±0.29b	1.37±0.05abc
1.00	15.09±0.73d	7.18±0.36c	1.45±0.04ab
2.00	16.63±0.31bc	6.94±0.24c	1.20±0.06bc
5.00	18.25±0.60ab	7.06±0.21c	1.07±0.08c
10.00	16.62±0.42bc	7.63±0.18c	1.22±0.04abc
20.00	18.90±0.98a	7.10±0.27c	1.32±0.08abc
50.00	15.31±0.39d	6.92±0.14c	1.24±0.06abc

* : Kontrol, ** : Negatif Kontrol

SNK: Aynı harfi içeren veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistiksel ayırım vardır.

Karbonhidrat miktarı artan Fe₂O₃ NP oranlarına bağlı olarak kontrol grubuna göre önemli derecede düşmüştür. En yüksek karbonhidrat miktarı kontrol grubunda ortaya çıkmıştır. Negatif kontrol grubundan elde edilen veriler ile kontrol grubu arasında da farklılıklar göze çarpmaktadır. Kontrol grubunda 11.28 mg ölçülen karbonhidrat miktarı negatif kontrol grubunda 9.09 mg bulunmuştur.

Lipit miktarı Fe₂O₃ NP etkisi altında 24 saat sonunda uygulanan tüm konsantrasyonlarda kontrole göre düşüş göstermiştir. Force-feeding yöntemiyle verilen Fe₂O₃ NP'leri her larva için oranın 2.00 ve 5.00 µg olduğu durumda lipit miktarı sırasıyla 1.20 ve 1.07 mg olarak gerçekleşmiştir.

Tartışma

Metal nanopartiküllere yönelik araştırmalar, bu materyallerin farklı disiplinlerdeki uygulamaları açısından kritik öneme sahip olup, etkilerinin ve potansiyellerinin ayrıntılı biçimde değerlendirilmesini gerektirmektedir. *G. mellonella* larvaları, geleneksel deney modellerine kıyasla etik ve lojistik avantajlar sunarak metal nanopartiküllerin etkilerinin araştırılmasında değerli bir model organizma olarak öne çıkmıştır. Yapılan çalışmada, *G. mellonella*'nın Fe₂O₃ metal nanopartiküllerin toksisitesi, dağılımı ve terapötik potansiyelinin değerlendirilmesi ve total karbonhidrat, total protein ve total lipit oranı üzerine etkileri olduğu ortaya konmuştur.

Geçiş metalleri, birçok önemli biyolojik süreçte yer almasından dolayı canlı organizmaların hayati fonksiyonları için çok önemlidir. Bu metaller genellikle metalloproteinler sınıfına dahil edilmekle birlikte metalloenzimler, depo proteinleri ve transkripsiyon faktörleri de bu gruba dahil edilmektedir. Bu metaller içinde demirin solunum ve bazı metabolik süreçlerde önemli görevi vardır. Tüm canlı organizmalar hayatta kalmak için geçiş metallerine ihtiyaç duyar, ancak bu metallerin katalitik aktiviteleri toksisitelerini güçlendirir. Bu nedenle geçiş metallerinin oranı dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir.

Besinler organizma sağlığına olumlu katkıda bulunurken, yetersiz ve aşırı beslenme sonucunda oluşan sağlık problemleri taksonlar arasında büyük sorun teşkil etmektedir (Calder & Kulkarni, 2017). Böcekler de diğer canlılar gibi hayatsal faaliyetlerinin devamı için besinlere ihtiyaç duyar (Coskun & ark., 2020:9953). Protein, karbonhidrat ve lipit ihtiyaçları türden türe farklılık göstereceği gibi aynı türün bireyleri arasında ve gelişim evrelerinde bile farklılık gösterebilir.

Hemolenf, böceklerde besinsel ve immünolojik homeostazın ana düzenleyicisi olduğundan besin bileşenleri ve alınan besinin kalitesi böceğin yaşamı için en önemli grubu oluşturmaktadır.

Besin depolaması için önemli bir yer hemolenf, trehaloz ve glikoz gibi şekerler ve mannitol ve sorbitol gibi şeker alkoller, serbest amino asitler ve ayrıca çeşitli peptitler ve proteinler içerir. Bu nedenle bir mikroorganizma için böcek hemolenfi, besin açısından zengin, dengeli iyonik bileşimli ve nötre yakın pH'lı bir ortam olduğu için en iyi yerdir. Buna karşılık, hemolenf immolojik olarak birçok faktörü bileşenlerinde bulundurduğundan organizmanın bağışıklık merkezidir. (Blow & Douglas, 2019:34; Chapman & ark., 2013:112; Lemaitre & Hoffmann, 2007:698; Samartín & Chandra, 2001:245; Thompson, 2003:258).

Besinlerin böcek homeostazisinde ve immünolojik fonksiyonların düzenlenmesindeki kanıtsanamaz rolü yapılan çalışmanın önemini bir kez daha ortaya koymuştur. Çalışmamızda Fe₂O₃ nanopartikül etkisinde görülen total protein miktarları açısından kontrol grupları ve deney grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmamasının nedeni böcekteki protein seviyelerinin genel olarak korunması olabilir. Önemsiz seviyelerde azalma görülmesinin nedeni ise NP'lerin, böcekte stres koşullarını tetiklemesi ve protein katabolizmasının böcekte rol alması olabilir (Moret & Schmid-Hempel, 2000:1169).

Bazı konsantrasyonlardaki protein miktarlarındaki artış ise özellikle nanopartiküllerin juvenil hormon yapısı üzerine olan etkisi ile açıklanabilir. Bu durumda böceklerin metamorfoz geçişleri engellenmiş ve dolayısı ile böceklerde olası kütleli bir artışa (Park & ark., 2003:468) gidildiğinden dolayı protein miktarındaki artışların normal olduğu söylenebilir. Özellikle karbonhidrat miktarlarındaki azalışın böceklerin stres ile baş edebilmesi için karbonhidrat kaynaklarını tüketmesi sonucu olmaktadır. Bu durumun daha iyi açıklanabilmesi için farklı boyut, süre ve uygulama

metotlarına ihtiyaç olduğu bir gerçektir. Yüksek Fe₂O₃ nanopartikül konsantrasyonlardaki özellikle karbohidrat lineer artış ve azalışlar biyobelirteç olarak kullanılabilir. Lipit miktarı yüksek demir oksit konsantrasyonlardan önemli ölçüde etkilenerek azalmıştır. *G.mellonella*'da lipit miktarında gözlenen bu azalma (Shin, Choi & Lee, 2001:349; Ibrahim & Ali, 2018:1373) tarafından yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir.

Lipit miktarındaki bu azalma Demir oksitin neden olduğu stres altında artan enerji ihtiyacının karşılanması için diğer enerji kaynaklarıyla beraber lipitlerin de kullanılmış olabileceğini akla getirmektedir (Jemec & ark., 2007:303). Coskun & ark., 2021:1263 tarafından yapılan bir araştırmada ağır metal uygulamalarına bağlı makromolekül azalmasıyla uyumlu olarak, bizim çalışmamızda da stres koşulları altında enerji rezervlerinde benzer bir düşüş saptanmıştır. Bununla Birlikte demir oksitin sindirim bozukluklarına yol açarak enerji gereksinimini karşılamak amacıyla protein ve lipit metabolizmasının artmasına neden olabileceğini düşündürmektedir. Fe₂O₃-NP'lerin etki mekanizmasının, nanoparçacıkların böceğin sindirim sistemiyle etkileşime girerek enzim aktivitelerini bozması ve metabolik yolları etkilemesi yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Shahzad & Manzoor, 2021:8). Yüksek konsantrasyonlarda Fe₂O₃-NP'ler larvaların protein ve lipitleri etkin bir şekilde işlemlerini ve depolamasını da olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Kaynaklar

Alyüz, B. & Veli, S. (2005). Low-cost adsorbents used in heavy metal contaminated waste water treatment. *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 3, 94-105.

Blow, F. & Douglas, A.E. (2019). The hemolymph microbiome of insects. *Journal of Insect Physiology*, 115, 33–39. Doi: 10.1016/j.jinsphys.2019.04.002

Buzea, C., Blandino, I.I.P. & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*, 2(4), 17-71. Doi: 10.1116/1.2815690

Calder, P.C. & Kulkarni, A.D. (2017). *Nutrition, Immunity, and Infection*. Boca Raton: CRC Press.

Can, M. (2005). Manyetik Nanoparçacıkların Fiziksel Özelliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, pp 120.

Champion, O. L., Wagley, S., & Titball, R. W. (2016). *Galleria mellonella* as a Model Host for Microbiological and Toxin Research. *Virulence*, 7, 840–845. Doi: 10.1080/21505594.2016.1203486

Chapman, R.F., Douglas, A.E., Siva-Jothy M.T. & Simpson S.J. (2013). Circulatory system, blood and the immune system. *The Insects: Structure and Function*. In S.J. Simpson & Douglas, A.E. (Eds.), pp. 107–31. UK: Cambridge University Press.

Cohen, A.C. (2004). *Insect Diets Science and Technology*. Boca Raton, FL: CRC Press, 324 pp.

Coskun, M., Kayis, T., Gulsu, E., & Alp, E. (2020) Effects of selenium and vitamin E on enzymatic, biochemical, and immunological biomarkers in *Galleria mellonella* L. *Scientific Reports*, 10, 9953. Doi: 10.1038/s41598-020-67072-9

Coskun, M., Kayis, T., Sulanc, M., & Ozalp, P. (2006) Effects of different honeycomb and sucrose levels on the development of greater wax moth *Galleria mellonella* larvae. *International Journal of Agriculture and Biology*, 8 (6), 855–858.

Coskun, M., Kayis, T., Yilmaz, M., Dursun, O., & Emre, I. (2021). Copper and zinc impact on stress biomarkers and growth parameters in a model organism, *Galleria mellonella* larvae. *Biometals*, 34(6), 1263-1273. Doi:10.1007/s10534-021-00341-w.

Ellis, J. D., Graham, J. R., & Mortensen, A., (2013). Standard Methods for Wax Moth Research. *Journal of Apicultural Research*, 52 (1), 1-17. Doi:10.3896/IBRA.1.52.1.10.

Emre, I., T. Kayis, M. Coskun, O. Dursun, & Cogun, H. Y. (2013). Changes in antioxidative enyzme activity, glycogen, lipit, protein, and melondialdehyde content in cadmiumtreated *Galleria mellonella* larvae. *Annals of Entomological Society of America*, 106, 371–377. Doi:10.1603/AN12137.

Gahlawat G., & Choudhury, A.R. (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes, *RSC Advances*, 9, 12944–12967. Doi:10.1039/C8RA10483B

Gürmen, S., & Ebin, B. (2008). Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri-I. *Metalurji Dergisi*, 150, 31-38.

Güven, G., (2005). “Eş Boyutlu, Katyonik, Fonksiyonel Grup İçeren/İçermeyen, Manyetik Yüklü Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Nükleik Asit Uygulamaları”, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Pp 204.

Hosamani, V., Hanumantha, S. B. C., Kattimani, K. N., & Kalibavi, C. M., (2017). Studies on Biology of Greater Wax Moth (*Galleria mellonella* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (11), 3811–3815. Doi: 10.1093/femspd/ftaa057

Ibrahim, A. M. & Ali, A. M. (2018). Silver and zinc oxide nanoparticles induce developmental and physiological changes in the larval and pupal stages of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21, 1373–1378. Doi:10.1016/j.aspen.2018.10.018

Jemec, A., Drobne, D., Tisler, T., Trebse, P., Ros, M., & Sepčić K. (2007). The applicability of acetylcholinesterase and glutathione S-transferase in *Daphnia magna* toxicity test. *Comparative*

Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 144 (4), 303-9. Doi: 10.1016/j.cbpc.2006.10.002

Jia, C. J., & Schüth, F. (2011). Colloidal metal nanoparticles as a component of applications of nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 44, 5793–5805. Doi:10.1039/c4cs00362d

Kato, Y., & Suzuki M., (2020). Synthesis of metal nanoparticles by microorganisms. *Crystals*, 10, 589. Doi:10.3390/cryst10070589.

Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O., & Emre, I. (2015). Alterations in antioxidant enzyme activity, lipid peroxidation, and ion balance induced by dichlorvos in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of Entomological Society of America*, 108 (4), 570–574. Doi:10.1093/aesa/sav038.

Kittelson, D.B., (2001). Recent Measurements of Nanoparticle Emission from Engines. *Current Research on Diesel Exhaust Particles*, Tokyo, Japan.

Lemaitre, B., & Hoffmann, J., (2007). The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology*, 25, 697-743. Doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141615

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193 (1), 265–75.

Mabrouk, M., Das, D. B., Salem, Z. A., & Beherei, H. H. (2021). Nanomaterials for biomedical applications: production, characterisations, recent trends and difficulties. *Molecules*, 26, 1077. Doi:10.3390/molecules26041077.

Moret, Y., & Schmid-Hempel, P., (2000). Survival for immunity: the price of immune system activation for bumblebee workers. *Science*, 290, 1166-1168. Doi: 10.1126/science.290.5494.1166.

Moya-Andérico, L., Vukomanovic, M., Cendra, M. D. M., Segura-Feliu, M., Gil, V., Del Río, J. A., & Torrents, E. (2021). Utility of *Galleria mellonella* larvae for evaluating nanoparticle toxicology. *Chemosphere*, 266, 29235. Doi:10.1016/j.chemosphere.2020.129235.

Oonincx, D.G., Van Broekhoven, S., Van Huis, A., & van Loon, J.J. (2015). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PLoS One*, 10, e0144601. Doi:10.1371/journal.pone.0144601.

Park, H.J., Kim, E.J., Tai, Y.K., & Tai, H.P., (2003). Purification of recombinant 30K protein produced in *Escherichia coli*, and its anti-apoptotic effect in mammalian and insect cell systems. *Enzyme and Microbial Technology*, 33 (4), 466–471. Doi: 10.1016/S0141-0229(03)00149-2.

Peters, R., Brandhoff, P., Weigel, S., Marvin, H., Bouwmeester, H., Aschberger, K., Rauscher, H., Amenta, V., Arena, M., Botelho Moniz, F., Gottardo, S. & Mech, A. (2014). Inventory of nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector. *EFSA Supporting Publications*, 11 (7), 621E. Doi:10.2903/sp.efsa.2014.EN-621.

Roy, A., Sharma, A., Yadav, S., Jule, L.T., & Krishnaraj, R., (2021). Nanomaterials for Remediation of Environmental Pollutants. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 28, 1764647. Doi: 10.1155/2021/1764647.

Samartín, S., & Chandra, R.K., (2001). Obesity, overnutrition and the immune system. *Nutrition Research*, 21 (1-2), 243-262. Doi:10.1016/S0271-5317(00)00255-4.

Sayah, F., (2008). Changes in the lipid and fatty acid composition of hemolymph and ovaries during the reproductive cycle of *Labidura*

riparia. Entomological Sciences, 11, 55-63. Doi:10.1111/j.1479-8298.2007.00254.x.

Shahzad, K., & Manzoor, F. (2021). Nanoformulations and their mode of action in insects: a review of biological interactions. *Drug and Chemical Toxicology*, 44, 1–11. Doi: 10.1080/01480545.2018.1525393.

Sheehan, G., Garvey, A., Croke, M., & Kavanagh, K. (2018). Innate humoral immune defences in mammals and insects: the same, with differences? *Virulence*, 9, 1625–1639. Doi:10.1080/21505594.2018.1526531.

Shin, B.S., Choi, R.N. & Lee, C.U. (2001). Effects of Cadmium on Total Lipid Content and Fatty Acids of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. *Korean Journal of Ecology*, 24(6), 349-352.

Stark, W.J., Stoessel, P.R., Wohlleben, W., & Hafner, A. (2015). Industrial applications of nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 44 (16), 5793–5805. Doi:10.1039/C4CS00362D

Taniguchi, N., (1974). On the Basic Concept of Nanotechnology. Proceedings of the International Conference on Production Engineering, Tokyo, 18-23.

Teder, T., Vellau, H. & Tammaru, T. (2014). Age and size at maturity: a quantitative review of diet-induced reaction norms in insects. *Evolution*, 68, 3217–3228. Doi:10.1111/evo.12518.

Thompson, S.N., (2003). Trehalose the insect blood sugar. *Advances in Insect Physiology*, 31, 205-285.

Valdiglesias, V., Fernández-Bertóleza, N., Kilic, G., Costad, C., Costad, S., Fragad, S., Bessad, M. J., Pásaroa, E., Teixeirad, J. P. & Laffona, B. (2016). Are iron oxide nanoparticles safe? Current knowledge and future perspectives. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38, 53-63. Doi:10.1016/j.jtemb.2016.03.017.

Van Handel, E. (1985a). Rapid determination of glycogen and sugar in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1, 299-304.

Van Handel, E. (1985b). Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1, 302- 304.

Wojda, I., Staniec, B., Sułek, M., & Kordaczuk, J. (2020), The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies. *Pathogens and Disease*, 78 (9), ftaa057, Doi: 10.1093/femspd/ftaa057.

BÖLÜM 6

BRİYOSFER BİYOREAKTÖRÜ: CİĞEROTLARI (MARCHANTIOPHYTA) VE ROTİFERLER (ROTIFERA) ARASINDAKİ EKOLOJİK VE EVRİMSEL ORTAKLIK

ÖZCAN ŞİMŞEK¹

Giriş

Briyosferin Mikroskobik Ortakları ve Ekolojik Dinamikler

Karasal ve sucul ekosistemlerin kesişim noktasında gerçekleşen mikroskobik süreçleri anlamak, botanik ve zoolojinin ortak bir zeminde buluşmasını gerektirir. Bu bölüm, bitkiler aleminin karasal öncüleri olan ciğerotları (*Marchantiophyta*) ile mikroskobik hayvanlar aleminin fırsatçı üyeleri rotiferlerin (*Rotifera*) oluşturduğu ve literatürde "briyosfer" olarak tanımlanan özelleşmiş mikro habitatın işleyişini incelemektedir (Glime, 2017:1). Bu ilişkinin anlaşılması, sadece türlerin biyolojisi açısından değil, aynı zamanda iklim değişikliği ve habitat kaybı gibi küresel tehditler

¹ Dr.Öğr.Üyesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Yenice MYO, Ormancılık Bölümü, Orcid: 0000-0002-3210-7641

altındaki ekosistemlerin dayanıklılığını kavramak açısından da kritiktir (Akyıldız & ark., 2025:2581).

Literatürde 'bryosfer' (*bryosphere*) olarak kavramsallaştırılan bu terim, briyofitlerin oluşturduğu biyokütle ile bu yapının içinde hapsolan su, atmosferik tozlar ve organik döküntülerin meydana getirdiği bütünleşik mikro-ekosistemi tanımlamaktadır. Glime (2017:1), bryosferin sadece pasif bir bitki örtüsü olmadığını; aksine protozoa, rotifer, tardigrad ve nematod gibi mikroskobik canlı toplulukları için besin döngüsünün, av-avcı ilişkilerinin ve hidrolik tamponlamanın gerçekleştiği aktif bir 'ekolojik tiyatro' olduğunu vurgular. Dolayısıyla bu çalışmada bryosfer kavramı, sadece bitkiyi değil, ciğerotlarının (konak) ve rotiferlerin (konuk) fiziksel ve kimyasal etkileşimlerinin bütününe atıfta bulunmak amacıyla kullanılmaktadır.

