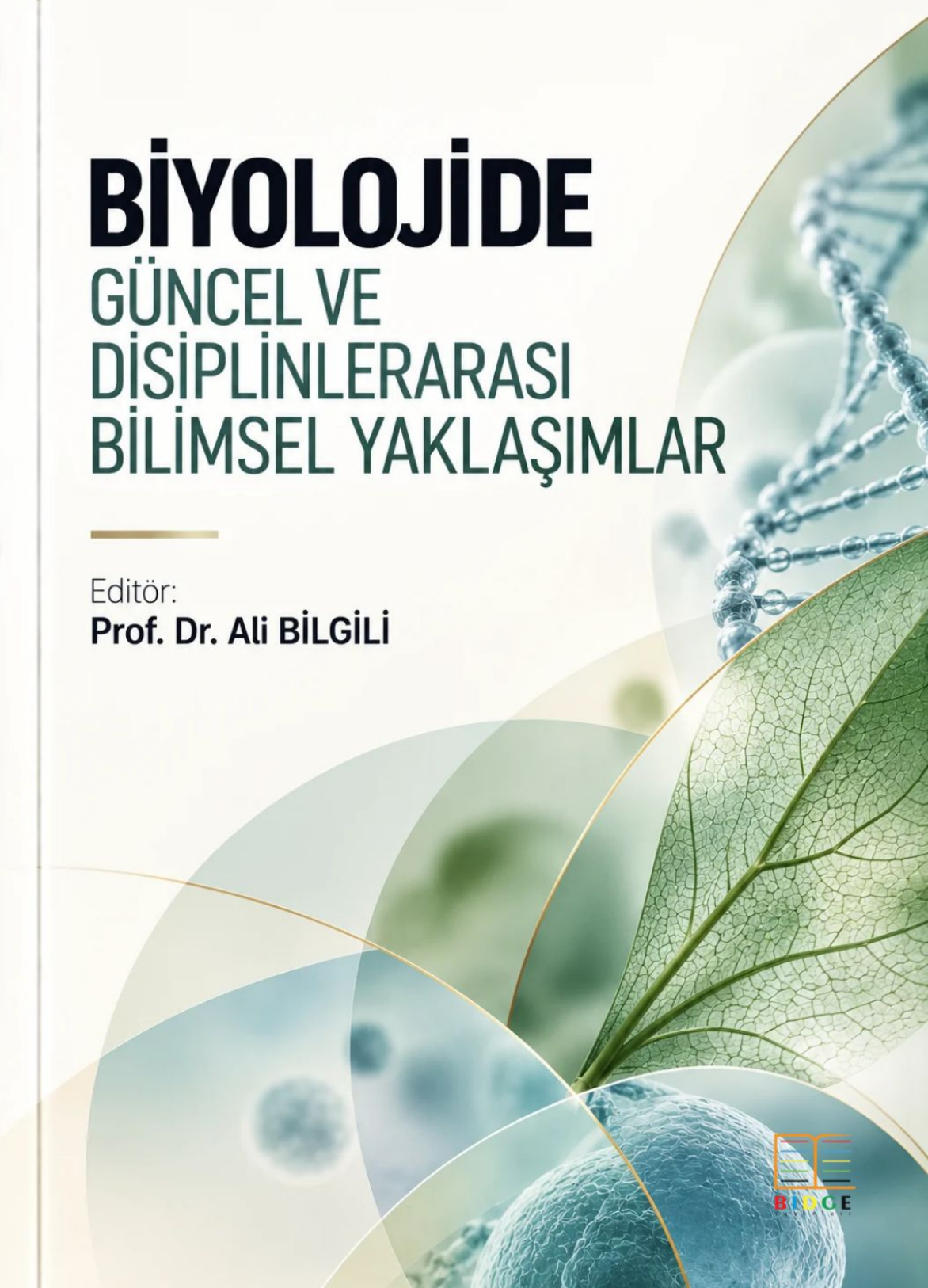
BİYOLOJİDE
GÜNCEL VE DİSİPLİNLERARASI BİLİMSEL YAKLAŞIMLAR

Editör:
Prof. Dr. Ali BİLGİLİ



BİDGE Yayınları

Biyolojide Güncel ve Disiplinlerarası Bilimsel Yaklaşımlar

Editör: ALİ BİLGİLİ

ISBN: 978-625-5474-51-3

1. Baskı
Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL
Yayınlama Tarihi: 2026-10-25
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

Gilaburu (*Viburnum opulus*), Viburnaceae familyasına (eski sınıflandırmalarda Adoxaceae) ait, çalı formunda, çok yıllık ve yaklaşık 4 metreye kadar büyüyebilen bir bitkidir. Tıbbi kullanımının yanı sıra gilaburu meyveleri meyve suyu ve çeşitli gıda ürünlerinin hazırlanmasında değerlendirilmektedir. Meyvelerin kimyasal bileşimi ve biyolojik özellikleri üzerine yapılan araştırmalar, bitkinin gıda ve sağlık alanlarındaki potansiyelinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. En son bilimsel kaynaklardan hazırlanarak yazılmış olan bu kitap bölümünde gilaburunun geleneksel kullanımı, fitokimyasal içeriği ve biyolojik aktiviteleri ele alınmıştır.

Dünya nüfusundaki hızlı artış ve buna paralel olarak yükselen gıda talebi, tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini küresel ölçekte stratejik bir öncelik hâline getirmiştir. Ancak küresel iklim değişikliği, tarımsal üretimi tehdit eden en önemli çevresel faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bitki stres hafızası, bitkilerin değişken ve tekrarlayan çevresel koşullara uyum sağlamasında önemli bir adaptif mekanizma olarak değerlendirilmektedir. stres hafızasının anlaşılması ve tarımsal uygulamalara aktarılması, iklim değişikliğinin bitkisel üretim üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılması ve sürdürülebilir üretim stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır. Bu kitap bölümünde ise bitkilerde stres hafızasının fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları bilimsel kaynaklardan alıntılarla detaylı şekilde irdelenmiştir.

Canlılığın moleküler temellerinin anlaşılması, biyolojik sistemlerdeki düzenin teknolojik süreçlere aktarılmasının önünü açmıştır. Bugün biyomoleküler üretim sistemleri, enzim mühendisliği ve metabolik yolak modifikasyonları; endüstriyel katalizden çevre biyoremediasyonuna, gıda teknolojisinden ilaç üretimine kadar pek çok alanda sürdürülebilir üretimin dayanağıdır. Yine ayrı bir kitap bölümü olarak hazırlanan bu bölümde ise; hibrit nanoyapıların biyolojik sentez mekanizmaları, fonksiyonel

özellikleri ve uygulamaları bilimsel kaynaklardan yararlanılarak özgün bir biçimde derlenmiştir.

Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enziminin izolasyonu ve saflaştırılması üzerine araştırmacılara yol göstermesi ve ilgili alandaki bilimsel çalışmalara katkı sağlaması amacıyla metabolik süreçlerde önemli bir role sahip olan G6PD enziminin eritrositlerden saflaştırılmasında en etkili yöntemlerden biri olarak kabul edilen afinite kromatografisi yöntemi bilimsel kaynaklardan alıntılarla detaylı şekilde irdelenmiştir.

Mücadelesi zor olan viral bitki hastalıkları tarımsal ürünlerde önemli kayıplara neden olduğu için erken mücadelede güvenilir yöntemlerle hızlı ve arazide yerinde teşhis edilmesi büyük önem taşımaktadır. Viral teşhisler için ideal bir tanı testi hızlı, duyarlı, ucuz, kullanımı kolay ve arazide uygulanabilir olmalıdır. Son dönemlerde nükleik asit polimorfizmini ortaya çıkaran CRISPR-Cas sistemlerinden Cas12a ve Cas13a mekanizmalarının virüslerde teşhis amaçlı uygulama araştırmaları ilgi odağı olmaya başlamıştır. Çeşitli RNA virüslerinin hızlı ve metota bağlı olarak hem kantitatif hem kalitatif tayinleri için günümüzde ilgi gören Cas13a'nın kollateral aktivitesi kullanılarak çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bu kitap bölümünde ise Cas13a'ya dayalı geliştirilen biyosensörlerin profilleri ve bitki virolojisinde uygulama potansiyelleri konuyla ilgili önemli bilimsel kaynaklar ışığında kapsamlı şekilde açıklanmıştır.

Tatlı su ekosistemleri, biyolojik çeşitliliğin korunması ve ekolojik dengenin sürdürülebilmesi açısından büyük öneme sahiptir. Bu ekosistemler, aynı zamanda içme suyu temini, tarımsal sulama, endüstriyel kullanım ve rekreasyon gibi birçok temel ihtiyacı karşılamaktadır. Göller, akarsular, barajlar ve sulak alanlar, bu yönüyle insan yaşamına doğrudan katkı sağlayan kritik sucul sistemlerdir. Ancak son yıllarda sanayileşme, kentleşme, yoğun tarımsal faaliyetler ve iklim değişikliği gibi antropojenik etkiler nedeniyle tatlı su ekosistemlerinde ciddi çevresel bozulmalar meydana gelmektedir. Su kaynaklarına ulaşan çeşitli kirleticiler; besin elementi artışı, toksik madde birikimi ve fizikokimyasal

parametrelerde değişimlere yol açarak ekosistem işleyişini doğrudan etkilemektedir. Bu nedenle tatlı su sistemlerinin düzenli olarak izlenmesi ve çevresel değişimlerin erken dönemde belirlenmesi büyük önem taşımaktadır Bu kitap bölümünde ise tatlı su mikroalglerinin biyoindikatör olarak kullanım potansiyeli, çevresel değişimlere verdikleri ekolojik ve fizyolojik tepkiler ile su kalitesinin değerlendirilmesindeki rolleri bilimsel kaynaklardan alıntılarla detaylı şekilde incelenmiştir.

Pestisitler, ürün yetiştirme ve ürünlerin depolanması sırasında ürün zararlısı organizmaları engellemek, onları kontrol altında tutmak veya tamamen ortadan kaldırmak amacıyla kullanılan kimyasallardır. Tiyakloprit, kontakt mide zehiri ve sistemik etkili bir insektisit olup, böcekleri özellikle yaprak bitlerini ve küçük sinekleri kontrol etmek için tarımsal ürünler üzerinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir**.** Bu kitap bölümünde ise tiyaklopritin son yıllarda sıklıkla model organizma olarak tercih edilen *Galleria mellonella*'da protein, lipit ve karbohidrat gibi biyokimyasal belirteçler üzerine etkileri bilimsel kaynaklardan yararlanılarak özgün bir biçimde derlenmiştir.

Prof. Dr. ALİ BİLGİLİ

ANKARA ÜNİVERSİTESİ

İÇİNDEKİLER

Gılaburu (vıburnum Opulus L.): Geleneksel Kullanımı, Fıtokımyasal Içerığı ve Bıyolojık Aktıvıtelerıne Bılımsel Bır Bakış 1
AHMET BEYATLI

BİTKİLERDE STRES HAFIZASI: FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL MEKANİZMALAR 23
İBRAHİM SELÇUK KURU, PINAR ORCAN

BİYOTEKNOLOJİDEN NANOBİYOTEKNOLOJİYE: HİBRİT NANOYAPILARIN BİYOLOJİK SENTEZ MEKANİZMALARI, FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE UYGULAMALARI 57
EKREM BÖLÜKBAŞI

GLUKOZ 6-FOSFAT DEHİDROGENAZ ENZİMİNİN AFİNİTE KROMATOGRAFİSİ İLE SAFLAŞTIRIMASI 94
MEHMET ÇİFTCİ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİDE CRISPR-CAS13A SİSTEMİYLE NÜKLEİK ASİT TANISINDA KULLANILAN METOTLAR 112
BERNA BAŞ

TATLI SU EKOSİSTEMLERİNDE MİKROALGLERİN BİYOİNDİKATÖR ROLÜ 131
BENGÜ TEMİZEL

THİACLOPRİDİN GALLERİA MELLONELLA''NIN PROTEİN, LİPİD VE KARBONHİDRAT MİKTARLARINA ETKİLERİ 164
HALİL UĞUR AYTEKİN, TAMER KAYIŞ

BÖLÜM 1

GİLABURU (*VIBURNUM OPULUS* L.): GELENEKSEL KULLANIMI, FİTOKİMYASAL İÇERİĞİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNE BİLİMSEL BİR BAKIŞ

AHMET BEYATLI[1]

Giriş

Gilaburu (*Viburnum opulus*), Viburnaceae familyasına (eski sınıflandırmalarda Adoxaceae) ait, çalı formunda, çok yıllık ve yaklaşık 4 metreye kadar büyüyebilen bir bitkidir. Doğal olarak farklı habitatlarda, özellikle orman çevrelerinde ve akarsu yataklarına yakın alanlarda yetişir. Ayrıca gösterişli çiçekleri ve meyveleri nedeniyle süs bitkisi olarak da yetiştirilmektedir. *V. opulus* Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'nın çeşitli bölgelerinde yayılış gösterir (Aksoy & ark., 2004: 65; Kajszczak & ark., 2020: 3398). Türkiye'de gilaburu doğal olarak farklı bölgelerde yetişmekle birlikte özellikle Kayseri ve çevresiyle özdeşleşmiştir. Bitki; yöresel adları, geleneksel kullanımı ve meyvelerinden elde edilen ürünler bakımından ülkemizde önemli bir yere sahiptir (Baytop, 2021: 384).

[1] Doç. Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bölümü, Orcid: 0000-0001-5225-6217

Gilaburunun meyve, kabuk ve diğer bitki kısımları, farklı toplumlarda geleneksel halk hekimliğinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Geleneksel kaynaklarda bitkinin özellikle kas krampları ve ağrılarla ilişkili kullanımlarına yer verilirken, bilimsel araştırmalarda antioksidan, antimikrobiyal ve antinosiseptif aktiviteleri de incelenmiştir. Bununla birlikte, deneysel çalışmalarda bildirilen biyolojik aktivitelerin doğrudan insanlarda tedavi edici etkinlik anlamına gelmediği göz önünde bulundurulmalıdır (Altun & ark., 2009: 653; Česonienė & ark., 2014: 129; Eryilmaz & ark., 2013: 355).

Tıbbi kullanımının yanı sıra gilaburu meyveleri meyve suyu ve çeşitli gıda ürünlerinin hazırlanmasında değerlendirilmektedir. Meyvelerin kimyasal bileşimi ve biyolojik özellikleri üzerine yapılan araştırmalar, bitkinin gıda ve sağlık alanlarındaki potansiyelinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (Perova & ark., 2014: 332). Türkiye'de gilaburunun ticari yetiştiriciliği her bölgede yaygın olmamakla birlikte, bitkinin ekonomik değerine yönelik ilgi sürmektedir. Bu nedenle gilaburunun botanik özelliklerinin, kimyasal bileşiminin, geleneksel kullanımının ve biyolojik aktivitelerinin mevcut bilimsel kanıtlar çerçevesinde değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Gilaburunun Botanik, Genel ve Morfolojik Özellikleri

V. opulus, kışın yapraklarını döken, çalı formunda gelişen ve uygun koşullarda yaklaşık 2–6 m boya ulaşabilen çok yıllık bir bitkidir. Gösterişli çiçek durumu ve parlak kırmızı meyveleri nedeniyle süs bitkisi olarak da yetiştirilmektedir (WFO, 2026; Wu & ark., 2011: 610). Bitkinin sistematik sınıflandırması Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1 V. opulus sınıflandırması

Alem:	Plantae
Bölüm:	Tracheophyta

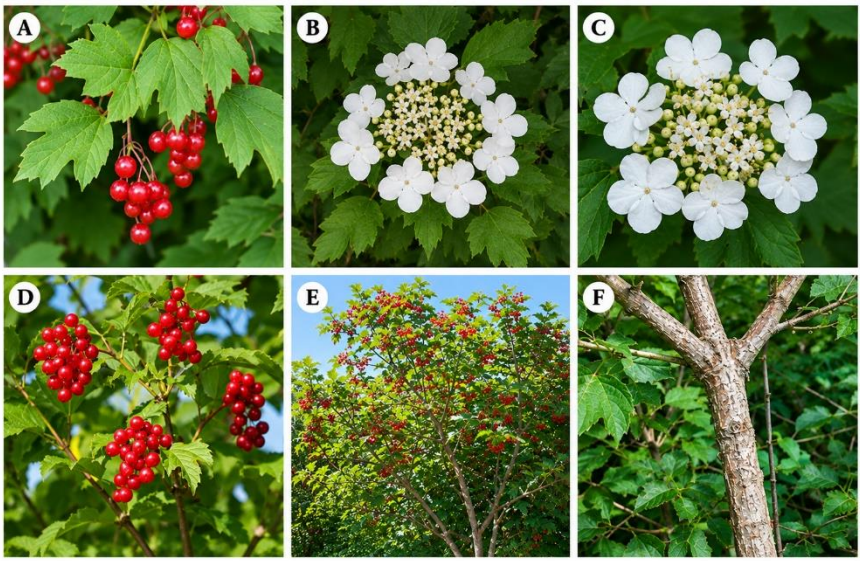
Sınıf:	Magnoliopsida
Takım:	Dipsacales
Familya:	Viburnaceae
Cins:	*Viburnum*
Tür:	*V. opulus* L.

Kaynak: (GBIF, 2026)

Gilaburu, Türkiye'de farklı yöresel adlarla bilinmektedir. Kayseri çevresinde gilaburu, gileburu, gilebolu ve gilaboru gibi adlar kullanılırken, diğer bölgelerde de farklı yerel adlara rastlanmaktadır. Bu adlandırmalar bitkinin yöresel kültür ve kullanım geçmişinin bir parçasıdır (Aksoy & ark., 2004: 65).

Gilaburunun gövdesi ve dalları çok dallı bir yapı oluşturur. Genç dallar genellikle yeşilimsi kahverengi, bazen kırmızımsı renkte olabilir; yaşlanan dallar ise daha kahverengi bir görünüm kazanır (Şekil 1). Yapraklar dallar üzerinde karşılıklı dizilir ve çoğunlukla üç lopludur. Yaprak ayası geniş, kenarları düzensiz ve kaba dişli olup, üst yüzeyi genellikle daha az tüylü, alt yüzeyi ise özellikle damarlar boyunca tüylüdür. Yaprak sapının üst kısmında disk biçimli bezler bulunabilir. Çiçekler ilkbahar sonu ile yaz başında ortaya çıkar ve dalların uçlarında, şemsiye görünümünde bileşik çiçek durumları oluşturur. Çiçek durumlarının çapı genellikle 5–12 cm arasındadır. Dış kısımdaki çiçekler büyük, beyaz ve çoğunlukla kısırdır; merkezde bulunan daha küçük çiçekler ise üreme organlarını taşıyan fertil çiçeklerdir. Bu farklılaşma, bitkinin çiçek durumuna karakteristik görünümünü kazandırır. Meyveler başlangıçta sarımsı renkte gelişir ve olgunlaştıklarında parlak kırmızı bir görünüm alır. Genellikle küresel biçimli olan meyvelerin çapı yaklaşık 8–12 mm'dir. Meyveler çoğunlukla eylül ve ekim aylarında olgunlaşır; çiçeklenme ise genellikle mayıs ve haziran aylarında gerçekleşir (Şekil 1). Bununla birlikte, çiçeklenme ve meyve olgunlaşma zamanları yetişme koşullarına ve coğrafi bölgeye göre değişebilir (Kajszczak & ark., 2020: 3398; WFO, 2026; Wu & ark., 2011: 610).

Şekil 1 V. opulus bitkisinin botanik ve morfolojik özellikleri: (A) yaprakların genel görünümü, (B) çiçek durumunun genel görünümü, (C) büyük dış çiçekler ile küçük iç çiçeklerin görünümü, (D) olgun meyveler, (E) genç dallar ve (F) gövde ve dal yapısı

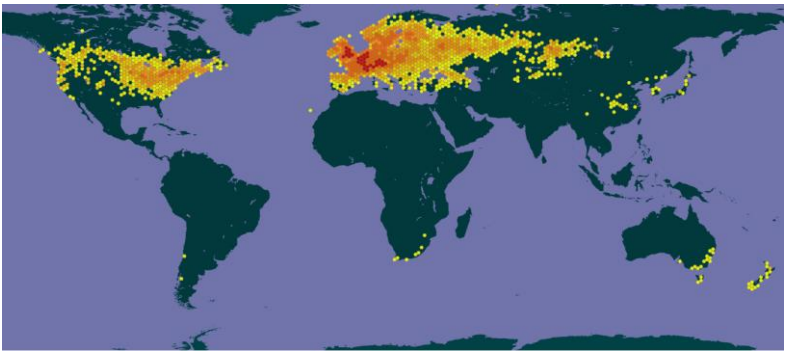


Kaynak:(Kajszczak & ark., 2020: 3398)

Gilaburunun Coğrafi Yayılışı ve Yetişme Ortamı

V. opulus, doğal olarak başta Avrupa olmak üzere Kuzey Afrika'nın bazı bölgelerinde ve Asya'nın ılıman kuşağında, Türkiye'den Sibirya'ya kadar uzanan geniş bir alanda yayılış gösterir. Tür, ılıman iklim koşullarına uyum sağlamış çalı formundaki bitkiler arasında yer almaktadır. Kuzey Amerika'da da *V. opulus* adıyla kaydedilen bitkiler bulunmakla birlikte, bu kayıtların bir bölümü sonradan doğal ortama yerleşmiş popülasyonlara aittir (Şekil 2). Bu nedenle, türün doğal yayılış alanı ile başka bölgelere taşınması sonucu görüldüğü alanların birbirinden ayrılması gerekir (POWO, 2026; WFO, 2026).

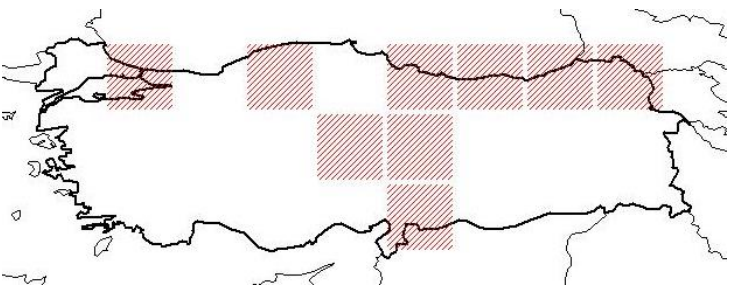
Şekil 2 V. opulus'un dünya üzerindeki coğrafi yayılışı



Kaynak: (GBIF, 2026)

Türkiye'de gilaburunun doğal yayılışına ilişkin kayıtlar, bitkinin ülkenin farklı bölgelerinde görülebildiğini göstermektedir. Türkiye Bitkileri Veri Servisi'nde (TÜBİVES) yer alan kayıtlara göre tür; Tokat, Artvin, Samsun, Trabzon, Sivas, Erzurum, Bursa, Kocaeli, Sakarya, İstanbul, İzmir, Kırşehir, Ankara, Kahramanmaraş ve özellikle Kayseri çevresinde bildirilmiştir (Şekil 3). Bununla birlikte, bir ilde türün kaydedilmiş olması, o ilin tamamında yaygın olduğu anlamına gelmez; dağılışın yerel iklim ve habitat koşullarına göre değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (TÜBİVES, 2026).

Şekil 3 V. opulus'un Türkiye'deki dağılışı



Kaynak: (TÜBİVES, 2026)

Gilaburu, özellikle toprağın yeterli nemi koruduğu ve drenajın uygun olduğu habitatlarda gelişebilir. Dere ve akarsu kenarları, göl çevreleri, nemli çalılıklar ve bazı ormanlık alanlar

türün görülebildiği yetişme ortamları arasındadır. Toprak neminin korunması önemli olmakla birlikte, bitki farklı toprak koşullarına da belirli ölçüde uyum sağlayabilir. Işıklanma bakımından güneşli veya yarı gölgeli alanlarda yetişebilir; güneş alan yerlerde gelişimi ve meyve oluşumu daha elverişli olabilir (RHS, 2026; UBC, 2026).

Kışın yapraklarını döken çok yıllık bir çalı olan gilaburu, uygun yetişme koşullarında dip sürgünleri oluşturarak yayılabilir. Ancak büyüme hızı, bitkinin meyve vermeye başlama zamanı ve meyve verimi; iklim, toprak özellikleri, bitkinin yaşı ve bakım koşulları gibi etkenlere bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, ekimden sonra belirli bir yıl içinde meyve vermeye başlayacağına ilişkin süreler bütün yetişme koşulları için geçerli kabul edilmemelidir. Olgun meyveler genellikle kırmızı renkte ve kümeler hâlindedir; meyve olgunlaşma dönemi ise coğrafi konuma ve mevsimsel koşullara göre farklılık gösterebilir (POWO, 2026; WFO, 2026).

Gilaburunun Kimyasal Bileşimi ve Fitokimyasal Özellikleri

V. opulus, meyve, çiçek, yaprak, kabuk ve tohumlarında farklı kimyasal bileşikler barındıran bir bitkidir. Bu bileşikler arasında organik asitler, fenolik bileşikler, flavonoidler, antosiyaninler, şekerler, karotenoidler, yağ asitleri ve diğer lipit bileşenleri bulunmaktadır. Ancak bitkinin kimyasal bileşimi yalnızca türün özelliklerine bağlı değildir; bitki kısmı, yetişme bölgesi, genotip, olgunluk durumu, kurutma ve ekstraksiyon koşulları da elde edilen sonuçları etkileyebilir (Polka & ark., 2019: 436; Zakłos-Szyda & ark., 2020: 4909).

- Organik Asitler ve Fenolik Bileşikler

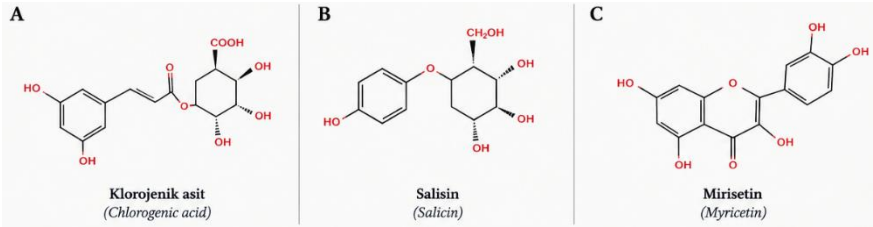
Gilaburu meyvesinin ekşi tadıyla ilişkili başlıca bileşik gruplarından biri organik asitlerdir. Meyvede malik, sitrik ve tartarik asitlerin yanı sıra bazı araştırmalarda fumarik, süksinik ve diğer organik asitler de belirlenmiştir. Bununla birlikte, hangi organik asidin baskın olduğu ve miktarı araştırılan örneğe göre

değişebilmektedir. Polka ve arkadaşları (2019), gilaburunun meyve, çiçek ve kabuk örneklerini karşılaştırmış ve organik asit bileşiminin bitki kısımları arasında farklılık gösterdiğini bildirmiştir.

Gilaburunun fitokimyasal açıdan öne çıkan diğer bileşenleri fenolik bileşiklerdir. Bunlar arasında gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve *p*-kumarik asit gibi fenolik asitler ile kateşin, epikateşin, prosiyanidinler ve kersetin türevleri yer alır. Özellikle meyve ve meyve posası üzerinde yapılan analizlerde farklı fenolik bileşik grupları tanımlanmıştır. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu kullanılarak meyve posasının incelendiği bir araştırmada organik ve fenolik asitler, iridoidler, kersetin ve kateşin türevleri, prosiyanidinler ve antosiyaninler dâhil olmak üzere çok sayıda bileşik belirlenmiştir (Zakłos-Szyda & ark., 2020: 4909).

Fenolik bileşiklerin miktarı konusunda farklı çalışmaların sonuçları doğrudan karşılaştırılırken dikkatli olunmalıdır. Örneğin, taze meyvede yaş ağırlık üzerinden bildirilen bir değer ile kurutulmuş örnekte kuru ağırlık üzerinden bildirilen değer aynı temelde değerlendirilmemelidir. . Polka ve arkadaşları (2019), inceledikleri kurutulmuş örneklerde fenolik bileşiklerin miktar ve dağılımının meyve, çiçek ve kabuk arasında farklılaştığını göstermiştir. Bu nedenle kimyasal bileşiklerin miktarları aktarılırken analiz edilen bitki kısmı, örneğin işlenme durumu ve kullanılan ölçüm birimi belirtilmelidir. Gilaburuyla ilişkilendirilen fenolik bileşiklere örnek olarak klorojenik asit ve mirisetin verilebilir. Ayrıca, gilaburuda salisin ve klorojenik asidin analizine yönelik yöntemler de bildirilmiştir (Şekil 4).