Sistematiik Çerçeve: Yaşam Ağacındaki Konumları

Her iki canlı grubu da son yıllarda moleküler filogenetik çalışmaların ışığında önemli taksonomik revizyonlara uğramıştır.

- **Ciğerotları (*Marchantiophyta*):** Söderström ve arkadaşları (2016) tarafından yayınlanan dünya kontrol listesine göre; ciğerotları, Plantae alemi içinde *Marchantiophyta* bölümü altında sınıflandırılır (Söderström & ark., 2016:1). Bu bölüm, evrimsel gelişmişlik düzeylerine ve morfolojik yapılarına göre *Haplomitriopsida*, *Marchantiopsida* (Tallussu ciğerotları) ve *Jungermanniopsida* (Yapraksı ciğerotları) olmak üzere üç ana sınıfa ayrılır (Söderström & ark., 2016:1). Bu çalışmada odaklanılan ve rotiferler için lobül yapıları sunan *Frullania* gibi cinsler, tür çeşitliliği bakımından en zengin sınıf olan *Jungermanniopsida* içerisinde yer alır (Şimşek, 2012:1; Söderström & ark., 2016:1).

- **Rotiferler (*Rotifera* / *Syndermata*):** Mikroskopik metazoanlar olan rotiferlerin sınıflandırılması, son genetik bulgularla birlikte yeniden şekillenmiştir. Wallace ve arkadaşları (2019), rotiferleri *Rotifera* şubesi altında *Monogononta*, *Bdelloidea* ve *Seisonidea* olmak üzere üç klasik sınıfta inceler (Wallace & ark., 2019:225). Ancak güncel filogenetik analizler, rotiferlerin parazitik dikenli başlı solucanlar (*Acanthocephala*) ile kardeş grup olduğunu ve birlikte *Syndermata* kladını oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Jaturapruek & Maiphae, 2025:155363). Ciğerotları üzerinde yaşayan (perifitik) formların büyük çoğunluğu, zorunlu eşeysiz üreyen *Bdelloidea* sınıfına aittir (Ustaoglu & ark., 2012:607).

Konak Matris: Karasal Yaşamın Evrimsel Köprüsü Olarak Ciğerotları

Ciğerotları, bitkilerin sucul ortamdan karasal hayata geçiş sürecindeki (terrestrializasyon) en kritik evrimsel basamaklardan birini temsil eder ve orta Devoniyen döneminden beri yeryüzünde varlığını sürdürmektedir (Şimşek, 2023b:99; Şimşek & ark., 2016:70). Gerçek kök ve iletim demetlerinden (vasküler sistem) yoksun olan bu bitkiler, su ve besin maddelerini doğrudan atmosferden veya substrattan difüzyon yoluyla alırlar (Şimşek & Selvi, 2023a:341; Glime, 2017:1).

Türkiye, topografik yapısı ve farklı iklim kuşaklarının etkisiyle bu ilkel bitkiler için önemli bir biyoçeşitlilik merkezidir; ülkede 170'ten fazla ciğerotu türünün yayılış gösterdiği bilinmektedir (Şimşek, 2023b:99). Özellikle Karadeniz ve Akdeniz'in nemli ormanlarında yayılış gösteren yapraksı ciğerotları (örn. *Frullania* cinsi), epifitik olarak ağaç gövdelerinde veya kayalarda geniş popülasyonlar oluşturur (Şimşek, 2012:1). Bu cinsler, su kaybını minimize etmek için yapraklarının ventral (alt)

yüzeyinde "lobül" (su kesecikleri) adı verilen morfolojik yapılar geliştirmiştir (Puterbaugh & ark., 2004:524).

Ciğerotları, poikilohidrik (su dengesi çevreye bağlı) özellikleri sayesinde kuru kütlelerinin %200 ila %3000'i kadar muazzam miktarda suyu bünyelerinde tutabilirler (Şimşek & Selvi, 2023a:341). Bu özellik, kurak dönemlerde dahi mikro-habitatın nemli kalmasını sağlayarak rotiferler için kritik bir yaşam alanı yaratır. Ayrıca, tek hücre kalınlığındaki yaprakları ve kütikula tabakasının yokluğu, onları çevresel kirleticilere karşı hassas kılarak sucul ve karasal ekosistemlerde etkili birer "biyomonitör" haline getirir (Şimşek & Selvi, 2023b:39).

Mikroskobik Kiracılar: Rotiferler ve Ekolojik Uyarlanabilirlik

Rotiferler, sucul besin ağlarında fitoplanktondan üst trofik basamaklara enerji transferinde "kilit aracı" rolünü üstlenen mikroskobik omurgasızlardır (Akyıldız & ark., 2025:2581). Genellikle 50-2000 mikron boyutlarında olan bu canlılar, "perifitik" (bitki üzerine tutunan) yaşam formları ile dikkat çekerler (Duggan, 2001:139). Duggan (2001), perifitik rotiferlerin dağılımında bitki morfolojisinin belirleyici olduğunu ve karmaşık yapıya sahip bitkilerin daha zengin bir rotifer çeşitliliğini desteklediğini belirtmektedir (Duggan, 2001:139).

Rotiferlerin bu habitatlardaki başarısı, üreme stratejilerine ve çevresel strese dayanıklılıklarına bağlıdır:

- **Popülasyon Stratejisi:** Rotiferler, "döngüsel partenogenez" veya zorunlu partenogenez stratejileri sayesinde, uygun koşullarda hızla çoğalarak habitatı kolonize edebilirler (Serra & ark., 2019:67). Bu strateji, ciğerotlarının sunduğu geçici su birikintilerinde hayatta kalmak için evrimsel bir avantajdır.

- **Niş Farklılaşması:** Rotiferler, "kriptik türler" kompleksi oluşturma eğilimindedir ve bu sayede aynı mikro-habitatta farklı ekolojik nişlere yerleşerek rekabeti azaltırlar (Walczyńska & ark., 2024:2909).

Türkiye, rotifer çeşitliliği açısından küresel bir "biyoçeşitlilik sıcak noktası" (conservation hotspot) olarak kabul edilmektedir (Akyıldız & ark., 2025:2581). 2012 yılında yapılan kontrol listesinde 341 takson rapor edilmişken, güncel çalışmalarla bu sayı 422 türe ulaşmıştır (Ustaoglu & ark., 2012:607; Akyıldız & ark., 2025:2581). Özellikle *Bdelloidea* sınıfına ait rotiferler, karasal ortamlarda bitkilerin üzerindeki ince su filmlerinde yaşama konusunda uzmanlaşmış baskın gruptur (Ustaoglu & ark., 2012:607).

Birlikteliğin Ekolojik Dinamikleri ve Kimyasal Ekoloji

Ciğerotları ve rotiferler arasındaki ilişki, basit bir fiziksel barınma durumunun ötesine geçer. Bu birliktelik, morfolojik uyumun yanı sıra kimyasal sinyallerin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir.

- **Habitat Mimarisi:** Ricci ve Balsamo (2000), rotiferlerin morfolojik adaptasyonlarının (yapışkan salgılar, ayak yapıları), onların substrata tutunmasında ve akıntıya karşı direnç göstermesinde kritik olduğunu vurgular (Ricci & Balsamo, 2000:15). *Frullania* gibi ciğerotlarının kapalı lobülleri, bu tutunma ihtiyacını azaltan güvenli cepler oluşturur (Puterbaugh & ark., 2004:524).
- **Kimyasal Ekoloji:** Snell (1998), rotiferlerin eş tanıma ve besin bulma gibi fonksiyonlarda yüzey glikoproteinleri ve suda çözünen kimyasal sinyalleri kullandığını ortaya koymuştur (Snell, 1998:267). Ciğerotları, terpenoidler gibi çeşitli sekonder metabolitler üretir ve bu bileşikler tıbbi, antimikrobiyal özellikler gösterir (Şimşek, 2023a:153;

Şimşek, 2023b:99). Rotiferlerin, ciğerotlarının ürettiği bu biyoaktif bileşiklerin bulunduğu ortamda hayatta kalabilmesi, bu ilişkinin kimyasal boyutunu göstermektedir.

- **Besin Transferi:** Rotiferler, lobüller içinde biriken bakterileri tüketerek bitki için yararlı inorganik besinlere dönüştürürler ve bir "mikro-biyoreaktör" işlevi görürler (Mydlowski, 2024:1).

Çevresel İzleme ve Biyoindikatör Potansiyeli

Hem ciğerotları hem de rotiferler, çevresel değişimlere verdikleri hızlı tepkiler nedeniyle mükemmel birer "biyomonitör" olarak kabul edilirler.

- **Ciğerotları:** Kütikula tabakalarının olmaması ve suyu tüm yüzeyleriyle almaları nedeniyle atmosferik ve sucul kirleticileri (ağır metaller vb.) doğrudan bünyelerine alırlar (Şimşek & Selvi, 2023b:39). Bu özellik, onların hava ve su kalitesinin izlenmesinde, özellikle *Fontinalis antipyretica* ve *Platyhypnidium riparioides* gibi türlerin biyoindikatör olarak kullanılmasını sağlar (Şimşek & Selvi, 2023b:39).
- **Rotiferler:** Snell ve Janssen (1995), rotiferlerin toksik maddelere karşı yüksek hassasiyet gösterdiğini ve üreme oranlarındaki değişimlerin ekotoksikoloji testlerinde güvenilir bir parametre olduğunu belirtmektedir (Snell & Janssen, 1995:231).

Bu bağlamda, ciğerotu-rotifer birlikteliği, iklim değişikliği, kuraklık ve kirlilik gibi stres faktörlerinin etkilerini izlemek için potansiyel bir "çift katmanlı" erken uyarı sistemidir (Şimşek & Selvi, 2023a:341; Akyıldız & ark., 2025:2581).

Habitat Mimarisi: Lobüller ve Mikrohabitat Karmaşıklığı

Ciğerotları (*Marchantiophyta*), morfolojik çeşitlilikleri ve oluşturdıkları karmaşık üç boyutlu yapılar sayesinde, mikroskobik omurgasızlar için basit bir yüzeyden çok daha fazlasını sunar. Briyofitler, karasal ekosistemlerde "mat" (örtü), "yastık", "tutam" ve "flama" gibi farklı büyüme formları sergiler ve bu formlar, bitkinin su tutma kapasitesini ve partikül madde yakalama becerisini doğrudan etkiler. Cox (1988), yapay substratlarla gerçekleştirdiği deneylerde, bitkinin fiziksel mimarisinin, özellikle sık dokulu büyüme formlarının, su akışıyla taşınan besinleri ve mikroorganizmaları tutmada kritik bir faktör olduğunu kanıtlamıştır (Cox, 1988:1). Bu bağlamda Duggan (2001), perifitik yani bitki üzerine tutunan rotiferlerin dağılımında bitki morfolojisinin belirleyici olduğunu vurgulamaktadır. Daha karmaşık ve parçalı yapraklara sahip bitkiler, rotiferler için daha fazla niş alanı ve tutunma yüzeyi sağlar (Duggan, 2001:139). Türkiye florasında yaygın olan yapraksı ciğerotları, sundukları bu yapısal karmaşıklıkla rotifer çeşitliliğini destekleyen en üst düzey örnekleri oluşturmaktadır.

Yapısal Çeşitlilik, Lobül Mühendisliği ve Topluluk Yapısı

Yapraksı ciğerotlarını (*Jungermanniopsida*) karayosunlarından ayıran en belirgin morfolojik özelliklerden biri, yaprakların "lob" adı verilen parçalara ayrılması ve bu parçaların evrimsel süreçte özelleşmiş yapılara dönüşmesidir. Genellikle iki loba ayrılan yapraklarda, özellikle *Frullania*, *Radula*, *Colura* ve *Lejeunea* gibi cinslerde ventral lob, kıvrılarak veya katlanarak "lobül" adı verilen kese benzeri ve kapalı bir yapıya evrilmiştir (Glime, 2017:1; Şimşek, 2012:1). Botanik perspektifinden bakıldığında bu yapılar, bitkinin su tutma yüzeyini artırarak kuraklığa karşı bir adaptasyon sağlar ve kapilarite yoluyla suyu hapseder (Şimşek & Selvi, 2023a:341). Ancak bir zoolog veya ekolog açısından bu lobüller, mikroskobik canlıların sığınabileceği,

su dolu ve dış dünyanın zorlu koşullarından izole edilmiş güvenli birer "mikro-akvaryum" işlevi görür. Bu yapılar, Duggan (2001) tarafından öne sürülen "habitat mimarisi ne kadar karmaşıksa, tür çeşitliliği o kadar yüksektir" hipotezini destekleyen en somut örneklerden biridir; zira ciğerotlarının kapalı lobülleri, karayosunlarının açık yapraklarına kıyasla çok daha stabil ve korunaklı mikro-nişler sunar (Duggan, 2001:139).

Yapraksı ciğerotlarının sunduğu bu habitat karmaşıklığı, barındırdıkları rotifer topluluk yapısı ve tür zenginliği üzerinde doğrudan ve ölçülebilir bir etkiye sahiptir. Jattupan ve arkadaşları (2024), Tayland'daki kıyı ormanlarında yürüttükleri kapsamlı çalışmada, bu etkinin sayısal boyutlarını ortaya koymuştur. Çalışma verilerine göre, habitat karmaşıklığı yüksek olan ciğerotlarında (*Marchantiophyta*) 14 farklı bdelloid rotifer türü tespit edilirken, daha basit yapıları karayosunlarında (*Bryophyta*) bu sayı 10 türle sınırlı kalmıştır (Jattupan & ark., 2024:18721). Bu taksonomik zenginlik içinde, özellikle *Habrotrocha* ve *Philodina* gibi kozmopolit bdelloid cinslerinin dominant taksonlar olduğu ve geniş lobüllere sahip *Frullania*, *Lejeunea* ve *Lopholejeunea* cinsi ciğerotlarını baskın konakçı olarak tercih ettikleri saptanmıştır (Jattupan & ark., 2024:18721).

Mikrohabitat içindeki dispersiyon (dağılım) mekanizmaları incelendiğinde ise, rotiferlerin bu alanları rastgele değil, bilinçli bir tercihle işgal ettiği görülmektedir. *Frullania eboracensis* Lehm. (Şekil 1) üzerinde yapılan detaylı çalışmalar, rotiferlerin lobülleri sadece barınma amaçlı değil, aynı zamanda birer "kuluçka odası" olarak kullandığını göstermektedir (Puterbaugh & ark., 2004:524). Bu yapılar, bitki için hidrolik bir avantaj sağlarken, rotiferler için avcılardan ve kuraklıktan korunmuş, üreme başarısını artıran stratejik bir yaşam alanı sunar.

Şekil 1 *Frullania eboracensis* Lehm. periant ve lobülleri, ventral görünüm



(Kaynak: URL 1)

Popülasyon Dinamiği: Yerleşim Tercihleri ve Mevsimsellik

Rotiferlerin ciğerotları üzerindeki mikroskobik dağılımı (dispersiyon), bitki dokusunun yaşına ve konumuna göre çarpıcı farklılıklar gösterir. *Frullania eboracensis* Lehm. üzerinde yapılan kantitatif analizler, lobüllerin doluluk oranının %25 ile %71 arasında değiştiğini, ancak bu doluluğun bitkinin uç kısımlarında yoğunlaştığını göstermektedir (Puterbaugh & ark., 2004:524). Topluluk yapısına bakıldığında, kuraklığa dayanıklı *Bdelloidea* sınıfı mutlak dominans gösterir. Jattupan & ark. (2024), incelenen ciğerotu örneklerinde *Habrotrochidae* familyasının en baskın grup olduğunu, bunu *Philodinidae* familyasının izlediğini rapor etmiştir

(Jattupan & ark., 2024:18721). Bu taksonların ortak özelliği, pasif dağılım (rüzgarla taşınma/anemokori) yeteneklerinin yüksek olması ve ciğerotu parçalarıyla birlikte yeni habitatlara kolayca kolonize olabilmeleridir (Glime, 2017:1).

Bitkilerin kimyasal savunma mekanizmaları, epifitik faunanın dağılımında kritik bir rol oynar. Ciğerotları, terpenoidler ve bibenziller gibi çeşitli sekonder metabolitler üreterek otçullara ve patojenlere karşı korunurlar (Şimşek, 2023a:153). Yaşlı bitki dokularının bu bileşikleri daha yoğun biriktirmesi, rotiferler üzerinde "kovucu" (repellent) bir etki yaratabilir. Nitekim Puterbaugh ve arkadaşları (2004), üreme yeteneği aktif olmayan (steril/genç) bitkilerdeki rotifer yoğunluğunun, gametangium taşıyan (erkek/dişi) olgun bitkilere kıyasla daha yüksek olduğunu saptamıştır (Puterbaugh & ark., 2004:524). Bu durum, bitkinin üreme döneminde enerji yatırımını gamet üretimine yönlendirirken, aynı zamanda kimyasal savunmasını artırarak mikroskobik "kiracılarını" genç dokulara doğru itmesi şeklinde yorumlanabilir. Snell (1998), rotiferlerin çevresel kimyasalları algılama yeteneğinin gelişmiş olduğunu ve bu sayede toksik bileşiklerden kaçınarak uygun mikro-habitatları seçebildiklerini vurgulamaktadır (Snell, 1998:267).

Mevsimsel döngüler ve iklimsel faktörler de briyosferdeki rotifer popülasyonlarını doğrudan etkiler. Ciğerotlarının poikilohidrik doğası, onları ortam nemine bağımlı kılar ve bu durum rotiferlerin yaşam döngüsünü sınırlar (Şimşek ve Selvi, 2023a:341; Glime, 2017:1). Türkiye gibi mevsimsel kuraklıkların yaşandığı bölgelerde, rotifer popülasyonları yağışlı dönemlerde hızla artarken, kurak dönemlerde anhidrobiyoz (kriptobiyoz) durumuna geçerek varlıklarını sürdürürler. Mydlowski (2024), rotifer bolluğunun genellikle yıl boyunca stabil bir seyir izlemekle birlikte, sonbahar sonu ve kış başlangıcında hafif bir artış eğilimi gösterdiğini gözlemlemiştir (Mydlowski, 2024:1). Benzer şekilde, Laya ve Al-

Saffar (2017), epifitik rotiferlerin mevsimsel dinamiklerinin, muson yağmurları gibi büyük ölçekli hidrolojik olaylarla senkronize olduğunu ve nemli dönemlerde tür çeşitliliğinin zirveye ulaştığını belirtmektedir (Laya & Al-Saffar, 2017:123). Küresel iklim değişikliğinin getirdiği sıcaklık artışı ve yağış rejimindeki düzensizlikler, bu hassas mevsimsel döngüyü bozarak ciğerotu-rotifer birlikteliğini tehdit etmektedir (Akyıldız & ark., 2025;2581 Zanatta & ark., 2020:5601). Özellikle Türkiye'nin de içinde bulunduğu Akdeniz havzasında beklenen kuraklık artışı, ciğerotlarının su tutma kapasitesini zorlayabilir ve lobüllerin sağladığı sığınak (Şekil 2) işlevini zayıflatabilir (Şimşek ve Selvi, 2023a:341).

Şekil 2 Frullania cinsi bir ciğerotunun su keseciği (lobül) içerisine yerleşmiş ve baş kısmını dışarı uzatmış bir bdelloid rotifer bireyi



(Kaynak: URL 2)

Trofik Dinamikler ve Besin Döngüsü: Simbiyozdan Karnivoriye

Ciğerotları ve rotiferler arasındaki ilişkinin doğası, uzun yıllar boyunca bilim dünyasında basit bir "ev sahibi-kiracı" ilişkisi veya kommensalizm (tek taraflı fayda) çerçevesinde değerlendirilmiştir. Ancak son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar, bu birlikteliğin trofik (beslenme) boyutunun tahmin edilenden çok daha karmaşık olduğunu ve koşullara bağlı olarak fakültatif mutualizmden (karşılıklı fayda) briyofit kaynaklı karnivoriye (etçil bitki davranışı) kadar değişen bir spektrumda yer aldığını göstermektedir. Rotiferler, sucul besin ağlarında birincil üreticiler ile üst trofik basamaklar arasında enerji transferini sağlayan kilit organizmalardır (Akyıldız & ark., 2025:2581). Benzer bir mekanizma mikroskobik ölçekte briyosferde de işler; rotiferler, ciğerotu yüzeyindeki bakterileri, algleri ve organik döküntüleri (detritus) süzerek beslenir ve bu süreçte organik maddeleri inorganik besinlere dönüştürerek mineralizasyona katkıda bulunur (Glime, 2017:1; Bledzki & ark., 2018:277).

Bu ilişkinin "karşılıklı fayda" (mutualizm) boyutuna dair en güçlü ve doğrudan kanıt yakın zamanda ortaya konmuştur. *Frullania* cinsi ciğerotlarının lobülleri içinde yaşayan rotiferlerin, bitki için çalışan mikroskobik birer "biyoreaktör" işlevi gördüğü hipotezi, modern görüntüleme teknikleriyle doğrulanmıştır. Mydlowski (2024) tarafından yürütülen çığır açıcı bir çalışmada, floresan özellikli Kuantum Noktaları (Quantum Dots) ile işaretlenmiş *Escherichia coli* bakterileri kullanılarak besin transferi izlenmiştir. Deney sonucunda, rotiferlerin bu işaretli bakterileri tükettiği ve sindirim sonrasında açığa çıkan işaretli maddelerin rotifer dışkısu yoluyla ciğerotu dokularına (özellikle lobül hücrelerine) geçtiği mikroskobik olarak belgelenmiştir (Mydlowski, 2024:1). Bu bulgu, rotiferlerin bakteriyel biyokütleyi işleyerek azot ve fosfor gibi bitki büyümesi için kritik elementleri, bitkinin emebileceği formda

serbest bıraktığını ve ciğerotunun bu atıkları aktif olarak kullandığını kanıtlamaktadır.

Trofik ilişkinin bir diğer boyutu ise akarsu ekosistemlerinde "besin sarmalı" (nutrient spiraling) kavramı üzerinden açıklanmaktadır. Cox (1988), briyofitlerin ve üzerindeki mikro-faunanın, akarsularda çözünmüş besin maddelerini tutarak sistemden hızla yıkanıp gitmesini engellediğini belirtmektedir. Rotiferler, ciğerotu matrisleri içinde besinleri defalarca döngüye sokarak "sarmal uzunluğunu" kısaltır ve böylece mikro-ekosistemin yerel üretkenliğini artırır (Cox, 1988:1). Bu durum, briyofit yastıklarının sadece fiziksel bir tutucu değil, aynı zamanda biyolojik bir geri dönüşüm tesisi gibi çalıştığını gösterir.

Ancak bu ilişkinin her zaman karşılıklı fayda (mutualizm) temelinde işlediğini söylemek zordur. *Pleurozia* ve *Colura* gibi bazı ciğerotu cinslerinde lobüllerin kapaklı (valfli) bir yapıya sahip olması, bilim dünyasında "botanik karnivoriye" giden evrimsel bir yolak üzerine tartışmaları başlatmıştır. Puterbaugh ve arkadaşları (2004), bu yapıların rotiferlerin girişine izin verirken çıkışını zorlaştıran mekanik bir tuzak işlevi görebileceğini öne sürmektedir (Puterbaugh & ark., 2004:524). Bu hipoteze göre, lobül içinde ölen ve ayrıışan rotiferlerden açığa çıkan azotlu bileşikler bitki tarafından emiliyor olabilir. Her ne kadar bu mekanizma henüz izotop takibi gibi doğrudan yöntemlerle kesinleşmemiş olsa da, yapısal adaptasyonlar bu bitkilerin "zoofaji" (hayvan yeme) veya proto-karnivori davranışı sergileyebileceğine dair güçlü morfolojik kanıtlar sunmaktadır (Glime, 2017:1). Bu senaryoda ciğerotu lobülleri, rotiferler için güvenli bir sığınaktan ziyade, potansiyel bir ekolojik tuzağa dönüşmektedir.

Evrimsel Paralellikler ve Genetik Adaptasyonlar: Kuraklığa Karşı Ortak Direnç

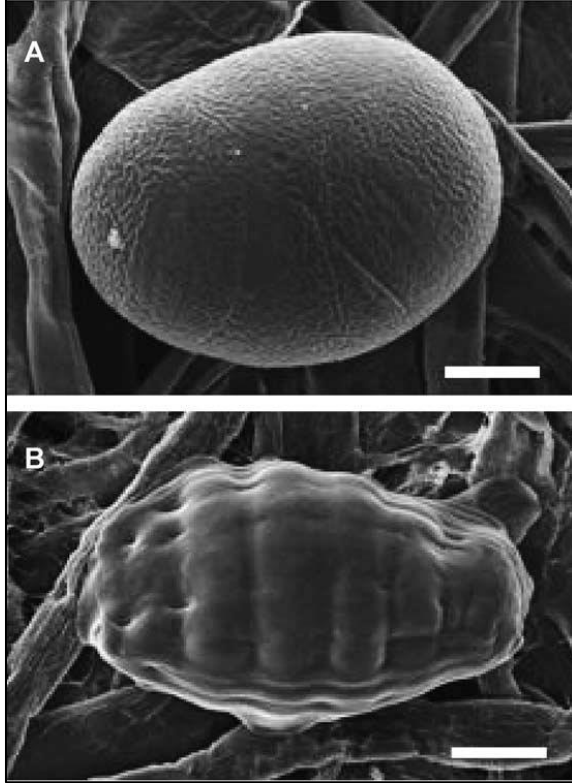
Ciğerotları ve bdelloid rotiferler, filogenetik olarak birbirlerinden çok uzak canlı grupları olmalarına rağmen, sucul ortamdan karasal yaşama geçiş (terrestrializasyon) sürecinde karşılaştıkları en büyük engel olan "desikasyon" (aşırı kuruma) stresine karşı şaşırtıcı derecede benzer evrimsel stratejiler geliştirmişlerdir. Yaklaşık 470 milyon yıl önce karaları kolonize eden ilk bitkiler olan ciğerotları, iletim demetlerinin yokluğu nedeniyle su dengesini korumak için "poikilohidrik" bir yaşam stratejisi benimsemişlerdir (Şimşek & ark., 2016:70). Bu strateji, metabolik aktivitenin su mevcudiyetine göre açılıp kapanabilmesini gerektirir. Benzer bir evrimsel baskı altında kalan bdelloid rotiferler de, ciğerotlarının sunduğu geçici su filmlerinde hayatta kalabilmek için "anhidrobiyoz" (susuz yaşam) yeteneğini en üst düzeye çıkarmışlardır (Glime, 2017:1). Her iki grup da ortam kurduğunda hücre içindeki suyu kontrollü bir şekilde boşaltarak, protein ve hücre zarlarını stabilize eden özelleşmiş şekerler (trehaloz gibi) ve LEA (Late Embryogenesis Abundant) benzeri proteinler sentezler. Bu moleküler kalkanlar, hücrenin tamamen kurduğunda bile yapısal bütünlüğünü korumasını sağlar (Hespeels & ark., 2023:72).

Bu fizyolojik benzerliğin kökeninde yatan genetik mekanizmalar, yakın zamanda yapılan genomik analizlerle aydınlatılmıştır. Özellikle Yatay Gen Transferi (HGT), bu iki grubun evrimsel başarısında kilit bir rol oynamaktadır. Arkhipova ve arkadaşları (2023), bakteriyel kökenli bir DNA metiltransferaz enzimi olan N4-MTase geninin, hem bdelloid rotiferlere (*Adineta vaga* (Davis, 1873)) hem de ciğerotlarına (*Marchantia polymorpha* L.) yatay gen transferi yoluyla geçtiğini keşfetmiştir (Arkhipova & ark., 2023:2200232). Rotiferlerde bu enzim, genom bütünlüğünü korumak ve transpozonları (sıçrayan genler) susturmak için epigenetik bir araç olarak kullanılırken; ciğerotlarında üreme

fizyolojisinde kritik görevler üstlenmiştir. Bu bulgu, her iki taksonun da zorlu karasal koşullara uyum sağlamak için bakteriyel gen havuzundan benzer araçları alarak kendi genomlarına entegre ettikleri "konvergent" (yakınsak) bir evrimsel yolu işaret etmektedir.

Kuraklığa dayanıklılığın getirdiği bir diğer yan kazanım ise radyasyona karşı dirençtir. Ciğerotları ve rotiferler kuruduklarında, DNA zincirlerinde meydana gelen kırılmaları onarmak zorundadır. Hespeels ve arkadaşları (2023), bdelloid rotiferlerin, kurumaya bağlı DNA hasarlarını onarmak için geliştirdikleri mekanizmaların, onları aynı zamanda yüksek dozda iyonlaştırıcı radyasyona karşı da dirençli kıldığını ortaya koymuştur (Hespeels & ark., 2023:72). Benzer şekilde, briyofitlerin de yüksek UV radyasyonuna ve oksidatif strese karşı güçlü antioksidan enzim sistemleri ve DNA tamir mekanizmaları geliştirdiği bilinmektedir (Şimşek ve Selvi, 2023a). Bechteler ve arkadaşları (2023), briyofitlerin 500 milyon yıllık çeşitlenme sürecinde bu tür stres toleransı özelliklerinin, onların kitlesel yok oluş olaylarından sağ çıkmalarını sağlayan temel faktör olduğunu vurgulamaktadır (Bechteler & ark., 2023:16249). Sonuç olarak, ciğerotu lobülleri içinde gerçekleşen yaşam, sadece ekolojik bir ortaklık değil, aynı zamanda genetik ve fizyolojik düzeyde gerçekleşen bir "direnç ortaklığı"dır.

Şekil 3 Bdelloid rotiferlerde kuraklığa karşı geliştirilen fiziksel adaptasyon (Anhidrobiyoz). (a) Su ortamında aktif olarak beslenen ve hareket eden hidrate form. (b) Ortam kurduğunda metabolizmasını durdurarak aldığı, yüzey alanını küçülten "tun" (fıçı) form



(Kaynak: Ricci & Balsamo, 2000:15)

Karşılaştırmalı Perspektif: Mikotik ve Faunistik Ortaklıklar

Ciğerotlarının ekolojik başarısı, yalnızca kendi fizyolojik adaptasyonlarına değil, aynı zamanda diğer organizmalarla kurdukları çok katmanlı simbiyotik ağlara dayanır. Bu bağlamda rotiferlerle kurulan ilişkiyi tam olarak kavrayabilmek için,

ciğerotlarının evrimsel süreçte geliştirdiği en eski ve köklü ortaklık olan mantar birliktelikleri (mikotik simbiyoz) ile bir karşılaştırma yapmak gereklidir. Ciğerotları, karasal yaşama geçişin ilk aşamalarından itibaren, kök sistemlerinin yokluğunu telafi etmek amacıyla *Glomeromycota* ve *Mucoromycotina* şubelerine ait mantarlarla mutualistik ilişkiler geliştirmiştir (Bidartondo & Duckett, 2010:485). Özellikle *Aneuraceae* familyasındaki ciğerotlarının *Tulasnella* cinsi mantarlarla, yapraklı ciğerotlarının ise *Sebacina* cinsi mantarlarla kurduğu özelleşmiş ilişkiler, evrimsel açıdan son derece muhafazakâr ve türe özgü bir karakter sergiler (Bidartondo & Duckett, 2010:485). Bu mikotik ortaklıkta mantar, bitkiye topraktan mineral (özellikle fosfor) sağlarken karşılığında fotosentetik karbon alır; bu durum, rotiferlerle olan ilişkinin aksine, genellikle hücre içi (endofitik) ve fizyolojik olarak daha "zorunlu" bir nitelik taşır (Pressel & ark., 2010:238).

İçsel ve Dışsal Ortaklıkların Tamamlayıcılığı

Rotiferler ile kurulan ortaklık (faunistik simbiyoz) ise mantar ilişkisinden farklı olarak anatomik değil, mimari ve mekânsal bir temele dayanır. Mantarlar bitkinin rizoidleri ve tallus hücreleri içine penetre olarak "içsel" bir besin ağı kurarken; rotiferler bitkinin lobül ve yaprak yüzeylerinde "dışsal" bir besin döngüsü (biyoreaktör) oluşturur (Glime, 2017:1). Ancak her iki ortaklık da işlevsel açıdan şaşırtıcı bir benzerlik gösterir: "Besin Temini". Kowal ve arkadaşları (2018), briyofit topluluklarında mikrobiyal ve fungal ortakların azot ve karbon döngüsündeki rolünün, ekosistem verimliliği için kritik olduğunu vurgulamaktadır (Kowal & ark., 2018:221). Bu noktada rotiferler, mantarların ulaşmadığı bir nişi doldurur; su sütunundaki partikül maddeleri ve bakterileri avlayarak, bitkinin rizosfer (kök çevresi) dışından da besin alabilmesini sağlar. Yani ciğerotu, alt yüzeyinden mantarlar aracılığıyla toprağa, üst yüzeyinden (lobüller) ise rotiferler aracılığıyla sucul mikro-dünyaya bağlanarak çift yönlü

bir beslenme stratejisi izler (Mydlowski, 2024:1; Akyıldız & ark., 2025:2581).

Evrimsel Esneklik ve Habitat Seçimi

Mantar birliktelikleri genellikle katı bir "anahtar-kilit" uyumu gösterirken (belirli bir ciğerotu türü sadece belirli bir mantar grubuyla eşleşirken), rotifer birliktelikleri daha esnek ve fırsatçı bir yapı sergiler. Şimşek (2012), Türkiye'deki ciğerotu florasının çeşitliliğinin habitat tiplerine göre büyük değişkenlik gösterdiğini belirtmektedir (Şimşek, 2012:1). Benzer şekilde, rotiferlerin ciğerotu üzerindeki dağılımı da bitki türünden ziyade, bitkinin oluşturduğu su tutma kapasitesi ve lobül morfolojisi gibi fiziksel şartlara bağlıdır (Duggan, 2001:139). Örneğin, *Adineta* cinsi bir bdelloid rotifer, uygun nem koşullarını sağlayan herhangi bir *Frullania* veya *Radula* türüne yerleşebilir. Bu "evrimsel esneklik", rotiferlerin ve ciğerotlarının değişen iklim koşullarına ve yeni habitatlara (örneğin istilacı türlerin yayılışı) uyum sağlamasında mantar birlikteliklerine kıyasla daha dinamik bir avantaj sağlayabilir (Zanatta & ark., 2020:5601). Sonuç olarak, ciğerotu; mantarlarla "köklerini", rotiferlerle ise "yapraklarını" güçlendirerek karasal ekosistemin zorlu koşullarına karşı bütünleşik bir hayatta kalma stratejisi geliştirmiştir.

Mikro-Döngüden Makro-Ekosisteme: Karbon ve Azot Bütçesi

Briyosferdeki ciğerotu ve rotifer etkileşimi, sadece mikroskobik bir nişin dinamiklerini değil, aynı zamanda orman ekosistemlerinin genel karbon ve azot bütçelerini de etkileme potansiyeline sahiptir. Briyofitler, küresel ölçekte önemli bir karbon yutağıdır; özellikle turbalıklar ve nemli orman tabanlarında atmosferik karbonun tutulmasında kritik rol oynarlar (Lindo & Gonzalez, 2010:612). Bu denklemde rotiferler, "mineralizasyon hızlandırıcıları" olarak devreye girer. Rotiferlerin bakteriyel biyokütleyi tüketerek açığa çıkardığı amonyum (NH_4^+) ve fosfat,

ciğerotları tarafından hızla emilerek bitkisel biyokütleyle dönüştürülür. Lindo ve Gonzalez (2010), briyosferdeki bu omurgasız faunasının, besin döngüsü hızını artırarak, sistemin genel verimliliğini ve karbon depolama kapasitesini yukarı yönlü etkilediğini ("bottom-up" kontrol) belirtmektedir (Lindo & Gonzalez, 2010:612). Dolayısıyla, ciğerotu lobüllerindeki rotifer aktivitesi, orman ekosistemlerinde besinlerin yıkanıp gitmesini engelleyen ve yerel üretkenliği destekleyen biyolojik bir tampon mekanizması olarak işlev görür (Glime, 2017:1).

Sonuç ve Gelecek Perspektifleri: Mikroskobik Ormanların Korunması ve Keşfi

Ciğerotları ve rotiferler arasındaki ilişki, mikroskobik ölçekte gerçekleşen dinamik bir birlikte evrim sürecini ve ekolojik mühendisliği yansıtır. Bu çalışma boyunca incelenen veriler, bu birlikteliğin tesadüfi bir "birlikte bulunma" durumundan çok daha fazlası olduğunu; besin döngüsü, koruma ve stres toleransı ekseninde şekillenen işlevsel bir ortaklık olduğunu kanıtlamaktadır. Özellikle *Frullania* cinsi ciğerotlarının lobülleri, rotiferler için sadece fiziksel bir sığınak değil, aynı zamanda besin maddelerinin işlendiği ve bitkiye geri kazandırıldığı aktif bir "Briyosfer Biyoreaktörü" olarak çalışmaktadır (Mydlowski, 2024:1; Glime, 2017:1). Bu mikro-ekosistemde rotiferler, bakteriyel biyokütleyi tüketip inorganik besinlere dönüştürerek bitkinin gelişimini desteklerken, ciğerotları da poikilohidrik özellikleri sayesinde kurak dönemlerde bile nemli bir mikro klima sağlayarak rotifer popülasyonlarının devamlılığını garanti altına almaktadır (Şimşek ve Selvi, 2023a:341). Türkiye'nin zengin briyofit florası ve rotifer çeşitliliği, bu karşılıklı fayda ilişkisinin incelenmesi için küresel ölçekte kritik bir model alan oluşturmaktadır (Akyıldız & ark., 2025:2581; Şimşek, 2012:1).