Şekil 4 Gilaburu ile ilişkilendirilen bazı bileşiklerin kimyasal yapıları: (A) klorojenik asit, (B) salisin ve (C) mirisetin.



Kaynak: (Altun & Yilmaz, 2007: 205; Kajszczak & ark., 2020: 3398)

- Antosiyaninler, Şekerler, Vitaminler ve Karotenoidler

Gilaburu meyvesinin kırmızı renginde antosiyaninler rol oynar. Meyvede siyanidin türevleri dâhil olmak üzere farklı antosiyaninlerin bulunduğu bildirilmiştir. Bu bileşiklerin yanı sıra gilaburu meyvesinde glikoz ve fruktoz gibi şekerler, karotenoidler ve C vitamini de araştırılmıştır. Bu bileşenlerin miktarı; genotip, olgunluk, saklama ve işleme koşullarına göre değişebilir. Aynı çalışmada, meyve, çiçek ve kabuk örneklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında meyvelerin incelenen bitki kısımları arasında şeker, organik asit ve karotenoid içeriği bakımından öne çıktığını bildirmiştir. Bununla birlikte, kurutma işlemi bazı bileşiklerin miktarını değiştirebileceğinden, kurutulmuş materyalden elde edilen sonuçların taze meyveye doğrudan aktarılması uygun değildir (Polka & ark., 2019: 436).

- Tohum, Yaprak ve Kabuk Bileşenleri

Gilaburunun kimyasal bileşimi meyveyle sınırlı değildir. Tohumlarda yağ, yağ asitleri, protein ve farklı lipit bileşenleri bulunabilir. Yunusova ve arkadaşları (2004), *V. opulus* tohumlarının yağ asidi ve amino asit bileşimini incelemiş, ayrıca depolama süresince tohum bileşenlerinde meydana gelen değişimleri araştırmıştır. Bu çalışma, tohumların kimyasal özelliklerinin meyve etinden ayrı değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Yaprak ve kabukta da fenolik bileşikler ve farklı lipofilik bileşenler bildirilmiştir. Polka ve arkadaşları (2019), gilaburunun

kabuk örneklerinde toplam fenolik bileşiklerin ve bazı fenolik alt grupların miktarının meyve ve çiçek örneklerinden farklı olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, bitkinin yalnızca meyvesine odaklanmanın tüm fitokimyasal çeşitliliğini ortaya koymak için yeterli olmadığını göstermektedir (Tablo 2).

Tablo 2 V. opulus'un farklı bitki kısımlarında bildirilen başlıca kimyasal bileşik grupları

Bitki kısmı	Başlıca bildirilen bileşikler
Meyve	Organik asitler, fenolik asitler, kateşin ve epikateşin türevleri, prosiyanidinler, antosiyaninler, şekerler ve karotenoidler
Çiçek	Fenolik asitler, flavonoidler, şekerler ve pektinler
Yaprak	Fenolik bileşikler ve bazı lipofilik bileşenler
Kabuk	Fenolik bileşikler, flavanoller, prosiyanidinler ve diyet lifi bileşenleri
Tohum	Yağ asitleri, yağ ve proteinle ilişkili bileşenler, amino asitler

Kaynak: (Polka & ark., 2019: 436; Taşkın & ark., 2019: 178; Yunusova & ark., 2004: 423; Zakłos-Szyda & ark., 2020: 4909)

- İşleme ve Fermantasyonun Kimyasal Bileşime Etkisi

Gilaburu meyvesi Türkiye'de geleneksel olarak meyve suyu hazırlanmasında kullanılmaktadır. Meyvenin ekşi ve buruk tadını değiştirmek amacıyla uygulanan fermantasyon süreci, ürünün fizikokimyasal özelliklerinde ve uçucu bileşik profilinde değişikliklere neden olabilir. Yilmaztekin & Sislioglu (2015), geleneksel fermantasyon sırasında gilaburunun uçucu bileşiklerinde ve bazı fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimleri incelemiştir. Ham meyve, fermente meyve ve bunlardan elde edilen meyve suyu aynı kimyasal bileşime sahip materyaller olarak değerlendirilmemelidir. Ayrıca, toplam fenolik madde miktarındaki bir değişim tek başına bütün fenolik bileşiklerin arttığını veya ürünün biyolojik etkisinin güçlendiğini kanıtlamaz. Bu tür

sonuçların değerlendirilebilmesi için belirli bileşiklerin analizleri ve uygun biyolojik aktivite testleri birlikte ele alınmalıdır.

Gilaburunun Geleneksel Kullanımı

V. opulus, meyveleri ve bazı bölgelerde kabuğu geleneksel amaçlarla kullanılan bitkilerden biridir. Halk tababetindeki kullanım biçimleri coğrafi bölgelere ve yerel geleneklere göre değişmektedir. Literatürde gilaburunun meyvesi; öksürük, soğuk algınlığı, romatizmal yakınmalar, sindirim sistemi ve böbrek sorunları gibi çeşitli durumlarla ilişkili olarak ele alınmıştır. Meyve suyu ayrıca diyabet ve hipertansiyon gibi rahatsızlıklarda geleneksel olarak kullanılan ürünler arasında bildirilmektedir (Sharifi-Rad & ark., 2021: 3095514).

Gilaburunun kabuğu da geleneksel bitkisel uygulamalarda ayrı bir yere sahiptir. *Cortex Viburni* olarak anılan kabuğun, özellikle adet kramplarının hafifletilmesi amacıyla kullanıldığı; ayrıca mide, rahim ve hemoroidle ilişkili kanamalara yönelik geleneksel uygulamalarda yer aldığı bildirilmiştir (Heinrich, 2015: 41; Shikov & ark., 2014: 481). Bununla birlikte, bu kullanımlar geleneksel bilgi ve tarihsel kayıtlara dayanmaktadır; tek başlarına klinik etkinliğin kanıtı olarak değerlendirilmemelidir.

Türkiye'de gilaburu, özellikle Kayseri yöresinde, böbrek taşı ve idrar yollarıyla ilgili yakınmalar bağlamında geleneksel olarak kullanılmaktadır. Bu kullanımda öne çıkan ürün, gilaburu meyvelerinden hazırlanan fermente meyve suyudur. Bununla birlikte, geleneksel kullanımın varlığı ile böbrek taşlarının tedavisinde klinik etkinliğin kanıtlanmış olması birbirinden farklıdır; bu nedenle gilaburu suyu kanıtlanmış tıbbi tedavilerin yerine geçen bir ürün olarak sunulmamalıdır. *Viburnum* cinsinin geleneksel ve potansiyel tıbbi kullanımlarını ele alan derlemeler de bitkinin kullanım alanlarının ve bunlara ilişkin kanıt düzeylerinin

dikkatle değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Sharifi-Rad & ark., 2021: 3095514).

Kayseri yöresinde gilaburu meyveleri, geleneksel olarak fermente bir içecek hazırlanmasında kullanılmaktadır. Hazırlama sürecinde meyveler yıkanarak plastik kaplara alınır, üzerlerine su eklenir ve karanlıkta, oda sıcaklığında yaklaşık 3–4 ay bekletilir. Fermantasyon boyunca meyvelerin uçucu bileşiklerinde ve bazı fizikokimyasal özelliklerinde değişimler meydana gelir; süreç aynı zamanda meyvenin buruk tadının azalmasıyla ilişkilendirilmektedir (Soylak & ark., 2002: 135; Yilmaztekin & Sislioglu, 2015: 687). Fermantasyon tamamlandıktan sonra meyveler ezilerek suyu elde edilir. Tüketim öncesinde içeceğin suyla seyreltilmesi ve buruk tadını hafifletmek amacıyla isteğe bağlı olarak şeker eklenmesi de geleneksel hazırlama yönteminde bildirilmektedir (Otles & Nakilcioglu-Tas, 2019: 287). Gilaburu suyundan izole edilen laktik asit bakterilerinin incelendiği çalışmalar, bu içeceğin mikrobiyolojik özelliklerini de ortaya koymaktadır (Sagdic & ark., 2014: 537).

Gilaburunun Biyolojik Aktiviteleri Üzerine Farmakolojik Çalışmalar

Gilaburunun geleneksel halk tababetinde farklı amaçlarla kullanılması, bitkinin kimyasal bileşiminin ve biyolojik etkilerinin araştırılmasına yönelik çalışmaları teşvik etmiştir. Bu araştırmalarda özellikle böbrek taşı oluşumuyla ilişkili süreçler, antioksidan aktivite, tümör gelişimi, ağrı ve inflamasyon, damar işlevleri ve antimikrobiyal özellikler üzerinde durulmuştur. Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar kullanılan bitki kısmına, ekstraksiyon yöntemine, uygulanan doza ve deney modeline göre değişmektedir. Bu nedenle gilaburunun farmakolojik etkileri değerlendirilirken *in vitro* deneylerden, hayvan çalışmalarından ve insanlarda yürütülen klinik araştırmalardan elde edilen bulgular birbirinden ayrı ele alınmalıdır (Sharifi-Rad & ark., 2021: 3095514).

- Antiürolitiyatik etki ve üriner sistem üzerine etkileri

Gilaburunun farmakolojik açıdan en fazla araştırılan kullanım alanlarından biri, geleneksel olarak böbrek taşlarının düşürülmesi amacıyla tüketilen meyve suyudur. İlhan ve arkadaşları (2014), gilaburu meyvelerinden elde edilen farklı ekstraktları ve liyofilize meyve suyunu, sodyum oksalat uygulanarak sıçanlarda oluşturulan ürolitiyazis modelinde incelemiştir. Araştırmada özellikle liyofilize gilaburu suyunun idrar miktarını artırdığı, oksalat düzeylerini ve serbest radikal oluşumuyla ilişkili bazı göstergeleri azalttığı ve böbrekte kristal birikimine karşı olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Meyve suyundaki klorojenik asit miktarı da HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. Araştırmacılar, gözlenen etkinin diüretik etki ve oksalat düzeyleri üzerindeki değişimlerle ilişkili olabileceğini belirtmiştir (İlhan & ark., 2014: 578103).

Bu sonuçlar, gilaburu meyve suyunun deneysel ürolitiyazis modellerinde araştırılmaya değer bir potansiyel taşıdığını göstermektedir. Ancak söz konusu çalışma hayvanlarda yürütüldüğünden, gilaburunun insanlarda böbrek taşlarını tedavi ettiği veya standart tedavilerin yerine kullanılabileceği sonucuna varılamaz. Klinik etkinliğin ve güvenli kullanım koşullarının belirlenebilmesi için insan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

- Antitümör ve antikanser potansiyeli

Gilaburunun tümör gelişimi üzerindeki olası etkileri, hem hayvan deneylerinde hem de hücre temelli araştırmalarda incelenmiştir. Ülger ve arkadaşları (2013), gilaburu suyunun 1,2-dimetilhidrazin uygulanarak kolon tümörü gelişimi oluşturulan farelerdeki etkilerini araştırmıştır. Çalışmada gilaburu suyu verilen gruplarda kolon lezyonlarının gelişimi değerlendirilmiş ve sonuçlar, meyve suyunun deneysel kolon tümörogenezinde koruyucu bir potansiyel taşıyabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, bu

bulguların insanlarda kolon kanserini önlediği şeklinde yorumlanması uygun değildir.

Gilaburunun antikanser potansiyeli, meyvesinde bulunan fenolik bileşiklerle de ilişkilendirilmektedir. Ancak bir ekstraktın veya belirli bir bileşiğin deneysel koşullarda tümör hücreleri üzerinde etkili olması, aynı etkinin insan vücudunda aynı dozda ortaya çıkacağını göstermez. Bu nedenle mevcut bulgular, klinik tedavi etkinliğinin kanıtı olarak değil, ileri araştırmalar için başlangıç niteliğindeki deneysel sonuçlar olarak değerlendirilmelidir (Kajszczak & ark., 2020: 3398; Ulger & ark., 2013: 824).

- Antioksidan aktivite

Gilaburunun antioksidan özellikleri, meyve başta olmak üzere bitkinin farklı kısımlarında araştırılmıştır. Polka ve arkadaşları (2019), meyve, çiçek ve kabuk örneklerinin kimyasal bileşimini ve antioksidan kapasitesini karşılaştırmıştır. Çalışmada bitki kısımları arasında belirgin farklılıklar saptanmış; kabuk, incelenen deneysel antioksidan testlerinde yüksek kapasite ve yüksek fenolik bileşik içeriğiyle öne çıkmıştır. Bu sonuç, antioksidan kapasitenin yalnızca bitki türüne değil, incelenen bitki kısmına ve kimyasal bileşimine de bağlı olduğunu göstermektedir.

Gilaburunun antioksidan aktivitesi, fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif bileşenlerle ilişkili olabilir. Bununla birlikte, laboratuvar ortamında ölçülen radikal giderme kapasitesi doğrudan hastalıkların önlenmesi veya tedavi edilmesi anlamına gelmez. Bu nedenle antioksidan testlerden elde edilen sonuçlar, klinik sonuçlardan ayrı değerlendirilmelidir (Polka & ark., 2019: 436).

- Ağrı giderici ve inflamasyonla ilişkili etkiler

Gilaburunun ağrı üzerindeki etkileri Altun ve arkadaşları (2009) tarafından deneysel olarak incelenmiştir. Araştırmada bitkinin yapraklarından hazırlanan sulu ekstraktın fare ve

sıçanlardaki etkileri değerlendirilmiştir. Farelerde yapılan deneylerde ekstraktın belirli dozlarda ağrıya bağlı tepkileri azalttığı bildirilmiştir. Buna karşılık, incelenen dozlarda sıçanlarda oluşturulan pençe ödemi modelinde anlamlı bir antiinflamatuvar etki gösterilememiştir.

Bu çalışma, gilaburunun ağrı giderici potansiyeline ilişkin deneysel bulgular sunmakla birlikte, ağrı giderici ve antiinflamatuvar etkilerin aynı şey olmadığını da göstermektedir. Ayrıca sonuçlar yaprak ekstraktına ve kullanılan deney koşullarına ait olduğundan, doğrudan meyve suyuna veya insanlardaki kullanıma genellenmemelidir (Altun & ark., 2009: 653).

- Damar işlevleri ve kardiyovasküler sistem üzerine etkiler

Gilaburu meyve ekstraktlarının damar işlevleriyle ilişkili etkileri de araştırılmıştır. Bujor ve arkadaşları (2019), gilaburu dâhil olmak üzere bazı meyve ekstraktlarının metabolit profillerini, arginaz inhibisyonunu ve damar gevşemesiyle ilişkili etkilerini incelemiştir. Çalışmada *V. opulus* meyve ekstraktı için arginaz inhibisyonu ve vazorelaksasyon bakımından elde edilen bulgular, bitkinin damar işlevleriyle ilişkili biyolojik potansiyelinin araştırılmaya değer olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte, laboratuvar veya deneysel düzeyde gözlenen damar gevşemesi, gilaburu tüketiminin insanlarda hipertansiyonu tedavi ettiğini ya da kalp hastalıklarını önlediğini kanıtlamaz. Bu tür sonuçlara ulaşılabilmesi için uygun dozların, güvenliliğin ve klinik etkinliğin insanlarda değerlendirilmesi gerekir (Bujor & ark., 2019: 110764).

- Antimikrobiyal aktivite

Gilaburu meyve suyu ve farklı ekstraktların antimikrobiyal özellikleri de araştırılmıştır. Cesonienė ve arkadaşları (2012), farklı *V. opulus* örneklerinden elde edilen meyve sularının toplam fenolik

madde ve antosiyanin içeriğini belirlemiş, ayrıca çeşitli mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini incelemiştir. Araştırmada bazı meyve sularının *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Enterococcus faecalis* gibi Gram-pozitif bakterilerin yanı sıra bazı Gram-negatif bakterilerin gelişimini de baskılayabildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, etkinin mikroorganizma türüne ve incelenen meyve suyu örneğine göre değiştiği görülmüştür.

Antimikrobiyal etkinin meyve suyunun fenolik bileşenleriyle ilişkili olabileceği düşünülse de, tek bir bileşiğin etkiden sorumlu olduğu yalnızca bu bulgulara dayanılarak söylenemez. Ayrıca laboratuvar ortamındaki antimikrobiyal aktivite, gilaburu suyunun insanlarda enfeksiyonları tedavi edebileceği anlamına gelmez (Česonienė & ark., 2012: 256).

Gilaburu meyvesinden elde edilen fenolik bileşikler bakımından zenginleştirilmiş ürünlerin antimikrobiyal özelliklerini inceleyen araştırmalar da mevcuttur. Bu çalışmalar, meyvenin kimyasal bileşimi ile biyolojik aktivitesi arasındaki ilişkinin araştırılmasına katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte, sonuçların farklı ekstraksiyon yöntemleri ve deney koşulları dikkate alınarak değerlendirilmesi gerekir (Kajszczak & ark., 2020: 3398).

- Üreme sistemi ve diğer biyolojik etkiler

Gilaburu meyve ekstraktının erkek üreme sistemi üzerindeki olası koruyucu etkileri Sarıözkan ve arkadaşları (2017) tarafından araştırılmıştır. Çalışmada, taksan temelli kemoterapötik ilaçların neden olduğu testis ve sperm hasarları üzerinde gilaburu meyve ekstraktının etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, deneysel modelde bazı hasar göstergelerinin hafifleyebileceğini düşündürmektedir. Ancak bu bulgular, gilaburunun insanlarda doğurganlığı artırdığı veya kemoterapiye bağlı üreme sistemi

hasarını önlediği şeklinde yorumlanmamalıdır (Sarıözkan & ark., 2017: 1284).

Gilaburunun mide ve bağırsak mukozası üzerindeki etkileri de deneysel çalışmalarda ele alınmıştır. Zayachkivska ve arkadaşları (2006), *V. opulus* proantosiyanidinlerinin stresle ilişkili gastrointestinal mukoza hasarı üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bu araştırma, bitkiden elde edilen bileşenlerin gastrointestinal sistemdeki koruyucu potansiyelinin araştırılmasına katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, deneysel bulguların insanlarda ülser tedavisi için doğrudan kanıt oluşturmadığı unutulmamalıdır (Zayachkivska & ark., 2006: 155).

Gilaburu meyve ekstraktının endometriozis üzerindeki etkisi de deneysel bir sıçan modelinde incelenmiştir. *V. opulus* meyve ekstraktının cerrahi olarak oluşturulan endometriozis modelindeki etkilerini araştırmış ve bulguların bitkinin bu alandaki potansiyelini ileri çalışmalar için destekleyebileceğini bildirmiştir. Bununla birlikte, gilaburunun endometriozis tedavisinde etkili ve güvenli olduğunu söyleyebilmek için klinik araştırmalar gereklidir (Saltan & ark., 2016: 450).

Sonuç

Gilaburu, ülkemizde ve dünyanın farklı bölgelerinde yetişen, süs bitkisi olarak da kullanılan bir bitkidir. Geçmişten günümüze halk tababetinde özellikle meyve ve kabuk kısımları olmak üzere bitkinin farklı bölümlerinden çeşitli amaçlarla yararlanıldığı görülmektedir. Geleneksel kullanımları, gilaburunun botanik özellikleri, kimyasal bileşimi ve biyolojik etkileri üzerine yapılan bilimsel araştırmalara da zemin hazırlamıştır.

Yapılan araştırmalarda gilaburunun meyve, yaprak, çiçek, tohum ve kabuk gibi farklı kısımlarında çeşitli fitokimyasal bileşikler belirlenmiştir. Bu bileşiklerin türü ve miktarı, bitkinin kullanılan kısmına ve uygulanan analiz yöntemlerine göre

değişebilmektedir. Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, gilaburunun özellikle antioksidan, antiürolitiyatik, antiinflamatuvar, analjezik ve antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra antitümör potansiyelinin de araştırıldığını göstermektedir. Bununla birlikte, bu etkilerle ilgili bulguların önemli bir bölümü laboratuvar ve hayvan çalışmalarına dayanmaktadır. Bu nedenle, deneysel sonuçların insanlardaki tedavi edici etkinliğin kanıtı olarak değerlendirilmemesi ve klinik araştırmalarla desteklenmesi gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

V. opulus'un süs bitkisi olarak kullanılması, geleneksel mutfaklarda çeşitli ürünlerin hazırlanmasında yer alması ve fitokimyasal bileşimi ile biyolojik aktivitelerine yönelik bilimsel ilginin artması, bitkinin ekonomik ve araştırma açısından taşıdığı potansiyeli ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması ve tıbbi amaçlarla değerlendirilmesi için bitkinin kimyasal bileşiminin, etki mekanizmalarının, güvenlilik profilinin ve uygun kullanım koşullarının daha ayrıntılı incelenmesi önemlidir. Mevcut bulgular, gilaburunun gelecekteki araştırmalar açısından dikkate değer bir bitki olduğunu göstermektedir; ancak tıbbi ürünlerde kullanımının yaygınlaşabilmesi için etkinlik ve güvenliliğinin yeterli bilimsel kanıtlarla ortaya konulması gerekmektedir.

Kaynakça

Aksoy, A., Güvensan, A., Akiçek, E., & Öztürk, M. (2004). Etnoecology of *Viburnum opulus* L. *International Symposium on Medicinal Plants: Linkages Beyond National Boundaries*, 65–70.

Altun, M. L., Saltan Çitoğlu, G., Sever Yılmaz, B., & Özbek, H. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Viburnum opulus*. *Pharmaceutical Biology*, *47*(7), 653–658. https://doi.org/10.1080/13880200902918345

Altun, M. L., & Yilmaz, B. S. (2007). HPLC method for the analysis of salicin and chlorogenic acid from *Viburnum opulus* and *V. lantana*. *Chemistry of Natural Compounds*, *43*(2), 205–207.

Baytop, T. (2021). *Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi* (3rd ed.). Nobel Tıp Kitabevleri.

Bujor, A., Miron, A., Luca, S. V., Skalicka-Wozniak, K., Silion, M., Ancuceanu, R., Dinu, M., Girard, C., Demougeot, C., & Totoson, P. (2019). Metabolite profiling, arginase inhibition and vasorelaxant activity of *Cornus mas*, *Sorbus aucuparia* and *Viburnum opulus* fruit extracts. *Food and Chemical Toxicology*, *133*, 110764.

Česonienė, L., Daubaras, R., Kraujalytė, V., Venskutonis, P. R., & Šarkinas, A. (2014). Antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juices and extracts. *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, *9*(2), 129–132. https://doi.org/10.1007/s00003-014-0864-1

Česonienė, L., Daubaras, R., Viškelis, P., & Šarkinas, A. (2012). Determination of the total phenolic and anthocyanin contents and antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juice. *Plant Foods for Human Nutrition*, *67*(3), 256–261.

Eryilmaz, M., Ozbilgin, S., Ergene, B., Yilmaz, B. S., Altun, M. L., & Saltan, G. (2013). Antimicrobial activity of Turkish *Viurnum* species. *Bangladesh Journal of Botany*, *42*(2), 355–360.

GBIF. (2026). *Viburnum opulus*. Global Biodiversity Information Facility. https://www.gbif.org/taxon/5BCCB

Heinrich, M. (2015). Cramp bark. In *Phytopharmacy: An Evidence-Based Guide to Herbal Medicinal Products* (pp. 41–50). John Wiley & Sons. https://doi.org/10.1002/9781118543436.ch31

İlhan, M., Ergene, B., Süntar, I., Özbilgin, S., Saltan Çitoğlu, G., Demirel, M. A., Keleş, H., Altun, L., & Küpeli Akkol, E. (2014). Preclinical Evaluation of Antiurolithiatic Activity of *Viburnum opulus* L. on Sodium Oxalate-Induced Urolithiasis Rat Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2014*(1), 578103. https://doi.org/10.1155/2014/578103

Kajszczak, D., Zakłos-Szyda, M., & Podsędek, A. (2020). *Viburnum opulus* L.—A review of phytochemistry and biological effects. *Nutrients*, *12*(11), 3398.

Otles, S., & Nakilcioglu-Tas, E. (2019). Nutritional Components of Some Fermented Nonalcoholic Beverages. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Fermented Beverages* (pp. 287–319). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00007-5

Perova, I. B., Zhogova, A. A., Cherkashin, A. V., Éller, K. I., Ramenskaya, G. V., & Samylina, I. A. (2014). Biologically Active Substances from European Guelder Berry Fruits. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, *48*(5), 332–339. https://doi.org/10.1007/s11094-014-1105-8

Polka, D., Podsędek, A., & Koziołkiewicz, M. (2019). Comparison of Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Fruit, Flower and Bark of *Viburnum opulus*. *Plant Foods for Human Nutrition*, *74*(3), 436–442. https://doi.org/10.1007/s11130-019-00759-1

POWO. (2026). *Viburnum opulus L.* Royal Botanic Gardens, Kew Plants of the World Online. http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:326268-2

RHS. (2026). *Viburnum opulus*. Royal Horticultural Society. https://www.rhs.org.uk/plants/18919/viburnum-opulus/details

Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N., & Yetim, H. (2014). Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink. *Food Research International*, *64*, 537–545.

Saltan, G., Süntar, I., Ozbilgin, S., Ilhan, M., Demirel, M. A., Oz, B. E., Keleş, H., & Akkol, E. K. (2016). *Viburnum opulus* L.: A remedy for the treatment of endometriosis demonstrated by rat model of surgically-induced endometriosis. *Journal of Ethnopharmacology*, *193*, 450–455.

Sarıözkan, S., Türk, G., Eken, A., Bayram, L. Ç., Baldemir, A., & Doğan, G. (2017). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit extract alleviates testis and sperm damages induced by taxane-based chemotherapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *95*, 1284–1294.

Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Vergara, C. V., Kitic, D., Kostic, M., Armstrong, L., Shinwari, Z. K., Khalil, A. T., Brdar-Jokanović, M., Ljevnaić-Mašić, B., Varoni, E. M., Iriti, M.,

Leyva-Gómez, G., Herrera-Bravo, J., Salazar, L. A., & Cho, W. C. (2021). Genus *Viburnum*: Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2021*(1), 3095514. https://doi.org/10.1155/2021/3095514

Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Makarov, V. G., Wagner, H., Verpoorte, R., & Heinrich, M. (2014). Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications. *Journal of Ethnopharmacology*, *154*(3), 481–536.

Soylak, M., Elçi, L., Saraçoğlu, S., & Divrikli, Ü. (2002). Chemical analysis of fruit juice of European cranberrybush (*Viburnum opulus*) from Kayseri-Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, *14*(1), 135–138.

Taşkın, O., AŞIK, B., & İzli, N. (2019). Gilaburu Bitkisinin (*Viburnum opulus* L.) Meyve, Sap ve Yaprağının Mineral İçeriği. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, *22*, 178–182. https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.484362

TÜBİVES. (2026). *Viburnum opulus*. Türkiye Bitkileri Veri Servisi. http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=4510

UBC. (2026). *Viburnum opulus*. E-Flora BC: Electronic Atlas of the Flora of British Columbia. https://linnet.geog.ubc.ca/eflora_SMaps/indexStatic.html?sciname=Viburnum%20opulus&synonyms=%27Viburnum%20opulus%20subsp.%20trilobum%27,%27Viburnum%20trilobum%27&mapservice=Vascular

Ulger, H., Ertekin, T., Karaca, O., Canoz, O., Nisari, M., Unur, E., & Elmalı, F. (2013). Influence of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon

cancer. *Toxicology and Industrial Health*, *29*(9), 824–829. https://doi.org/10.1177/0748233712445049

WFO. (2026). *Viburnum opulus L.* World Flora Online. https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000422807;jsessionid=79FD088ACEBEB8910416F9B615B8DF45

Wu, Z. Y., Raven, P. H., & Hong, D. Y. (Eds.). (2011). *Flora of China* (Vol. 19). Science Press; Missouri Botanical Garden Press.