Gelecek araştırmalar açısından en büyük potansiyel, geleneksel morfolojik tanımlamaların ötesine geçen moleküler tekniklerin bu mikro habitatlara uygulanmasında yatmaktadır. Rotiferlerde sıkça rastlanan "kriptik tür" (morfolojik olarak aynı ancak genetik olarak farklı türler) olgusu, briyosferdeki gerçek biyoeşitliliğın olduğundan çok daha düşük tahmin edilmesine neden olmaktadır. Fontaneto ve arkadaşları (2009), bdelloid rotiferlerdeki türleşmenin, konak bitkinin mikro-mimari yapısına göre farklılaştığın ve bu eşitliliğın ancak genetik belirteçlerle ortaya ıkarılabileceğın vurgulamaktadır (Fontaneto & ark., 2009:3187). Bu bağlamda, evresel DNA (eDNA) ve metabarkodlama (metabarcoding) yöntemlerinin kullanılması, ciğerothu yastıklarında yaşayan mikroskobik toplulukların tür kompozisyonunu ve mevsimsel değişimlerini, bitkiye zarar vermeden ve yüksek doğrulukla izleme olanağı sunacaktır (Mills & ark., 2017:39). Türkiye'de yapılacak olan yeni çalışmalarda, Akyıldız ve arkadaşlarının (2025) da işaret ettiği gibi, sadece tür listelerinin oluşturulması değil, bu türlerin genetik barkodlarının çıkarılarak küresel veri tabanlarına entegre edilmesi büyük önem taşımaktadır (Akyıldız & ark., 2025:2581).

Son olarak, küresel iklim değişikliğinin bu hassas mikro-ortaklık üzerindeki etkileri, koruma biyolojisinin acil konularından biri haline gelmiştir. Ciğerothları ve rotiferler kuraklığa karşı yüksek tolerans (anhidrobiyoz) gösterseler de, yağış rejimlerindeki aşırı düzensizlikler ve artan sıcaklıklar, bu canlıların iyileşme (rehidrasyon) kapasitelerini açabilir. Zanatta ve arkadaşları (2020), briyofitlerin iklim değişikliğine uyum hızının, iklimsel kayma hızından daha yavaş olabileceğın ve bunun da mikro-habitat kaybına yol aabileceğın öngörmektedir (Zanatta & ark., 2020:5601). Bu durum, briyosferdeki besin döngüsünün kırılmasına ve orman ekosistemlerinin genel verimliliğının düşmesine neden olabilir. Dolayısıyla, ciğerothu ve rotifer birlikteliğının izlenmesi,

sadece bu iki taksonun değil, içinde bulundukları orman ekosisteminin "sağlık karnesi" olarak değerlendirilmeli ve bu alanlar "mikro-koruma alanları" statüsünde ele alınmalıdır (Şimşek & Selvi, 2023b:39; Ustaoglu & ark., 2012:607).

Sonuç

Ciğerotu-rotifer ilişkisi, pasif bir barınma ortaklığının çok ötesine geçerek, ekosistem mühendisliği boyutuna ulaşan bir etkileşimdir. İşaretili bakteri (Quantum Dots) deneyleri, rotiferlerin bitki için aktif bir besin dönüştürücüsü olduğunu tartışmaya yer bırakmayacak şekilde doğrulamıştır. Genetik analizler ise, bu iki taksonun zorlu karasal koşullara uyum sağlamak için HGT gibi benzer moleküler araçları kullandığını göstermektedir. Lobüllerin sağladığı mikrohabitat rotifer popölasyonlarını korurken, rotiferler de metabolik atıklarıyla bitkiyi besleyerek briyosferde hassas ve hayati bir besin döngüsü (biyoreaktör) oluştururlar. Gelecek alışmalar, bu mikroskobik döngünün orman ekosistemlerinin genel karbon ve azot bütçesine olan katkısını nicel olarak belirlemeye odaklanmalıdır.

Kaynakça

Akyıldız, G. K., Altındağ, A., & Tavşanoğlu, Ü. N. (2025). Recent advances in freshwater zooplankton in a conservation hotspot: Türkiye case. *Hydrobiologia*, 852, 2581–2594. <https://doi.org/10.1007/s10750-025-05822-4>

Arkhipova, I. R., Yushenova, I. A., & Rodriguez, F. (2023). Shaping eukaryotic epigenetic systems by horizontal gene transfer. *BioEssays*, 45(7), 2200232. <https://doi.org/10.1002/bies.202200232>

Bechteler, J., Peñaloza-Bojacá, G., Bell, D., Burleigh, G., McDaniel, S. F., Davis, C., ... & Villarreal, J. C. (2023). Phylogenomic

time tree of bryophytes resolves 500 million years of diversification. *American Journal of Botany*, 110(11), e16249.

Bidartondo, M. I., & Duckett, J. G. (2010). Conservative ecological and evolutionary patterns in liverwort–fungal symbioses. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1680), 485–492.

Błądzki, L. A., Bubier, J. L., Ellison, A. M., & Moore, T. R. (2018). Ecology of rotifers and their unappreciated source of nitrogen and phosphorus in temperate northeastern American bogs. *Fundamental and Applied Limnology*, 191, 277–287.

Cox, R. J. (1988). *A study of the microinvertebrate communities associated with real and artificial bryophytes in lotic ecosystems* [Doctoral dissertation, University of Tennessee, Knoxville]. TRACE: Tennessee Research and Creative Exchange.

Duggan, I. C. (2001). The ecology of periphytic rotifers. *Hydrobiologia*, 446(1), 139–148.

Fontaneto, D., Kaya, M., Herniou, E. A., & Barraclough, T. G. (2009). Extreme levels of cryptic diversity in microscopic animals (Rotifera: Bdelloidea). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1670), 3187–3194.

Glime, J. M. (2017). *Bryophyte Ecology* (Vol. 2, Chapter 4-5: Invertebrates - Rotifers). Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology2/>

Hespeels, B., Fontaneto, D., Cornet, V., Penninckx, S., Berthe, J., Bruneau, L., ... & Van Doninck, K. (2023). Back to the roots:

Desiccation and radiation resistances are ancestral characters in bdelloid rotifers. *BMC Biology*, 21(1), 72.

Jattupan, S., Jaturapruek, R., Sa-ardrit, P., Inuthai, J., Ngernsaengsaruy, C., & Maiphae, S. (2024). Diversity and habitat preferences of bdelloid rotifers in mosses and liverworts from beach forest along sand dunes in Thailand. *PeerJ*, 12, e18721. <https://doi.org/10.7717/peerj.18721>

Jaturapruek, R., & Maiphae, S. (2025). An updated checklist of freshwater rotifers in Thailand: Taxonomy, diversity and distribution. *Biodiversity Data Journal*, 13, e155363.

Kowal, J., Pressel, S., Duckett, J. G., Bidartondo, M. I., & Field, K. J. (2018). From rhizoids to roots? Experimental evidence of mutualism between liverworts and ascomycete fungi. *Annals of Botany*, 121(2), 221-227.

Laya, J. C., & Al-Saffar, M. A. (2017). Seasonal variation of epiphytic rotifers on *Ceratophyllum demersum* L. in Al-Sanaf marsh, South of Iraq. *Mesopotamian Journal of Marine Science*, 32(2), 123–132.

Lindo, Z., & Gonzalez, A. (2010). The bryosphere: An integral and influential component of the Earth's biosphere. *Ecosystems*, 13(4), 612–627. <https://doi.org/10.1007/s10021-010-9336-3>

Mills, S., Alcántara-Rodríguez, J. A., Ciroso-Pérez, J., Gómez, A., Hagiwara, A., Galindo, K. H., ... & Walsh, E. J. (2017). Fifteen species in one: deciphering the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera, Monogononta) through DNA taxonomy. *Hydrobiologia*, 796, 39–58.

- Mydlowski, E. A. (2024). *Seasonal variation in rotifer occupancy within Frullania eboracensis lobules: Illuminating a symbiotic relationship between two overlooked species* [Master's thesis, Northern Michigan University]. NMU Commons. <https://commons.nmu.edu/theses/842>
- Pressel, S., Bidartondo, M. I., Ligrone, R., & Duckett, J. G. (2010). Fungal symbioses in bryophytes: new insights in the twenty first century. *Phytotaxa*, 9(1), 238-253.
- Puterbaugh, M. N., Skinner, J. J., & Miller, J. M. (2004). A nonrandom pattern of rotifers occupying lobules of the hepatic, *Frullania eboracensis*. *The Bryologist*, 107(4), 524-530.
- Ricci, C., & Balsamo, M. (2000). The biology and ecology of lotic rotifers and gastrotrichs. *Freshwater Biology*, 44(1), 15-28.
- Serra, M., García-Roger, E. M., Ortells, R., & Carmona, M. J. (2019). Cyclically parthenogenetic rotifers and the theories of population and evolutionary ecology. *Limnetica*, 38(1), 67-93.
- Snell, T. W. (1998). Chemical ecology of rotifers. *Hydrobiologia*, 387(0), 267-276.
- Snell, T. W., & Janssen, C. R. (1995). Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*, 313(1), 231-247.
- Söderström, L., Hagborg, A., von Konrat, M., Bartholomew-Began, S., Bell, D., Briscoe, L., ... & Zhu, R. L. (2016). World checklist of hornworts and liverworts. *PhytoKeys*, 59, 1-828. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.59.6261>
- Şimşek, Ö. (2012). *Bolu Dağları Ciğerotları (Hepaticae) Florası* [Doktora Tezi]. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Şimşek, Ö. (2023a). Ciğerotları, Etnobriyoloji ve Türkiye’de Bulunan Bazı Ciğerotlarının Etnobriyolojik Özellikleri. *Matematik ve Fen Bilimleri Üzerine Araştırmalar* içinde (s. 153–169).

Şimşek, Ö. (2023b). Yeşil Sentez ile Nanopartikül Sentezinde Briyofitler. *Science and Mathematics in a Globalizing World* içinde (s. 99–108).

Şimşek, Ö., & Selvi, K. (2023a). Briyofitlerin Sucul Ekosistemlerde Biyomonitör Olarak Kullanımları. *All Sciences Proceedings*, 1(2), 341–344.

Şimşek, Ö., & Selvi, K. (2023b). İklim Değişikliğinin İzlenmesinde Briyofitlerin Su Tutma Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *Doğa Bilimleri ve Matematikte İleri ve Çağdaş Çalışmalar* içinde (s. 39–48).

Şimşek, Ö., Canlı, K., & Gürsu, G. (2016). Bryophyte in the beginning of terrestrial life. *Anatolian Bryology*, 2(2), 70–74.

URL 1.
<https://www.southernappalachianbryophytes.org/frullaniaeboracensis.html> Erişim Tarihi: 4.12.2025

URL 2. <https://www.bluetier.org/nature/rotifers.htm> Erişim Tarihi: 4.12.2025

Ustaoglu, M. R., Altındağ, A., Kaya, M., Akbulut, N., Bozkurt, A., Özdemir Mis, D., Atasagun, S., Erdoğan, S., Bekleyen, A., Saler, S., & Okgerman, H. C. (2012). A checklist of Turkish rotifers. *Turkish Journal of Zoology*, 36(5), 607–622.
<https://doi.org/10.3906/zoo-1110-1>

- Volkova, I. I., Volkov, I. V., Morozova, Y. A., Nikitkin, V. A., Vishnyakova, E. K., & Mironycheva-Tokareva, N. P. (2023). Water Holding Capacity of Some Bryophyta Species from Tundra and North Taiga of the West Siberia. *Water*, 15(14), 2626.
- Walczyńska, A., Fontaneto, D., Kordbacheh, A., Hamil, S., Jimenez-Santos, M. A., Paraskevopoulou, S., ... & Zhang, W. (2024). Niche differentiation in rotifer cryptic species complexes: a review of environmental effects. *Hydrobiologia*, 851(12), 2909–2926.
- Wallace, R. L., Snell, T. W., Ricci, C., & Nogrady, T. (2019). Rotifera. J. H. Thorp & D. C. Rogers (Ed.), *Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates* içinde (4. baskı, Cilt 4, s. 225–271). Academic Press.
- Zanatta, F., Engler, R., Collart, F. et al. (2020). Bryophytes are predicted to lag behind future climate change despite their high dispersal capacities. *Nature Communications*, 11(1), 5601.

BÖLÜM 7

(Salvia spp.) TÜRLERİNDEN (Salvia sclarea L.) TÜRÜNÜN **UÇUCU YAĞ KOMPOZİSYONUN ÇEVRE** **ETKİLEŞİMLERİNİN** **ARAŞTIRILMASI**

Hasan Basri KARAYEL¹

Giriş

Lamiaceae familyasına ait bitkiler, uçucu yağ bakımından zengin, Akdeniz iklimi hâkim bölgelerde yaygın olarak bulunan otsu veya çalimsı bitkilerdir. *Salvia* türleri, çoğunlukla tıbbi ve aromatik bitkiler olup, dünyanın sıcak ve nemli bölgelerinde yetişir (Boelens, 1997: 19; Ryman, 1993: 42). *Salvia* türleri, 1400'den önce de kullanılıyordu ve o zamandan beri kullanılmaya devam edilmektedir. Daha sonra İspanyol ve Faslı bilim adamları, bu bitkiyi geleneksel tıpta kullanmaya başlamıştır. İspanyol ve Faslı bilim adamları, birkaç *Salvia* türü için “salıma” veya “asphacus” gibi isimler kullanmışlardır (Gali-Muhtasib & ark., 2000: 513). *Salvia* türlerinin yaprakları, eski çağlardan beri geleneksel halk hekimliğinde ev ilacı veya ağız gargarası (soğuk algınlığı, sinir yorgunluğu, farenjit, diş eti iltihabı ve benzeri hastalıklar için), aşırı

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

terlemeyi önlemek ve süt üretimini artırmak için kullanılmıştır (Ebadi,2002:45.;Baytop,1999:142). *Salvia* türleri, antispazmodik, halüsinojenik, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiseptik, analjezik, antioksidan, antikanser, tüberkülostatik, kardiyovasküler aktivite ve insektisit gibi biyolojik aktivitelere sahip bitkilerdir (Baytop,1997: 279; Ulubelen, 2003: 395). *Salvia sclarea* L., dünya çapında yetiştirilen önemli bir tıbbi ve aromatik bitkidir ve *Salvia sclarea* L. uçucu yağı, dünya pazarında “Clary Sage” olarak bilinen uçucu bir yağdır (Davis, 1982: 399).

Lamiaceae familyası, tıbbi ve aromatik bitki türleri açısından zengindir. Bu türlerin çoğu, özel aromalarını sağlayan özel epidermal ve sebasöz bezlerin uçucu yağlarını üretir ve depolar. *Salvia sclarea* L., uçucu yağ üreten ve farklı morfolojik yapılarla sahip iki tür bez içerir: peltate ve capitate bezler. Bir çalışmada, bitkinin farklı bölgelerinden (taç, kaliks ve yaprak) SPME fiberi kullanılarak tek tek yağ bezlerinin içeriği örneklenmiş ve uçucu yağ bileşiminin değişkenliğini incelemek için gaz kromatografisi ile analiz edilmiştir. Terpenoidlerin bileşiminin tek bir bitkide oldukça değişken olduğu bulunmuştur. Capitate yağ bezleri esas olarak monoterpen linalool ve linalil asetat ile diterpen sclareol olmak üzere üç uçucu yağ bileşiği üretir. Ayrıca, yağ bileşimi bitkinin organına ve her bir salgı türüne göre değişir. Linalool ve linalil asetat çiçeklerin karakteristik maddeleridir, oysa seskiterpenler yapraklarda daha yüksek oranlarda bulunur (Schmiderer & ark., 2008: 433). *Salvia* türleri arasında yer alan *Salvia sclarea* L., parfüm ve kozmetik endüstrisi için önemli bir ekonomik değere sahiptir. *Salvia sclarea* L., dünya ticaretinde önemli bir yere sahiptir. *Salvia sclarea* L.'nin ilaçları, 1998 yılında yayınlanan Fransız Farmakopesi'nin “Fransız Açıklayıcı Notu” ekinde bahsedilmiştir (Bruneton,1999: 540). *Salvia sclarea* L. doğal olarak Kuzey Afrika, Anadolu ve Avrupa'nın güney bölgelerinde yetişir. İspanya, Rusya, Fas, Fransa, İsviçre, Almanya, İtalya, Macaristan, Yugoslavya, Bulgaristan, Amerika, İngiltere, İsrail, Güney Afrika ve Hindistan'da yetiştirilen bu tür kültürün ekonomik önemi vardır (Bruneton,1999: 540; Ronyai & Uark., 1999: 69).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından gıdalarda kullanım için onaylanan ve FEMA tarafından genel olarak güvenilir kabul edilen uçucu yağlardan biridir (Boelens,1997:19). *Salvia sclarea* L. genellikle Monoterpenler, Oksijenli Monoterpenler, Alifatik alkoller, Esterler ve Seskuiterpenler gibi farklı türlere ait aşağıdaki terpenleri içerir. Monoterpenlerin içerdiği terpenler şunlardır: α -pinen, kamfen, 3-pinen, mirsen, limonen, osimen izomerleri, p-simen, a-terpinolen. Oksijenli Monoterpenler arasında bulunan terpenler şunlardır: α -terpineol, linalool, karvakrol, geraniol, nerol, 1.8-sineol, cis-linalol oksit, geranil aseton, a-mono farnesil aseton. Alifatik alkoller içeren terpenler şunlardır: (z)-3-hekzen-1-ol, 1-okten-3-ol. Esterler içeren terpenler şunlardır: neril asetat, linalil asetat, geranil asetat. Seskuiterpenlerin içerdiği terpenler P-bourbonene, karyofilen, α -humulen, germakren-D, 3-kubeben, a-kopaen, y-elemen, spatulenol, olmesmol izomerleridir (Vincenzi,1994:49). *Salvia sclarea* L. uçucu yağının başlıca üreticileri Rusya, ABD, Bulgaristan, Fransa, Hindistan, İsviçre ve Fas'tır. Az miktarda uçucu yağ üreten ülkeler ise İsrail, Güney Afrika, Macaristan, eski Yugoslavya ve İtalya'dır. Dünyada *Salvia sclarea* L. uçucu yağının toplam üretimi yaklaşık 45 tondur (Boelens,1997:19). *Salvia sclarea* L. ekonomik önemi olan bir bitkidir. Uçucu yağı, pahalı parfümlerin yapımında, kozmetik ve ilaç endüstrisinde ve gıda endüstrisinde kullanılan değerli bir uçucu yağdır (Demirci & Uark., 2002: 54; Pesic & ark., 2003: 228). *Salvia* cinsine ait bazı türler hem ülkemizde hem de dünyada ticari öneme sahiptir. Bu nedenle, Türkiye'de ve yurtdışında adaçayı türleri üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışma, Ege bölgesinin iç kesimlerinde yetiştirilen Misk Adaçayı'nın (*Salvia sclarea* L.) uçucu yağ bileşimini nasıl etkilediğini inceleyen bir çalışmadır. Yapılan bu çalışma ile bölge halkı için ürün çeşitliliğini artırmak, ilaç ve gıda sektörüne katkı sağlamak hedeflenmiştir.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada materyal olarak *Salvia sclarea* L. türüne ait genotip kullanılmıştır. Materyal olarak kullanılan bu türün tohumlarının alındığı kurum adı Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Materyal olarak belirtilen türün tohumların alındığı kuruluş adı

Tür Adı	Temin edilen kurum/kuruluşlar
<i>Salvia sclarea</i> L.	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü

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

Misk Adaçayı (*Salvia sclarea* L.)

Misk adaçayı bir Akdeniz bitkisi olmakla beraber, İran ve Orta Avrupa'da yetişmektedir. Ülkemizde Akdeniz, Karadeniz, Ege, Marmara, Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu bölgelerimizde doğal olarak yetişmektedir. Bitkide sap kökten sürgün halinde çıkar ve dik olarak gelişir. Sapta, gövdede yaprakta tüy bulunmaktadır. Bitki boyu 80-250 cm arasında değişmektedir. Bitki ilk yıl rozet şeklinde gelişir. Rozet yaprakları 10-25 cm uzunluğunda 7-15 cm genişlikte kalp şeklinde, yaprakların kenarları dişli, çiçekleri mavimsi, pembeden leylığa doğru değişir. Çiçek sık veya seyrek bileşik salkım şeklindedir. Kullanılan kısmı yaprak ve çiçekleridir. Rengi üst yüzü açık-gri kahve renklidir. Bitki sıklığı 60x30 cm olduğu belirtilmektedir. Kullanılan kısımları tanen, rezin, acı madde ve uçucu yağlardır. Genelde parfümeri ve kozmetik sanayinde kullanılır. Misk adaçayın drog çiçeklerde uçucu yağ oranı %0,2-0,9 aralığında değişim göstermektedir. Uçucu yağ bileşimindeki önemli maddeler Linalil, Linalool, Sclareol'dır. Çok dallanan bir kök sistemi var, dikine gelişen kazık kök uygun topraklarda oldukça derine inmektedir. Meyve küçük boylu, ovalden konimsiye kadar

değişen yuvarlakça, üç köşeli ve bin tane ağırlığı 2,5-3,5 g'dır (Ceylan, 1996:481).

Şekil 1: Kütahya lokasyonunda Salvia sclarea L. bitkisinin görünümü



(kaynak:karayel)

Deneme Çevreleri

Araştırma 2014-2015 ve 2015-2016 yıllarında Çanakkale, Kütahya ve Balıkesir lokasyonlarında 2 yıl süreyle yürütülmüştür. Denemelerin kurulduğu lokasyonlar aşağıda verilmiştir.

1. Lokasyon; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dardanos Yerleşkesi deneme alanı, rakımı 43 m, Boylam: 26,2186°, Enlem: 40,444°

2. Lokasyon; Balıkesir Edremit Kale Natürel A.Ş. Tıbbi Bitkiler Bahçesi, rakımı 620 m, Boylam: 27,931°, Enlem: 39,4029°

3. Lokasyon; Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi Bitkiler Botanik Bahçesi, rakımı 993 m, Boylam: 29,5574°, Enlem: 39,2759°

Lokasyonlara ait toprak özellikleri, Balıkesir lokasyonunda deneme yerinin toprak tekstürü kumlu-tınlıdır. Bu lokasyonun toprak yapısı geçirgen, su tutma kapasitesi ve kireç oranı düşük, organik madde bakımında ise fakirdir. Çanakkale ve Kütahya lokasyonlarındaki deneme alanı toprakları ise killi-tınlı'dır. Bu lokasyonlardan Çanakkale lokasyonu organik madde bakımından iyi durumda iken Kütahya lokasyonu organik madde bakımından fakirdir (Anonim, 2016a).

Deneme Alanlarının İklim Özellikleri

Deneme yerlerinin iklim değerleri çevrelere göre ayrı ayrı değerlendirildiğinde Marmara Bölgesinde (Çanakkale, Balıkesir) Akdeniz iklimi; İç Ege Bölgesinde (Kütahya) ise karasal iklim hâkimdir. Uzun yıllar ortalaması olarak toplam yağış verilerine göre deneme çevreleri içerisinde en düşük toplam yağış (511,5 mm) Kütahya lokasyonunda, en fazla yağış (735,2 mm) ise Balıkesir lokasyonunda kaydedilmiştir .

Deneme yıllarına göre toplam yağış miktarı incelendiğinde en yüksek yağış, uzun yıllar yağış ortalamasında olduğu gibi 788,5 mm ile 2016 yılında Balıkesir lokasyonunda belirlenmiş iken, en düşük toplam yağış ise 513,7 mm ile 2016 yılında Çanakkale lokasyonunda elde edilmiştir.

Lokasyonların Aylık ortalama sıcaklık değerleri incelendiğinde, en düşük ortalama sıcaklık -1.0 °C ile 2016 yılının Aralık ayında Kütahya lokasyonda ölçülmüş iken en yüksek sıcaklık ise 28,5 °C ile Balıkesir lokasyonunda belirlenmiştir.

Yılların ortalamaları olarak sıcaklık değerlerinde ise en düşük ortalama sıcaklık değerleri hem 2015 hemde 2016 yıllarında Kütahya lokasyonunda sırasıyla 11,3°C ve 11,9 °C olarak ölçülmüştür (Anonim, 2016b).

Yöntem

Bu araştırma 2015 ve 2016 yıllarında Çanakkale, Balıkesir-Edremit ve Kütahya koşullarında tesdadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemeler Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dardanos Yerleşkesi'nde, Balıkesir-Edremit Kale Natürel A.Ş. arazisinde ve Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi Bitkiler Botanik Bahçesi'nde yürütülmüştür.

Denemeler tarla koşullarında kurulmadan önce 2014 yılının Aralık ayında tohumlar içleri torf ile doldurulmuş fide kaplarına ekilmiş çimlenmeleri sağlanmıştır. Fideler sera koşullarında yeterli büyüklüğe ulaştınca, 2015 yılı Nisan ayı sonunda önceden hazırlanan deneme alanlarına dikilmiştir (Tablo 2). Denemelerde 50 x 30 cm dikim mesafeleri kullanılmış, parseller 3 sıradan oluşmuş, parsellerde 72 adet bitki yer almıştır. Parseller 7,2 m boyunda oluşturulmuş, aralarında 1'er m mesafe bırakılmıştır. Dikim işleminden sonra her lokasyonda can suyu verilmiştir. Tüm denemelerde bitkiler ilk iki hafta belirli aralıklarla sulanmış ve tutmayan bitkilerin yerine yenileri dikilmiştir. Böylece her parselde bitki sayıları eşitlenmiştir. Birinci deneme yılında Çanakkale ve Kütahya lokasyonlarında 10.07.2015 tarihinden itibaren sulama 15 günde bir kez sulama yapılırken, Balıkesir lokasyonunda ise toprağın kumlu olmasından dolayı 10 günde bir sulama yapılmıştır.

İkinci yıl ise tüm lokasyonlarda yıl boyunca ihtiyaca göre belirli aralıklarla damla sulama sistemi ile sulama yapılmıştır. Tüm lokasyonlarda her türe ait parsellerin ortasında yer alan bitkilerden 9'ar adet bitki etiketlenmiş, her iki senede de yapılan gözlem ve ölçümler, bu bitkiler üzerinde yapılmıştır. Tüm lokasyonlarda tarlalar, dikimden hemen önce dekara yaklaşık 3,6 kg saf azot ve 9,2

kg saf fosfor olacak şekilde DAP gübresi ile gübrenmiştir. Daha sonraki aşamalarda herhangi bir gübreleme yapılmamıştır. Her iki deneme yılında da tüm lokasyonlarda yabancı ot mücadelesi çapalama ve elle mücadele şeklinde yapılmıştır.

Tablo 2: Denemenin yürütüldüğü lokasyonlara ait dikim tarihleri

Lokasyonlar	2014-2015 yılı dikim tarihleri
Çanakkale	27.04.2015
Kütahya	28.04.2015
Balıkesir	27.04.2015

Deneme süresince yapılan biçimler ve tarihleri, İlk biçim Çanakkale (06.08.2015) ve Balıkesir (20.08.2015) lokasyonlarında Ağustos ayında, Kütahya (03.09.2015) lokasyonunda ise Eylül ayında yapılmıştır. İkinci yıl ise ilk biçim tüm lokasyonlarda parseldeki bitkilerin çiçeklenme döneminde her türde etiketlenen 9'ar adet bitkiden yapılmıştır. Tüm lokasyonlarda birinci yıl için bir biçim, ikinci yıl içinde bir biçim yapılmıştır. Çanakkalede ikinci yıl, 1 Biçim (27.08.2016). Balıkesirde, ikinci yıl, 1 Biçim (04.09.2016). Kütahyada, ikinci yıl, 1 Biçim (16.09.2016) 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 yaklaşık 20 cm kalınlığında serilip belirli aralıklarla karıştırılarak, 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.

Uçucu Yağ Oranı (%)

Her parselden etiketlenen 9'ar adet bitkiden alınan örnekler karıştırılarak kurutulmuş, uçucu yağ oranı su distilasyonu yöntemiyle belirlenmiştir. Uçucu yağ analizinin başlangıcında 20 g kuru materyal (yaprak) tartılmıştır. Örnekler tabanı yuvarlak boynu traşlı 500 ml'lik balona alınmıştır. 200 ml (örnek miktarına göre değişebilir, yaklaşık 10 kat) saf su eklenmiştir. Balon Neo - Clevenger düzeneğinin ısıtmalı ceket kısmına yerleştirilip dikey dereceli cam borunun alt kısmı cam balona, üst kısmı ise soğutucu sistemine bağlanmıştır. Dereceli boru ve eğik boruya saf su doldurulduktan sonra soğutucu sistem çalıştırılıp, balon ısıtmaya başlanmıştır. 2 saat süreyle hidrodestilasyon işlemine tabi tutulmuştur. 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 & ark., 2000: 551).

Uçucu Yağ Bileşenleri (%)

Her türe ait örnekler 1:100 oranında hekzan ile seyreltilmiş, gaz kromatografisinde bileşenlerin ayrımı için kapiler kolon kullanılmıştır. Kütle dedektörü için tarama aralığı olarak 35-450 (m/z) atomik kütle ünitesi ve elektron bombardımanı iyonizasyon enerjisi 70 eV değeri kullanılmıştır. Uçucu yağın bileşenlerinin teşhisinde Oil Adams, Wiley ve Nist kütüphanelerinin verileri esas alınmıştır (Özek & ark, 2010: 180).

Bulgular ve Tartışma

Salvia sclarea L. türünde elde edilen uçucu yağın lokasyonlara göre ayrı ayrı olacak şekilde etken maddeleri Tablo 3’de gösterilmiştir. *Salvia sclarea* L. türünde ana bileşen Germacrene-D, Spathulenol, Sclareoloxide olarak kaydedilirken, üç lokasyonda da ana bileşen olarak Germacrene-D, Spathulenol, Sclareoloxide olarak bulunmuştur. Ana bileşenlerin lokasyonlara göre oranları sırasıyla aşağıda verilmiştir (Tablo 3). Çanakkale lokasyonunda birinci yıl Germacrene-D %20,82, ikinci yıl %4,06, birinci yıl Spathulenol %7,3, ikinci yıl %25,47, Sclareoloxide birinci yıl %5,32, ikinci yıl %17,83 olarak belirlenmiştir. Balıkesir lokasyonunda birinci yıl Germacrene-D %8,05, ikinci yıl %-, birinci yıl Spathulenol %-, ikinci yıl %29,14, Sclareoloxide birinci yıl %-, ikinci yıl %12,83 olarak tespit edilmiştir. Kütahya lokasyonunda birinci yıl Germacrene-D %-, ikinci yıl %2,44, birinci yıl Spathulenol %-, ikinci yıl %2,86, Sclareoloxide birinci yıl %-, ikinci yıl %2,26 olarak belirlenmiştir. *Salvia sclarea* L. türünde Çanakkale lokasyonunda birinci yıl 21 bileşen ve toplamı %98,4, ikinci yıl 10 bileşen ve toplam %86,84, Balıkesir lokasyonunda birinci yıl sıfır bileşen ve toplam %-, ikinci yıl 12 bileşen ve toplam %86,68, Kütahya lokasyonunda birinci yıl sıfır bileşen ve toplam %-, ikinci yıl 16 bileşen ve toplam %93,95 olarak bulunmuştur. Lokasyon sırasına göre diğer önemli bileşenler Çanakkale, Phytol, β -caryophyllene, Caryophylleneoxide, Balıkesir, Caryophylleneoxide β -caryophyllene, Linalool Kütahya, Linalylacetate, Linalool, α -Terpineol şeklinde sıralanmıştır. Türlerin lokasyonlara göre uçucu yağ bileşenleri belli ölçüde değişiklik göstermiştir. *Salvia sclarea* L. türünde ana bileşeni üç lokasyonda da Spathulenol olarak gerçekleşmiştir. (Verma, 2010:102), çalışmamıza benzer şekilde,

Salvia sclarea'nın uçucu yağının yüzde %96,45-%99,53'ü temsil eden toplam 20 bileşen tespit etmiştir.

Tablo 3: Salvia sclarea L. 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	Tetradecane	5,05	-	-	-	-	-
2	α -thujone	3,07	-	-	-	-	-
3	Octen-3-ol	2,39	-	-	-	-	-
4	β -thujone	2,04	-	-	-	-	-
5	Pentadecane	4,9	-	-	-	-	-
6	Camphor	2,33	-	-	-	-	-
7	Linalool	1,85	-	-	5,52	-	25,53
8	β -ylangene	1,69	-	-	-	-	-
9	Hexadecane	5,06	-	-	-	-	-
10	β -caryophyllene	3,06	4,73	-	6,74	-	0,85
11	Octadecane	1,39	-	-	-	-	-
12	Germacrene - D	20,82	4,06	-	8,05	-	2,44
13	β -bisabolene	0,31	-	-	-	-	-
14	Bicyclogermacrene	2,64	1,35	-	3,81	-	-
15	δ -cadinene	161	1,32	-	2,56	-	-
16	Caryophylleneoxide	3,34	24,58	-	10,51	-	1,51
17	Spathulenol	7,32	25,47	-	29,14	-	2,86
18	Valeranone	2,56	-	-	-	-	-
19	Carvacrol	2,11	-	-	-	-	-

21	Phytol	14,81	-	-	-	-	-
22	isopathulenol	-	1,24	-	1,66	-	-
23	Hydroxyβcaryophyllene	-	3,05	-	-	-	-
23	Epoxy-salvial(4)14-ene	-	3,21	-	2,37	-	-
24	Geraniol	-	-	-	1,14	-	5,73
25	Myrcene	-	-	-	-	-	2,52
26	(z)-β-ocimene	-	-	-	-	-	1,05
28	(E)-β-ocimene	-	-	-	-	-	2,18
29	α-copaene	-	-	-	-	-	2,22
30	Linalylacetate	-	-	-	-	-	29,65
31	β-Eudesmol	-	-	-	-	-	1,07
32	Nerylacetate	-	-	-	-	-	2,94
33	Nerol	-	-	-	-	-	2,04
34	α-Terpineol	-	-	-	-	-	9,10
	Toplam%	98	86,84		86,6	-	93,95

Araştırmacı yağların ana bileşenlerinin linalol (%27,08-%62,51), linalil asetat (nil-%43,01), α-terpineol (%0,12-%0,25), geranyol (%0,74-%4,84), (E) -β-osimene (%1,19- %4,83) ve geraniol asetat (%0,36-%3,11)'in oluşturduğunu belirlemişlerdir. (Sharopov & ark., 2012: 75), *Salvia sclarea* L.'nin uçucu yağında 59 adet bileşik bulunduğunu bu bileşiklerin uçucu yağın %94,2'sini oluşturduğunu belirlemişlerdir. Uçucu yağın başlıca bileşenlerinin linalil asetat (%39,2), linalool (%12,5), germakren-D (%11,4), p-terpineol (%5,5), geraniasetat (%3,5) ve (E)-Karyofilin (%2,4) den oluştuğunu tespit etmişlerdir. (Dzamic & ark., 2008: 233), *Salvia sclarea* L.'nin esansiyel yağını potansiyel bir mantar önleyici madde olarak analiz etmişler, yağdaki ana bileşikleri, linalil asetat (%52,83) ve linalool (%18,18) olarak belirtmişlerdir. (Caniard & ark., 2012:119), *S.sclarea* türünün parfüm endüstrisi için yüksek değeri

olan doğal bir ürün olduğunu bildirmişler, ticari olarak üretilen sklareol'un büyük kısmının bu türden elde edildiğini belirtmişlerdir. Yukarıda da belirtilği gibi birçok araştırmacının elde ettikleri sonuçlar ile çalışmamızda *Salvia sclarea* L. türünde tespit ettiğimiz uçucu yağ etken maddeleri benzerlik göstermektedir.

Sonuç

Salvia sclarea L. türünün uçucu yağ kompozisyonunun iki yıllık sonuçlarına göre ekolojik faktörlere bağlı olarak uçucu yağların değerlendirilmesine yönelik bir çalışmadır. Üç farklı bölgede yapılan çalışmada; Myrcene, (z)- β -ocimene, (E)- β -ocimene, α -copaene, Linalylacetate, β -Eudesmol, Nerylacetate, Nerol, α -Terpineol bu bileşikler yalnız kütahyada, yalnız başına bileşik Balıkesir lokasyonunda yoktur, Valeranone, Carvacrol, Phytol, β -bisabolene, Hexadecane, Tetradecane, α -thujone, Octen-3-ol, β -thujone, Pentadecane, Camphor, Linalool, β -ylangene bileşikleri yalnız Çanakkale'de tanımlanmıştır. Ekolojik faktörlere göre uçucu yağ bileşenlerinin de farklılık gösterdiği düşünüldüğünde farklı lokasyonlarından farklı *Salvia* türleri üzerinde daha fazla çalışmaların yürütülmesi faydalı olacaktır.

Kaynakça

- Anonim 2016a. Toprak Analizi Sonuçları. Kütahya Ziraat Odası Başkanlığı, Kütahya.
- Anonim 2016b. İklim Verileri. Kütay Meteoroloji İl Müdürlüğü, Kütahya.
- Baytop A. (1977). Pharmaceutical Botany, Additional Third Edition, İstanbul: İstanbul University Faculty of Pharmacy Publications, *Baha Press*, pp. 279-280.
- Baytop T. (1999). Treatment with plants in Turkey, Additional Second Edition, *Istanbul Nobel Bookstores*, pp. 142-143.
- Boelens M.H. (1997). Chemical and Sensory Evaluation of Three Sage Oils. *Perfumer Flavorist* 22,19-40.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosy, and Edition, Paris: *Lavoisier Publishing*, pp.540-544.
- Caniard A., Zerbe P., Legrand S., Cohade A., Valot N., Magnard J. L., Legendre L., 2012. Discovery and functional characterization of two diterpene synthases for sclareol biosynthesis in *Salvia sclarea* L. and their relevance for perfumemanufacture. *BMC Plant Biology*. 12 (1): 119-132.
- Ceylan A., 1996. Tıbbi Bitkiler. II. (Uçucu Yağ Bitkileri), İzmir *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın* No: 481.
- Davis P.H. (1982). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Volume Seven, Edinburg: *Edinburg University Press*, pp.399-438.