Yilmaztekin, M., & Sislioglu, K. (2015). Changes in Volatile Compounds and Some Physicochemical Properties of European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) During Ripening Through Traditional Fermentation. *Journal of Food Science*, *80*(4), C687–C694. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12836

Yunusova, S. G., Karimova, A. R., Tsyrlina, E. M., Yunusov, M. S., & Denisenko, O. N. (2004). Change on storage of biological activity of *Viburnum opulus* seed components. *Chemistry of Natural Compounds*, *40*(5), 423–426.

Zakłos-Szyda, M., Nowak, A., Pietrzyk, N., & Podsędek, A. (2020). *Viburnum opulus* L. juice phenolic compounds influence osteogenic differentiation in human osteosarcoma Saos-2 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(14), 4909.

Zayachkivska, O. S., Gzhegotsky, M. R., Terletska, O. I., Lutsyk, D. A., Yaschenko, A. M., & Dzhura, O. R. (2006). Influence of *Viburnum opulus* proanthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, *57 Suppl 5*, 155–167.

BÖLÜM 2

BİTKİLERDE STRES HAFIZASI: FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL MEKANİZMALAR

İBRAHİM SELÇUK KURU[1]
PINAR KARAKUŞ ORCAN[2]

Giriş

Dünya nüfusundaki hızlı artış ve buna paralel olarak yükselen gıda talebi, tarımsal üretimin sürdürülebilirliğini küresel ölçekte stratejik bir öncelik hâline getirmiştir. Ancak küresel iklim değişikliği, tarımsal üretimi tehdit eden en önemli çevresel faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Artan sıcaklıklar, düzensiz yağış rejimleri, uzun süreli kuraklık, toprak tuzluluğunun yaygınlaşması, su kaynaklarının azalması ve ağır metal kirliliği gibi abiyotik stres faktörleri, dünya genelinde bitkisel üretimin miktarını

[1] Doç. Dr., Batman Üniversitesi, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Orcid: 0000-0001-6179-3081
[2] Doç. Dr., Batman Üniversitesi, Gıda İşleme Bölümü, Orcid: 0000-0001-8666-4542

ve kalitesini önemli ölçüde sınırlandırmaktadır (Ganie & ark., 2024: 1895). Mevcut iklim senaryoları, gelecekte kültür bitkilerinin tek bir stres faktörüne değil, yaşam döngüleri boyunca tekrarlayan ve çoğu zaman eş zamanlı gerçekleşen çoklu stres koşullarına maruz kalacağını göstermektedir. Bu nedenle, bitkilerin değişen çevre koşullarına uyum sağlayabilme kapasitesinin anlaşılması, iklim değişikliğine dayanıklı tarım sistemlerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Bitkiler, hareket edemeyen (sessil) organizmalar olmaları nedeniyle olumsuz çevresel koşullardan fiziksel olarak uzaklaşamazlar. Bunun yerine, çevresel değişimleri algılayabilen, bu sinyalleri hücresel düzeyde işleyebilen ve farklı stres koşullarına karşı çok katmanlı savunma mekanizmalarını harekete geçirebilen karmaşık adaptasyon sistemleri geliştirmişlerdir (Jin & ark., 2024: 1907). Stres algılanmasının ardından kalsiyum iyonları (Ca^{2+}), reaktif oksijen türleri (ROT), fitohormonlar ve çeşitli protein kinazların rol aldığı sinyal iletim ağları aktive olmakta; bunun sonucunda gen ekspresyonu yeniden düzenlenmekte ve bitki metabolizması stres koşullarına uygun şekilde yeniden programlanmaktadır (Ravi & ark., 2023: 1985). Bu süreç; stomatal düzenleme, fotosentetik aktivitenin ayarlanması, ozmotik ve iyonik homeostazın korunması, antioksidan savunma sisteminin güçlendirilmesi ve koruyucu metabolitlerin birikimi gibi çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerle sonuçlanmaktadır (Hasanuzzaman & ark., 2020: 681).

Uzun yıllar boyunca bu adaptasyon mekanizmalarının yalnızca stres devam ettiği sürece aktif olduğu düşünülmüştür. Ancak son yirmi yılda gerçekleştirilen çalışmalar, bitkilerin önceki çevresel deneyimlerinden edindikleri bilgileri belirli bir süre muhafaza edebildiğini ve aynı veya benzer stres koşullarıyla yeniden karşılaştıklarında daha hızlı ve daha etkili savunma yanıtları geliştirebildiğini ortaya koymuştur (Crisp & ark., 2016: 1501340;

Lämke & Bäurle, 2017: 124). Bu olgu, bitki stres hafızası olarak tanımlanmaktadır. Bitki stres hafızası, ilk stres deneyiminin ardından oluşan fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklerin tamamen ortadan kalkmaması ve bu değişikliklerin sonraki stres olaylarında bitkiye adaptif bir avantaj sağlaması olarak değerlendirilmektedir. Böylece bitkiler, sonraki stres koşullarıyla karşılaştıklarında savunma mekanizmalarını daha hızlı ve etkili bir şekilde aktive ederek stres kaynaklı zararları azaltabilmekte ve değişen çevre koşullarına uyum kapasitelerini artırabilmektedir (Lämke & Bäurle, 2017: 124).

Bitki stres hafızası, bitkilerin değişken ve tekrarlayan çevresel koşullara uyum sağlamasında önemli bir adaptif mekanizma olarak değerlendirilmektedir. Bu mekanizmanın anlaşılması, yalnızca bitkilerin stres koşullarına verdikleri yanıtların açıklanması açısından değil, aynı zamanda stres toleransının artırılmasına yönelik yeni yaklaşımların geliştirilmesi bakımından da önem taşımaktadır. Nitekim stres ön koşullandırma (priming) temelli çeşitli uygulamaların bitkilerde stres hafızasını uyararak sonraki stres koşullarına karşı daha etkili yanıtların geliştirilmesini sağladığı gösterilmiştir (Mauch-Mani & ark., 2017: 485; Ganie & ark., 2024: 1895). Bu yönüyle stres hafızasının anlaşılması ve tarımsal uygulamalara aktarılması, iklim değişikliğinin bitkisel üretim üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılması ve sürdürülebilir üretim stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemli bir potansiyel taşımaktadır.

Bu bölümde, bitkilerde stres hafızası ağırlıklı olarak fizyolojik ve biyokimyasal açıdan ele alınacaktır. Öncelikle stres hafızasının kavramsal çerçevesi ve oluşum süreçleri açıklanacak; ardından önceki stres deneyimlerinin bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal yanıtları üzerindeki etkileri güncel literatür ışığında değerlendirilecektir. Bunun yanı sıra, stres hafızasının oluşturulması ve güçlendirilmesinde kullanılan farklı priming yaklaşımları

incelenecektir. Son olarak, stres hafızasına ilişkin mevcut bilgi boşlukları ve araştırma sınırlılıkları ele alınarak gelecekteki araştırma yönelimleri değerlendirilecektir.

1. Bitki Stres Hafızasının Kavramsal Çerçevesi

1.1. Bitki Stres Hafızası Kavramı ve Türleri

Bitkilerde stres hafızası, önceki stres deneyiminin etkilerinin stres ortadan kalktıktan sonra belirli bir süre korunması ve daha sonraki stres koşullarına verilen yanıtları etkilemesi olarak değerlendirilmektedir. Stres sonrasındaki iyileşme döneminde stresle ilişkili değişikliklerin büyük bir bölümü başlangıç düzeyine dönerken, bazı değişiklikler korunarak hafızanın oluşmasına katkı sağlayabilmektedir. Bu nedenle stres sonrası dönem, bitkinin stres öncesi durumuna dönmesi ile önceki deneyime ait bazı özellikleri koruması arasındaki dengenin belirlendiği önemli bir süreçtir (Crisp & ark., 2016: 1501340).

Stres hafızası, etkilerinin kalıcılığı ve sonraki nesillere aktarılma durumuna göre farklı biçimlerde sınıflandırılmaktadır. Somatik stres hafızası (somatic stress memory), önceki stres deneyiminin etkilerinin aynı bitkinin yaşamı boyunca belirli bir süre korunmasını ifade etmektedir. Bu hafıza genellikle birkaç gün ile birkaç hafta arasında devam edebilmekte ve sonraki nesillere aktarılmamaktadır. Buna karşılık, stres deneyiminin etkilerinin sonraki nesillerde de görülmesi uzun süreli stres hafızası kapsamında değerlendirilmekte; bu bağlamda nesiller arası (intergenerational) ve nesiller ötesi (transgenerational) stres hafızası kavramları kullanılmaktadır (Siddique & ark., 2024: 349).

Nesiller arası stres hafızası, ebeveyn bitkinin yaşadığı stresin etkilerinin bir sonraki nesilde görülmesini ifade ederken, nesiller ötesi stres hafızası bu etkilerin doğrudan stres deneyimi yaşamamış daha sonraki nesillerde de korunmasını ifade etmektedir. Stres deneyimine ilişkin bilginin bu farklı zaman ölçeklerinde

korunmasında DNA metilasyonu, histon ve kromatin düzenlemeleri gibi epigenetik mekanizmaların yanı sıra transkripsiyonel, hormonal ve metabolik düzenlemeler de rol oynayabilmektedir (Siddique & ark., 2024: 349). Dolayısıyla stres hafızasının süresi ve aktarılabilirliği, hafızanın oluşumunda görev alan mekanizmalarla yakından ilişkilidir.

1.2. Stres Hafızası, Aklimasyon ve Priming Arasındaki İlişki

Bitkilerin çevresel streslere uyumunda stres hafızası, aklimasyon ve priming birbiriyle yakından ilişkili süreçlerdir. Önceki bir çevresel stres deneyimi, bitkinin daha sonra karşılaşacağı stres koşullarına verdiği yanıtı değiştirerek tolerans kapasitesini artırabilmektedir. Önceki deneyimin sonraki yanıtları etkilemesi aklimasyon veya priming ile ilişkilendirilirken, bu kapasitenin stresler arasındaki dönemde korunması stres hafızasının temelini oluşturmaktadır (Charng & ark., 2023: 187).

Aklimasyon, bitkinin değişen çevresel koşullara uyum sağlamasına olanak veren fizyolojik ve biyokimyasal düzenlemeleri kapsamaktadır. Önceki stres deneyimi sırasında ortaya çıkan bazı değişikliklerin korunması, bitkinin daha sonraki stres koşullarına verdiği yanıtı etkileyebilmektedir. Bu nedenle özellikle tekrarlayan stres koşullarında aklimasyon ile stres hafızası arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Başarılı aklimasyon sonucunda oluşan stres hafızasının antioksidatif kapasite, biyokimyasal değişiklikler ve hormonal düzenlemeler gibi farklı mekanizmalarla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Liu & ark., 2022a: 699).

Priming ise bitkinin önceden maruz kaldığı bir stres veya başka bir uyarıcı sonucunda sonraki streslere karşı daha hazırlıklı hâle gelmesini sağlayan adaptif bir süreçtir. İlk stres deneyimi sırasında edinilen bilginin belirli bir süre korunması, bitkinin sonraki stresle karşılaştığında daha hızlı ve etkili yanıt geliştirmesine olanak sağlayabilmektedir. Bu nedenle priming sonucunda oluşan

hazırlanmış durumun korunması ve gerektiğinde yeniden kullanılabilmesi, priming ile stres hafızası arasındaki temel bağlantıyı oluşturmaktadır (Nair & ark., 2022: 3355).

Bu çerçevede aklimasyon, priming ve stres hafızası birbirinden tamamen bağımsız süreçler olarak değerlendirilmemelidir. Aklimasyon daha çok çevresel koşullara uyumla, priming sonraki streslere karşı hazırlıklı bir durumun oluşmasıyla, stres hafızası ise önceki deneyimin etkilerinin korunarak daha sonraki stres yanıtlarını şekillendirmesiyle ilişkilidir. Bununla birlikte, bu süreçler arasında kesin sınırlar çizmek her zaman mümkün değildir. Bu kavramlar, bitkilerin değişken ve tekrarlayan çevresel koşullara uyumunu sağlayan birbiriyle bağlantılı adaptif süreçlerin farklı yönlerini ifade etmektedir.

2. Bitki Stres Hafızasının Fizyolojik Mekanizmaları

2.1. Fotosentetik Performans

Fotosentez, bitki büyümesi ve gelişiminin temelini oluşturan fizyolojik süreçlerden biri olup çevresel streslerden hızla etkilenen metabolik mekanizmalar arasında yer almaktadır. Kuraklık, tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık gibi abiyotik stresler; fotosentetik pigment içeriğinde azalma, stomatal iletkenlikte bozulma, karbon asimilasyonunun sınırlandırılması ve fotosistemlerin işlevlerinde değişiklikler yoluyla fotosentetik kapasiteyi önemli ölçüde azaltabilmektedir. Bununla birlikte, önceki stres deneyimleri sonucunda oluşan stres hafızası, bitkilerin sonraki stres koşullarında fotosentetik işlevlerini daha etkin biçimde sürdürmelerine katkıda bulunabilmektedir (Sherin & ark., 2022: 100079; Aswathi & ark., 2025: 70372).

Stres hafızasının fotosentetik performans üzerindeki etkileri, özellikle fotosentetik pigmentlerin korunması, Fotosistem II (PSII) etkinliği, elektron taşıma kapasitesi ve klorofil floresans parametrelerindeki değişimlerle ilişkilidir. Bu kapsamda maksimum

PSII kuantum verimi (Fv/Fm), fotosentetik aparatın stres koşullarındaki işlevsel durumunun değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Baker, 2008: 89). Yüksek sıcaklık stresinin fotosentetik hafıza üzerindeki etkilerini inceleyen Hu & ark. (2015: 403), *Festuca arundinacea* bitkisinde tekrarlanan sıcaklık ön uygulamalarının sonraki şiddetli sıcaklık stresi sırasında PSII reaksiyon merkezlerindeki enerji taşınımını daha iyi koruduğunu belirlemiştir. Ayrıca ısı şok proteinleriyle ilişkili genlerde transkripsiyonel hafıza yanıtlarının oluştuğu ve bu değişimlerin bitkilerin sıcaklık toleransının artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Benzer şekilde, tuzlulukla ön koşullandırmanın sonraki düşük sıcaklık stresine etkisini araştıran Li ve & (2020: 62), *Triticum aestivum* fidelerinde 30 mM NaCl ile yapılan ön uygulamanın ardından PSII'nin fotokimyasal etkinliğinin daha iyi korunduğunu belirlemiştir. Ön koşullandırılmış bitkilerde reaksiyon merkezlerindeki enerji akışının daha etkin sürdürüldüğü, düşük sıcaklığın neden olduğu lipid peroksidasyonunun ve hücresel hasarın azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular, önceki bir stres uyarısının farklı bir stres koşulunda fotosentetik sistemin korunmasına katkıda bulunabileceğini ve çapraz stres toleransının gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, stres hafızasının fotosentetik performans üzerindeki etkisinin yalnızca fotosentez hızının artırılmasıyla sınırlı olmadığı; fotosistemlerin işlevsel bütünlüğünün korunması, enerji taşınımının düzenlenmesi ve fotokoruyucu mekanizmaların güçlendirilmesiyle de ilişkili olduğu görülmektedir. Dolayısıyla fotosentetik stres hafızası, bitkilerin önceki çevresel deneyimlerine bağlı olarak sonraki stres koşullarında fotosentetik işlevlerini yeniden düzenlemelerine olanak sağlayan önemli bir fizyolojik mekanizma olarak değerlendirilebilir.

2.2. Su İlişkileri

Bitkilerde su ilişkileri; hücre turgorunun korunması, fotosentezin sürdürülmesi ve büyüme ile metabolik faaliyetlerin devamlılığı açısından temel fizyolojik süreçlerden biridir. Kuraklık koşullarında bitki su durumunun bozulması; yaprak su içeriğinde azalma, stomatal iletkenlik ve transpirasyonda değişimler ve buna bağlı olarak fotosentetik performansın sınırlandırılmasıyla sonuçlanabilmektedir (Sintaha & ark., 2022: 2954). Bununla birlikte, bitkilerin önceki su stresi deneyimleri sonraki stres koşullarında su durumunun düzenlenme biçimini değiştirebilmekte; bağıl su içeriği, stomatal iletkenlik, transpirasyon ve su kullanım etkinliği gibi fizyolojik özelliklerde farklı yanıtların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Virlouvet & ark., 2018: 1058; Bester & ark., 2024: 105749). Bu durum, su ilişkilerindeki düzenlemelerin bitkilerde stres hafızasının önemli fizyolojik bileşenlerinden biri olduğunu göstermektedir.

Tekrarlayan kuraklık koşullarında önceki stres deneyiminin özellikle stomatal davranış ve su kaybının kontrolü üzerinde belirgin etkiler oluşturabildiği gösterilmiştir. *Zea mays* bitkilerinde ardışık dehidrasyon ve yeniden sulama döngülerinin incelendiği bir çalışmada, ilk stres sonrasında bağıl su içeriği yeniden başlangıç düzeyine ulaşmasına rağmen stomatal iletkenlik ve transpirasyonun tamamen eski düzeylerine dönmediği; ikinci dehidrasyon sırasında ise stomatal iletkenliğin ilk stres dönemine göre daha fazla azaldığı belirlenmiştir (Virlouvet & ark., 2018: 1058). Bu bulgular, stomatal davranışın önceki stres deneyiminden etkilendiğini ve tekrarlayan su kısıtı sırasında su kaybının düzenlenmesinin fizyolojik stres hafızasının önemli bir bileşeni olabileceğini göstermektedir.

Benzer şekilde, soya fasulyesinde kuraklıkla ön koşullandırmanın sonraki kuraklık döneminde bitkinin su durumunu iyileştirdiği bildirilmiştir. Ön koşullandırılmış bitkilerde, ön koşullandırılmamış bitkilere kıyasla yaprak su içeriğinin %13'ten

fazla arttığı, koparılan yapraklardan su kaybının daha yavaş gerçekleştiği ve stomatal iletkenlik ile transpirasyonun azaldığı belirlenmiştir. Aynı zamanda su kullanım etkinliğinde yaklaşık %30'luk bir artış ve kök/sürgün oranında yükselme gözlenmiş; bu değişimlerin tekrarlayan kuraklık koşullarında bitkinin su durumunun korunmasına katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (Sintaha & ark., 2022: 2954). Bu sonuçlar, stres hafızasının su kaybının sınırlandırılması ve su kullanımının düzenlenmesi yoluyla bitkinin sonraki kuraklık olaylarına karşı fizyolojik performansını artırabileceğini göstermektedir.

Daha yakın tarihli çalışmalar da stres hafızasının bitki su ilişkileri üzerindeki bu etkisini desteklemektedir. Su noksanlığı ve su baskını koşullarında priming ve çapraz priming uygulanan soya fasulyesi bitkilerinde, sonraki stres ve iyileşme dönemlerinde ksilem su potansiyeli ve yaprak bağıl su içeriğinin daha iyi korunduğu bildirilmiştir. Priming uygulanmış bitkilerin ayrıca minimum stomatal iletkenliği sürdürebildiği ve daha yüksek su kullanım etkinliği gösterdiği belirlenmiştir (Bester & ark., 2024:105749). Bu bulgular birlikte ele alındığında, bağıl su içeriği ve su potansiyelinin korunması ile stomatal iletkenlik, transpirasyon ve su kullanım etkinliğindeki düzenlemelerin, önceki stres deneyiminin sonraki su streslerine verilen fizyolojik yanıtı şekillendirmesinde önemli rol oynadığı görülmektedir.

2.3. Ozmotik Düzenleme

Ozmotik düzenleme, bitkilerin kuraklık ve tuzluluk gibi hücresel su durumunu olumsuz etkileyen çevresel streslere karşı geliştirdiği önemli fizyolojik uyum mekanizmalarından biridir. Bu süreçte prolin, glisin betain, çözünür şekerler ve diğer uyumlu çözünen maddelerin birikimi, hücre ozmotik potansiyelinin düzenlenmesine ve turgorun korunmasına katkıda bulunmaktadır (Ashraf & Foolad, 2007: 206; Blum, 2017: 4). Bu bileşikler, ozmotik

düzenlemenin yanı sıra proteinlerin ve hücre zarlarının stabilizasyonuna katkı sağlayarak stres koşullarında hücresel işlevlerin sürdürülmesinde de önemli rol oynayabilmektedir (Ashraf & Foolad, 2007: 206).

Tekrarlayan stres koşullarında önceki stres deneyiminin ozmolit metabolizmasını değiştirebildiğine ilişkin deneysel bulgular bulunmaktadır. Nitekim zeytinde (*Olea europaea* L. cv. Chétoui) ilk kuraklık uygulamasının ardından iyileşme dönemine alınan ve daha sonra yeniden kuraklığa maruz bırakılan ön koşullandırılmış bitkilerde, kuraklığı ilk kez yaşayan bitkilere göre prolin ve toplam şeker birikiminin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu artışın, bitkilerin su durumunu daha iyi korumasına ve sonraki daha şiddetli kuraklığa karşı tolerans geliştirmesine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Ben Abdallah & ark., 2017: 43). Buna karşılık, kuraklıkla ön koşullandırılmış dut (*Morus* spp.) fidanlarında ikinci kuraklık döneminde çözünür şeker, serbest prolin ve çözünür protein düzeylerinin ön koşullandırılmamış bitkilere göre daha düşük olmasına rağmen biyokütle birikiminin daha iyi korunduğu belirlenmiştir (Liu & ark., 2022b: 76). Bu farklı bulgular, stres hafızasında ozmotik düzenlemenin yalnızca ozmolit miktarındaki artışla açıklanamayacağını; ozmolitlerin sentez, birikim ve kullanım dinamiklerinin bitki türüne, stresin şiddetine ve önceki stres deneyimine bağlı olarak farklı biçimlerde yeniden düzenlenebileceğini göstermektedir. Dolayısıyla stres hafızası bağlamında ozmotik düzenleme, yalnızca ozmolit miktarındaki değişimlerle açıklanabilecek tek yönlü bir süreç olmayıp hücresel su dengesinin korunmasına yönelik fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlarla bütünleşen dinamik bir mekanizmadır.

2.4. Stomatal Düzenleme

Stomatal düzenleme, bitkilerin çevresel stres koşullarına uyumunda rol oynayan temel fizyolojik mekanizmalardan biridir.

Özellikle bitkinin su dengesini etkileyen kuraklık ve tuzluluk gibi stres koşullarında stomatal iletkenliğin düzenlenmesi, transpirasyon yoluyla su kaybının kontrol edilmesine ve bitki su durumunun korunmasına katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte, tekrarlanan stres koşullarında stomatal davranış yalnızca mevcut strese verilen anlık bir yanıt olmayıp önceki stres deneyiminden de etkilenebilmektedir. Nitekim *Zea mays* fidelerinde gerçekleştirilen tekrarlayan dehidrasyon–rehidrasyon döngülerinde stomatal iletkenliğin fizyolojik bir hafıza örüntüsü sergilediği ve bu yanıtın fotosentetik ve transkripsiyonel değişimlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Virlouvet & ark., 2018: 1058). ABA, su eksikliği sırasında stomatal kapanmanın temel düzenleyicilerinden biri olup Raf-benzeri MAP3K–SnRK2 sinyal ağı, ABA sinyalinin iletilmesi ve stomatal yanıtın oluşturulmasında önemli rol oynamaktadır (Takahashi & ark., 2020: 12). Stres primingi ve hafızası kapsamında meydana gelen bu fizyolojik düzenlemeler, stomatal iletkenlik ile CO_2 alımı arasındaki dengenin sonraki stres koşullarına göre yeniden ayarlanmasına olanak sağlayabilmektedir (Aswathi & ark., 2025: 70372). Bu yönüyle stomatal düzenleme, önceki stres deneyiminin su kaybının kontrolü ile fotosentetik karbon kazanımı arasındaki dengeyi sonraki stres koşullarına göre yeniden şekillendirebildiği önemli fizyolojik süreçlerden birini oluşturmaktadır.

2.5. Büyüme Yanıtları ve Membran Stabilitesi

Bitki büyümesi, çevresel stres koşullarından doğrudan etkilenen temel fizyolojik süreçlerden biridir. Abiyotik stresler, hücre bölünmesi ve hücre genişlemesini değiştirerek büyümenin yavaşlamasına ve biyokütle üretiminin azalmasına neden olabilmekte; bitkiler ise sınırlı kaynakları büyüme, savunma ve hayatta kalma arasında yeniden dağıtarak bu koşullara uyum sağlamaktadır (Skirycz & Inzé, 2010: 197). Önceki stres deneyiminin korunması, sonraki stres dönemlerinde büyüme yanıtının farklılaşmasına ve bitki dokularının daha iyi korunmasına

katkıda bulunabilmektedir. Nitekim *Arrhenatherum elatius* bitkilerinde erken dönemde kuraklık stresine maruz bırakılan bireylerin, daha sonraki bir kuraklık döneminde ilk kez strese maruz kalan bitkilere göre daha yüksek oranda canlı biyokütle koruduğu gösterilmiş ve bu durum uzun süreli bir kuraklık hafızasının fizyolojik göstergelerinden biri olarak değerlendirilmiştir (Walter & ark., 2011: 34). Bu bulgular, stres hafızasının büyümenin kesintisiz sürdürülmesinden ziyade, tekrarlanan stres altında canlı dokunun ve büyüme kapasitesinin daha etkin korunmasına katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Büyüme kapasitesinin korunması, hücresel yapıların ve özellikle membran bütünlüğünün sürdürülebilmesiyle yakından ilişkilidir. Çeşitli abiyotik stresler sırasında aşırı reaktif oksijen türü birikimi, membran lipidlerinde peroksidasyona yol açarak zar geçirgenliğini artırabilmekte, iyon homeostazını bozabilmekte ve hücresel hasarı şiddetlendirebilmektedir (Hasanuzzaman & ark., 2020: 681). Stresle ön koşullandırma sonucunda oluşan fizyolojik hafıza ise sonraki stres sırasında membran bütünlüğünün daha iyi korunmasına katkı sağlayabilmektedir. Örneğin, iki döngü kuraklıkla ön koşullandırmaya maruz bırakılan *Agrostis stolonifera* bitkilerinde, daha sonraki kuraklık veya yüksek sıcaklık stresi sırasında hücre membran stabilitesinin ön koşullandırma uygulanmamış bitkilere göre daha yüksek olduğu ve oksidatif hasarın azaldığı gösterilmiştir (Yuan & ark., 2026: 701). Membran bütünlüğünün daha iyi korunması, tekrarlanan stres koşullarında hücresel hasarın sınırlandırılmasına ve buna bağlı olarak fizyolojik işlevler ile büyüme kapasitesinin sürdürülmesine katkı sağlamaktadır.

3. Bitki Stres Hafızasının Biyokimyasal Mekanizmaları

3.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Antioksidan Savunma Sistemi

Reaktif oksijen türleri (ROT), bitkilerin çevresel streslere verdiği yanıtların önemli bileşenlerinden biri olup stres hafızasının oluşumunda hem oksidatif hasar oluşturucu hem de sinyal düzenleyici işlevlere sahiptir. Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$) ve singlet oksijen ($^1O_2$) gibi ROT'lar kuraklık, tuzluluk, sıcaklık ve diğer stres koşullarında hücrelerde birikebilir. Aşırı ROT üretimi lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara yol açarken, kontrollü ve geçici ROT artışları stresin algılanması ve hücreler arası sinyal iletiminde görev yapmaktadır. Özellikle H_2O_2'nin görece kararlı yapısı, ROT'un Ca^{2+}, fitohormonlar ve diğer sinyal bileşenleriyle etkileşerek stres yanıtlarının düzenlenmesine katkıda bulunmasını sağlamaktadır. Bu nedenle ROT homeostazının kontrollü biçimde düzenlenmesi, bitkilerin stres koşullarına uyumunda olduğu kadar priming ile indüklenen stres hafızasının oluşumunda da önemli bir mekanizma olarak kabul edilmektedir (Hendrix & ark., 2025: 3686).