- Demirci B., Tabanca N., Başer K.H.C. (2002). Enantiomeric Distribution of Some Monoterpenes in the Essential Oils of Some *Salvia Species*. *Flavour and Fragrance Journal* 17,54-58.
- Dzamic A., Soković M., Ristić M., Grujić-Jovanović S., Vukojević J., Marin P. D. 2008. Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. *Archives of Biological Sciences*. 60(2): 233-237.
- Ebadi M. (2002). *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine*, Newyork: CRC Press, pp.45.
- Gali-Muhtasib H., Hilan C., Khater C. (2000). Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of its essential oils. *Journal of EthnoPharmacology* 71,513-520.
- Pesic Z. P., Bankovic V. M. (2003). "Investigation on the essential oil of cultivated *Salvia sclarea* L.", *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 228-230.
- 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.
- Ronyai E., Simandi B., Lemberkovics E., Veress T., Patiaka D. (1999). Comparison of the Volatile Composition of Clary Sage Obtained by Hydrodistillation and Supercritical Fluid Ectraction. *Journal of Essential Oil Research* 11,69-71.
- Ryman D. (1993). *Aromatherapy*, Bantam Edition, New York. *Bantam Books*.pp:42-68.
- Schmiderer C., Grassi P., Novak J., Weber M., Franz C. (2008). Diversity of essential oil glands of clary sage (*Salvia sclarea* L.) Lamiaceae. *Plant Biology*, 10(4), 433-440.
- Sharopov F. S., Setzer W. N., 2012. The essential oil of *Salvia sclarea* L. From Tajikistan. *Records of Natural Products*, 6 (1): 75-79.

Skoula M., Abbes J.E., Johnson C.B., 2000. Genetic variation of volatile and Rosmarinic acid in populations of *Salvia fruticosa* Mill, growing in Crete. *Journal of Biochemical Systematics and Ecology*, 28: 551-561.

Ullrich A. (2003). Cardioactive and Antibacterial Terpenoids From Some *Salvia Species*. *Phytochemistry* 64, 395-399.

Verma R. S., 2010. Chemical investigation of decanted and hydrophilic fractions of *Salvia sclarea* essential oil. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 5 (3): 102-108.

Vincenzi M., Maialetti F., Dessi M.R. (1994). Monographs on Botanical Flavouring Substances Used in Foods. *Part III. Fitoterapia* LXV, (1), 49-58.

BÖLÜM 8

EVDE YAPILABİLECEK HÜCRESEL SOLUNUM DENEYLERİ

Fatih SEZEK¹
Kemal DOYMUŞ²

Giriş

Ne yazık ki, günümüz eğitim sistemimizde birçok bilimsel kavram ezberletilerek öğretilmektedir. Oysa fen eğitiminin temel amaçlarından biri öğrencilerin kavramları anlamlı bir şekilde öğrenmelerini ve günlük yaşamlarında ihtiyaçlarına göre kullanmalarını sağlamaktır. Birçok araştırma, öğrencilerin geçmiş yaşamlarında edindikleri tutum, beceri ve deneyimlerle okula geldiklerini göstermektedir. Bu özellikler her öğrencinin farklı bir bilişsel yapıya sahip olmasına neden olmaktadır (Yürük & Çakır, 2000: 185). Yapılandırmacı kurama göre öğrenme, zihne sürekli yeni bilgi ekleyerek değil, eski ve yeni bilgiler arasında ilişki kurarak gerçekleşir. Öğrenciler zihinlerinde bilgiyi yapılandırırken yanlış bağlantılar kurabilir ve bilimsel gerçeklere aykırı kavramlar oluşturabilirler. Bilim insanları bunlara çocuk bilimi ve yanlış

¹ Prof Dr. Atatürk Üniversitesi, Matematik Ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, ORCID: 0000-0002-1841-4303

² Prof Dr. Atatürk Üniversitesi, Matematik Ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, ORCID: 0000-0002-0578-5623

anlamalar gibi farklı isimler vermişlerdir (Cho, Kahle & Nordland, 1985: 707; Driver & Easley, 1978: 61; Gilbert, Osborne & Fensham, 1982: 624).

Kavram yanlışlarının oluşmasında birçok farklı neden bulunmaktadır. Birincisi, öğrencilerde konuyu anlamak için gerekli ön bilginin eksikliği, konuya veya öğretmene karşı önyargılar, içgüdü ve ilgi eksikliği, bilimsel bağlamda günlük dili kullanma, kendi bilişsel düzeylerinin yetersiz olması, yaşadıkları çevrenin kültürü ve sosyoekonomik durumu gibi nedenlerden dolayı kavram yanlışlarına sahip olabilirler. İkincisi, öğretmenlerin konu içeriğini yetersiz sunması, öğretim stratejilerini etkisiz, yanlış veya eksik kullanması, kavramları yanlış veya gereksiz bölümlere ayırması, aşırı ayrıntılarla bunaltması veya kavram yanlışlığı olan diğer yetişkinler tarafından yapılan açıklamalar yanlış öğrenmeye neden olabilir. Üçüncüsü, ders kitaplarında; konuların yanlış öğretilme sırası, yetersiz içerik, çok fazla yanlış bilgi içermesi, şekil ve örnek eksikliği, konular arasında tam bir bütünlük olmaması öğrenmede kavram yanlışlarına neden olabilir. Dördüncüsü (Aşçı, Özkan & Tekkay, 2001: 30; Chambers & Andre, 1998: 107; Lawson & Tompson, 1988: 734; Kurt & ark., 2013:583).

Hücre sel solunum konusunda birçok soyut kavram olduğundan ve yukarıda saydığımız eksiklerden dolayı yanlış anlamalar oldukça yaygındır. Anderson, Sheldon & Dubay (1990: 761) solunum kavramının doğru bir şekilde öğretilmesinin önemini vurgulamıştır. Hücre sel solunum, madde ve enerji dönüşümleri, oksidasyon-redüksiyon, termodinamik yasaları ve ekoloji gibi birçok farklı konuyla ilişkilidir ve bu da öğrencilerin konuyu anlamasını zorlaştırır. Öğrencilerin solunum ve diğer konular hakkındaki kavramsal eksiklikleri ve hataları arasında bağlantılar kurabilmeleri önemli ve gereklidir.

Hücre sel solunum üzerine yapılan çalışmalar öğrenciler arasında birçok kavram yanlışlığını ortaya koymaktadır. Çakır,

Geban ve Yürük (2002: 241)'e göre: "Bitkiler solunum yapmazlar. Glikoz indirgenme reaksiyonları sırasında doğrudan O_2 kullanılır. Anaerobik solunum reaksiyonları sırasında O_2 kullanılır. Hayvanlar CO_2 üretirken, bitkiler solunumun sonunda O_2 üretir. Tüm canlılar solunum reaksiyonları sırasında O_2 kullanırlar. Anaerobik solunum reaksiyonları sırasında O_2 yerine CO_2 kullanılır. Hem aerobik hem de anaerobik solunum reaksiyonlarında CO_2 son ürün olarak açığa çıkar. Laktik asit ve alkol fermentasyon reaksiyonlarında CO_2 son ürün olarak açığa çıkar. Fotosentez reaksiyonları sonunda enerji üretilir. Solunum reaksiyonu sonucunda glikoz üretilir. Tüm solunum reaksiyonlarında glikoz kullanılır. Sadece mayalar anaerobik solunum reaksiyonlarını gerçekleştirir. Fermantasyondaki glikoliz, aerobik solunum reaksiyonlarındaki glikolize göre daha fazla O_2 gerektirir. Solunum sırasında üretilen tüm enerji depolanır. Kas hücrelerinde sadece aerobik solunum gerçekleşir" gibi yanlış kavram yanlışlarını tespit ettiler. Tekkaya'nın (2002: 261-262) yaptığı bir araştırma bulduğu en yaygın kavram yanlışlarını şöyle sıralamaktadır: "Solunumun amacı oksijen sağlamak ve karbondioksiti uzaklaştırmaktır. Hücresel solunum, oksijenin alındığı ve karbondioksitin atıldığı bir gaz değişim sürecidir. Solunum, nefes alma ile eş anlamlıdır. Solunum akciğerlerde gerçekleşir. Bitkilerde solunum sadece geceleri gerçekleşir. Bazı hayvanlar, özellikle omurgasızlar, solunum yapmaz. Hayvanlar aerobik solunum yapar, bitkiler anaerobik solunum yapar. Bitkiler solunum yapmaz, fotosentez yaparlar."

Çeşitli çalışmalar, kavram yanlışlarının öğrencilerin kendi kavramsal gelişimlerini yansıttığını göstermiştir. Öğrenciler var olan kavramlarını deneyimlerinden oluştururlar (Chambers & Andre, 1998: 107; Driver & Easley, 1978: 61) ve çoğu kavram yanlışına sahip olduğunun farkında değildir. Fikirlerinin yanlış olduğu söylendiğinde yanlış anlamalarını düzeltmekte zorluk çekerler. Kavram yanlışları; yaygındır ve geleneksel öğretim yöntemleriyle

kolay düzeltilemezler. Öğrenciler genellikle bilgilerini neden değiştirmeleri gerektiğini anlamazlar. İnsanlar ilk öğrendikleri bilgiyi, yanlış bile olsa, değiştirmek veya düzeltmek istemezler. Çünkü bir hatayı düzeltmek yeni bir bilgi öğrenmekten daha zordur (Şahin & Oktay, 2013: 227). Ayrıca bu yanlış açıklamalar günlük deneyimlerinde geçerli açıklamalar sağlar, yaşamlarında yeterli işlev görür ve çevrelerinden uzun süre onay aldıkları için bu rahat ortamı terk etmek istemezler. Ancak bilimsel okuryazar olmak ve bilimsel gerçeklere aykırı açıklamalarını gözden geçirmek büyük bir çaba gerektirir. Öğrencilerin yanlış anlamalarını düzeltebilmeleri için sahip oldukları bilgi miktarını, çalışma ve uygulama sıklığını, yeni kişisel deneyimleri ve ilgi alanlarını artırmaları gerekir. Bu değişime ikna olabilmeleri için çok teşvik edici bir ortam sağlanmalıdır. Bu ortam, öğrencilerin okul dışındaki sosyal ve kültürel çevreyle ilişki kurmalarına da imkân vermelidir (Tekkaya, 2002: 265). Bazen bir kişinin yanlış anlamalarını düzeltmek, bir konu hakkındaki tutumlarını düzeltmek kadar zor olabilir. Yukarıda sıralanan nedenler göz önüne alındığında, her kavramın derinlemesine ve doğru bir şekilde öğretilmesinin ne kadar önemli olduğu anlaşılır.

Diğer yandan son yirmi yılda bilgisayar teknolojisinin gelişmesi ve yapay zekâ destekli eğitim araçlarının tanıtılması, öğretim uygulamalarında sürekli ve yenilikçi gelişmelerin yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Eğitim teknolojilerindeki hızlı değişim, mevcut yöntem ve metotlarda büyük değişikliklere yol açmaktadır (Oğuz & ark., 2023: 2982). Ayrıca eğitim fakültelerinde klasik öğretmenlik eğitimi alan öğretmenlerin sürekli olarak kendilerini yenilemelerini gerektirmektedir. Ancak kıdemli ve teknolojiyle ilgisiz olan öğretmenlerimiz bu yeni teknolojileri ve metotları bilmemektedir. Öğretmenlerin yeni durumlara hızlı bir şekilde uyum sağlayamaması ve yeni teknikler geliştirememesi de eğitim kalitesini düşürmektedir. Öte yandan öğrenciler, verilen ödevleri yapmak için dersi anlatırken ders videolarını veya internet

üzerindeki yapay zekâ destekli programları kullanabilmektedir. Bu durum, dersi okul dışında öğrenmek isteyen öğrencilere uzaktan ders çalışma imkânı sağlamakta ve proje ödevleri de dahil olmak üzere ödevlerini birkaç saniye içinde yapay zekâ tarafından yaptırabilmektedir. Hatta çözemedikleri soruların çözümüne bile ulaşabilmektedirler. Ayrıca her yayınevine ait soru bankalarının veya test kitaplarının cevap anahtarlarına kolayca ulaşabilmektedirler. Bu durum öğrencileri "Zaten cevaplara hemen ulaşabilirim. Neden çalışmalıyım?" gibi bir yaklaşıma yönltebilmektedir. Çünkü bilgiye ulaşmak artık bir cep telefonu kadar yakın ve kolaydır.

Bu durum kontrollü bir şekilde yönetilemezse yeni sorunların ortaya çıkmasına neden olacaktır. Örneğin, öğrencileri hem tembelleştiren hem de ezbere yönelten klasik ödevlerin verimliliğinin daha da düşmesine neden olacaktır. Saydığımız tüm bu nedenler biz eğitimcileri yeni önlemler almaya yöneltmelidir. Bu yeni dönemde okul duvarları olmayan bir eğitim sistemine ihtiyaç duyulacak gibi görünüyor. Bizce, sıkıcı problem çözme ve tekrarlama şeklinde verilen ödevler yerine, araştırmaya yönelik, açık uçlu ve yoruma dayalı yeni tip proje ve ödevlere yönelmeliyiz. Öğrencileri klasik ödev yükünden kurtarmalıyız. Bunun yerine, her öğrencinin kendi hızına ve seviyesine uygun, araştırma odaklı, sorgulayıcı, karşılaştırmalı ve özgüvenini artıran yeni öğretim modellerine ve yöntemlerine yönelmeliyiz. Bunu başarmak için derslerimizde her konunun sırasıyla ele alınması ve evde yeniden yazılı ve uygulamalı ödevlere geçilmesi gerektiğine inanıyoruz. Ayrıca ödevlerini yapan öğrenciler, internet ortamındaki çeşitli uygulamalar aracılığıyla deney sonuçlarını ve kurdukları düzeneklerin fotoğraflarını öğretmenleri ve arkadaşlarıyla paylaşıp bilgi alışverişinde bulunabilirler.

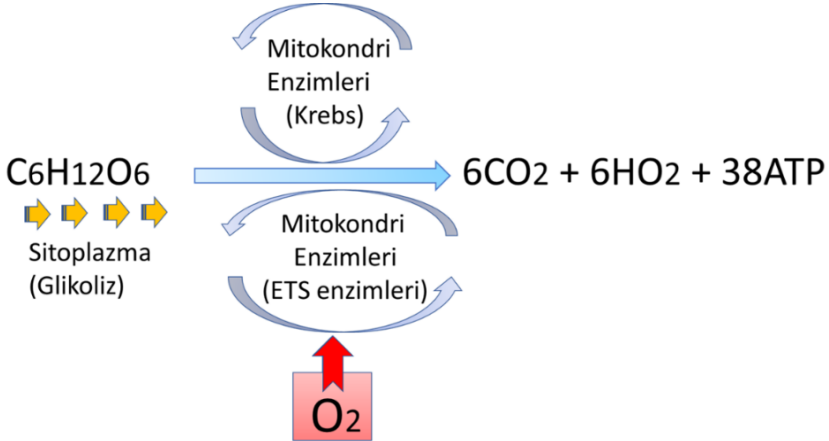
Bu kitap bölümünün temel amacı, sınıf dışında ev deneyleriyle pratik, basit ve eğlenceli aktivitelerle öğretimin nitelik ve nicelik açısından iyileştirilebileceğini göstermektir. Bu nedenle,

öğrencilere evde hücre solunum üzerine deneyler yapma fırsatı sağlanacaktır. Ev deneyleri basit mutfak malzemeleriyle yapılabilir ve öğrencilere bir bilim insanı gibi deneyler yapma, sonuçları gözlemlene ve kaydetme, araştırma sürecini deneyimleme, gözlemler yapma ve yorumlar yapma fırsatı sağlanır.

İnsan Solunumu Kaç Bölümden Oluşur?

Akciğerler ile atmosfer arasındaki havanın vücuda solunması ve dışarı atılmasına dış solunum denir. Bu esnada solunan havadaki O_2 akciğerlerden kana geçer ve kandaki CO_2 atmosfere salınır. Kılcal damarlardaki kan ve doku hücreleri arasındaki gaz alışverişine iç solunum denir. Bu esnada doku kılcal damarlarında taşınan oksijen kandan doku hücrelerine geçer. Metabolizma sonucu oluşan karbondioksit de doku hücrelerinden kana iletilir. Elektron taşıma sistemi (ETS)'nin son aşamasında oksijenin mitokondride su oluşturmaya hücre içi solunum denir (Chapbell & Reece, 2005: 867). Şekil 1'de hücre içi solunum için genel bir denklem bulunmaktadır.

Şekil 1 Solunumun genel denklemi



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneylere Başlamadan Önce Önemle Bilinmesi Gerekenler

Dikkat...!

Laboratuvarlarda hiçbir maddenin tadına bakılamaz, yemek ve içmek kesinlikle yasaktır. Ayrıca, mutfaklarımızda yapacağınız deney maddelerinin de tadına bakılamaz. Bunun çok tehlikeli olabileceği ve ölümle sonuçlanabilecek ev kazalarına yol açabileceği bilinmelidir.

İnsanda Soluk Alıp Verme

Kurbağalarda kaslarla ağız tabanını alçaltır ve burun deliklerinden hava çekilir. Daha sonra burun delikleri ve ağız kapanır ve ağız tabanı yükselerek havayı trakelerden aşağı inmeye zorlar. Böylece ağızda oluşturulan yüksek basınçla hava akciğerlere itilir. Akciğerlerin elastik yapısı ve vücut duvarındaki kasların zorlamasıyla içerideki hava akciğerlerin dışarı itilir.

Memelilerde ise göğüs kafesinin yukarı kalması ve diyafram kasının aşağı hareketi sonucu artan hacimle negatif basınç oluşturulur. Böylece hava akciğerlere çekilir. Kaburga kasları ve diyafram gevşeyince iç hacim küçülür. Böylece iç basınç artar ve akciğerlerdeki havayı dışarı iter (Chapbell & Reece, 2005: 888).