Bitkinin daha önce hafif veya orta şiddette bir stresle karşılaşması, sonraki streslere karşı ROT metabolizmasının daha etkin biçimde düzenlenmesini sağlayabilir. İlk stres sırasında oluşan ROT sinyalleri, antioksidan savunma sisteminin aktivasyonuna katkıda bulunarak bitkiyi daha sonraki stres koşullarına hazırlayabilir. Bu süreçte süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), peroksidaz (POX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimatik antioksidanların yanı sıra askorbat ve glutatyon gibi enzimatik olmayan antioksidanlar ROT homeostazının korunmasında görev almaktadır. Priming sonrasında bu savunma mekanizmalarında meydana gelen kalıcı veya daha hızlı yeniden aktive edilebilir değişiklikler, tekrarlanan stres sırasında oksidatif hasarın sınırlandırılmasına katkıda bulunabilir. Böylece stres hafızası, ROT üretiminin tamamen engellenmesinden ziyade ROT üretimi ve temizlenmesi arasındaki dengenin daha etkin

yönetilmesiyle ilişkilendirilmektedir (Jacques & ark., 2021: 1873; Hendrix & ark., 2025: 3686).

Antioksidan savunma sisteminin stres hafızasındaki rolü deneysel çalışmalarla da ortaya konulmuştur. *Alopecurus pratensis* bitkilerinde tekrarlanan kuraklık uygulamalarını inceleyen Lukić & ark. (2020: 104166), daha önce kuraklığa maruz kalan bitkilerin iyileşme döneminden sonra bile yüksek SOD ve POX aktivitelerini koruduğunu ve sonraki kuraklık sırasında daha düşük doku hasarı gösterdiğini belirlemiştir. Dikkat çekici olarak, bu biyokimyasal farklılıkların stres ortadan kaldırıldıktan sonra birkaç hafta boyunca devam etmesi, antioksidan sistemdeki değişikliklerin yalnızca anlık bir stres yanıtı olmadığını, uzun süreli stres hafızasının biyokimyasal bileşenlerinden biri olabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, ilk stres deneyiminin antioksidan kapasite üzerinde bıraktığı kalıcı etkinin bitkinin tekrarlanan streslere daha hazırlıklı yanıt vermesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Lukić & ark., 2020: 104166).

Benzer şekilde, *Morus multicaulis* fidanlarında gerçekleştirilen tekrarlanan kuraklık deneylerinde, önceden kuraklık deneyimi bulunan bitkilerin ikinci kuraklık uygulamasına verdikleri yanıtların stres deneyimi olmayan bitkilerden farklı olduğu belirlenmiştir. Ön stres uygulaması sonraki kuraklık sırasında büyüme kayıplarını azaltırken ROT birikimi, lipid peroksidasyonu ve antioksidan savunmayla ilişkili parametrelerde de değişikliklere neden olmuştur. Bununla birlikte stres hafızasının antioksidan enzimlerin sürekli olarak daha yüksek aktivite göstermesi şeklinde değerlendirilmemesi gerekir. Önceden stres yaşamış bitkilerde daha etkin ROT kontrolü nedeniyle ikinci stres sırasında bazı antioksidan enzimlerin aktivitesi daha düşük de olabilmektedir. Dolayısıyla stres hafızasının temel özelliği antioksidan aktivitenin mutlak olarak artırılmasından çok, ROT üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengenin sonraki stres koşullarında daha etkin ve dinamik

biçimde düzenlenmesidir (Liu & ark., 2022b: 76). Bu durum, ROT–antioksidan sisteminin bitkilerde stres hafızasının oluşumu ve tekrarlanan streslere karşı gelişen toleransın önemli biyokimyasal bileşenlerinden biri olduğunu göstermektedir.

3.2. Fitohormonal Düzenleme ve Sinyal İletimi

Fitohormonlar, çevresel streslerin algılanması ile hücresel yanıtların oluşturulması arasında bağlantı kuran önemli sinyal molekülleri olup stres hafızasının oluşumu ve sürdürülmesinde de rol oynamaktadır. İlk stres deneyimi, hormonların biyosentezi, metabolizması ve sinyal iletiminde değişikliklere yol açarak bitkinin sonraki streslere verdiği yanıtı yeniden şekillendirebilir. Bu süreçte özellikle absisik asit (ABA), jasmonik asit (JA), salisilik asit (SA) ve etilen gibi stresle ilişkili hormonların yanı sıra oksin, sitokinin ve gibberellinler (GA) arasındaki etkileşimler önem taşımaktadır. Dolayısıyla stres hafızasının hormonal bileşeni, tek bir hormonun miktarındaki kalıcı değişimden ziyade, hormon sinyallemesinin önceki stres deneyimine bağlı olarak yeniden düzenlenmesi ve sonraki stres sırasında farklı biçimde aktive edilmesiyle ilişkilendirilmektedir (Hilker & Schmülling, 2019: 753; Siddique & ark., 2024: 349).

ABA, özellikle kuraklık stres hafızasında en fazla araştırılan hormonal düzenleyicilerden biridir. Tekrarlanan kuraklık koşullarında yalnızca ABA düzeylerinin değil, ABA biyosentezi ve sinyal iletimiyle ilişkili genlerin yanıtlarının da önceki stres deneyiminden etkilenebildiği gösterilmiştir. Örneğin *Arabidopsis thaliana*'da tekrarlanan dehidrasyon uygulamalarında ABA ile indüklenen RAB18 gibi bazı stres yanıt genlerinin transkript düzeylerinin sonraki stres döngülerinde giderek arttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, tekrarlanan kuraklığa maruz bırakılan bitkilerde ABA biyosentezinde görev alan ZEP, NCED ve AO genlerinin ekspresyonunda iyileşme döneminden sonra da devam edebilen

değişiklikler belirlenmiştir. Bu bulgular, ABA ile ilişkili yolakların yalnızca anlık stres yanıtında değil, önceki stres bilgisinin korunması ve sonraki stres sırasında yanıtın yeniden düzenlenmesinde de rol oynayabileceğini göstermektedir (Ding & ark., 2012: 740; Kambona & ark., 2023: 26).

Stres hafızasının hormonal düzenlenmesi ABA ile sınırlı olmayıp farklı hormonlar arasındaki etkileşimleri de kapsamaktadır. JA ve SA özellikle stres sinyallerinin güçlendirilmesi ve savunma yanıtlarının hazırlanmasında rol oynarken, ABA–JA sinyal yolakları arasında da stres hafızası açısından önemli etkileşimler bulunmaktadır. JA ile ön uygulamanın *Arabidopsis*'te bazı ABA'ya bağımlı dehidrasyon hafıza genlerinin sonraki stres sırasındaki transkripsiyonunu güçlendirebildiği; bu yanıtın MYC2 transkripsiyon faktörü ile kromatin düzeyindeki değişikliklerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum, bir hormon tarafından oluşturulan ön koşullandırmanın başka bir hormonal sinyal yolu üzerinden sonraki stres yanıtını değiştirebileceğini ve stres hafızasının birbirinden bağımsız hormonal yollar yerine birbiriyle etkileşim hâlindeki sinyal ağları aracılığıyla düzenlendiğini göstermektedir (Liu & Avramova, 2016: 8; Hilker & Schmülling, 2019: 753).

Fitohormonal düzenlemenin stres hafızasındaki rolü hormon düzeylerinin doğrudan ölçüldüğü çalışmalarla da desteklenmektedir. *Aptenia cordifolia*'da tekrarlanan kuraklık uygulamasında, daha önce kuraklığa maruz kalmış bitkilerin ikinci stres sırasında ABA düzeylerinin kuraklığı ilk kez yaşayan bitkilere göre daha yüksek olduğu, buna karşılık GA düzeylerinin daha düşük kaldığı belirlenmiştir (Fleta-Soriano & ark., 2015: 0135391). Benzer şekilde, vejetatif dönemde tuzlulukla ön koşullandırılan çeltik bitkilerinde tane dolumu dönemindeki kuraklık sırasında ABA, JA ve SA metabolizması ile ilişkili hormonal ve transkripsiyonel değişiklikler belirlenmiş; özellikle yapraklardaki yüksek ABA

düzeyleri uzun süreli çapraz stres hafızasıyla ilişkilendirilmiştir (Rossatto & ark., 2023: 105187). Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, fitohormonal düzenlemenin stres hafızasında sabit bir hormonal profil oluşturmaktan çok, önceki stres deneyimine bağlı olarak hormon metabolizması ve sinyal ağlarının yeniden yapılandırılmasını içeren dinamik bir mekanizma olduğu söylenebilir.

3.3. Sekonder Metabolitler

Sekonder metabolitler, bitkilerin çevresel streslere karşı geliştirdiği biyokimyasal savunma yanıtlarının önemli bileşenleri arasında yer almakta ve önceki stres deneyimine bağlı olarak düzeyleri değişebilmektedir. Stres hafızası açısından, ilk stres sırasında meydana gelen metabolik değişikliklerin stres sonrasında kısmen korunması veya sonraki stres sırasında farklı bir metabolik yanıtın ortaya çıkmasına yol açması önem taşımaktadır. Nitekim *Dipteryx alata*'da tekrarlanan kuraklık uygulamalarının primer, sekonder ve antioksidan metabolizmayı yeniden düzenlediği; özellikle benzoik ve nikotinik asit gibi metabolitlerde meydana gelen değişimlerin önceki kuraklık deneyimiyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu metabolik düzenlenmenin, bitkinin tekrarlanan kuraklık koşullarına uyumunda rol oynayabileceği bildirilmiştir (Alves & ark., 2020:16455).

Benzer şekilde, *Arabidopsis thaliana*'da ısı ile ön koşullandırmanın sonraki şiddetli ısı stresine verilen metabolik yanıtı değiştirdiği gösterilmiştir. Ön koşullandırılmış bitkilerde bazı metabolik değişimlerin iyileşme döneminde de devam ettiği; flavonoid metabolizmasıyla ilişkili dihidrokaempferolün yanı sıra naringenin, sinapat ve larisiresinol gibi sekonder metabolitlerin düzeylerinde değişimler meydana geldiği belirlenmiştir (Serrano & ark., 2019: 181). Ayrıca *Brassica napus* üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, soğuk stresini takiben ısı stresine maruz bırakılan

bitkilerin sonraki nesillerinde toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin arttığı belirlenmiştir. Bu değişikliklere antioksidan aktivitedeki artışların da eşlik etmesi, ana bitkinin yaşadığı stres deneyiminin yavru bitkilerin biyokimyasal özelliklerini etkileyebildiğini göstermiştir (Çağlı & ark., 2025: 666528). Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, sekonder metabolitlerin stres hafızasındaki rolünün yalnızca miktarlarındaki artış veya azalışla sınırlı olmadığı; önceki stres deneyiminin sekonder metabolizmayı yeniden düzenleyerek etkilerini aynı bireyde veya sonraki nesillerde sürdürebildiği görülmektedir.

4. Stres Primingi ve Stres Hafızasının İndüklenmesi

4.1. Kimyasal Priming

Kimyasal priming, bitkilerin stresle karşılaşmadan önce çeşitli sinyal molekülleri veya kimyasal bileşiklerle muamele edilerek sonraki stres koşullarına karşı daha hızlı ve etkili yanıt verebilecek fizyolojik ve biyokimyasal bir duruma hazırlanmasını ifade etmektedir. Salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA), absisik asit (ABA), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve melatonin gibi bileşikler bu amaçla kullanılan kimyasal priming ajanları arasında yer almaktadır. Bu uygulamalar antioksidan savunma, hormonal sinyal iletimi, ozmotik düzenleme ve stresle ilişkili genlerin ekspresyonu gibi süreçleri etkileyerek bitkinin sonraki streslere verdiği yanıtı değiştirebilmektedir (Savvides & ark., 2016: 329; Kerchev & ark., 2020: 107503). Stres hafızası açısından önemli olan nokta, priming ajanının etkisinin yalnızca uygulama sırasında ortaya çıkması değil, uygulama sonrasında belirli moleküler veya biyokimyasal değişikliklerin korunarak sonraki stres sırasında daha hızlı veya daha güçlü bir yanıtın oluşmasına katkıda bulunmasıdır (Savvides & ark., 2016: 329).

Kimyasal priming ile stres hafızası arasındaki ilişkiye yönelik önemli moleküler kanıtlardan biri *Arabidopsis thaliana*'da

jasmonik asit uygulamasıyla ortaya konulmuştur. JA ön uygulamasının tek başına incelenen dehidrasyon yanıt genlerinin transkripsiyonunu doğrudan uyarmadığı, ancak daha sonraki dehidrasyon stresi sırasında ABA'ya bağlı RD29B, RAB18, LTP3 ve LTP4 gibi hafıza genlerinin transkripsiyonunu belirgin biçimde güçlendirdiği gösterilmiştir. JA ile priming sonrasında bu genlerde aktif RNA polimeraz II ve H3K4me3 birikiminin stres ortaya çıkmadan önce gerçekleştiği ve bu moleküler durumun JA uzaklaştırıldıktan sonraki iyileşme döneminde de korunduğu belirlenmiştir. MYC2 transkripsiyon faktörü ve MED25 aracılı sinyal mekanizmasının da bu süreçte rol aldığı gösterilmiştir (Liu & Avramova, 2016: 8). Bu bulgular, kimyasal primingin yalnızca geçici bir stres yanıtını uyarmadığını, sonraki stresle karşılaşmada belirli genlerin yanıt verme kapasitesini değiştiren moleküler bir hazırlık durumu oluşturabildiğini göstermektedir.

4.2. Biyolojik Priming

Biyolojik priming, yararlı mikroorganizmaların bitkilerle etkileşimi yoluyla savunma ve stres yanıtlarının önceden hazırlanmasını sağlayan bir priming yaklaşımıdır. Bu amaçla bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR), mikorizal mantarlar ve *Trichoderma* gibi yararlı mikroorganizmalar kullanılabilmektedir (Pieterse & ark., 2014: 347). Bu mikroorganizmalarla gerçekleşen etkileşimler, hormonal sinyal yolları, antioksidan savunma sistemi ve stresle ilişkili genlerin ekspresyonu gibi çeşitli süreçleri etkileyerek bitkilerin sonraki stres koşullarına verdiği yanıtı değiştirebilmektedir (Mahmood & ark., 2016: fiw112).

Biyolojik primingin stres hafızasıyla ilişkisine yönelik bulgular da bulunmaktadır. Domateste (*Solanum lycopersicum*) bitki büyümesini teşvik eden rizobakteri *Enterobacter ludwigii* ve arbusküler mikorizal mantar *Glomus deserticola* uygulamalarının kuraklık primingiyle birlikte bitkinin metabolik yanıtlarını

değiştirdiği gösterilmiştir. Özellikle PGPR ile kuraklık priminginin birlikte uygulanması prolin, çözünür şeker, flavonoid ve antosiyanin birikiminin yanı sıra fenilalanin amonyak liyaz aktivitesini artırarak stres koşullarındaki metabolik yanıtları güçlendirmiştir (David & ark., 2026: 7747). Ayrıca mikrobiyal primingin stres yanıt mekanizmalarını önceden uyararak bitkilerin sonraki streslere daha hızlı ve güçlü yanıt vermesine katkıda bulunabileceği ve bu durumun stres hafızasının gelişimiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (Thakur & Yadav, 2026: 179). Bu bulgular, yararlı mikroorganizmaların oluşturduğu fizyolojik ve biyokimyasal hazırlık durumunun stres hafızasının şekillenmesine katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir.

4.3. Nanopriming

Nanopriming, tohumların veya bitkilerin nanopartiküllerle ön uygulamaya tabi tutularak çimlenme, büyüme ve stres toleransıyla ilişkili fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin uyarılmasına dayanan yeni bir priming yaklaşımıdır. Bu amaçla ZnO, SiO_2, Fe_2O_3 ve TiO_2 gibi metal veya metal oksit nanopartiküllerinin yanı sıra farklı nanomateryaller kullanılabilmektedir. Nanopriming uygulamalarının ROT homeostazı, hormonal sinyal iletimi, ozmotik düzenleme ve stresle ilişkili genlerin ekspresyonu üzerinde etkili olarak bitkileri daha sonraki stres koşullarına hazırlayabildiği bildirilmektedir. Ayrıca nanopartiküllerin düşük ve kontrollü dozlarda oluşturduğu hafif uyarının, sonraki streslere karşı daha etkili yanıt verilmesini sağlayan bir hazırlık durumu oluşturabileceği düşünülmektedir (Mahakham & ark., 2017: 8263; do Espirito Santo Pereira & ark., 2021: 267).

Nanopriming ile stres hafızası arasındaki ilişkiyi destekleyen deneysel bulgular da bulunmaktadır. Buğdayda kitosan ve yeşil çay ekstraktından hazırlanan nanokompozitle yapılan tohum

priminginin, daha sonraki tuzluluk stresi altında antioksidan savunmayı güçlendirdiği, ROT üretimini düzenlediği, lipid peroksidasyonunu azalttığı ve membran stabilitesini artırdığı belirlenmiş; bu fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler nanopriming ile oluşturulan hafıza izleriyle ilişkilendirilmiştir (Farooq & ark., 2022: 540). Daha yakın tarihli bir çalışmada ise CeO_2 nanopartikülleriyle priming uygulanan *Arabidopsis thaliana* bitkilerinin yavrularında tuzluluk toleransının arttığı ve bu etkinin DNA metilasyonundaki değişiklikler ile stres ve antioksidan savunmayla ilişkili genlerin ekspresyonundaki farklılıklarla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Li & ark., 2025: 100214). Bu sonuçlar, nanopriming etkilerinin yalnızca uygulamayı izleyen kısa süreli fizyolojik değişikliklerle sınırlı kalmayabileceğini, bazı koşullarda epigenetik düzenlemeler aracılığıyla sonraki nesillere kadar taşınabilen stres hafızasıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir.

5. Mevcut Sınırlılıklar ve Gelecekteki Araştırma Yönelimleri

Bitki stres hafızası, değişken çevre koşullarına uyumun açıklanmasında giderek daha fazla önem kazanan bir kavram olmakla birlikte, bu mekanizmanın tarımsal üretimde güvenilir ve öngörülebilir biçimde kullanılabilmesi için hâlen cevaplanması gereken önemli sorular bulunmaktadır. Mevcut çalışmaların önemli bir bölümü kontrollü koşullarda ve tek bir stres faktörü üzerinden yürütülmektedir. Oysa doğal ve tarımsal ekosistemlerde bitkiler kuraklık, yüksek sıcaklık, tuzluluk, su baskını ve besin noksanlığı gibi streslerle farklı şiddetlerde, sürelerde ve çoğu zaman eş zamanlı veya ardışık olarak karşılaşmaktadır. Bu nedenle gelecekteki araştırmaların tek stres modellerinden çok, gerçek çevre koşullarını temsil eden tekrarlayan, ardışık ve kombine stres senaryolarına yönelmesi gerekmektedir. Özellikle bir stres tarafından oluşturulan hafızanın farklı bir strese karşı koruma sağlayıp sağlamadığı ve bu çapraz stres hafızasının hangi fizyolojik ve biyokimyasal

mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştiğinin ortaya konulması, iklim değişikliğine dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi açısından önemli olacaktır (Liu & ark., 2022a: 699; Ganie & ark., 2024: 1895; Aswathi & ark., 2025: 70372).

Stres hafızasının gelecekte çözülmesi gereken en önemli yönlerinden biri, hafızanın süresi ve silinme mekanizmalarıdır. İlk stres deneyiminin ardından oluşan fizyolojik, metabolik ve moleküler değişikliklerin ne kadar süreyle korunduğu ve hangi koşullarda başlangıç durumuna döndüğü bitki türüne, genotipe, gelişme dönemine ve stresin niteliğine bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca stres hafızasının sürekli korunmasının her zaman avantajlı olmayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Savunma durumunun uzun süre devam ettirilmesi enerji ve kaynak maliyeti oluşturarak büyüme ve üreme üzerinde olumsuz etkiler meydana getirebilir. Dolayısıyla gelecekte yalnızca stres hafızasının nasıl oluşturulduğunun değil, bitkinin bu hafızayı ne zaman koruduğunun, ne zaman yeniden kullandığının ve ne zaman sildiğinin (resetting) anlaşılması gerekmektedir. Stres hafızası ile normal büyüme durumuna dönüş arasındaki bu dinamik dengenin açıklanması, stres toleransı ile büyüme ve verim arasındaki ilişkinin ve bu süreçler arasındaki dengenin anlaşılması açısından kritik öneme sahiptir (Crisp & ark., 2016: 1501340; Staacke & ark., 2025: 2402).

Benzer şekilde, stres hafızasının nesiller boyunca aktarılabilirliği konusunda önemli bilgi boşlukları bulunmaktadır. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kromatinin yeniden düzenlenmesi ve kodlamayan RNA'lar gibi epigenetik mekanizmaların stres deneyimine ait bilgilerin korunmasında rol oynayabildiği bilinmektedir. Bununla birlikte, ebeveyn bitkilerde oluşan değişikliklerin yavru döllerde görülmesi tek başına kalıcı bir nesiller ötesi stres hafızasının kanıtı olarak değerlendirilmemelidir. Somatik hafıza, nesiller arası etkiler ve gerçek nesiller ötesi stres

hafızası arasındaki ayrımın deneysel olarak daha net ortaya konulması gerekmektedir. Gelecekte birden fazla nesli kapsayan ve stres uygulanmamış kontrol nesillerinin de yer aldığı uzun süreli deneylerin gerçekleştirilmesi; hangi epigenetik işaretlerin nesiller boyunca korunduğunun ve bunların fizyolojik performans açısından gerçekten uyumsal bir avantaj sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi açısından önem taşımaktadır (Lämke & Bäurle, 2017: 124; Siddique & ark., 2024: 349; Aswathi & ark., 2025: 70372).

Stres hafızasının altında yatan karmaşık düzenleyici ağların anlaşılması için fizyolojik ve biyokimyasal ölçümlerin moleküler verilerle bütünleştirilmesi, gelecekteki araştırmaların önemli yönlerinden biri olmalıdır. Genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik ve epigenomik yaklaşımların birlikte kullanılması, stres hafızasıyla ilişkili düzenleyicilerin, metabolitlerin ve sinyal yolaklarının farklı biyolojik düzeylerde ortaya konulmasına olanak sağlayabilir. Bununla birlikte, moleküler düzeyde belirlenen değişikliklerin fotosentetik performans, su kullanım etkinliği, büyüme, biyokütle, üreme başarısı ve verim gibi fizyolojik ve agronomik özelliklerle ilişkilendirilmesi, stres hafızasının bitki performansına olan katkısının daha kapsamlı biçimde anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu nedenle farklı omik düzeylerden elde edilen verilerin fizyolojik ve fenotipik verilerle bütünleştirilmesi, stres hafızasının mekanistik temelinin açıklanması ve tarımsal açıdan önemli özelliklerle ilişkilendirilmesi açısından önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır (Liu & ark., 2022a: 699).

Bu noktada önemli bir diğer gereksinim, stres hafızasının değerlendirilmesine yönelik daha standart deneysel yaklaşımların geliştirilmesidir. Priming uygulamasının niteliği ve süresi, stres şiddeti, priming ile sonraki stres arasındaki iyileşme döneminin uzunluğu ve hafızayı değerlendirmek için kullanılan fizyolojik veya moleküler çıktılardaki farklılıklar, stres hafızasının süresi ve etkisinin çalışmalar arasında karşılaştırılmasını

güçleştirebilmektedir. Özellikle priming sonrasında yeterli bir iyileşme döneminin tanımlanması ve daha önce stres deneyimi bulunan bitkilerin stres deneyimi bulunmayan bitkilerle sonraki stres sırasında karşılaştırılması, gözlenen yanıtların stres hafızasıyla ilişkilendirilebilmesi açısından önem taşımaktadır (Charng & ark., 2023: 187). Bu nedenle gelecekte stres hafızasının oluşumu, kalıcılığı ve etkisini değerlendirebilecek ortak deneysel yaklaşımların ve nicel göstergelerin geliştirilmesi, farklı bitki türleri ve stres koşulları arasında daha karşılaştırılabilir sonuçların elde edilmesine katkı sağlayacaktır.

Stres hafızasının temel mekanizmalarının açıklanmasının ötesindeki en önemli hedeflerden biri, bu bilginin tarımsal üretime aktarılmasıdır. Stres primingi ve buna bağlı hafıza mekanizmalarının bitkilerin sonraki streslere daha etkili yanıt vermesine katkı sağlayabileceği ve bu özelliğin iklim değişikliğine dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi açısından önemli bir potansiyel taşıdığı bildirilmektedir. Bununla birlikte, laboratuvar ve kontrollü koşullarda elde edilen bilgilerin tarımsal üretime aktarılabilmesi için stres hafızası ve priming etkilerinin daha geniş bir germplazm çeşitliliğinde ve tarla koşullarında doğrulanması gerekmektedir (Liu & ark., 2022a: 699). Özellikle nanopriming gibi yeni yaklaşımlarda, uygulama koşullarının optimize edilmesinin yanı sıra nanopartiküllerin topraktaki davranışı, fitotoksisite potansiyeli ve oluşturabileceği ekolojik risklerin de değerlendirilmesi önem taşımaktadır (Singh & ark., 2026: 100629). Bu doğrultuda gelecekteki çalışmaların kontrollü koşullarda belirlenen olumlu yanıtların tarla koşullarına ne ölçüde aktarılabildiğini ve bu uygulamaların güvenli ve uygulanabilir bir stres yönetim stratejisine dönüştürülüp dönüştürülemeyeceğini ortaya koyması gerekmektedir.

Gelecekte stres hafızasına ilişkin fizyolojik, biyokimyasal, moleküler ve epigenetik bilgilerin bütüncül bir yaklaşımla

değerlendirilmesi, bitkilerin geçmiş stres deneyimlerini nasıl muhafaza ettiğinin ve bu deneyimlerin sonraki stres yanıtlarını nasıl şekillendirdiğinin daha kapsamlı biçimde anlaşılmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte, stres hafızasına ilişkin mekanistik bilginin gerçek değeri, bu süreçlerin farklı genotipler, gelişme evreleri ve çevresel koşullar altında ne ölçüde korunduğunun ve bitki performansına nasıl yansıdığının ortaya konulmasıyla belirginleşecektir. Bu nedenle gelecekteki temel hedef yalnızca bitkilerin geçmiş çevresel deneyimleri nasıl hatırladığını açıklamak değil, stres hafızasına ilişkin birikmiş bilgiyi iklim değişikliği koşullarında daha dayanıklı, kaynakları daha etkin kullanan ve verim kararlılığını koruyabilen bitkilerin geliştirilmesine güvenilir biçimde aktarabilmek olmalıdır.

Sonuç ve Öneriler

Bitki stres hafızası, bitkilerin daha önce karşılaştıkları stres koşullarının etkilerini belirli bir süre koruyarak sonraki streslere daha hızlı ve etkili yanıt vermelerini sağlayan dinamik bir uyum mekanizmasıdır. Bu süreç tek bir mekanizmanın sonucu olmayıp fizyolojik, biyokimyasal, moleküler ve epigenetik düzenlemelerin birbiriyle bağlantılı şekilde çalışmasına dayanmaktadır. Fotosentetik kapasitenin korunması, su ilişkileri ve stomatal davranışın düzenlenmesi, ozmotik dengenin sürdürülmesi, büyüme yanıtlarının yeniden programlanması ve membran bütünlüğünün korunması stres hafızasının fizyolojik temelini oluştururken; ROT homeostazı, antioksidan savunma sistemi, hormonal sinyal yolları ve sekonder metabolitlerde meydana gelen değişimler bu yanıtların biyokimyasal düzeyde düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. Bu mekanizmaların birlikte işleyişi, bitkinin önceki stres deneyimini sonraki stres koşullarında daha etkili bir yanıt oluşturmak üzere kullanabilmesine olanak sağlamaktadır.