Gerekli Malzemeler

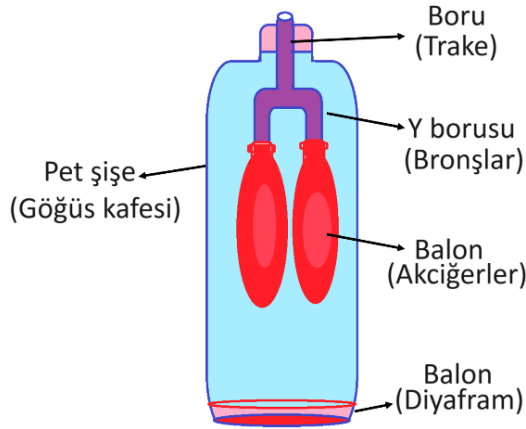
Pet şişe, paket lastiği, koli bandı, balon, tek delikli lastik tıpa veya oyun hamuru, makas ve pipet.

Deneyin Yapılışı

1. Plastik şişe (2,5 L), lastik bant (3 parça), biri büyük ve ikisi küçük 3 adet lastik balon.
2. Plastik şişeyi alt kısmına yakın bir yerden yatay olarak kesin.

3. Küçük lastik balonları Y-tüpünün iki koluna takın ve ağızlarına lastik bantlar sararak sıkın.
4. Tek delikli lastik tıpayı şişenin ağzına takın.
5. Şişenin altından Y-tüpünü lastik tıpayla yerleştirin.
6. Büyük balonu ikiye kesin ve şişenin kesilmiş yüzeyinin üzerine gerin.
7. Balonun gergin kalmasını sağlamak için kenarlarının üzerine paket lastiği geçirin ve bununda etrafını koli bandıyla dolayarak şişeye yapıştırın.
8. Büyük balonu tutarak aşağı çekin ve bırakın. Bu süre zarfında küçük balonların nasıl şişip söndüğünü gözlemleyin (Şekil 2).

Şekil 2 İnsan solunum sisteminin işleyişini gösteren basit bir model



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneyle ilgili sorular

- Yukarıda yaptığımız deney düzeneğinde balonların şişirilmesi ve söndürülmesi hangi solunum tipinin bir örneğidir?

- Balonlarda hangi solunum tipi gerçekleşir? Diyafram kası hangi canlılarda bulunur? Araştırmamız.

Oksijen Solunumu Sonucunda Karbondioksit Salınır

Gerekli Malzemeler

Mor lahana suyu, pipet, bardak.

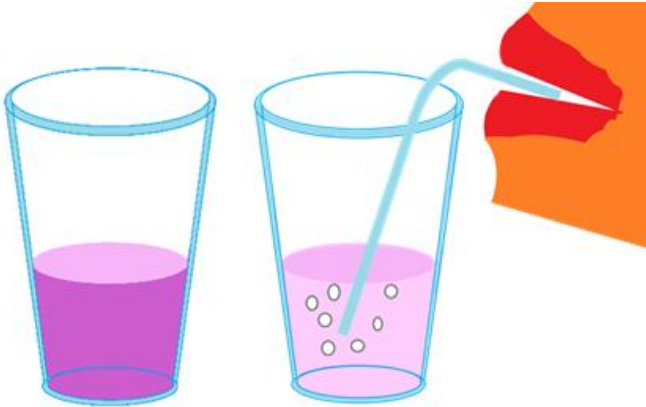
Stok Lahana Suyu Hazırlanışı

2-3 adet kırmızı lahana yaprağını parçalamadan soyup çıkartın. 1 litre suyu en az 5 dakika kaynatın. Kaynayan su soğumadan yaprakları içine koyun. Lahana yaprakları açık mavi-mor arasında bir renk elde edinceye kadar demlensin. Bu renk ortamın pH' sının hafif bazik olduğunu gösterir. 4-5 dakika sonra yaprakları sudan çıkartın. Bu suyu ağzı kapalı bir kaptan soğumaya bırakın.

Deneyin Yapılışı

Mor renkli lahana suyunu bir bardağa dökün. Daha sonra sıvı kırmızıya dönene kadar bir pipetle üfleyin (Şekil 3). Rengin kırmızıya dönme süresini kaydedin.

Şekil 3 Mor lahana suyu nefesimizle renk değiştiriyor



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Lahana Suyunun Renk Değişimi

Nefesimizde CO₂ gazı vardır. Bu gaz suda çözündüğünde: CO₂ + H₂O ⇌ H₂CO₃ ⇌ H⁺ + HCO₃⁻ denkleminde olduğu gibi, karbondioksit önce suda çözünerek karbonik asit oluşturur. Karbonik asit de suda çözünerek proton ve bikarbonat iyonuna dönüşür. Böylece ortam asidik hale gelir. Lahana suyu asidik ortamlarda kırmızıya döner.

İnsan Kanı Bir Tampon Çözeltilidir

Gerekli Malzemeler

Mor lahana suyu, pipet, bardak, beyaz sirke, bikarbonat.

Tampon çözeltiler

Zayıf bir asit ve onun eşlenik bazını veya tam tersini içeren ve pH değişimlerine dirençli çözeltilerdir. Karıştırıldıkları çözeltinin pH değerini sabit tutarlar (Bakan, Umudum & Karakoç, 2012: 36). Kan serumundaki bikarbonat ve protein grupları ile kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobin ve protein grupları tampon özelliğine sahiptir. Kanın tampon özelliği iç dengeyi sağlamada çok önemlidir. Atardamarlardaki kanın pH değeri 7.35-7.45 arasındadır. Bu değerlerin altında veya üstünde olması çeşitli hastalıkların belirtisi olabilir. Dış çevre koşulları ne kadar değişirse değişsin iç dengenin belirli değerler arasında tutulması esastır (Campbell & Reece, 2005: 55).

Evde basit bir tampon çözeltisi hazırlama

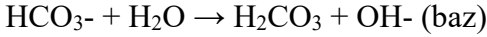
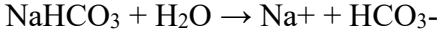
Küçük bir çay bardağına ¼ çay kaşığı karbonat dökün. Birkaç damla beyaz sirke ekleyin ve çalkalayın. Köpürecektir. Köpük durana kadar çalkalayın. Bardağın dibinde sadece birkaç karbonat kristali kalana kadar, beyaz sirkeyi damla damla ekleyin ve her seferinde çalkalayın. Beyaz sirkeniz yoksa bunun yerine limon

suju kullanabilirsiniz. Böylece bir tampon çözelti elde ettiniz. Deneyinizde kullanabilirsiniz.

Bir tampon çözelti pH'ı nasıl sabit tutar

Sodyum bikarbonat (NaHCO_3) üzerine sirke damlatıldığında, her iki bileşikte suda çözünerek iyonlarına yarışır. Asetik asit (CH_3COOH) suda çözünerek CH_3COO^- ve H_3O^+ iyonlarına yarışır. Sodyum bikarbonatta (NaHCO_3) suda çözünerek Na^+ ve HCO_3^- iyonlarına yarışır. Bikarbonatta su ile etkileşerek karbonikasit (H_2CO_3) ve hidroksil (OH^-) oluşturur. Sudaki hidroksil (OH^-) ve hidronyum H_3O^+ birleşerek iki molekül su oluşturur. Böylece reaksiyonun dengesi bozulur ve daha fazla karbonik asit meydana gelir. Karbonik asitte su ve karbondioksite dönüşür. Bunun sonucunda köpürme meydana gelir.

Tepkime:



Bu nedenle, ortama asit eklendikçe karbonik asit oluştururken, ortama daha fazla hidroksil iyonu salınır. Bu durum, pH'ın belirli bir konsantrasyona kadar değişmeden kalmasına neden olur.

Deneyin Yapılışı

Mor lahana suyunu bir bardağa dökün. Elde ettiğiniz tampon çözeltisini ekleyin ve iyice karıştırın. Daha sonra sıvı kırmızıya dönene kadar bir pipetle üfleyin (Şekil 3). Rengin kırmızıya dönmesi için geçen süreyi kaydedin.

Deneyle ilgili sorular

- Bir önceki deney sonucuyla karşılaştırın. Farkı tartışın.

- Biyolojik canlılar için tampon çözeltilerin önemini araştırın.
- Önceki deneyle birlikte düşünün. Deney ve kontrol grubu varsa lütfen yazın. Yoksa kendi deney ve kontrol gruplarınızı oluşturun? Yeni bir deney tasarlayın.

Çimlenen Tohumlar Solunum Yapar

Gerekli Malzemeler

Bardak, fasulye, pamuk, makas, mor lahana, karton, sıtrec film, koli bandı, çamaşır sodası ve pipet.

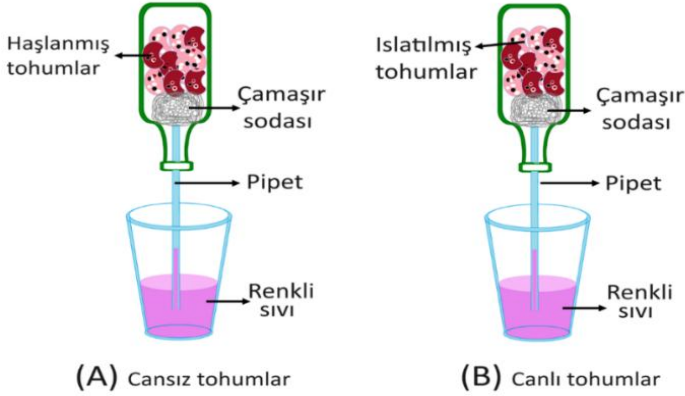
Deneyin Yapılışı

1. Fasulyeleri iki üç gün önceden suya koyup filizlenmesini bekleyin.
2. Daha sonra bir maden suyu şişesi alın ve ıslatılmış fasulyeleri içine koyun.
3. Pamuğa bir tatlı kaşığı toz çamaşır sodası koyun. Karbondioksiti tutması için üzerine biraz su dökün. Daha sonra pamuğu rulo yapın ve sodayı sarın. Bu pamuğu şişeye koyun. Daha sonra şişenin ağzına bir pipet yerleştirin. Havanın geçmesini önlemek için şişenin ağzını ve pipeti streç filmle sıkıca sarın. Pipetin kenarlarının tamamen hava geçirmez olduğundan emin olun.
4. Şişeyi sabit tutmak için mutfaktaki fayansın üzerine koli bandıyla sıkıca bantlayın. Şişenin altına renkli bir sıvıyla dolu bir bardak koyun (Şekil 4).
5. Birkaç saatlik aralıklarla pipetteki sıvının yükselişini gözlemleyin. İlk 10 dakikada yükselme olmazsa

şişenin ağzından hava sızıyor demektir. Tekrar kontrol edin.

6. Aynı deneyi haşlanmış fasulye çekirdekleriyle de yapın.

Şekil 4 Tohumlar solunum yapar



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Karbondiyoksit tutucu

Solunum sonucu açığa çıkan karbondiyoksiti tutmak için bazik maddeler kullanılmalıdır. Laboratuvarlarda genellikle NaOH veya KOH tercih edilir. Bu bazlar son derece aşındırıcıdır ve çocuklar için son derece tehlikeli olabilir. Bu durumda ev deneylerinde daha az tehlikeli olan zayıf veya seyreltik bazlar tercih edilmelidir. Çamaşır sodası, çocukların ev deneylerinde güvenle kullanabileceği beyaz ve bazik bir tuzdur. Çamaşır sodası yerine, kıvamı koyu ve içeriğinde NaOH bulunan çamaşır suyu da kullanılabilir. Ancak öğrencileri kimyasalları tatmamaları konusunda uyarmak önemlidir!

Deneyle İlgili Sorular

- Bu deneyin asıl amacı nedir?

- Haşlanmış tohumlardaki sıvıda bir artış oldu mu? Neden?
- Deneysel ve kontrol grubu varsa lütfen yazın. Yoksa kendi deney ve kontrol gruplarınızı oluşturun?

Sıcaklığın Çimlenen Tohumların Solunum Hızı Üzerindeki Etkileri

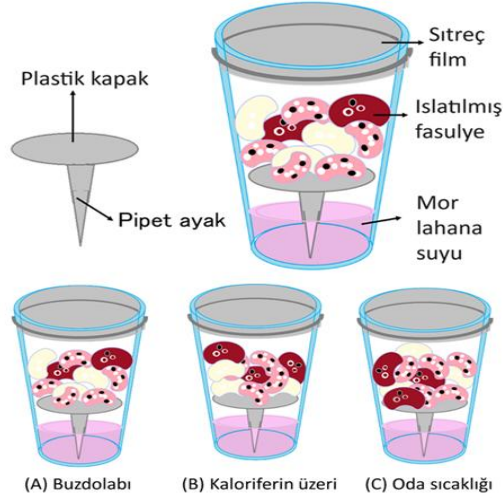
Gerekli Malzemeler

Bardak, filizlenen fasulye, makas, mor renkli lahana suyu, karton, streç film, şiş veya pipet.

Deneyin Yapışı

1. Fasulyeleri iki veya üç gün önce ıslatılmış pamukta bekletin.
2. Sonra üç tane uzun, ince bardak alın.
3. Resimde gösterildiği gibi plastik/sert bir karton kapağın ortasına bir pipet veya çöp şişle tutturun.
4. Bardağa biraz mor renkli lahana suyu dökün. Sonra karton kapağı plastikle birlikte bardağın içine yerleştirin. Karton, bardağın iç genişliğinden biraz daha dar olmalıdır.
5. Islatılmış ve filizlenmiş tohumları kartona koyun. Tohumlar aşağıya düşmemelidir (Şekil 5).
6. Camın ağzını resimde gösterildiği gibi streç film veya şeffaf bir naylon (torba) ile kapatın. Sıkı durması için bardağı lastik bantla sabitleyin. Ayrıca bir kapakla da kapatabilirsiniz.
7. Bardaklardan birini buzdolabının sebze çekmecesine, ikincisini sıcak kaloriferin ve üçüncüsünü odadaki masanın üzerine koyun. Birkaç saatlik aralıklarla bardaklardaki sıvının renk değişimini gözlemleyin.

Şekil 5 Ortam sıcaklığının tohum solunumu üzerindeki etkileri



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneyle İlgili Sorular

- Bu deneyin amacı nedir?
- Varsa bağımlı ve bağımsız değişkenler nelerdir?
- Sabit değişken var mıdır? Hangisi?
- Deney ve kontrol grubu varsa yazınız?
- Deney sonucunda ne gözlemlediniz? Yazınız?

Oksijensiz Solunum (Fermantasyon = Mayalanma) Nedir?

Fermentasyon, gıdanın kimyasal olarak kısmen çürümesidir. Fermentasyonda; besinler bakteri, maya, küf gibi mikroorganizmalar aracılığıyla ısı vererek ve köpürerek çürür. Bilimsel terimlerle; fermentasyon, glikoliz sonucu temel besinlerin kısmen parçalanmasıyla enerji üretilen bir solunum türüdür (Chapman & Reece, 2005: 161). Fermentasyonda, farklı mikroorganizma türleri pirüvatı farklı bileşiklere dönüştürür ve son ürüne göre adlandırılır.

Etil alkol, laktik asit, propiyonik asit, formik asit, bütirik asit ve metan fermentasyonu vs. Bazı fermentasyon örnekleri aşağıda verilmiştir:

Alkol Fermentasyonu: Karbonhidratlar (Glikoz, fruktoz veya sükroz gibi) glikolizle pürüvata kadar parçalanır. Sonra pürüvattan son ürün olarak CO₂ gazı, NAD⁺ ve etil alkol üretir (Şekil 6). Mayalar; toprakta, tatlı ve sulu meyvelerin kabuklarında bol miktarda bulunur. Ekmek hamurunun mayalanmasında, boza, bira ve şarap üretiminde kullanılırlar.

Laktik Asit Fermentasyonu: Laktik asit bakterileri (*Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus*); yoğurt, kefir, tereyağı, kımız ve peynir üretiminde kullanılır.

Formik Asit Fermentasyonu: Bazı bakteriler şekerleri başta formik asite ve ayrıca asetik asit, süksinik asit, laktik asit, etanol, gliserin, aseton, butandiol ve CO₂' ye dönüştürürler.

Butirik Asit Fermentasyonu: Son ürün Bütirik asittir.

Çözücü Fermentasyonu: Bazı *Clostridium* türleri şekerleri sırasıyla asetik asit, bütirik asit, aseton ve nihayetinde bütanole dönüştürür.

Bütandiol Fermentasyonu: son ürün bütandioldür.

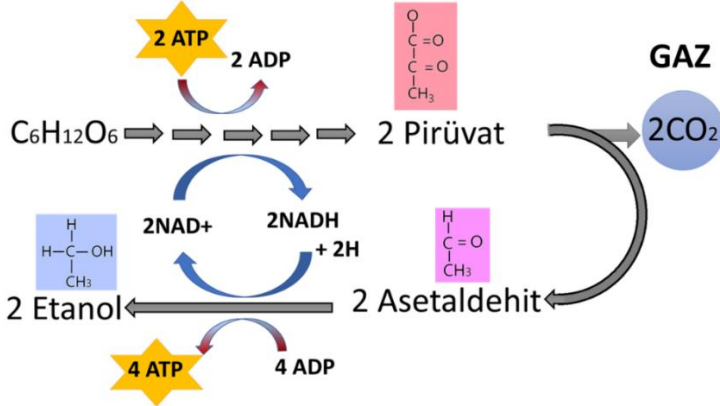
Propiyonik Asit Fermentasyonu: Pirüvat sırasıyla oksaloasetik asit, süksinik asit ve son olarak propiyonik aside dönüşür.

Amino Asit Fermentasyonu: Mikrobiyal büyüme için amino asitleri kullanırlar.

Metan Fermentasyonu: Geviş getiren hayvanların işkembelerinde, bataklık ve kanalizasyon çamurunda organik asitleri (özellikle CH₃COOH, CO₂, CO, H₂) metan gazına dönüştürürler

(Curtis & Barnes, 1985: 125-126; Hasenekoğlu & Yeşilyurt, 2002: 640-644).

Şekil 6 Etil alkol fermantasyonunun genel denklemi



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Şekil 6'yı inceleyerek, etil alkol fermantasyonunda meydana gelen olayları anlamaya çalışın.

Solunum İçin Enerji Verici Moleküllere İhtiyaç Vardır

Gerekli Malzemeler

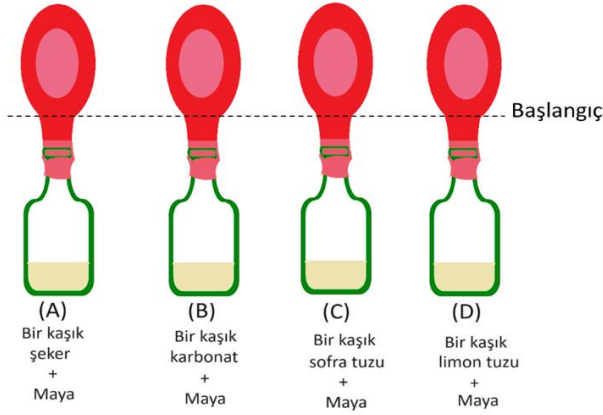
Kavanoz, maya, toz şeker, tuz (NaCl), sirke, limon tuzu, balon, ılık su, maden suyu şişesi ve lastik.