Stres hafızasının oluşumu, priming ile yakından ilişkili olup ilk stres deneyimi veya kontrollü bir ön koşullandırma, bitkinin sonraki streslere vereceği yanıtın fizyolojik ve biyokimyasal altyapısını değiştirebilmektedir. Kimyasal priming, biyolojik priming ve nanopriming gibi yaklaşımlar da benzer biçimde savunma ve uyum mekanizmalarını önceden harekete geçirerek sonraki streslere karşı daha hazırlıklı bir fizyolojik durumun oluşmasına katkı sağlayabilmektedir. Bununla birlikte, stres hafızasının oluşumu ve kalıcılığı sabit bir özellik değildir; stresin türü ve şiddeti, genotip, gelişme evresi, stresler arasındaki süre ve çevresel koşullar gibi birçok faktör tarafından şekillendirilmektedir. Dolayısıyla stres hafızası, yalnızca stres toleransının artırılması olarak değil, stres sırasında oluşturulan yanıtların iyileşme döneminde yeniden düzenlendiği ve sonraki çevresel koşullara göre korunduğu, değiştirildiği veya sıfırlandığı dinamik bir süreç olarak değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak, stres hafızası bitkilerin değişken ve tekrarlayan çevresel streslere uyumunu anlamada önemli bir kavramsal çerçeve sunmaktadır. Fizyolojik ve biyokimyasal yanıtların moleküler ve epigenetik düzenlemelerle birlikte değerlendirilmesi, geçmiş stres deneyiminin sonraki bitki performansını nasıl şekillendirdiğinin daha bütüncül biçimde anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu mekanizmaların anlaşılması yalnızca bitki stres biyolojisine ilişkin temel bilgimizi geliştirmek açısından değil, aynı zamanda iklim değişikliğiyle birlikte sıklığı ve şiddeti artan çevresel stresler karşısında bitki dayanıklılığının artırılması açısından da önem taşımaktadır. Bu nedenle stres hafızasına ilişkin birikmiş bilginin, bitkilerin doğal uyum kapasitesinden yararlanan ve sürdürülebilir tarımsal üretimi destekleyen yaklaşımlara dönüştürülmesi, bu araştırma alanının temel çıktılarından biri olacaktır.

Kaynakça

Alves, R. D. F. B., Menezes-Silva, P. E., Sousa, L. F., Loram-Lourenço, L., Silva, M. L. F., Almeida, S. E. S., Silva, F. G., Souza, L. P., Fernie, A. R., & Farnese, F. S. (2020). Evidence of drought memory in *Dipteryx alata* indicates differential acclimation of plants to savanna conditions. Scientific Reports, 10, 16455. https://doi.org/10.1038/s41598-020-73423-3

Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59(2), 206–216. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006

Aswathi, K. P. R., Ul-Allah, S., Puthur, J. T., Siddique, K. H. M., Frei, M., & Farooq, M. (2025). The plant mind: Unraveling abiotic stress priming, memory, and adaptation. Physiologia Plantarum, 177(4), e70372. https://doi.org/10.1111/ppl.70372

Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. Annual Review of Plant Biology, 59, 89–113. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759

Ben Abdallah, M., Methenni, K., Nouairi, I., Zarrouk, M., & Ben Youssef, N. (2017). Drought priming improves subsequent more severe drought in a drought-sensitive cultivar of olive cv. Chétoui. Scientia Horticulturae, 221, 43–52. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.021

Bester, A. U., Shimoia, E. P., Da-Silva, C. J., Posso, D. A., Bernardi, N. D. C., Carvalho, I. R., Corrêa, F. M., de Oliveira, A. C. B., & do Amarante, L. (2024). Physiological mechanisms of cross-stress and memory in soybean plants subjected to water deficit and waterlogging. Environmental and Experimental Botany, 222, 105749. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2024.105749

Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. Plant, Cell & Environment, 40(1), 4–10. https://doi.org/10.1111/pce.12800

Charng, Y.-Y., Mitra, S., & Yu, S.-J. (2023). Maintenance of abiotic stress memory in plants: Lessons learned from heat acclimation. The Plant Cell, 35(1), 187–200. https://doi.org/10.1093/plcell/koac313

Crisp, P. A., Ganguly, D., Eichten, S. R., Borevitz, J. O., & Pogson, B. J. (2016). Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. Science Advances, 2(2), e1501340. https://doi.org/10.1126/sciadv.1501340

Çağlı, İ., Gazdağlı Talay, A., Halik, M. B., Tunalı, F., & Sönmez, Ç. (2025). Sequential cold and heat stresses establish an intergenerational stress memory in rapeseed (*Brassica napus* L.). bioRxiv, 666528. https://doi.org/10.1101/2025.07.24.666528

David, O. A., Fabiyi, O. A., Olawuni, I., Chukwuma, D. M., Kolawole-Idowu, P. I., Adedayo, B. O., Shontan, Q. A., Onimisi, J. V., Onyema, A. F., & Ameh, J. S. (2026). Drought priming and plant growth-promoting rhizobacteria enhance *Solanum lycopersicum* metabolites under drought stress. Journal of the Science of Food and Agriculture, 106(13), 7747–7756. https://doi.org/10.1002/jsfa.70799

Ding, Y., Fromm, M., & Avramova, Z. (2012). Multiple exposures to drought 'train' transcriptional responses in Arabidopsis. Nature Communications, 3, 740. https://doi.org/10.1038/ncomms1732

do Espirito Santo Pereira, A., Caixeta Oliveira, H., Fernandes Fraceto, L., & Santaella, C. (2021). Nanotechnology potential in seed priming for sustainable agriculture. Nanomaterials, 11(2), 267. https://doi.org/10.3390/nano11020267

Farooq, T., Akram, M. N., Hameed, A., Ahmed, T., & Hameed, A. (2022). Nanopriming-mediated memory imprints reduce salt toxicity in wheat seedlings by modulating physiobiochemical attributes. BMC Plant Biology, 22, 540. https://doi.org/10.1186/s12870-022-03912-2

Fleta-Soriano, E., Pintó-Marijuan, M., & Munné-Bosch, S. (2015). Evidence of drought stress memory in the facultative CAM, *Aptenia cordifolia*: Possible role of phytohormones. PLOS ONE, 10(8), e0135391. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135391

Ganie, S. A., McMulkin, N., & Devoto, A. (2024). The role of priming and memory in rice environmental stress adaptation: Current knowledge and perspectives. Plant, Cell & Environment, 47, 1895–1915. https://doi.org/10.1111/pce.14855

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants, 9(8), 681. https://doi.org/10.3390/antiox9080681

Hendrix, S., Vanbuel, I., Colemont, J., Bos Calderó, L., Hamzaoui, M. A., Kunnen, K., Huybrechts, M., & Cuypers, A. (2025). Jacks of all trades: Reactive oxygen species in plant responses to stress combinations and priming-induced stress tolerance. Journal of Experimental Botany, 76(13), 3686–3705. https://doi.org/10.1093/jxb/eraf065

Hilker, M., & Schmülling, T. (2019). Stress priming, memory, and signalling in plants. Plant, Cell & Environment, 42(3), 753–761. https://doi.org/10.1111/pce.13526

Hu, T., Liu, S.-Q., Amombo, E., & Fu, J.-M. (2015). Stress memory induced rearrangements of HSP transcription, photosystem II

photochemistry and metabolism of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) in response to high-temperature stress. Frontiers in Plant Science, 6, 403. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00403

Jacques, C., Salon, C., Barnard, R. L., Vernoud, V., & Prudent, M. (2021). Drought stress memory at the plant cycle level: A review. Plants, 10(9), 1873. https://doi.org/10.3390/plants10091873

Jin, S., Wei, M., Wei, Y., & Jiang, Z. (2024). Insights into plant sensory mechanisms under abiotic stresses. Plants, 13(14), 1907. https://doi.org/10.3390/plants13141907

Kambona, C. M., Koua, P. A., Léon, J., & Ballvora, A. (2023). Stress memory and its regulation in plants experiencing recurrent drought conditions. Theoretical and Applied Genetics, 136(2), 26. https://doi.org/10.1007/s00122-023-04313-1

Kerchev, P., van der Meer, T., Sujeeth, N., Verlee, A., Stevens, C. V., Van Breusegem, F., & Gechev, T. (2020). Molecular priming as an approach to induce tolerance against abiotic and oxidative stresses in crop plants. Biotechnology Advances, 40, 107503. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107503

Lämke, J., & Bäurle, I. (2017). Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. Genome Biology, 18, 124. https://doi.org/10.1186/s13059-017-1263-6

Li, H., Li, H., Lv, Y., Wang, Y., Wang, Z., Xin, C., Liu, S., Zhu, X., Song, F., & Li, X. (2020). Salt priming protects photosynthetic electron transport against low-temperature-induced damage in wheat. Sensors, 20(1), 62. https://doi.org/10.3390/s20010062

Li, Y., Qi, J., Gao, Q., He, C., Gu, J., Xie, Z., Li, Z., & Wu, H. (2025). Plants primed with CeO_2 nanoparticles increased DNA methylation

level to convey transgenerational salinity tolerance. Plant Nano Biology, 14, 100214. https://doi.org/10.1016/j.plana.2025.100214

Liu, N., & Avramova, Z. (2016). Molecular mechanism of the priming by jasmonic acid of specific dehydration stress response genes in Arabidopsis. Epigenetics & Chromatin, 9, 8. https://doi.org/10.1186/s13072-016-0057-5

Liu, H., Able, A. J., & Able, J. A. (2022a). Priming crops for the future: Rewiring stress memory. Trends in Plant Science, 27(7), 699–716. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.11.015

Liu, L., Cao, X., Zhai, Z., Ma, S., Tian, Y., & Cheng, J. (2022b). Direct evidence of drought stress memory in mulberry from a physiological perspective: Antioxidative, osmotic and phytohormonal regulations. Plant Physiology and Biochemistry, 186, 76–87. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2022.07.001

Lukić, N., Kukavica, B., Davidović-Plavšić, B., Hasanagić, D., & Walter, J. (2020). Plant stress memory is linked to high levels of anti-oxidative enzymes over several weeks. Environmental and Experimental Botany, 178, 104166. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104166

Mahakham, W., Sarmah, A. K., Maensiri, S., & Theerakulpisut, P. (2017). Nanopriming technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. Scientific Reports, 7, 8263. https://doi.org/10.1038/s41598-017-08669-5

Mahmood, A., Turgay, O. C., Farooq, M., & Hayat, R. (2016). Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: A review. FEMS Microbiology Ecology, 92(8), fiw112. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw112

Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E., & Flors, V. (2017). Defense priming: An adaptive part of induced resistance. Annual Review of Plant Biology, 68, 485–512. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042916-041132

Nair, A. U., Bhukya, D. P. N., Sunkar, R., Chavali, S., & Allu, A. D. (2022). Molecular basis of priming-induced acquired tolerance to multiple abiotic stresses in plants. Journal of Experimental Botany, 73(11), 3355–3371. https://doi.org/10.1093/jxb/erac089

Pieterse, C. M. J., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. M., & Bakker, P. A. H. M. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annual Review of Phytopathology, 52, 347–375. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340

Ravi, B., Foyer, C. H., & Pandey, G. K. (2023). The integration of reactive oxygen species (ROS) and calcium signalling in abiotic stress responses. Plant, Cell & Environment, 46(7), 1985–2006. https://doi.org/10.1111/pce.14596

Rossatto, T., Souza, G. M., Amaral, M. N. D., Auler, P. A., Pérez-Alonso, M. M., Pollmann, S., & Braga, E. J. B. (2023). Cross-stress memory: Salt priming at vegetative growth stages improves tolerance to drought stress during grain-filling in rice plants. Environmental and Experimental Botany, 206, 105187. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105187

Savvides, A., Ali, S., Tester, M., & Fotopoulos, V. (2016). Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: Mission possible? Trends in Plant Science, 21(4), 329–340. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.003

Serrano, N., Ling, Y., Bahieldin, A., & Mahfouz, M. M. (2019). Thermopriming reprograms metabolic homeostasis to confer heat

tolerance. Scientific Reports, 9, 181. https://doi.org/10.1038/s41598-018-36484-z

Sherin, G., Aswathi, K. P. R., & Puthur, J. T. (2022). Photosynthetic functions in plants subjected to stresses are positively influenced by priming. Plant Stress, 4, 100079. https://doi.org/10.1016/j.stress.2022.100079

Siddique, A. B., Parveen, S., Rahman, M. Z., & Rahman, J. (2024). Revisiting plant stress memory: Mechanisms and contribution to stress adaptation. Physiology and Molecular Biology of Plants, 30(2), 349–367. https://doi.org/10.1007/s12298-024-01422-z

Singh, A., Bol, R., Singh, R. K., Sousa, J. R., Singh, S., Movsesyan, H., & Ghazaryan, K. (2026). Seed nanopriming as a strategy to mitigate salinity stress: Physiological, biochemical, and molecular mechanisms. Current Plant Biology, 48, 100629. https://doi.org/10.1016/j.cpb.2026.100629

Sintaha, M., Man, C.-K., Yung, W.-S., Duan, S., Li, M.-W., & Lam, H.-M. (2022). Drought stress priming improved the drought tolerance of soybean. Plants, 11(21), 2954. https://doi.org/10.3390/plants11212954

Skirycz, A., & Inzé, D. (2010). More from less: Plant growth under limited water. Current Opinion in Biotechnology, 21(2), 197–203. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.002

Staacke, T., Mueller-Roeber, B., & Balazadeh, S. (2025). Stress resilience in plants: The complex interplay between heat stress memory and resetting. New Phytologist, 245(6), 2402–2421. https://doi.org/10.1111/nph.20377

Takahashi, Y., Zhang, J., Hsu, P.-K., Ceciliato, P. H. O., Zhang, L., Dubeaux, G., Munemasa, S., Ge, C., Zhao, Y., Hauser, F., & Schroeder, J. I. (2020). MAP3Kinase-dependent SnRK2-kinase

activation is required for abscisic acid signal transduction and rapid osmotic stress response. Nature Communications, 11, 12. https://doi.org/10.1038/s41467-019-13875-y

Thakur, R., & Yadav, S. (2026). Priming seeds and plants with microbial inoculants to improve growth and stress memory. Methods in Molecular Biology, 2988, 179–185. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4981-7_16

Virlouvet, L., Avenson, T. J., Du, Q., Zhang, C., Liu, N., Fromm, M., Avramova, Z., & Russo, S. E. (2018). Dehydration stress memory: Gene networks linked to physiological responses during repeated stresses of *Zea mays*. Frontiers in Plant Science, 9, 1058. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01058

Walter, J., Nagy, L., Hein, R., Rascher, U., Beierkuhnlein, C., Willner, E., & Jentsch, A. (2011). Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. Environmental and Experimental Botany, 71(1), 34–40. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.020

Yuan, Y., Tan, M., Zhou, M., Hassan, M. J., Lin, L., Lin, J., Zhang, Y., & Li, Z. (2026). Drought priming-induced stress memory improves subsequent drought or heat tolerance via activation of γ-aminobutyric acid-regulated pathways in creeping bentgrass. Plant Biology, 28(3), 701–713. https://doi.org/10.1111/plb.13636

BÖLÜM 3

BİYOTEKNOLOJİDEN NANOBİYOTEKNOLOJİYE: HİBRİT NANOYAPILARIN BİYOLOJİK SENTEZ MEKANİZMALARI, FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE UYGULAMALARI

EKREM BÖLÜKBAŞI[1]

Giriş

Canlılığın moleküler temellerinin anlaşılması, biyolojik sistemlerdeki düzenin teknolojik süreçlere aktarılmasının önünü açmıştır. Yirminci yüzyılın ortalarında DNA çift sarmalının keşfi ve moleküler biyolojinin bağımsız bir disiplin olarak gelişmesi, hücresel mekanizmaların mühendislik ilkeleriyle yeniden programlanabilen yapılar olduğunu göstermiştir. Bu değişim, fermantasyon ve geleneksel ıslah gibi eski uygulamalara dayanan klasik biyoteknolojiden; rekombinant DNA teknolojileri, yönlendirilmiş evrim ve hassas biyoprosesler üzerine kurulu modern biyoteknolojiye köklü bir geçişi başlatmıştır. Bugün biyomoleküler üretim sistemleri, enzim mühendisliği ve metabolik yolak modifikasyonları; endüstriyel katalizden çevre biyoremediasyonuna,

[1] Doç. Dr., Amasya Üniversitesi, Suluova Meslek Yüksekokulu, Çevre Koruma Teknolojileri, ORCID: 0000-0003-3828-1226

gıda teknolojisinden ilaç üretimine kadar pek çok alanda sürdürülebilir üretimin dayanağıdır (American Chemical Society, n.d.; Britannica, 2026).

Biyolojik mekanizmaların bu yüksek özgüllüğü ve katalitik etkinliği, malzeme biliminin minyatürizasyon ve atomik düzeyde kontrol arayışıyla buluşunca nanobilimde yeni bir alan açılmıştır. Canlı sistemler milyonlarca yıllık evrim boyunca kemik dokusundan sedef tabakasına, diatom kabuklarından manyetotaktik bakterilerin hücre içi kristallerine kadar hiyerarşik mineralizasyon stratejileri geliştirmiştir. Doğa, karmaşık inorganik yapıları oda sıcaklığında, sulu fazda, nötr fizyolojik pH koşullarında ve çok düşük enerjiyle kurabilir. Bu biyomimetik örnekler, sentetik malzeme bilimcilerinin dikkatini nano ölçekteki biyo-arayüzlerin nasıl oluştuğuna çekmiştir. Biyolojinin seçici moleküler tanıma yeteneğini inorganik nanomalzemelerin optik, manyetik, elektriksel ve mekanik özellikleriyle birleştiren "Nanobiyoteknoloji" kavramı da bu birikimden doğmuştur (Bölükbaşı & Ata, 2025:1; Feynman, 1959:1; Hulla & ark., 2015:1318).

Nanoteknolojide malzeme geliştirme iki ana yaklaşıma dayanır. "Yukarıdan aşağıya" (top-down) yöntemlerde hacimli kütleler mekanik, kimyasal veya fiziksel yollarla ufalanarak nano boyuta indirilir; "aşağıdan yukarıya" (bottom-up) yaklaşımlarda ise atomlar ya da moleküller kimyasal çekirdeklenme ve kendiliğinden birleşme (self-assembly) ilkeleriyle kontrollü biçimde büyütülür. Geleneksel fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleri tekdüze nanopartikül üretiminde başarılıdır. Buna karşın yüksek ısı ve enerji gerektirmeleri, tehlikeli ara ürünlere yol açabilmeleri ve partikül yüzeyinde toksik reaktif kalıntısı bırakmaları ciddi biyouyumluluk sorunları doğurur. Yeşil kimyanın ilkelerine dayanan "Yeşil Sentez" yaklaşımı bu noktada devreye girer: organik çözücüleri, toksik indirgeyicileri ve sentetik surfaktanları dışarıda bırakır, bitkisel dokular, mikroorganizmalar, likenler ve mantarlar gibi doğal

kaynakların metabolitlerini sentez ortamına taşır. Doğal özütlerdeki polifenoller, proteinler ve polisakkaritler metal iyonlarını sıfır değerlikli elementel forma indirgerken partikülün çevresinde biyomoleküler bir taç (biocorona) da oluşturur; bu taç partiküle kolloidal kararlılık ve yüksek biyouyumluluk kazandırır (Erkoç, 2008:1).

Malzeme tasarımındaki bu ilerlemeler, tek bileşenli metal veya metal oksit nanopartiküllerin sınırlı işlevselliğinin ötesine geçme ihtiyacını doğurmuştur. Organik bileşenlerle inorganik kristal fazların birlikte çalıştığı "Organik-İnorganik Hibrit Nanoyapı" kavramı bu ihtiyaçtan ortaya çıkmıştır. Bu hibrit yapıların en çok dikkat çeken örneği, ilk kez 2012 yılında tanımlanan "Çiçek Şekilli Hibrit Nanoyapılar" (nanoflower) olmuştur (Ge & ark., 2012:428). Oluşum, organik bir şablon molekülün (protein, enzim, bitkisel ya da likenik sekonder metabolit) sulu tampon çözeltide metal iyonlarıyla (özellikle bakır, kalsiyum, çinko vb.) koordine olmasıyla başlar ve üç adımda ilerler: çekirdeklenme (nucleation), primer yaprakçık (petal) gelişimi ve anizotropik çiçek morfolojisinin kendiliğinden birleşimi (self-assembly) (bkz. Bölüm 5.2). Ortaya çıkan hiyerarşik üç boyutlu yapıların spesifik yüzey alanı çok geniştir; gözenekli difüzyon kanalları içerirler ve yüzey enerjisi yüksek reaktif bölgeleri büyük oranda açıktadır (Shende & ark., 2018:413).

Nanoflower yapılarının bu morfolojik ve işlevsel özellikleri, klasik enzim immobilizasyonunda görülen difüzyon kısıtlarını ve konformasyonel inaktivasyon sorunlarını büyük ölçüde aşmayı sağlar. Şablon olarak bir enzim kullanıldığında enzim, inorganik matrise kovalent olmayan koordinasyon bağlarıyla hapsolur. Bu durum enzimin üçüncül yapısını sabitleyerek termal ve operasyonel kararlılığını belirgin biçimde artırır; allosterik aktivasyona benzer mekanizmalarla serbest enzime göre daha yüksek katalitik aktivite gösterdiği de bildirilmektedir. Bitki ya da liken ekstreleriyle

sentezlenen nanoflowerlar ise metal iyonlarının (örneğin Cu^{2+}) pro-oksidan ve antimikrobiyal etkisini, yüzeye tutunan sekonder fitokimyasalların antioksidan ve apoptotik modülasyon potansiyeliyle aynı yapıda birleştirir (Molina & ark., 2019:141).

Bu yapısal ve fizikokimyasal özellikler, hibrit nanomalzemeleri biyosensör tasarımı, biyolojik arıtım, ksenobiyotik dekontaminasyonu, mikrobiyal patojen inhibisyonu ve kanser hedeflemesi gibi farklı uygulama alanlarının odağına taşımıştır. Ancak bu platformların laboratuvardan endüstriyel üretime aktarılması bazı sorunların çözülmesine bağlıdır: partikül boyutu ve morfolojisinin standardize edilmesi, reaksiyon ortamındaki pH ve iyon konsantrasyonu gibi değişkenlerin hassas biçimde yönetilmesi ve uzun dönemli yapısal kararlılığın sağlanması (Kharat & ark., 2017:1; Baek & ark., 2020:110273).

Bu bölüm, moleküler biyolojinin temel ilkelerinden modern nanobiyoteknolojiye uzanan kavramsal dönüşümü, organik-inorganik hibrit yapıların biyolojik sentez mantığını, çiçek şekilli nanoyapıların üç basamaklı oluşumunu ve bu malzemelerin disiplinler arası kullanım alanlarını ele almaktadır. Biyolojik ajanlarla malzeme bilimi arasında kurulan bu arayüz, doğadan esinlenen sürdürülebilir nanomalzeme tasarımının kuramsal ve pratik sınırlarını yeniden tanımlamaktadır.

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİDEN NANOBİYOTEKNOLOJİYE GEÇİŞ

Biyolojik bilimlerle malzeme mühendisliğinin buluşma noktası, maddenin en küçük yapı taşlarının anlaşılması ve yönlendirilebilmesiyle köklü biçimde değişmiştir. Makromoleküllerin atomik düzeydeki yapısının çözülmesi, canlı sistemlerin biyokimyasal reaksiyonların geçtiği pasif ortamlar olmadığını göstermiştir; bu sistemler nano ölçekte çalışan biyolojik makineler, şablonlar ve enerji dönüştürücüler içerir. Bu bilgi, klasik

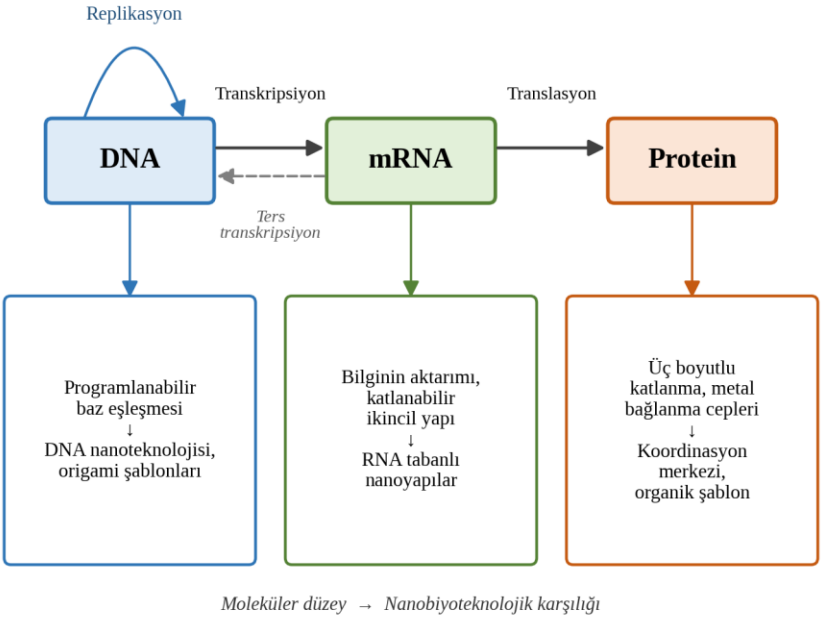
biyoteknolojinin sınırlarını aşarak biyolojinin malzeme tasarımıyla doğrudan birleştiği disiplinler arası bir süreci başlatmıştır (Bogunia-Kubik & Sugisaka, 2002:123).

Moleküler Biyolojinin Temel İlkeleri ve Hücresel Mekanizmalar: Nükleik Asitler, Proteinler, Hücresel Organizasyon ve Moleküler Etkileşim Dinamikleri

Hücresel yaşamın moleküler temeli, genetik bilginin depolanmasını, aktarılmasını ve işlevsel biyomakromoleküllere dönüştürülmesini yöneten santral dogma etrafında şekillenir (Şekil 1). Deoksiribonükleik asit (DNA), fosfodiester bağlarıyla birbirine bağlanan deoksiribonükleotidlerden oluşan bir polimerdir; antiparalel iki zincirin baz eşleşmesiyle kurduğu çift sarmal, nano ölçekte yüksek esneklik ve termodinamik kararlılık gösterir. Nükleik asitlerin öngörülebilir ve programlanabilir hibritleşmesi, bugün DNA nanoteknolojisinin ve origami temelli yapısal şablonların temelini oluşturur (W. Wang & ark., 2020:1; F. Wang & ark., 2022:93).

Proteinler ise yirmi farklı amino asidin peptid bağlarıyla birleşerek oluşturduğu polipeptid zincirlerinin, elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, hidrofobik kuvvetler ve disülfit köprüleri aracılığıyla özgül üç boyutlu konformasyonlara katlanmasıyla fonksiyonel kimlik kazanır. Proteinlerin üçüncül ve dördüncül yapıları; koenzimler, kofaktörler ve inorganik metal iyonları için yüksek afiniteli bağlanma cepleri (koordinasyon merkezleri) içerir. Hücresel organizasyon içerisindeki bu biyomoleküler etkileşimler, rastgele çarpışmalardan çok suyun entropik etkisi, van der Waals çekimleri ve yük dağılımlarının yönlendirdiği anizotropik kendiliğinden birleşme (self-assembly) kurallarına göre gerçekleşir.

Şekil 1. Santral dogma ve moleküler bileşenlerin nanobiyoteknolojik karşılıkları



Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Biyoteknolojinin Gelişimi ve Uygulama Alanları: Klasik Biyoteknolojiden Modern Yaklaşımlara Evrim, Biyoprosesler ve Biyomoleküler Üretim Sistemleri

Biyoteknolojik süreçlerin tarihsel gelişimi üç ana döneme ayrılır (Tablo 1):

- Geleneksel (Klasik) Biyoteknoloji: Mikroorganizmaların doğal metabolik faaliyetlerine dayanan ekmek, şarap, bira, sirke ve fermente süt ürünleri üretimini kapsayan ampirik dönem (American Chemical Society, n.d.).
- Modern Biyoteknolojiye Geçiş: 20. yüzyılın ortalarında antibiyotik fermantasyonunun standardizasyonu ve rekombinant DNA (rDNA) teknolojisinin ortaya çıkışıyla başlayan safha. Bu

evrede, genetik klonlama, yönlendirilmiş evrim ve metabolik mühendislik sayesinde hücresel fabrikalar (bakteri, maya ve memeli hücre sistemleri); rekombinant aşılar, monoklonal antikorlar, sitokinler ve endüstriyel enzimlerin eldesinde temel biyoreaktörler haline gelmiştir (Bölükbaşı & Aras, 2016:1; Britannica, 2026).

- Hassas Biyoprosesler ve Biyomoleküler Üretim: Modern biyoteknolojik süreçler, kütle ve ısı transferinin matematiksel olarak modellendiği, pH, çözünmüş oksijen ve besin gradyanlarının kapalı devre geri bildirimlerle denetlendiği ileri biyoreaktör mimarilerine dayanır. Ancak serbest biyomoleküllerin veya enzimlerin endüstriyel proseslerde doğrudan kullanımı; dar termal kararlılık, organik çözücülere dayanıksızlık ve ortamdan geri kazanılamama gibi kalıcı işletim sorunlarıyla sınırlıdır.

Tablo 1. Biyoteknolojinin tarihsel gelişim dönemleri ve temel özellikleri

Dönem	Temel Yaklaşım ve Teknikler	Örnek Ürün ve Uygulamalar	Temel Sınırlılıklar
Geleneksel (Klasik) Biyoteknoloji	Mikroorganizmaların doğal metabolik faaliyetlerine dayanan ampirik fermantasyon	Ekmek, şarap, bira, sirke, fermente süt ürünleri	Süreç kontrolünün sınırlı olması; deneyime dayalı, düşük tekrarlanabilirlik
Modern Biyoteknoloji	Rekombinant DNA teknolojisi, genetik klonlama, yönlendirilmiş evrim, metabolik mühendislik	Rekombinant aşılar, monoklonal antikorlar, sitokinler, endüstriyel enzimler, antibiyotikler	Hücresel üretim sistemlerine bağımlılık; yüksek üretim ve arıtma maliyeti

Dönem	Temel Yaklaşım ve Teknikler	Örnek Ürün ve Uygulamalar	Temel Sınırlılıklar
Hassas Biyoprosesler ve Biyomoleküler Üretim	Kütle ve ısı transferinin modellendiği, pH ve çözünmüş oksijenin geri bildirimle denetlendiği ileri biyoreaktörler	Kontrollü biyoreaktör üretimi, endüstriyel biyokataliz	Serbest enzimlerde dar termal kararlılık, organik çözücülere dayanıksızlık, geri kazanılamama

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Biyoloji ile Malzeme Biliminin Kesişimi: Biyomimetik Yaklaşımlar ve Nano Ölçekte Biyo-Arayüzlerin Oluşumu

Canlı organizmalar, milyonlarca yıllık evrimsel seçilimle optimize edilmiş biyomineralizasyon süreçleri sayesinde, mekanik dayanımı ve yapısal karmaşıklığı sentetik yöntemlerle taklit edilmesi çok zor olan hibrit kompozitler üretir (Tablo 2):

- Doğal Biyomineralizasyon Örnekleri: Yumuşakçaların kabuklarında kalsiyum karbonatın kalsit ve aragonit fazlarının organik protein-kitin matrisleriyle katmanlaştığı sedef tabakası (nacre), kemik ve diş dokusunda kollajen fibrilleri arasına hapsolan hidroksiapatit kristalleri veya manyetotaktik bakterilerin hücre içinde tekdüze manyetit (Fe_3O_4) kristalleri biriktirmesi.
- Biyomimetik Tasarım İlkeleri: Biyomimetik malzeme bilimi; doğanın bu "düşük enerji, sulu faz, nötr pH ve ortam sıcaklığı" koşullarında yürüttüğü mineralizasyon stratejilerini laboratuvar ölçeğine uyarlar.
- Biyo-Arayüz Dinamikleri: Bir inorganik çekirdek ile biyomolekül karşılaştığında arayüzde dinamik bir yeniden düzenlenme gerçekleşir. Biyomolekülün yüzey yükü, izoelektrik noktası (pI) ve hidrofobisitesi; inorganik kristalin büyüme yüzeylerini seçici olarak bloke ederek partikülün büyüme

kinetiğini, geometrik şeklini ve uzaysal organizasyonunu nano ölçekte belirler.

Tablo 2. Doğal biyomineralizasyon örnekleri ve organik-inorganik bileşenleri

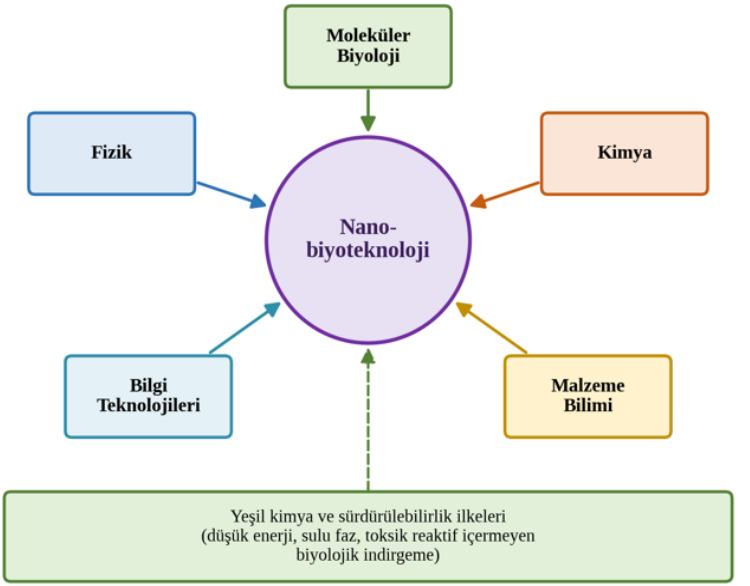
Organizma / Doku	İnorganik Faz	Organik Matris	Kazandırdığı İşlev
Yumuşakça kabuğu	Kalsiyum karbonat ($CaCO_3$; aragonit ve kalsit)	Protein ve kitin katmanları	Yüksek mekanik dayanım ve kırılma tokluğu
Kemik ve diş dokusu	Hidroksiapatit kristalleri	Kollajen fibrilleri	Sertlik, yük taşıma ve yapısal destek
Manyetotaktik bakteriler	Manyetit (Fe_3O_4)	Lipit-protein yapılı manyetozom zarı	Manyetik alana göre yönelim
Diatomlar	Amorf silika	Silaffin proteinleri ve uzun zincirli poliaminler	Hiyerarşik gözenekli koruyucu hücre duvarı (frustül)

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Nanobiyoteknolojiye Geçiş: Kavramsal Temeller ve Disiplinler Arası Dönüşüm: Biyolojik Sistemlerin Nanobilimle Entegrasyonu, Disiplinler Arası Dönüşüm ve Sürdürülebilir Yeşil Sentez İlkeleri

Nanobilimle moleküler biyolojinin birleşmesi, biyomolekülleri canlılığın sürdürücüsü olmalarının yanında nano ölçekli yapı blokları ve işlevsel şablonlar olarak da gören yeni bir araştırma alanı açmıştır. Nanobiyoteknoloji; fizik, kimya, malzeme bilimi, moleküler biyoloji ve bilgi teknolojilerinin kesiştiği disiplinler arası bir alandır (Bölükbaşı & Ata, 2025:1) (Şekil 2).

Şekil 2. Nanobiyoteknolojiyi oluşturan disiplinlerin yakınsaması



Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Bu disiplinler arası yapının merkezinde yeşil kimya ve sürdürülebilirlik ilkeleri yer alır. Geleneksel nanofabrikasyon tekniklerindeki aşırı enerji tüketimi, tehlikeli ara ürün oluşumu ve toksik reaktif kullanımı, biyolojik sistemlerin enzimatik ve redoks kapasitelerinden yararlanan yeşil sentez yaklaşımlarının geliştirilmesine yol açmıştır. Biyolojik ajanlar metalik nanoyapıların oluşumunda sürdürülebilir bir indirgeyici ortam işlevi görür; aynı zamanda partikül yüzeyini kaplayarak kolloidal kararlılık kazandırır (Klaus-Joerger & ark., 2001:15).

NANOÖLÇEKTE MALZEME TASARIMI VE HİBRİT YAPILAR

Madde nano boyuta (1-100 nm) indirildiğinde, kuantum sınırlama etkileri ve yüzey alanı/hacim oranındaki artış nedeniyle bulk (hacimli) malzemelerde görülmeyen fizikokimyasal, optik,

elektriksel ve katalitik özellikler ortaya çıkar. Bu özelliklerin biyomedikal ve teknolojik alanlarda güvenle kullanılabilmesi, malzemenin atomik ve moleküler düzeyde kontrollü biçimde tasarlanmasını gerektirir (Ateş, 2015:437; Erkoç, 2008:1).

Nanoteknolojinin Temel Sentez Stratejileri: "Yukarıdan Aşağıya" ve "Aşağıdan Yukarıya" Yaklaşımları

Nanomalzemelerin sentezinde uygulanan metodolojik yollar iki zıt yönlü stratejik temele dayanır (Tablo 3):

Tablo 3. Nanomalzeme sentezinde yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımlar

Özellik	Yukarıdan Aşağıya (Top-Down)	Aşağıdan Yukarıya (Bottom-Up)
Başlangıç malzemesi	Hacimli kütle (bulk material)	Atomlar ve biyomoleküler öncüller
Başlıca yöntemler	Mekanik öğütme, lazer ablasyonu, litografi	Kimyasal çöktürme, yeşil sentez, biyomineralizasyon, kendiliğinden birleşme (self-assembly)
Yönelim	Büyük yapının nano boyuta küçültülmesi	Atomik/moleküler birimlerin nano boyuta büyütülmesi
Sonuç	Nano boyutlu yapı	Nano boyutlu yapı

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

- Yukarıdan Aşağıya (Top-Down) Yaklaşımı: Makro veya mikro ölçekteki bulk malzemelerin fiziksel, mekanik veya litografik tekniklerle parçalanarak nano boyutlara indirilmesi esasına dayanır (yüksek enerjili bilyalı öğütme, elektron demeti litografisi, lazer ablasyonu). Bu yaklaşım endüstriyel ölçekte yüksek miktarda üretime olanak tanır. Ancak yüksek ısıl enerji gereksinimi, kristal kusurları (dislokasyonlar), partikül boyutu dağılımındaki geniş heterojenlik ve yüzeyde istenmeyen mekanik deformasyonlar, hassas biyo-uygulamalarda kullanımını sınırlar (Ateş, 2015:437).

- Aşağıdan Yukarıya (Bottom-Up) Yaklaşımı: Homojen çözelti fazındaki atomların, iyonların veya küçük moleküllerin kimyasal çekirdeklenme, koordinasyon kimyası ve kendiliğinden birleşme (self-assembly) ilkeleriyle moleküler düzeyde bir araya getirilerek nano yapıların kademeli olarak inşa edilmesini hedefler. Sol-jel yöntemleri, kimyasal buhar biriktirme (CVD) ve biyolojik yeşil sentez bu gruptadır. Atomik düzeyde kontrol sağlaması, kusuru az kristal kafes yapısı ve düşük enerji tüketimi, bu stratejiyi özellikle biyo-hibrit nanoyapıların üretiminde öne çıkarır.

Organik-İnorganik Hibrit Nanoyapı Kavramı: Tek Bileşenli Nanopartiküllerden Hiyerarşik 3 Boyutlu Hibrit Mimarilere Geçiş

Klasik nanoteknoloji uzun yıllar boyunca tek bileşenli metal (Ag, Au, Cu, Pt) veya metal oksit (ZnO, TiO_2, Fe_3O_4) nanopartiküllerinin üretimine odaklanmıştır. Bu tek bileşenli partiküller belirli optik ve antibakteriyel avantajlar sunmakla birlikte, sulu ortamlarda hızla topaklaşma (agregasyon) eğilimindedir, yüzey fonksiyonelleştirme kapasiteleri sınırlıdır ve biyolojik sistemlerle temas ettiklerinde özgül olmayan toksik yanıtlar doğurabilirler.

Bu kısıtlar, organik moleküler bileşenler (proteinler, enzimler, polisakkaritler, bitkisel/likenik sekonder metabolitler) ile inorganik kristalin fazların (metal tuzları, kalsiyum fosfatlar, silika) moleküler düzeyde kovalent veya kovalent olmayan (koordinasyon, hidrojen bağları, elektrostatik) ağlarla kenetlendiği organik-inorganik hibrit nanoyapıların geliştirilmesine zemin hazırlamıştır (Shende & ark., 2018:413):

- Sinerjik Etki: İnorganik bileşen mekanik direnç, termal stabilite, manyetik/optik yanıt ve katalitik redoks merkezleri sağlarken;

organik bileşen biyouyumluluk, moleküler tanıma, hedefleme özgüllüğü ve enzimatik/biyoaktif fonksiyonellik katar.

- Hiyerarşik 3 Boyutlu Organizasyon: Basit küresel veya tüpsü morfolojilerden çok basamaklı gözenek dağılımına sahip hiyerarşik 3B yapılara geçiş, malzemenin dış ortamla temas eden aktif yüzey alanını kat kat artırır ve arayüzeydeki kütle transfer direncini önemli ölçüde azaltır.

Çiçek Şekilli Nanoyapıların (Nanoflower) Morfolojik Üstünlükleri: Geniş Yüzey Alanı, Yüksek Reaktif Yüzey Enerjisi ve Çok Yönlü Biyofonksiyonellik

Hiyerarşik 3 boyutlu hibrit yapay organizasyonların en dikkat çekici örneğini, 2012 yılında literatüre kazandırılan çiçek şekilli hibrit nanoyapılar (nanoflower-hNF) oluşturur (Ge & ark., 2012:428). Mikron veya nano-altı ölçekte tam açmış bir çiçeğin katmanlı yaprakçık (petal) yapısını anizotropik biçimde taklit eden bu yapıların öne çıkan fizikokimyasal özellikleri şunlardır:

- Yüksek Spesifik Yüzey Alanı: Çok katmanlı yaprakçık dizilimi, partikülün geometrik hacmine göre çok yüksek bir spesifik yüzey alanı (m^2/g) sağlar. Bu da yüzeyde adsorbe edilebilecek veya reaksiyona girebilecek aktif molekül sayısını artırır.

- Poröz Difüzyon Kanalları: Katmanlı yaprakçıklar arasında uzanan mikropor ve mezopor boşluklar, çözelti içerisindeki substratların, iyonların ve sinyal moleküllerinin kütle transfer engeliyle karşılaşmadan iç kısımlara serbestçe difüzyonuna olanak tanır.

- Yüksek Reaktif Yüzey Enerjisi: İnce yaprakçıkların kenar ve köşe bölgelerinde yer alan koordine olmamış atomlar, yüksek yüzey enerjisi oluşturarak katalitik ve algılama süreçlerinde aktivasyon enerjisini düşüren reaktif merkezler olarak işlev görür.

- Biyofonksiyonel Uyarlanabilirlik: İnorganik yaprakçık iskeletinin içine organik biyomoleküllerin (enzim, nükleik asit, fitokimyasal) doğal üç boyutlu yapıları bozulmadan gömülebilmesi, biyokatalizden biyosensör tasarımına kadar pek çok uygulamada yüksek işletim dayanıklılığı sağlar.

DOĞAL BİYOLOJİK AJANLARLA BİYOLOJİK SENTEZ YAKLAŞIMLARI

Geleneksel kimyasal ve fiziksel üretim yollarına alternatif olarak geliştirilen biyolojik sentez (biyo-üretim) stratejileri, canlıların karmaşık kimyasal dönüşümleri oda sıcaklığında ve sulu ortamda gerçekleştirebilmesine dayanır. Doğal ajanların bu amaçla kullanılması enerji tüketimini en aza indirir ve reaksiyonun her basamağında ekolojik dengeyi gözeten biyo-temelli bir kimya kurar (Moghaddam & ark., 2015:16540; Castro & ark., 2013:109).

Yeşil Sentezin Temel İlkeleri ve Çevre Dostu Yaklaşımlar: Doğal Üretim Felsefesi, Yeşil Kimya İlkeleri ve Sürdürülebilir Nanoteknoloji Süreçleri

Yeşil kimya (Green Chemistry), 1990'lı yıllarda Anastas ve Warner tarafından formüle edilen 12 temel ilke doğrultusunda; tehlikeli kimyasalların üretimini ve kullanımını kaynağında önleyen yaklaşımları tanımlar. Yeşil sentezin nanoteknoloji süreçlerine uyarlanması üç ana eksende yürütülür:

- Zararsız Çözücü Seçimi: Toksik organik çözücülerin (toluen, kloroform, DMF, hekzan vb.) tamamen dışlanarak reaksiyon ortamı olarak ultra saf suyun veya biyouyumlu nötr tamponların kullanılması.
- Doğal ve Toksik Olmayan İndirgeyiciler: Sodyum borohidrür ($NaBH_4$), hidrazin hidrat ve hidrojen klorür gibi çevre ve insan sağlığı için tehlikeli indirgeyici kimyasalların yerine doğal biyomoleküllerin ikame edilmesi.

- Sürdürülebilir Kolloidal Kararlılık: Partiküllerin birbirine yapışmasını önlemek için sentetik polimerler (PVP, PEG) veya toksik surfaktanlar (CTAB, SDS) yerine doğal proteinlerin ve polisakkaritlerin koruyucu yüzey kılıfı (capping) olarak devreye girmesi.

Bu yaklaşım üretim aşamasındaki riskleri azalttığı gibi, malzeme yaşam döngüsünün sonunda çevreye salındığında da toksik biyobirikim ve ekotoksisite risklerini en aza indirir (Kharat & ark., 2017:1).

Konvansiyonel Fiziksel ve Kimyasal Yöntemlerin Sınırları: Toksik Reaktifler, Yüksek Enerji Gereksinimi ve Biyouyumluluk Engelleri

Geleneksel nanofabrikasyon tekniklerinin karşı karşıya kaldığı temel kısıtlar şunlardır (Tablo 4):

Tablo 4. Konvansiyonel fiziksel ve kimyasal nanomalzeme üretim yöntemlerinin sınırları

Yöntem Sınıfı	Uygulanan Başlıca Prosesler	Karşılaşılan Temel Kısıtlar ve Dezavantajlar
Fiziksel Yöntemler	Lazer Ablasyonu, Bilyalı Öğütme, Termal Buharlaştırma, Ark Boşalması	Yüksek vakum ve aşırı elektriksel/termal enerji tüketimi; pahalı enstrümantasyon; düşük verim; polidispers partikül dağılımı.
Kimyasal Yöntemler	Kimyasal İndirgeme, Sol-Jel, Ko-presipitasyon, Mikroemülsiyon	Toksik indirgeyici ($NaBH_4$, Hidrazin) ve kalıntı surfaktan kullanımı; partikül yüzeyinde adsorbe kalan tehlikeli kimyasal katışkılar; arındırma maliyetleri.
Biyomedikal Kısıtlar	Fiziksel/Kimyasal Üretilen Partiküllerin İn Vitro / İn Vivo Davranışı	Yüzeydeki kimyasal kalıntılar sebebiyle sağlıklı hücrelerde membran lizisi, kontrolsüz sitotoksisite ve immunojenik reaksiyonlar (biyouyumsuzluk).

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Bu sınırlılıklar, canlı doku ve biyomoleküllerle doğrudan temas gerektiren kanser tedavisi, hücresel görüntüleme ve

biyosensör geliştirme gibi uygulamalarda biyolojik kökenli yeşil nanoyapıların geliştirilmesini zorunlu kılmıştır.

Nanomalzeme Biyosentezinde Kullanılan Biyolojik Kaynaklar: Bitkiler, Mikroorganizmalar, Likenler ve Mantarlar Gibi Doğal Sistemlerin Biyo-İndirgeme Potansiyeli

Doğadaki biyolojik çeşitlilik, metal iyonlarını nano ölçekli partiküllere dönüştürebilecek geniş bir enzim ve sekonder metabolit kaynağıdır (Tablo 5):

- Bitkisel Ekstreler (Fito-sentez): Bitkilerin yaprak, kök, kabuk, meyve ve tohum dokularından elde edilen sulu özütler; polifenoller, flavonoidler (kateşin, kuersetin, kempferol), terpenoidler ve tanenler bakımından zengindir. Bu bileşiklerdeki serbest fenolik hidroksil (-OH) grupları kolayca deprotonize olarak metal katyonlarına elektron aktarır ve indirgenmeyi başlatır (Ata & ark., 2024:23).
- Mikroorganizmalar: Bakteriler (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*) ve mayalar; hücre zarında veya periplazmik boşluklarında bulunan membrana bağlı redüktaz enzimleri, NADH-bağımlı elektron transfer zincirleri ve c-tipi sitokromlar aracılığıyla metal iyonlarını hücre içi (intrasellüler) veya hücre dışı (ekstrasellüler) olarak elementel nanopartiküllere dönüştürür (Klaus-Joerger & ark., 2001:15).
- Mantarlar (Miko-sentez): Mantarlar (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*), bakterilere göre çok daha yüksek konsantrasyonlarda ekstrasellüler enzim (özellikle nitrat redüktaz) ve kaplama (capping) proteini salgılayabilir. Bu özellikleri, mantarları büyük ölçekli ve hızlı nanopartikül biyosentezinde öne çıkarır (Ahmad & ark., 2003:313; Moghaddam & ark., 2015:16540).

- Likenler: Bir mantar (mikobiyont) ile bir alg veya siyanobakterinin (fotobiyont) simbiyotik birlikteliği olan likenler (*Usnea*, *Pseudevernia*, *Lobaria*, *Cetraria*), ekstrem çevresel stres koşullarına karşı ürettikleri özgün sekonder metabolitler (usnik asit, lekanorik asit, fizodik asit, fumarprotosetrarik asit gibi depsit ve depsidon türevleri) sayesinde güçlü bir indirgeme ve kaplama kapasitesine sahiptir. Likenik asitlerin fenolik ve karboksilik fonksiyonel grupları metalik çekirdekleri sterik olarak sararak yüksek kolloidal kararlılık sağlar (Brodo & ark., 2001:1).

Tablo 5. Nanomalzeme biyosentezinde kullanılan biyolojik kaynakların karşılaştırılması

Kaynak	Örnek Organizma / Doku	Başlıca İndirgeyici ve Kaplayıcı Bileşenler	Sentezin Öne Çıkan Özelliği
Bitkiler	Yaprak, kök, kabuk, meyve ve tohum dokuları	Polifenoller, flavonoidler (kateşin, kuersetin, kempferol), terpenoidler, tanenler	Fenolik hidroksil gruplarıyla hızlı elektron transferi
Bakteriler ve mayalar	*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*; mayalar	Membrana bağlı redüktazlar, NADH-bağımlı elektron transfer zincirleri, c-tipi sitokromlar	Hücre içi veya hücre dışı sentez
Mantarlar	*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*	Nitrat redüktaz ve kaplama (capping) proteinleri	Yüksek ekstrasellüler enzim salgısı; büyük ölçekli ve hızlı sentez
Likenler	*Usnea*, *Pseudevernia*, *Lobaria*, *Cetraria*	Usnik, lekanorik, fizodik ve fumarprotosetrarik asit (depsit ve depsidon türevleri)	Güçlü indirgeme ve sterik kolloidal stabilizasyon

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Biyolojik Sentezde Güncel Uygulama Örnekleri: Farklı Doğal Kaynaklar ve Özütlerle Gerçekleştirilen Metal ve Metal Oksit Nanoyapı Sentezi Uygulamaları

Son dönem biyolojik sentez çalışmalarında farklı doğal ajanlar kullanılarak çok çeşitli metal ve metal oksit nanoyapıları başarıyla sentezlenmiştir:

- Gümüş Nanopartikülleri (AgNP): Çay (*Camellia sinensis*) veya zeytin yaprağı (*Olea europaea*) ekstrelerindeki polifenollerin gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisine ilavesiyle dakikalar içerisinde yüzey plazmon rezonansı (SPR) 420–440 nm civarında pik veren küresel gümüş nanopartikülleri üretilmektedir (Ata & ark., 2024:23).
- Altın Nanopartikülleri (AuNP): Mantar ve alg ekstreleri kullanılarak kloroaurik asidin ($HAuCl_4$) indirgenmesiyle üretilen altın nanoüçgen ve nanoküreler, biyouyumlu yüzey kılıfları sayesinde optik biyogörüntüleme ve fototermal kanser terapisinde yaygın olarak değerlendirilmektedir (Castro & ark., 2013:109; Senapati & ark., 2012:116).
- Bakır ve Bakır Oksit Nanoyapıları ($Cu/Cu_2O/CuO$): Liken ekstreleri ve tıbbi bitki özütleri aracılığıyla bakır sülfat ($CuSO_4$) veya bakır klorür ($CuCl_2$) öncüllerinden sentezlenen bakır bazlı nanoyapılar, hem güçlü antibakteriyel/antifungal aktiviteleri hem de redoks katalitik kapasiteleriyle öne çıkmaktadır.
- Çinko Oksit (ZnO) ve Demir Oksit (Fe_3O_4) Nanoyapıları: Bitkisel özütlerle hidrotermal veya oda sıcaklığı çöktürme süreçleriyle elde edilen bu yapılar; fotokatalitik atık arıtımı, manyetik hedeflendirme ve tarımsal nano-gübre uygulamalarında geniş yer bulmaktadır (Thamima & Karuppuchamy, 2014:1; Sangetha & ark., 2011:2560; Kamle & ark., 2020:168; Ata & Bölükbaşı, 2024:51).

ÇİÇEK ŞEKİLLİ HİBRİT NANOYAPILARIN OLUŞUM MEKANİZMASI VE PARAMETRELER

Çiçek şekilli hibrit nanoyapıların (hNF) biyomimetik sentezi, klasik tek bileşenli nanopartikül çöktürme süreçlerinden farklıdır: termodinamik ve kinetik olarak denetlenen, çok basamaklı ve düzenli bir kristalleşme ve birleşme sürecidir. İnorganik metal iyonları ile organik biyomoleküllerin sulu tampon fazındaki etkileşimi, amorf bir çökeltiden düzenli, hiyerarşik ve fraktal benzeri 3B çiçek morfolojisinin kendiliğinden oluşmasını sağlar.

Çiçek Şekilli Hibrit Nanoyapılara Giriş ve Yapısal Özellikler: Nanoflower Kavramı, Hiyerarşik 3 Boyutlu Organizasyon ve Morfolojik Karakteristikler

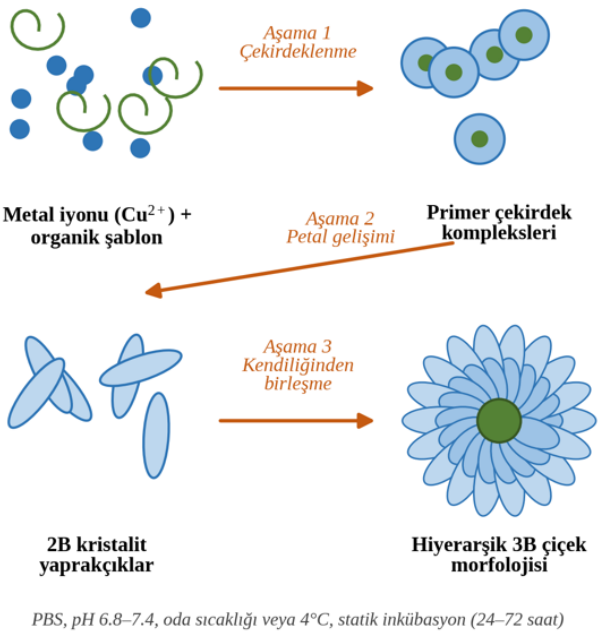
Nanoflower (hNF) kavramı; organik bir bileşenin (protein, peptid, DNA, bitkisel/likenik ekstrakt metaboliti) sulu tampon çözeltide inorganik metal tuzları (en yaygın olarak $CuSO_4$, $CaCl_2$, $ZnSO_4$, $MnSO_4$, $FeSO_4$) ile inkübe edilmesi sonucu oluşan hiyerarşik mikron/nano hibrit partikülleri ifade eder (Shende & ark., 2018:413).