Deneyin Yapılışı

1. Yarım litre ılık suya küçük bir paket kuru maya dökünüz, iyice karıştırınız ve 5 dakika bekleyiniz.
2. Daha sonra dört adet boş maden suyu şişesi alınız. İlkine bir silme tatlı kaşığı şeker, ikincisine bir silme tatlı kaşığı karbonat, üçüncüye bir silme tatlı kaşığı tuz ve dördüncüye bir silme tatlı kaşığı limon tuzu koyunuz. Daha sonra her birisinin üzerine 50 ml mayalı sudan ekleyiniz ve çalkalayınız.

3. Her bir şişenin ağzına havası boşaltılmış balon takınız.
4. Oda sıcaklığında bekletiniz. Yarım saat sonra balonlarda biriken hava miktarlarını karşılaştırın (Şekil 7).

Şekil 7 Farklı maddelerin maya hücrelerinin solunum hızına etkileri



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneyle İlgili Sorular

- Bu deneydeki bağımlı ve bağımsız değişkenler nelerdir?
- Sabit değişken var mıdır? Varsa sabit değişkenleri belirtelim?
- Deney ve kontrol grubu varsa, lütfen yazın. Kontrol grubu yoksa, lütfen kendiniz tasarlayın?
- Deney sonucunda ne gözlemlediniz? Yazınız?

Mayalar Oksijensiz Solunum Yapar

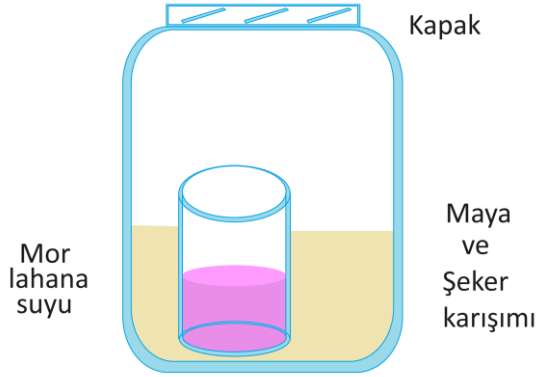
Gerekli Malzemeler

Kavanoz, maya, toz şeker, ılık su, küçük bardak, lahana suyu.

Deneyin Yapılışı

1. Yarım litre ılık suya bir yemek kaşığı toz şeker ve bir tatlı kaşığı kuru maya dökün. Sonra iyice karıştırın ve 5 dakika bekleyin.
2. Bir litrelik kavanoz şişe alın ve bu maya karışımını içine dökün.
3. Mor renkli lahana suyunu küçük bir bardağa koyun ve gösterildiği gibi kavanoza yerleştirin (Şekil 8).
4. Kavanozun kapağını kapatın.
5. Her yarım saatte bir lahana suyunun rengini gözlemleyin.

Şekil 8 Ekmek mayası hücrelerinin oksijensiz solunum sonucu açığa çıkardığı CO₂'nin gösterimi



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneyle İlgili Sorular

- Bu deneyin amacı nedir?
- Deney ve kontrol grubu varsa, yazın. Yoksa, deney ve kontrol grubu olan bir deney düzeneği tasarlayın.
- Deneyin sonucunda ne gözlemlediniz? Yazın.

Bazı Kimyasal Tepkimeler Sonucunda CO₂ Gazı Açığa Çıkar

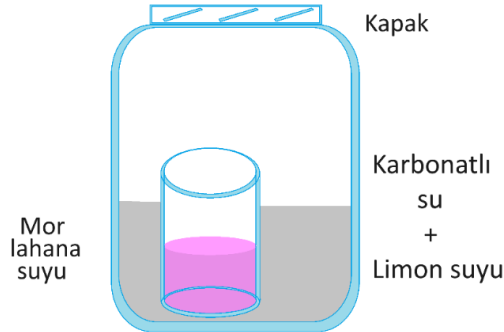
Gerekli Malzemeler

Kavanoz, maya, toz şeker, ılık su, küçük bardak, lahana suyu, bikarbonat, limon suyu veya sirke, şırınga.

Deneyin Yapılışı

1. Yarım litre ılık suya küçük bir paket karbonat dökün, iyice karıştırın ve 5 dakika bekleyin.
2. Daha sonra bir litrelik kavanoz şişe alın. Karbonatı içine dökün.
3. Küçük bir bardağa koyduğunuz mor lahana suyunu şekilde gösterildiği gibi kavanoza koyun (Şekil 9).
4. Kavanozun kapağını kapatın ancak bir boşluk bırakın. Limon suyunu sadece bu boşluktan şırıngayla karbonatlı suya sıkın. Oluşan köpüğün lahana suyuna taşmamasına dikkat edin. Daha sonra kapağı kapatın.
5. Lahana suyunun rengini yarım saatte bir kontrol edin.

Şekil 9 Sirke veya limon suyunun karbonatla reaksiyona girmesi durumunda oluşacak reaksiyonlar ve ürünler



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Kimyasal olarak CO₂ nasıl elde edilir?

Sodyum bikarbonat asitlerle reaksiyona girer ve sodyum asidin negatif radikaliyle etkileşime girdiğinde, karbondioksit ve hidroksil radikali bikarbonattan ayrılır. Bu hidroksil, asidin protonuyla birleşerek su oluşturur. Örneğin, sodyum bikarbonat ve sirke karıştırılırsa, aşağıdaki reaksiyon meydana gelir: $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaHCO}_3 \rightarrow \text{CH}_3\text{COONa} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. Açığa çıkan karbondioksit gazı mor lahana suyunda çözünerek asitliğini artırıyor ve suyunun renginin kırmızıya dönmesine neden oluyor.

Şeker Miktarının Maya Solunum Hızı Üzerindeki Etkisi

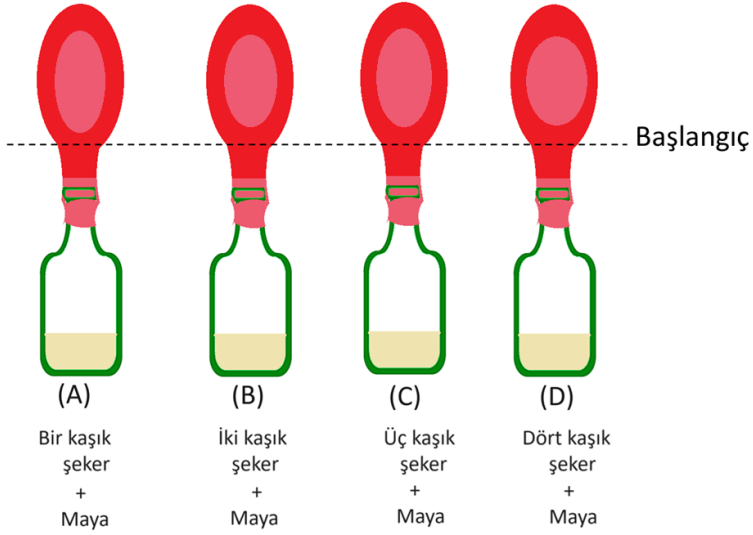
Gerekli Malzemeler

Maden suyu şişesi, maya, toz şeker, dört adet balon, ılık su.

Deneyin Yapılışı

1. İki bardak ılık suya bir tatlı kaşığı kuru mayayı döküp iyice karıştırın ve 5 dakika bekleyin.
2. Sonra dört boş maden suyu şişesi alın. İlkine bir çay kaşığı toz şeker, ikincisine iki çay kaşığı, üçüncüsüne üç çay kaşığı ve dördüncüsüne dört çay kaşığı ekleyin. Sonra her birine 50 ml maya suyu ekleyin ve çalkalayın.
3. Her şişenin ağzına boş bir balon geçirin (Şekil 10).
4. Oda sıcaklığında bırakın. Yarım saat sonra balonlarda biriken hava miktarını karşılaştırın.

Şekil 10 Şeker miktarının maya hücrelerinin solunum hızına etkisi



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneyle İlgili Sorular

- Bu deneydeki bağımlı ve bağımsız değişkenler nelerdir?
- Sabit bir değişken var mı? Varsa, sabit değişkenleri belirtelim?
- Deney ve kontrol grubu varsa, lütfen yazın? Kontrol grubu yoksa, lütfen kendiniz tasarlayın?
- Deney sonucunda ne gözlemlediniz? Lütfen yazın?

Farklı Sıcaklıkların Solunum Hızına Etkisi

Gerekli Malzemeler

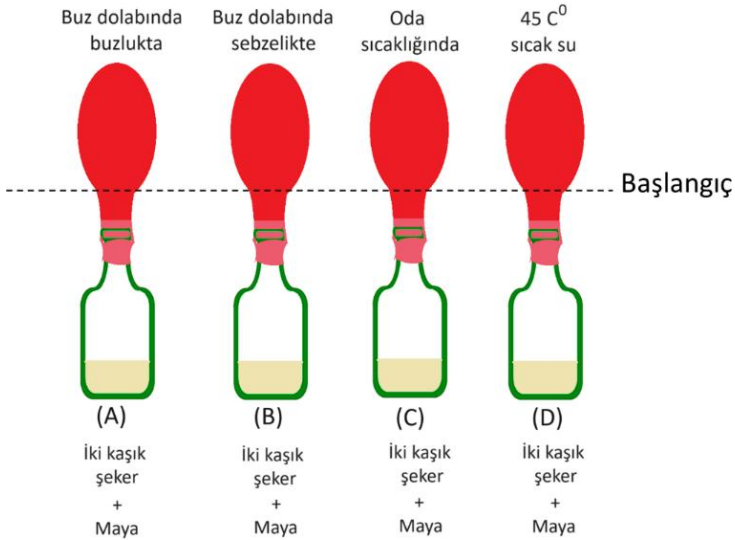
Dört adet maden suyu şişesi, maya, toz şeker, balon, sıcak su, termometre.

Deneyin Yapılışı

1. İki bardak ılık suya bir tatlı kaşığı kuru mayayı döküp iyice karıştırın ve 5 dakika bekleyin.

2. Sonra dört adet boş maden suyu şişesi alın. Her birine silme iki tatlı kaşığı toz şeker ekleyin. Sonra her birine 50 ml maya suyu ekleyin ve çalkalayın.
3. Her şişenin ağzına havası boşaltılmış bir balon takın (Şekil 11).
4. İlkinin dondurucuda, ikincisini sebze çekmecesinde, üçüncüsünü oda sıcaklığında ve dördüncüsünü 45 C⁰'a ısıtılmış sıcak suda bırakın. Termometreniz yoksa suyun sıcaklığını elinizle kontrol edin. Su elinizi yakmıyorsa ama içmeliyorsa yaklaşık 40-45 C⁰'dır.
5. Yarım saat sonra balonlarda biriken hava miktarını karşılaştırın.

Şekil 11 Farklı sıcaklıkların maya hücrelerinin solunum hızına etkisi



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

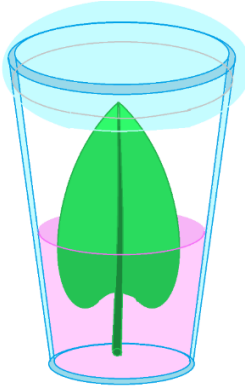
Deneyle İlgili Sorular

- Bu deneydeki bağımlı ve bağımsız değişkenler nelerdir?
- Sabit değişken var mıdır? Varsa, sabit değişkenleri belirtelim?
- Deney ve kontrol grubu varsa, lütfen yazın? Kontrol grubu yoksa, lütfen kendiniz tasarlayın?
- Deney sonucunda ne gözlemlediniz? Lütfen yazın.
- Şekil 11'deki deney düzeneğini göz önüne alarak hipotez oluşturun.

Bitkiler Karanlıkta Sonum Yapar

Sapıyla birlikte kopartılan birkaç yaprağı, içinde 1/3'ü mor lahana suyu dolu bir bardağa koyun ve birkaç gün karanlık bir yerde bekletin (Şekil 12). Ne gözlemliyorsunuz? Daha hızlı sonuç almak için daha fazla yaprak kullanabilirsiniz.

Şekil 12 Yapraklar solunum yaparlar



Kaynak: SEZEK ve DOYMUŞ

Deneyle İlgili Sorular

- Tam deneysel araştırma deseni ne anlama geliyor? Zayıf deneysel araştırma deseni ne anlama geliyor? Araştırınız.
- Şekil 12'deki deney düzeneğine uygun bir hipotez yazın?
- Oluşturduğunuz hipoteze göre deney düzeneğini nasıl tasarlırsınız?
- Şekil 12'deki deneysel kurulumu tam deneysel tasarıma dayanarak yeniden tasarlayın?
- Deney ve kontrol grupları nasıl oluşturursunuz? Yazınız.

Sonuç ve Öneriler

Ortaokul öğrencileri arasında solunumla ilgili yanlış anlamaları belirleyen birçok yayın bulunmaktadır. Yanlış anlamaların birçok farklı nedeni vardır: Yanlış öğretim, yetersiz ders kitapları, öğrencinin yetersiz bilişsel seviyesi, yanlış anlamaları olan yetişkinlerin açıklamaları, öğrencilerin yaşadığı yer (köy, kasaba veya şehir), daha az teknoloji kullanımı yanlış anlamalara neden olabilir. Amacımız bu olumsuz etkileri laboratuvar aktiviteleriyle ortadan kaldırmak ve eğitimde eşit fırsatlar sağlamaktır. Öğrencilerin hücre solunumla ilgili yanlış anlamalarını ortadan kaldırmayı veya en aza indirmeyi amaçlayan daha etkili deneysel tasarımlar için:

1. Gerektiğinde mevcut deneylerden önce veya sonra bilgi verilmiştir.
2. Her bir deneyin tasarımına ilişkin şekiller verilmiştir.
3. Öğrenciyi güdülemek ve düşünmeye zorlamak için bazı deneylerde bazı adımlar eksik verilmiştir. Öğrencilerden bunları tasarlamaları ve deney tasarımını tamamlamaları istenmiştir. Böylece öğrencilere bazı deney tasarlama fırsatı da verilmiştir.

4. Ayrıca her deneyle ilgili açık uçlu sorular sorulmuş ve öğrencilerden konu hakkında düşünceleri istenmiştir.
5. Birbiriyle ilişkili deneyler öğrencilerin kavramlar arasındaki ilişkileri görmelerini de sağlayabilir. Böylece öğrenciler farklı ve birbiriyle ilişkili deneylerle sahip oldukları kavram yanlışlarını düzeltme fırsatı bulabilir.
6. Elde edilen sonuçların etkinliğini artırmak ve eksiklikleri görmek için deneyler farklı öğrenci gruplarına uygulanabilir.

Deneyler, öğrencilerin solunum konusunu ve temel kavramları anlamalarına yardımcı olmaya odaklanmıştır. Yanlış anlamaların olası kaynakları tartışmakta ve bazı yaygın yanlış anlamaları ortadan kaldırmak için farklı deneyler tasarlanmaktadır. Biyoloji konularında anlamlı öğrenmeyi ve kavramsal anlayışı destekleyen yeni deneyler ve yöntemler üzerine daha fazla araştırma yapılmalıdır. Bu kitap bölümü, okuldaki tehlikeli kimyasallar yerine ev deneylerinde her yerde bulunabilen daha güvenli kimyasal seçenekler sunmaktadır. Bu açıdan öncü bir çalışmadır. Ancak, solunumla ilgili ev deneyleri üzerine daha fazla eğitim araştırmasına ihtiyaç olduğuna inanıyoruz.

Kaynakça

- Anderson, C., Sheldon, T., & Dubay, J. (1990). The effects of instruction on college non majors conceptions of respiration and photosynthesis. *Journal of Research in Science Teaching*, 27, 761-767. doi:10.1002/tea.3660270806
- Aşçı, Z., Özkan, Ş., & Tekkaya, C. (2001). Öğrencilerin solunum konusundaki kavram yanlışları: karşılaştırmalı bir çalışma. *Eğitim Ve Bilim/ Education And Science*, 26(120), 29-36.
- Bakan, N., Umudum, Z., & Karakoç, A. (2012). *Biyokimya Uygulamaları* (1. b.). Erzurum: Aktif Yayınevi.
- Chambers, S. K., & Andre, T. (1998). Gender, priorknow ledge, interest, and experience in electricity and con ceptual change text manipulations in learning about direct current. *Journal of Research in Science Teaching*, 34, 07-123. doi:10.1002/(SICI)1098-2736(199702)34:2
- Champbell, N. A., & Reece, J. B. (2005). Animal form and function. *Biology* (Cilt 7, s. 867-897). içinde Pearson & Benjamin Cumming.
- Cho, H., Kahle, I. B., & Nordland, F. H. (1985). An investigation of high school biology textbooks as sources of misconceptions and difficulties in genetics and some suggestions for teaching genetics. *Science Education*, 69, 707-719.
- Curtis, H., & Barnes, S. N. (1985). *Invitation to Biology* (4 b.). (S. Anderson, Dü.) New York, New York: Worth Publishing, INC.
- Çakır, Ö. S., Geban, Ö., & Yürük, N. (2002). Effectiveness of conceptual change text-oriented instruction on students' understanding of cellular respiration concepts. *Biochemistry*

and molecular biology education, 30(4), 239-243.
doi:10.1002/bmb.2002.494030040095

Driver, R., & Easley, J. (1978). Pupils and paradigms: A review of literature related to concept development in adolescent science student. *Studies in Science Education*, 5, 61-84.
doi:10.1080/03057267808559857

Gilbert, I. K., Osborne, R. I., & Fensham, P. I. (1982). "Children's science and its consequences for teaching". *Science Education*, 66, 623-633.

Hasenekoğlu, İ., & Yeşilyurt, S. (2002). *Mikrobiyoloji*. Erzurum: Şahsi.

Kurt, H., Ekici, G., Aksu, Ö., & Aktaş, M. (2013). Determining Cognitive Structures and Alternative Conceptions on the Concept of Reproduction (The Case of Pre-Service Biology Teachers). *Creative Education*, 4, 572-587.
doi:10.4236/ce.2013.49083

Lawson, A. E., & Thompson, L. D. (1988). Formal reasoning ability and misconceptions concerning genetics and natural selection. *Journal of Research in Science Teaching*, 25(9), 733-746. doi:10.1002/tea.3660250904

Oğuz, M., Ateş, A. H., Çelik, M. C., Yücesoy, M., Can, T., Şengül, B., . . . Aktay, Z. (2023). Ev Ödevlerinin Sahip Olması Gereken Özellikler ve Akademik Başarıya Olan Etkileri. *International Journal of Social and Humanities Sciences Research*, 10(101), 2981-2993.
doi:10.5281/zenodo.10253469

Şahin, F., & Oktay, A. (2013). İlkokullarda hücre solunumu ile ilgili kavramsal değişim. *Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Eğitim Bilimleri Dergisi*, 8(8), 227-236.

- Tekkaya, C. (2002). Misconceptions as barrier to understanding biology. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23(23), 259-266.
- Yürük, N., & Çakır, Ö. S. (2000). Lise öğrencilerinde oksijenli ve oksijensiz solunum konusunda görülen kavram yanlışlarının saptanması. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 18, 185-191.

GEÇİCİ KAPAK

*Kapak tasarımı
devam ediyor.*