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) analizleri, bu yapıların homojen küresel parçacıklar olmadığını; merkezden dışa doğru radyal olarak yayılan yüzlerce ince, pürüzsüz veya kıvrımlı "nano-yaprakçık" (petals) topluluğundan oluştuğunu gösterir. Yaprakçıkların kalınlığı genellikle 10 ila 50 nm arasında değişir; bütünsel çiçeğin çapı ise reaksiyon koşullarına bağlı olarak 500 nm ile 15 μm arasında hassas biçimde kontrol edilebilir. Bu hiyerarşik 3B organizasyon malzemenin gözenek hacmini büyük ölçüde artırır ve reaksiyon ortamındaki kütle transfer dirençlerini önemli ölçüde azaltır.

Üç Basamaklı Oluşum Kinetiği: Çekirdeklenme (Nucleation), Primer Yaprakçık (Petal) Gelişimi ve Anizotropik Çiçek Morfolojisinin Kendiliğinden Birleşimi (Self-Assembly)

Çiçek şekilli hibrit yapıların oluşumu, ilk kez 2012 yılında ortaya konan ve sonraki spektroskopik ve elektron mikroskobik çalışmalarla doğrulanan üç ardışık faz üzerinden ilerler (Ge & ark., 2012:428) (Şekil 3):

Şekil 3. Çiçek şekilli hibrit nanoyapıların üç basamaklı oluşum şeması



Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Birinci Aşama: Çekirdeklenme (Nucleation)

Sulu fosfat tamponu (PBS) ortamına metal iyonları (Cu^{2+}) ve organik şablon molekül (örneğin bir enzim veya bitkisel protein/polifenol) eklendiğinde, metal katyonları organik molekülün yapısında yer alan koordine edici fonksiyonel gruplarla (amino

grubu -NH_2, amit grubu -CONH-, karboksil grubu -COOH veya fenolik hidroksiller) hızla kompleksleşir. Eşzamanlı olarak reaksiyon ortamındaki serbest fosfat iyonları (HPO_4^{2-}, $H_2PO_4^-$), bu organo-metal kompleksleriyle reaksiyona girerek çözünürlüğü son derece düşük olan birincil amorf veya nano-kristalin metal fosfat çekirdeklerini [örneğin $Cu_3(PO_4)_2 \cdot 3H_2O$] oluşturur. Bu çekirdekler, organik moleküllerin homojen biçimde dağıldığı başlangıç tohumlarıdır.

İkinci Aşama: Primer Yaprakçık (Petal) Gelişimi

Oluşan tohum çekirdekleri çözeltide kararsızdır ve termodinamik serbest yüzey enerjisini düşürmek için büyümeye başlar. Organik moleküller metal fosfat kristalinin belirli kristalografik büyüme yüzeylerine (örneğin belirli Miller indislerine sahip fasetlere) spesifik olarak adsorbe olur. Biyomolekülün yüzeyi bloke etmesi, kristalin izotropik (her yöne eşit) büyümesini engeller ve anizotropik (yönelimli) bir büyüme paternini zorunlu kılar. Bunun sonucunda metal fosfat kristalleri iki boyutlu (2D) ince nano-levhacıklar veya nano-yaprakçıklar (petals) şeklinde düzlemsel olarak uzar. Bu evrede organik bileşen, inorganik yaprakçık iskeletinin yapısına kovalent olmayan bağlarla entegre edilir.

Üçüncü Aşama: Kendiliğinden Birleşme (Self-Assembly) ve Çiçeklenme

Oluşan çok sayıda 2D nano-yaprakçık, yüzeylerindeki açıkta kalan polar ve apolar domainler, hidrojen bağları, van der Waals kuvvetleri ve koordinasyon etkileşimleri aracılığıyla birbirini çekmeye başlar. Yaprakçıklar bir merkez etrafında radyal bir simetriyle kümelenir ve kendiliğinden birleşme (self-assembly) mekanizmasıyla küresel, hiyerarşik 3 boyutlu çiçek morfolojisini meydana getirir. Süreç genellikle 24 ila 72 saatlik bir inkübasyon periyodunda tamamlanır; inkübasyon süresinin uzaması yaprakçık yoğunluğunu ve çiçeğin nihai kompaktlığını artırır.

Sentezi Yöneten Çevresel ve Fizikokimyasal Dinamikler: pH Dengesi, Reaksiyon Ortamı (PBS/Tampon Sistemleri), Metal İyon Oranları ve İnkübasyon Koşulları

Hibrit nanoflower oluşumu, termodinamik ve kinetik parametrelerin hassas bir dengesine bağlıdır. Reaksiyon parametrelerindeki küçük bir sapma bile çiçek morfolojisinin bozulmasına ve şekilsiz amorf çökeltilerin oluşmasına yol açar (Tablo 6):

- pH Dengesi: Reaksiyon ortamının pH değeri, hem organik molekülün yüzey net yükünü ve izoelektrik noktasını (pI) hem de metal iyonlarının hidroliz ve çökelme davranışını belirler. Genellikle pH 6.8-7.4 aralığı (fizyolojik nötr) ideal çiçeklenme için zorunludur. Düşük pH değerlerinde (asidik ortam) amin ve karboksil gruplarının protonlanması metal iyonu koordinasyonunu zayıflatırken, yüksek pH değerlerinde (>8.5) metal hidroksit ($Cu(OH)_2$) çökeltileri baskın hale gelerek hiyerarşik yaprakçık oluşumunu engeller.
- Tampon Sistemi ve İyonik Şiddet: Nanoflower iskeletinin inorganik omurgasını oluşturan fosfat anyonları (PO_4^{3-}), fosfat tamponlu tuz (PBS) çözeltisinden sağlanır. Tamponun konsantrasyonu kristal büyüme hızını doğrudan etkiler. Fosfat konsantrasyonunun aşırı yüksek olması kontrolsüz hızlı çekirdeklenmeye ve düzensiz küçük partiküllere yol açarken; düşük konsantrasyon yaprakçıkların yeterli mekanik desteğe kavuşamamasına neden olur.
- Organik/İnorganik Stokiyometrisi (Konsantrasyon Oranı): Organik şablon (protein/ekstre) ile metal tuzu (Cu^{2+}) arasındaki konsantrasyon oranı morfolojiyi belirleyen anahtar değişkendir. Metal iyonuna kıyasla organik molekül derişiminin yetersiz kalması durumunda anizotropik büyüme yönlendirilemez ve klasik inorganik kristaller çöker. Organik molekülün aşırı yüksek

olması ise metal iyonlarını tamamen şelatlayarak serbest fosfat çökelmesini geciktirebilir ve yaprakçıkların bir araya gelmesini sterik olarak engelleyebilir.

- İnkübasyon Sıcaklığı ve Çalkalama Dinamikleri: Çiçeklenme kinetiği genellikle oda sıcaklığında (20-25°C) veya statik 4°C koşullarında en düzenli kristal mimariyi üretir. Yüksek sıcaklıklar (>50°C) organik şablon proteinlerin denatürasyonuna ve yaprakçıkların kontrolsüz kümelenmesine neden olur. Reaksiyonun statik (çalkalamasız) bırakılması, kristal büyümesinin laminer ve anizotropik ilerlemesi için gereklidir; şiddetli ajitasyon yaprakçıkların mekanik olarak kırılmasına yol açar.

Tablo 6. Çiçek şekilli hibrit nanoyapıların sentezini yöneten parametreler

Parametre	Uygun Koşul	Sapmanın Etkisi
pH	6.8-7.4 (fizyolojik nötr)	Asidik ortamda amin ve karboksil gruplarının protonlanmasıyla zayıf metal koordinasyonu; pH > 8.5'te $Cu(OH)_2$ çökeltisi
Fosfat tamponu (PBS)	Dengeli fosfat konsantrasyonu	Yüksek konsantrasyonda kontrolsüz hızlı çekirdeklenme ve düzensiz küçük partiküller; düşük konsantrasyonda yaprakçıklarda yetersiz mekanik destek
Organik / inorganik oranı	Dengeli şablon-metal oranı	Yetersiz organik bileşende yönlendirilemeyen büyüme ve klasik inorganik kristaller; aşırı organik bileşende metal şelatlanması ve gecikmiş çökelme
Sıcaklık	20-25°C veya 4°C	50°C'nin üzerinde protein denatürasyonu ve kontrolsüz kümelenme
Çalkalama	Statik (çalkalamasız)	Şiddetli ajitasyonda yaprakçıkların mekanik olarak kırılması
İnkübasyon süresi	24-72 saat	Sürenin uzamasıyla yaprakçık yoğunluğu ve çiçek kompaktlığı artar

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Metal Tabanlı Hibrit Ağlar: Bakır ve Diğer Geçiş Metallerinin Organik Moleküllerle Kompleksleşme Davranışı

Hibrit nanoflower yapılarının inorganik merkezinde en yaygın ve en başarılı biçimde kullanılan metal bakırdır (Cu^{2+}). Bunun nedeni, bakırın koordinasyon kimyasındaki geometrik özellikleridir (Tablo 7):

- Jahn-Teller Etkisi ve Oktahedral Bozulma: d^9 elektron dizilimine sahip Cu^{2+} iyonları, oktahedral koordinasyonda eksenel bağların uzaması ya da kısalmasıyla belirgin bir Jahn-Teller bozulması gösterir. Bu asimetrik elektron dağılımı, bakırın organik ligantlarla (protein omurgasındaki azot ve oksijen atomları) esnek ve anizotropik koordinasyon bağları kurmasını sağlar. Bu yönelimli bağlanma, iki boyutlu nano-yaprakçıkların kontrollü gelişiminin başlıca kimyasal itici gücüdür.
- Diğer Geçiş Metalleri ve Karşılaştırma:
  - Kalsiyum (Ca^{2+}): Biyouyumluluğu en yüksek metaldir. Kalsiyum fosfat tabanlı nanoflower yapıları (kemik apatit benzeri), özellikle ilaç taşıyıcı sistemler ve kemik doku mühendisliği iskeleleri için tercih edilir. Ancak Cu^{2+} kadar rijit yaprakçık morfolojisi oluşturmak daha yüksek optimizasyon gerektirir.
  - Çinko (Zn^{2+}): d^{10} konfigürasyonuna sahip olup tetrahedral koordinasyonu tercih eder. Antimikrobiyal özellikleri ve yarı iletkenlik nitelikleriyle biyosensör elektrot modifikasyonlarında yaygın kullanılır.
  - Mangan (Mn^{2+}) ve Demir (Fe^{2+}/Fe^{3+}): Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kontrast ajanları ve Fenton reaktifleri olarak hidroksil radikali üretimi gerektiren ileri oksidasyon proseslerinde hibrit ağların omurgasını oluşturur.

Tablo 7. Hibrit nanoflower sentezinde kullanılan metal iyonlarının karşılaştırılması

Metal İyonu	Elektronik / Koordinasyon Özelliği	Öne Çıkan Nitelik	Başlıca Kullanım Alanı
Cu^{2+}	d^9; Jahn-Teller distorsiyonlu oktahedral geometri	Yönelimli bağlanma ve rijit yaprakçık gelişimi	En yaygın nanoflower metali; enzim immobilizasyonu, biyosensör ve antimikrobiyal uygulamalar
Ca^{2+}	Kalsiyum fosfat (kemik apatiti benzeri) yapı	En yüksek biyouyumluluk	İlaç taşıyıcı sistemler, kemik doku mühendisliği iskeleleri
Zn^{2+}	d^{10}; tetrahedral koordinasyon	Antimikrobiyal ve yarı iletken nitelikler	Biyosensör elektrot modifikasyonları
Mn^{2+}, Fe^{2+}/Fe^{3+}	Manyetik ve redoks aktif merkezler	Fenton tipi hidroksil radikali üretimi	MRG kontrast ajanları, ileri oksidasyon prosesleri

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

HİBRİT NANOYAPILARIN ÇOK DİSİPLİNLİ UYGULAMA ALANLARI VE GELECEK PERSPEKTİFİ

Çiçek şekilli hibrit nanoyapıların geniş yüzey alanı, yüksek reaktif kenar yoğunluğu ve organik-inorganik sinerjisi, bu malzemeleri biyoteknolojiden klinik onkolojiye, çevresel arıtımdan gıda güvenliğine uzanan pek çok uygulamanın merkezine taşımıştır (Jiang & ark., 2007:263501; Molina & ark., 2019:141).

Hibrit Nanoyapıların Biyoteknolojik Uygulamalarına Genel Bakış: Fonksiyonel Yüzey Özelliklerinin Sunduğu Fırsatlar ve Disiplinler Arası Kullanım Potansiyeli

Hibrit nanoflower yapıları, malzeme bilimcilerine işlevsel molekülleri üç boyutlu uzayda yüksek yoğunlukta konumlandırma olanağı verir:

Difüzyon Engellerinin Aşılması: Geleneksel mikro-enkapsülasyon veya katı destek yüzeylerine bağlama yöntemlerinde substratlar taşıyıcı gözeneklerine hapsolup yavaş difüze olur. Nanoflower yaprakçıklarının açık ve hiyerarşik gözenek yapısı ise substrat-ürün kütle transferini yüksek hızda sürdürür.

Arayüz Kararlılığı: Organik moleküller inorganik matriks içerisine gömülü olduğundan, çevresel proteolitik enzim saldırılarına ve mekanik streslere karşı fiziksel bir koruma kalkanı elde eder.

Çok Modlu (Multimodal) Platformlar: İnorganik yaprakçıkların optik/katalitik gücü ile organik kılıfın seçici biyo-tanıma yeteneği, tek bir hibrit partikülün aynı anda hem teşhis (tanı) hem de tedavi (terapi) yapabilen "teranostik" sistemler olarak kullanımına olanak tanır.

Biyomedikal, Katalitik ve Çevresel Uygulama Alanları: Enzim İmmobilizasyonu, Biyosensörler, Arıtım Sistemleri ve Antimikrobiyal/Biyolojik Aktivite Arayüzleri

Hibrit nanoyapıların disiplinler arası kullanım alanları dört ana başlık altında toplanmaktadır (Tablo 8):

Tablo 8. Hibrit nanoflower yapılarının çok yönlü uygulama alanları

Enzim İmmobilizasyonu	Biyosensör Sistemleri	Çevresel Arıtım	Biyomedikal / Antimikrobiyal
% 650'ye varan aktivite artışı; Allosterik aktivasyon; Termal kararlılık ve tekrar kullanılabilirlik	Glukoz, H_2O_2 ve kolesterol tayini; Düşük algılama limiti (LOD); Hızlı elektron transferi	Tekstil boyalarının dekolorizasyonu; Ağır metal adsorpsiyonu; Ksenobiyotik degradasyonu	MRSA/*E. coli* üzerinde bakterisidal etki; Kanser hücrelerinde apoptoz indüksiyonu; İlaç salım platformları

Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Enzim İmmobilizasyonu ve Biyokataliz

Klasik yöntemlerle taşıyıcılara bağlanan enzimler genellikle konformasyonel esnekliklerini kaybeder ve aktiviteleri düşer. Hibrit nanoflower sistemlerinde ise enzimler organik şablon olarak kristalleşme sürecini bizzat yönlendirdiğinde çok daha iyi sonuçlar alınır:

2012 yılında yürütülen öncü çalışmada, sığır serum albümini (BSA), kandida antarktika lipazı B (CALB) ve yaban turbu peroksidazı (HRP) kullanılarak sentezlenen Cu^{2+} hibrit nanoflower yapılarının serbest enzime kıyasla % 650'ye varan oranlarda daha yüksek katalitik aktivite sergilediği bildirilmiştir (Ge & ark., 2012:428).

Aktivitedeki bu belirgin artışın moleküler mekanizması; enzimin inorganik fosfat kafesi içinde aktif bölgesini açıkta tutan elverişli bir konformasyona zorlanması (allosterik aktivasyon benzeri etki) ve bakır iyonlarının reaksiyon ara ürünlerindeki elektron transferini kolaylaştırmasıyla açıklanmaktadır.

İmmobilize enzimler 60-70°C gibi yüksek sıcaklıklarda ve aşırı pH ortamlarında günlerce kararlı kalabilmekte, santrifüjle

ortamdan ayrılarak defalarca (10-15 döngü) yeniden kullanılabilmektedir.

Biyosensör Sistemleri ve Biyoanalitik Teşhis

Nanoflower yapılarının sunduğu yüksek iletkenlik ve geniş yüzey alanı, elektrokimyasal ve kolorimetrik biyosensörlerde analitik sinyal amplifikasyonu sağlar:

Kolorimetrik Algılama: HRP veya peroksidaz benzeri intrinsik nano-enzim (nanozyme) aktivitesi gösteren nanoflower yapıları, hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında renksiz TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) substratını mavi renkli okside forma dönüştürür. Bu optik sinyal glukoz, kolesterol ve laktat tayininde pikomolar seviyelerde saptama sınırlarına (LOD) ulaşılmasını sağlar (Ibrahim, 2021:109).

Elektrokimyasal Sensörler: Elektrot yüzeyine modifiye edilen iletken nanoflower ağları, redoks merkezleri ile elektrot arasındaki elektron transfer direncini en aza indirir. Böylece DNA hibridizasyonu, kanser biyobelirteçleri (PSA, CEA, CA-125) ve patojen antijenleri hassas ve anlık olarak elektriksel yöntemle ölçülebilir (Baek & ark., 2020:110273; Jia & ark., 2011:158).

Çevresel Biyoremediasyon ve Atık Su Arıtımı

Tekstil, boya, ilaç ve petrokimya endüstrilerinin zehirli atıklarının parçalanmasında hibrit nanoflowerlar ileri arıtım ajanı olarak görev yapar (Kumar & ark., 2021:3139):

Lakkaz enzimi içeren nanoflowerlar (Laccase-hNFs), tekstil atık sularındaki karsinojenik azo boyalarını (Congo Red, Methylene Blue, Crystal Violet) ve endokrin bozucu bisfenol-A (BPA) türevlerini oksidatif olarak dakikalar içinde parçalayarak toksik olmayan yan ürünlere dönüştürür (Sharma & ark., 2020:123746; Jing & ark., 2019:1601).

Poröz inorganik yaprakçıklar, endüstriyel atık sulardaki kurşun (Pb^{2+}), kadmiyum (Cd^{2+}) ve cıva (Hg^{2+}) gibi toksik ağır metal katyonlarını iyon değişimi ve yüzey kompleksleşmesi mekanizmalarıyla yüksek kapasitede adsorbe ederek ortamdan uzaklaştırır (Kumar & ark., 2021:3139; Jing & ark., 2019:1601).

Antimikrobiyal ve Antikanser Biyoaktivite Arayüzleri

Bitki veya liken ekstreleriyle sentezlenen nanoflower yapıları çift yönlü terapötik etkinlik sergiler:

Antimikrobiyal Etki: Yapıdan yavaş ve kontrollü salınan Cu^{2+} iyonları, bakteriyel hücre duvarındaki lipopolisakkarit ve peptidoglikan tabakalarına bağlanarak membran potansiyelini çökertir. Hücre içine penetre olan partiküller DNA'ya bağlanıp replikasyonu bloke ederken, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* klinik suşlarına karşı güçlü bakterisidal etki gösterir (Molina & ark., 2019:141).

Antikanser Etkinlik: Kanser hücrelerindeki artmış glukolitik ortam ve asidik lizozomal kompartımanlar, nanoflower yapılarının tümör içinde hedeflenmiş çözünmesini tetikler (Truva Atı mekanizması). Açığa çıkan metal iyonları ve yüzeydeki biyoaktif fitokimyasallar, tümör hücrelerinde mitokondriyal yıkımı başlatarak anti-apoptotik genleri (*BCL-2*) transkripsiyonel düzeyde baskılar ve kanser hücrelerini seçici apoptoza yönlendirir.

Biyosentez Süreçlerinde Kararlılık, Ölçeklenebilirlik ve Karşılaşılan Güçlükler: Standardizasyon Sorunları, Uzun Dönemli Stabilite ve Endüstriyel Boyuta Aktarım Kısıtları

Hibrit nanoflower teknolojisinin potansiyeli büyük olsa da laboratuvar ölçeğindeki (mililitre düzeyindeki) sentez başarılarını endüstriyel üretime (tonajlı reaktörlere) taşımak için aşılması

gereken önemli mühendislik darboğazları vardır (Subhan & ark., 2021:75).

Doğal Ekstrelerde Standardizasyon Eksikliği: Bitkisel ve likenik özütlerin kimyasal içeriği; toplandığı coğrafi bölgeye, iklim koşullarına, mevsime ve ekstraksiyon protokolüne göre belirgin farklılıklar gösterir. Fitokimyasal profildeki bu değişkenlik, sentezlenen nanoflowerların morfolojisini, yaprakçık kalınlığını ve partikül boyutu dağılımını partiden partiye (batch-to-batch) değiştirir; bu da kalite güvencesini ve farmasötik standardizasyonu zorlaştırır.

Ölçeklenebilirlik ve Kütle Transferi Sorunları: Reaksiyon hacmi büyütüldüğünde reaktör içerisindeki laminer karışma dengeleri, yerel pH gradyanları ve sıcaklık dağılımları heterojenleşir. Nanoflower oluşumu statik veya yarı-statik laminer akış gerektirdiğinden, büyük ölçekli tanklarda homojen çiçeklenme kinetiğini korumak zordur.

Uzun Dönemli Kolloidal ve Yapısal Kararlılık: Sulu tampon çözeltilerde bekletilen nanoflower yapıları, zamanla metal fosfat tuzlarının yeniden kristalleşmesi (Ostwald olgunlaşması) sebebiyle yaprakçıklarını kaybedebilir, çökelebilir veya aglomere olabilir. Liyofilizasyon (dondurarak kurutma) işlemlerinde ise yaprakçıkların kırılgan nano-iskeletleri mekanik hasar görerek özgül yüzey alanında kayıplara uğrayabilmektedir.

İnorganik Metal İyonu Sızıntısı (Leaching): Biyomedikal uygulamalarda inorganik kafesten kontrolsüz metal (Cu^{2+}) iyonu sızıntısı, in vivo dolaşımda sağlıklı dokularda hedef dışı sistemik toksisite riskini beraberinde getirebilir.

Gelecek Perspektifleri ve Sonuç: Yeni Nesil Hibrit Tasarımları, Geliştirilmeye Açık Yönler ve Genel Değerlendirme

Hibrit nanoyapıların karşılaştığı kısıtları aşmaya yönelik araştırmalar yeni nesil yaklaşımlara odaklanmaktadır (Şekil 4):

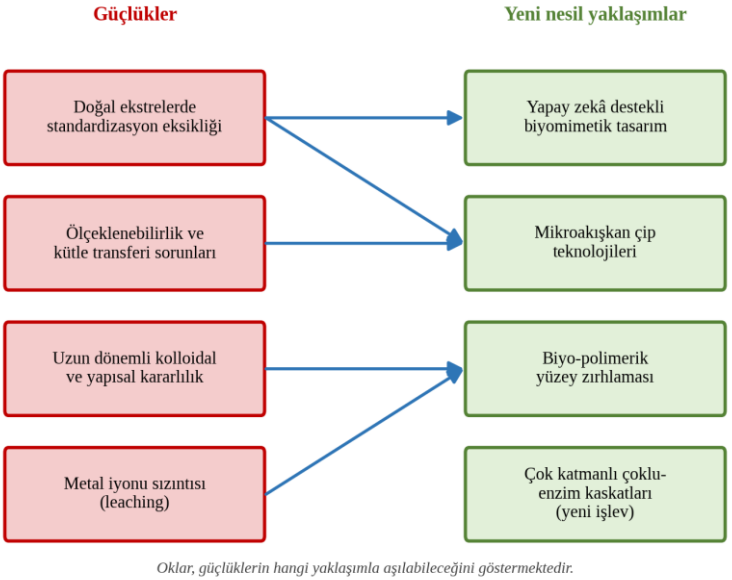
Mikroakışkan (Microfluidic) Çip Teknolojileri: Sürekli akışlı mikroakışkan reaktörlerin kullanımı, reaktiflerin difüzyonel karışımını milisaniye ve mikron düzeyinde denetleyerek tekdüze (monodispers) ve yüksek tekrarlanabilirliğe sahip nanoflower üretimine olanak tanımaktadır (Subhan & ark., 2021:75).

Çok Katmanlı ve Hibrit Çoklu-Enzim Kaskatları: Tek bir çiçek içerisine birden fazla enzimin (örneğin glukoz oksidaz ve laktoperoksidaz) art arda çalışacak şekilde konumlandırıldığı kaskat biyoreaktörler, metabolik substrat kanallamasını taklit ederek doğadaki hücresel metabolizma hızlarına yaklaşılmasını sağlayabilecektir.

Biyo-Polimerik Yüzey Zırhlaması: Nanoflower yaprakçıklarının dış yüzeyinin biyouyumlu polimerlerle (kitozan, aljinat, hiyalüronik asit) veya lipid çift katmanlarıyla nano-kapsüllenmesi, in vivo stabiliteyi artırabilecek ve zamansız metal sızıntılarını azaltabilecektir.

Yapay Zekâ Destekli Biyomimetik Tasarım: Makine öğrenmesi ve moleküler dinamik simülasyonları; protein dizilimleri, liken sekonder metabolitleri ve metal tuzları arasındaki bağlanma enerjilerini önceden modelleyerek, hedeflenen uygulama için en yüksek stabilite ve aktiviteyi sunacak optimum formülasyonların rasyonel tasarımını hızlandırabilecektir.

Şekil 4. Hibrit nanoyapı teknolojisinde karşılaşılan güçlükler ve yeni nesil çözüm yaklaşımları



Kaynak: Yazar tarafından hazırlanmıştır.

Genel Değerlendirme

Biyoteknolojiden nanobiyoteknolojiye uzanan dönüşüm, canlı sistemlerin milyonlarca yıllık biyomineralizasyon birikimini modern malzeme mühendisliğinin atomik düzeydeki kontrol gücüyle bir araya getirmiştir. Doğal kaynaklardan yararlanan yeşil sentezle üretilen çiçek şekilli hibrit nanoyapılar; geniş yüzey alanları, kütle transferini kolaylaştıran yapıları ve organik-inorganik sinerjileriyle biyokatalizden kişiselleştirilmiş nanotıbba kadar uzanan alanlarda işlevsel bir arayüz oluşturmaktadır. Standardizasyon ve ölçeklenebilirlik sorunları aşıldığında bu hiyerarşik hibrit yapılar, sürdürülebilir yeşil teknolojilerde ve klinik teranostik platformlarda belirleyici rol oynamaya devam edecektir.

Kaynakça

Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, M. I., Kumar, R., & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 28*(4), 313-318. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(02)00174-1

American Chemical Society. (n.d.). *Biotechnology*. Retrieved October 9, 2026, from https://www.acs.org

Ata, M. S., & Bölükbaşı, E. (2024). Nanoteknolojinin tarımsal verimliliğe etkileri; "Nanomalzemelerin rolü". In İ. Kartal (Ed.), *Malzeme bilimi mühendisliğinde güncel derlemeler* (pp. 51-91). BİDGE Yayınları.

Ata, M. S., Yılmaz, E. A., Polatcı, Ş., & Bölükbaşı, E. (2024). An in vitro study: Assessment of gene expression changes induced by nanoparticles synthesized from *Cladonia subulata* lichen on colon cell lines. *International Journal of Nature and Life Sciences, 8*(1), 23-35. https://doi.org/10.47947/ijnls.1477018

Ateş, H. (2015). Nano parçacıklar ve nano teller. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology, 3*(1), 437-442. https://izlik.org/JA45BS88MJ

Baek, S. H., Roh, J., Park, C. Y., Kim, M. W., Shi, R., Kailasa, S. K., & Park, T. J. (2020). Cu-nanoflower decorated gold nanoparticles-graphene oxide nanofiber as electrochemical biosensor for glucose detection. *Materials Science and Engineering: C, 107*, Article 110273. https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110273

Bogunia-Kubik, K., & Sugisaka, M. (2002). From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems, 65*(2-3), 123-138. https://doi.org/10.1016/S0303-2647(02)00010-2

Bölükbaşı, E., & Aras, E. S. (2016, October 21). *Gene transfer methods and applications in plants* [Conference presentation]. International Conference on Biological Sciences (ICBS), Konya, Türkiye.

Bölükbaşı, E., & Ata, M. S. (2025). Nano-biyo teknolojinin temelleri ve moleküler yaklaşımlar. In E. Bölükbaşı & M. S. Ata (Eds.), *Günümüzden geleceğe nano-biyo-teknoloji* (pp. 1-22). Yaz Yayınları. https://doi.org/10.5281/zenodo.17581584

Britannica. (2026). *Biotechnology: Medicine, agriculture, environment*. Retrieved September 24, 2026, from https://www.britannica.com/technology/biotechnology/Applications-of-biotechnology

Brodo, I. M., Sharnoff, S. D., & Sharnoff, S. (2001). *Lichens of North America*. Yale University Press.

Castro, L., Blázquez, M. L., Muñoz, J. A., González, F., & Ballester, A. (2013). Biological synthesis of metallic nanoparticles using algae. *IET Nanobiotechnology, 7*, 109-116. https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2012.0041

Erkoç, Ş. (2008). *Nanobilim ve nanoteknoloji*. ODTÜ Yayıncılık.

Feynman, R. P. (1959, December 29). *There's plenty of room at the bottom* [Conference presentation]. American Physical Society Annual Meeting, California Institute of Technology, Pasadena, CA, United States.

Ge, J., Lei, J., & Zare, R. N. (2012). Protein-inorganic hybrid nanoflowers. *Nature Nanotechnology, 7*, 428-432. https://doi.org/10.1038/nnano.2012.80

Hulla, J. E., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & Experimental Toxicology,*

34(12), 1318-1321. https://doi.org/10.1177/0960327115603588

Ibrahim, N. (2021). A review on the development of gold and silver nanoparticles-based biosensor as a detection strategy of emerging and pathogenic RNA virus. *International Journal of Health Sciences and Research, 11*(3), 109-118. https://doi.org/10.52403/ijhsr.20210316

Jia, W., Su, L., & Lei, Y. (2011). Pt nanoflower/polyaniline composite nanofibers based urea biosensor. *Biosensors and Bioelectronics, 30*, 158-164. https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.09.006

Jiang, C. Y., Sun, X. W., Lo, G. Q., & Kwong, D. L. (2007). Improved dye-sensitized solar cells with a ZnO-nanoflower photoanode. *Applied Physics Letters, 90*, Article 263501. https://doi.org/10.1063/1.2751588

Jing, L., Xu, Y., Xie, M., Liu, J., Deng, J., Huang, L., Xu, H., & Li, H. (2019). Three dimensional polyaniline/$MgIn_2S_4$ nanoflower photocatalysts accelerated interfacial charge transfer for the photoreduction of Cr(VI), photodegradation of organic pollution and photocatalytic H_2 production. *Chemical Engineering Journal, 360*, 1601-1612. https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.10.219

Kamle, M., Mahato, D. K., Devi, S., Soni, R., & Tripathi, V. (2020). Nanotechnological interventions for plant health improvement and sustainable agriculture. *3 Biotech, 10*(4), Article 168. https://doi.org/10.1007/s13205-020-2161-5

Kharat, M. G., Murthy, S., & Kamble, S. J. (2017). Environmental applications of nanotechnology: A review. *ADBU Journal of Engineering Technology, 6*(3), 1-11.

https://journals.dbuniversity.ac.in/ojs/index.php/AJET/article/view/408

Klaus-Joerger, T., Joerger, R., Olsson, E., & Granqvist, C. G. (2001). Bacteria as workers in the living factory: Metal-accumulating bacteria and their potential for materials science. *Trends in Biotechnology, 19*(1), 15-20. https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)01514-6

Kumar, L., Ragunathan, V., Chugh, M., & Bharadvaja, N. (2021). Nanomaterials for remediation of contaminants: A review. *Environmental Chemistry Letters, 19*(4), 3139-3163. https://doi.org/10.1007/s10311-021-01255-6

Moghaddam, A., Namvar, F., Moniri, M., Md Tahir, P., Azizi, S., & Mohamad, R. (2015). Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast: A review of their preparation, properties, and medical applications. *Molecules, 20*(9), 16540-16565. https://doi.org/10.3390/molecules200916540

Molina, G. A., Esparza, R., López-Miranda, J. L., Hernández-Martínez, A. R., España-Sánchez, B. L., Elizalde-Peña, E. A., & Estevez, M. (2019). Green synthesis of Ag nanoflowers using *Kalanchoe daigremontiana* extract for enhanced photocatalytic and antibacterial activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 180*, 141-149. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.04.044

Sangetha, G., Rajeshwari, S., & Venckatesh, R. (2011). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Aloe barbadensis* Miller leaf extract: Structure and optical properties. *Materials Research Bulletin, 46*, 2560-2566. https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2011.07.046

Senapati, S., Syed, A., Moeez, S., Kumar, A., & Ahmad, A. (2012). Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga

Tetraselmis kochinensis. *Materials Letters, 79*, 116-118. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2012.03.109

Sharma, P., Kumar, N., Chauhan, R., Singh, V., & Srivastava, V. C. (2020). Growth of hierarchical ZnO nano flower on large functionalized rGO sheet for superior photocatalytic mineralization of antibiotic. *Chemical Engineering Journal, 392*, Article 123746. https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123746

Shende, P., Kasture, P., & Gaud, R. S. (2018). Nanoflowers: The future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 46*(sup1), 413-422. https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1428812

Subhan, M. A., Choudhury, K. P., & Neogi, N. (2021). Advances with molecular nanomaterials in industrial manufacturing applications. *Nanomanufacturing, 1*(2), 75-97. https://doi.org/10.3390/nanomanufacturing1020008

Thamima, M., & Karuppuchamy, S. (2014). Biosynthesis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles from natural sources: A review. *Advanced Science, Engineering and Medicine, 6*, 1-8. https://doi.org/10.1166/asem.2014.1624

Wang, F., Li, P., Chu, H. C., & Lo, P. K. (2022). Nucleic acids and their analogues for biomedical applications. *Biosensors, 12*(2), Article 93. https://doi.org/10.3390/bios12020093

Wang, W., Zhang, Y., & Li, X. (2020). Emerging applications at the interface of DNA nanotechnology and cellular systems. *Nature Reviews Materials, 5*(12), 1-16. https://doi.org/10.1038/s41578-020-00239-9

BÖLÜM 4
GLUKOZ 6-FOSFAT DEHİDROGENAZ ENZİMİNİN AFİNİTE KROMATOGRAFİSİ İLE SAFLAŞTIRIMASI

MEHMET ÇİFTCİ[1]

Giriş

G6PD enzimi insan eritrositlerinden ilk olarak 1965 yılında Yoshida tarafından saflaştırılmıştır. Enzim daha sonra sıçan meme bezlerinden, sığır eritrositlerinden ve birkaç insan dokusundan afinite kromatografisi uygulanarak saflaştırılmıştır. 1978 yılında De Flora ve arkadaşları tarafından insan eritrositlerinden afinite kromatografisi kullanılarak küçük miktarlarda saflaştırma yapılmıştır. Daha sonraları Yüreğir ve arkadaşları tarafından defalarca kandan Sefakril-3000, DE-52 selüloz, CM-52 selüloz kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. Ayrıca at eritrositlerinden, *Pseudomonas W6 '*dan, *Pseudomonas cepacio'*dan, bezelye yapraklarından, domuz karaciğerinden, *Cryptococcus neoformans'*tan, insan plasentasından, ekmek mayasından, köpek karaciğerinden, sıçan karaciğerinden, *Candida utilis* ve ekmek mayasından, *Zymomonas mobilis'*ten, *Bacillus stearothermophilus'*tan, *Aspergillus nidulans'*tan, insan akciğerinden, tavşan kanından değişik metodlarla enzim saflaştırılmış ve kristalize edilmiştir. Görüldüğü gibi G6PD enzimi birçok teknik kullanılarak saflaştırılmıştır. Ancak bu yayınlardan

[1]Prof. Dr., Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Orcid: 0000-0002-1748-3729

enzimin afinite kromatografisi ile insan eritrositlerinden çok yüksek verimle enzimin saflaştırıldığı görülmektedir. Bir örnek teşkil etmesi bakımından burada G6PD enziminin insan eritrositlerinden 2′, 5′ ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi ile saflaştırılması tekniği ayrıntılı bir şekilde tüm basamakları ile burada anlatılacaktır (Shreve & Levy, 1977: 1369, Ninfali & ark., 1990: 297, Morelli & ark., 1978: 4, Dikmen & Yüreğir, 1989: 212, Yüreğir & ark., 1988: 125, Yüreğir & ark., 1994: 50, Cristina & ark., 1990: 159, Reuter & ark., 1990: 539, Cacciapuoti & Lessie,1977:555, Fickenscher & Scheibe, 1986: 393, Kanhi & ark., 1976a: 2255, Kanhi & ark., 1976b: 2258, Niehaus & MAllet, 1994: 304, Fazi & ark., 1988: 153, Alhama, Loper-Boreo & Toribio, 1991: 51, Bilgi & ark., 1995: 291, Gonzale, Montserrat & Manuel,1988:59, Stepleton & Porter, 1984: 653, Takagahara & ark., 1977: 585, Li, Eriksson & Hjerten, 1990: 107, Scopes & ark., 1985: 627, Okuno, Nagata & Nakajima, 1985: 192, Hondmann & Visser, 1990: 155, Sa, Das & Mukherjea, 1989: 619).

Kan Numunelerinin Alınması ve Hemolizat Eldesi

G6PD'nin saflaştırılması için gerekli prosedürler yerine getirilerek taze insan kanı soğuk zincir kurallarına göre temin edildikten sonra +4 ºC′de muhafaza edilir ve en çok iki üç gün içinde kullanır. Saflaştırma çalışmalarına hemen başlanmayacaksa kan numuneleri derin dondurucuda (-20 ºC) muhafaza edilmelidir.

Alınan taze kandan eritrositleri ayırmak için kan 10 mL′lik 4 tüpe konulur ve 15 dakika 2500xg′de santrifüj edilir. Tüplerin üst kısmında kalan plazma ve lökosit tabakaları damlalıkla alınır. Daha sonra eritrositler uygun miktarda (5-6 mL) 0,16 M'lık KCl çözeltisi ile üç defa yıkanır. Her defasında 2500xg′de santrifüj edilerek süpernatant atılır. Elde edilen eritrositler hacimlerinin beş katı kadar buzlu su ile hemoliz edilir. Bundan sonra hücre zarlarını

uzaklaştırılması için +4 ºC'de 10.000xg′de 20-30 dakika santrifüj yapılır. Daha sonra damlalıkla süpernatant atılır. Böylece hemolizat hazırlanmış olur. Elde edilen bu hemolizatta enzim aktivitesi aktivite ve protein tayini yapılır (Ninfali & ark., 1990: 297).

Amonyum Sülfat Çöktürmesi ve Diyaliz

Proteinler çok değerlikli elektrolitler olduklarından iyonlara benzer şekilde hareket ederler. Yüksek tuz konsantrasyonlarında, protein moleküllerini çevreleyen ve çözünür halde tutan su molekülleri, tuzdaki iyonlar tarafından çekilir ve proteinler çöker. Bu çökmede molekül kütlesi ve iyonik şiddet etkilidir. Dolayısıyla değişik tuz konsantrasyonları söz konusu olduğunda çöken proteinlerin farklı olması beklenir (Lehninger, Nelson & Cox, 1993, Keha & Küfrevioğlu, 1997). Saflaştırma işlemlerinde bu özelliklerden faydalanıldı.

Önceden elde edilen hemolizatta %35-65 amonyum sülfat çöktürmeleri yapılır. Her defasında çökeltide ve süpernatantta aktiviteler tespit edilir (Shreve & Levy, 1977). Bütün bu işlemler +4 ºC′de gerçekleştirilir. Çöktürme işlemleri sırasında kullanılan katı amonyum sülfat miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$g\,(NH_4)_2\,SO_4 = \frac{1.77.\,V.\,(S_2 - S_1)}{3.54 - S_2}$$

V= Hemolizat hacmi

S_1= 1′in kesri şeklinde mevcut amonyum sülfat doygunluğu

S_2= 1′in kesri şeklinde istenilen amonyum sülfat doygunluğu

Amonyum sülfat çöktürmesi sırasında mağnetik karıştırıcı üzerinde hemolizata katı $(NH_4)_2SO_4$ yavaş yavaş katılır (+4 ºC′de).

Her defasında daha önce katılan $(NH_4)_2SO_4$′ın çözünmüş olmasına dikkat edilir. Çözünme işi bittikten sonra hemolizat 5000xg′de 15 dakika santrifüj edilir. Elde edilen çökeltiler yeteri kadar 50 mM fosfat tamponunda (pH= 7,0) çözülür.

Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen karışım diyaliz torbasına yerleştirilir ve enzimin içinde bulunduğu karışım (50 mM K-asetat/50 mM K-fosfat, pH = 7,0) tamponuna karşı mağnetik karıştırıcı üzerinde ve buzdolabı içinde +4 ºC′de 2 saat süreyle 2 defa değiştirilerek diyaliz edilir. Diyaliz işlemi sonlandıktan sonra elde edilen numunede aktivite ve protein tayini yapılarak sonuçlar kaydedilir (Ninfali & ark., 1990: 297).

Afinite Jelinin Hazırlanması

Laboratuvar şartlarında 10 mL′lik yatak hacmi için 2 g kuru 2′, 5′ ADP Sepharose 4B jeli tartılarak 400 mL destile su ile katkı maddelerinin uzaklaştırılması için birkaç defa yıkanır. Yıkama esnasında jel şişmiş olur. Şişmiş jelin havası alındıktan sonra % 25 dengeleme tamponu (0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat pH= 6,0) ve % 75 jel olacak şekilde, jel süspanse edilir. Süspanse edilmiş jel 1x10 cm′lik kapalı sistem oluşturucu ve soğutmalı kolona paketlenir. Jel çöktükten sonra peristaltik pompa kullanılarak dengeleme tamponuyla yıkanır. Dengeleme ve yıkamada akış hızı 50 mL/h olarak uygulanır. Kolonun dengelenmiş olduğu elüat absorbansı ile tampon absorbansının yaklaşık olarak eşitlenmesinden anlaşılır (Ninfali & ark., 1990: 297).

Numunenin Afinite Kolonuna Tatbiki ve G6PD′ın Elüsyonu

Amonyum sülfat çöktürmesinden elde edilen derişikleştirilmiş numune, 0,1M K-asetat/0,1 M K-fosfat (pH= 6,0)

çözeltisiyle dengelenmiş olan bu kolona tatbik edilir. Daha sonra kolon sırasıyla 25 mL 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat (pH= 6.0), 25 mL 0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat (pH= 7,85) ve 0,1 M KCl/0,1 M K-fosfat (pH= 7,85) çözeltileriyle yıkanır. Dengeleme ve yıkama hızları 50 mL/saat′e ayarlanır ve skış hızı peristaltik pompa ile kontrol altında tutulur. Böylece enzimin büyük bir kısmı jele tutunmuş ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmış olur. Daha sonra 80 mM K-fosfat + 80 mM KCl + 0,5 mM $NADP^+$ + 10 mM EDTA (pH= 7,85) çözeltisi kolona uygulanarak enzim elüe edilir ve elüsyonlar fraksiyon toplayıcısı ile 2′şer mL'lik tüplere alınır. Elüsyon sırasında akış hızı peristaltik pompa ile 20 mL/saat′e ayarlanır. Bütün bu işlemler esnasında sıcaklık +4 ºC′de kontrol altında tutulur. Elüatlarda 280 nm′de kalitatif protein tayini, $NADP^+$ absorbansı protein absorbansını maskelediğinden yapılamayacağından her bir fraksiyonda enzim aktivitesine bakılarak kaydedildi ve aktivite gösteren fraksiyonlar birleştirildi. Saflaştırma yapıldıktan sonra saflaştırma tablosunun hazırlanabilmesi için hemolizat, amonyumsülfat çöktürmesi ve enzim çözeltisinde spesifik aktiviteler ayrı ayrı belirlenerek yüzde saflaştırma miktarları hesaplanır[20]. Saflaştırılan enzim çözeltisi önce destile suya karşı 12 saat kadar 3-4 defa suyu değiştirilerek diyaliz edilir ve daha sonra 50 mM K-asetat/50 mM K-fosfat (pH= 6.0) çözeltisiyle 3-4 defa çözelti değiştirilerek diyaliz edilir[20]. Elde edilen enzim çözeltisi kinetik çalışmalarda kullanılmak üzere aliquitlere ayrılarak derin dondurucuda dondurularak saklanır (Ninfali & ark., 1990: 297, Morelli & ark., 1978: 4).

Kalitatif Protein Tayini

Kromatografi işlemlerinde fraksiyon toplayıcısı yardımıyla eşit hacimde alınan bütün fraksiyonlarda kalitatif protein tayini yapılır. Kalitatif protein tayini, 280 nm′de proteinlerin yapısında

bulunan triptofan ve tirozinin maksimum absorbans göstermesi esasına dayanmaktadır. Fraksiyonlar kuvarz küvetlere alınarak, absorbansları spektrofotometre'de köre karşı okunur. Fakat 280 nm′de enzim çözeltisindeki $NADP^+$ proteinlerin absorbansını maskelediği için sonuç alınamayabilir (Segel, 1968:403).

Kantitatif Protein Tayini

Afinite kromatografisi ile saflaştırılan enzim çözeltisindeki, amonyum sülfat çökeltisi ve hemolizattaki protein miktarları kantitatif belirlenir. Çok sayıda protein tayin metodu mevcuttur. Örneğin Coomassie Brillant Blue G-250 yöntemi en uygun metotlardan biridir. Bu yöntem, Coomassie Brillant Blue G-250 boyasının protein molekülleri ile bağlanarak kompleks yapması esasına dayanır. Oluşan kompleks 595 nm′de maksimum absorbans gösterir. Proteine boyanın bağlanması çok hızlı gelişir (ortalama 2 dakika). Protein-boya kompleksi çözeltilerde uzun süre kalır. Bu yöntemin hassasiyeti 1-100 µg arasındadır (Bradford, 1976:248).

Standart grafiğin çizilebilmesi için, 1 mL′sinde 1 mg protein ihtiva eden standart sığır albümin çözeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µl alınır. Saf su ile tüm tüplerin hacmi 0,1 mL′ye tamamlanır. 5 mL renklendirme reaktifi tüplere ilave edilir ve vortex ile karıştırılır. 10 dakika sonra 595 nm′de 3 mL'lik küvetlerde köre karşı absorbans değerleri okunur. Kör olarak 0,1 mL aynı tampon ve 5 mL renklendirme reaktifinden oluşan karışım kullanılır. Absorbans değerlerine karşılık gelen µg protein değerleri standart grafik halinde çizilir.

Glukoz 6-fosfat Dehidrogenaz Enzimi Aktivitesinin Tayini

Enzim aktivitesi tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntem aşağıdaki yönteme dayanmaktadır.

$$\text{Glukoz 6-fosfat} + NADP^{+} \xrightarrow[\text{dehidrogenaz}]{\text{Glukoz 6-fosfat}} \text{6-Fosfoglukono δ-lakton} + NADPH + H^{+}$$

Nikotinamidadenin dinükleotidfosfat ($NADP^{+}$), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz tarafından glukoz 6-fosfat varlığında yukarıdaki reaksiyona göre indirgenir. NADPH′ın oluşum oranı glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesine bağımlı olup 340 nm′deki absorbans artışı ile ölçülebilir.

Tayin işlemleri için şu prosedür uygulandı:

1. Küvet (Kontrol);

1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH= 8.0)	=	250 µl
0,1 M $MgCl_2$	=	250 µl
2 mM $NADP^{+}$	=	250 µl
1/20 Hemolizat	=	50 µl
Saf su	+ =	1700 µl
	Toplam	2500 µl

2. Küvet (Numune);

1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH=8.0)	=	250 µl
0,1 M $MgCl_2$	=	250 µl
2 mM $NADP^{+}$	=	250 µl
1/20 Hemolizat	=	50 µl
Su	=	1450 µl
6 mM Glukoz 6-fosfat	+ =	250 µl
	Toplam	2500 µl

Her bir kuvartz küvete ilgili çözeltiler konduktan sonra 37 ºC′de 10 dakika inkübe edilir. Sonra kontrole karşı numunenin

absorbans artışları 5 dakika süreyle 30 s′de bir kaydedilir. Daha sonra G6PD enziminin aktivitesi aşağıdaki formüle göre EÜ/mL olarak hesaplanır.

$$A = \frac{\Delta OD}{6{,}22} \times \frac{Vc}{V_E} \times f$$

Bu formülde A: Aktivite (EÜ/mL), ΔOD: Dakika başına absorbans, 6,22: Ekstinksiyon katsayısı, Vc: Küvet hacmi, V_E: Enzim numunesinin hacmi, f: Seyreltne katsayısı (Beutler, 1971: 68).

Sodyum Dodesilsülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi ile Enzim Saflığının Kontrolü

Enzimin saflaştırılmasından sonra % 3-8 kesikli sodyum dodesilsülfat (SDS-PAGE) poliakrilamid jel elektroforezi Laemmli tarafından anlatıldığı gibi yapılarak enzimin saflık derecesi kontrol edilebilir (Laemmli, 1970: 680).

Bunun için elektroforez plakaları önce su, sonra alkol ile iyice yıkanır. İki cam plaka birbiri üstüne konuldu ve kıskaçlarla tutturularak jel hazırlama cihazına konulur. Öncelikle ayırma jeli hazırlanarak plakalar arasına enjektörle dökülür. Hava olmamasına dikkat edilir ve jel yüzeyinin düzgün olması için % 0,1′lik SDS ile ince bir tabaka oluşturulur. Katılaşıncaya kadar (yaklaşık yarım saat) beklenir. Katılaştıktan sonra üstündeki % 0,1′lik SDS dökülür. Sonra yığma jel üst yüzeye kadar ilave edilir ve üzerine tarak dikkatlice yerleştirilir. Tarağın da üstüne nemli süzgeç kâğıdı konularak bir gece bekletilir. Ertesi gün tarak dikkatlice çıkarılarak plakalar elektroforez tankına yerleştirilir. Oluşan boşluklar işaretlenerek jelin üstü önce saf su, sonra da yürütme tamponu ile yıkanır. Daha sonra elektroforez tankının alt ve üst kısmına yürütme tamponu konulur. Numuneler her birinde 20 μg protein olacak şekilde önceden

hazırlanır. Her bir numuneye toplam hacim 100 µl olacak şekilde 1/1 oranında numune tamponu katılır ve 3 dakika kaynar su banyosunda inkube edilir. Daha sonra numuneler soğutularak, elektroforeze çok ince bir enjektör yardımıyla tatbik edilir. Tank kapağı kapatılarak alt tarafından (+) kablo (Anot), üstten (-) kablo (katod) yerleştirilir. Numunelerin elektriksel alanda yürümeleri için önce 80 voltta yarım saat, daha sonra 150 volta 4-5 saat oda sıcaklığında akım verilir. Sonra akım kesilerek, cam plakalar arasındaki jel dikkatlice çıkarılır. Yürütme tamponu tekrar kullanılmak üzere saklanır ve çıkarılan jel sabitleştirme çözeltisinde (% 50 izopropanol + % 10 TCA + % 40 safsu) 30-40 dakika bekletilir. Daha sonra sabitleştirme çözeltisinden çıkarılan jel özel kabına konularak, renklendirme çözeltisi üstünü örtünceye kadar eklenir ve 1,5-2 saat kadar çalkalayıcı üzerinde çalkalanır. Daha sonra renklendirme çözeltisinden çıkarılarak, renksizleştirme çözeltisine alınır. Belirli aralıklarla değiştirilmek suretiyle jelin zemin rengi açılıp, protein bantları belirginleşinceye kadar bu çözelti içinde çalkalanır. Jel renksizleştirme çözeltisinden çıkarıldıktan sonra fotoğrafı çekilerek uygun şekilde imha edilir.

Renksizleştirme çözeltisi, aktif karbon üzerinden geçirilerek tekrar tekrar kullanılabilir. Elektroforezde kullanılan renklendirme çözeltisi; % 0,1 Coomassie Blue R-250, % 50 metanol, % 10 asetik asit, % 40 saf su ile hazırlanır. Renksizleştirme çözeltisi ise; % 50 metanol, % 10 asetikasit, % 40 saf sudan ibarettir. Ayırma jeli, 15 mL 1 M Tris-HCl (pH= 8,8), 10.66 mL % 30′luk akrilamid-% 0,8′lik bisakrilamid, 0,61 mL %0,1′lik SDS, 0,4 mL % 5′lik TEMED (N,N,N′,N′-tetrametil etilen diamin) ve 11,94 mL su karıştırılarak elde edilir. Bu karışımın üzerine en son olarak 0,8 mL % 1,5′luk amonyum persülfat $(NH_4)_2S_2O_8$ (PER) ilave edilir. Burada kullanılan PER kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlanmalıdır.

Yığma jeli ise 1 M′lık Tris-HCl (pH= 6,8)′den 1,24 mL, % 30'luk akrilamid, % 0,8′lik bisakrilamid′den 1 mL, % 0,1'lik

SDS′den 0,1 mL, % 5′lik TEMED′den 0,1 mL ve saf sudan 7,36 mL alınıp karıştırılmasıyla elde edilir. Son olarak yine günlük hazırlanmış % 1,5′ luk PER′den 0,2 mL ilave edilir.

Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

1. 1 M Tris-HCl/5mM EDTA (pH= 8,0) (Enzim aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon): 6,05 g (0,05 mol) Tris ve 0,0605 g EDTA ($2,5x10^{-4}$ mol) alınarak bir miktar destile suda çözülür. pH, HCl ile 8.0'e ayarlanır ve daha sonra toplam hacim destile su ile 50 mL'ye tamamlanır.
2. 0,1 M $MgCl_2$ (Enzim aktivite ölçümünde kullanılan aktivatör çözeltisi): 0,475 g $MgCl_2$ ($5x10^{-3}$ mol) alınıp hacmi destile su ile 50 mL'ye tamamlanır.
3. 2 mM $NADP^+$ (Enzimin aktivite ölçümünde kullanılan çözelti): 0,0765 g $NADP^+$ ($1x10^{-4}$ mol) alınıp hacmi destile su ile 50 mL'ye tamamlanır.
4. 6 mM G6P (Enzimin aktivite ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi): 0,091 g G6P ($3x10^{-4}$ mol) alınıp hacmi destile su ile 50 mL'ye tamamlanır.
5. 0,16 M KCl (Kanın yıkanması için kullanılan çözelti): 1,192 g KCl (0,016 mol) alınıp hacmi destile su ile 100 mL'ye tamamlanır.
6. 50 mM KH_2PO_4 (pH= 7,0) (Amonyum sülfat çökeltisinin çözünmesi için kullanılan tampon): 0,68 g KH_2PO_4 ($5x10^{-3}$ mol) alınıp 80 mL destile suda çözülür. pH'sı NaOH ile 7,0'ye ayarlanır ve daha sonra toplam hacim destile su ile 100 mL'ye tamamlanır.
7. (50 mM K-asetat/50 mM K-fosfat) (pH= 6,0) (Çözünmüş amonyumsülfat çökeleğinin diyalizi için kullanılan tampon): 4,9 g K-asetat ($5x10^{-2}$ mol) 6,8 g K-fosfat ($5x10^{-2}$ mol) karışımının

hacmi destile su ile 800 mL'ye çıkarılıp pH′sı 6,0'ya ayarlandıktan sonra toplam hacim 1 lt'ye tamamlanır.

8. (0,1 M K-asetat/ 0,1 M K-fosfat) (pH= 6,0) (Afinite kolonunun dengelenme ve yıkanması için kullanılan tampon): 9,8 g K-asetat (0,1 mol) ve 13,6 g K-fosfat (0,1 mol) karışımı 800 mL destile suda çözülür. pH 6,0′ya ayarlandıktan sonra toplam hacim destile su ile 1 litreye tamamlanır.

9. (0,1 M K-asetat/0,1 M K-fosfat) (pH= 7,85) (Numuneyi tatbik ettikten sonra afinite kolonunun yıkanması için kullanılan tampon): 9,8 g K-asetat (0,1 mol) ve 13,6 g K-fosfat (0,1 mol) karışımı 800 mL destile suda çözülür ve pH 7,85'e ayarlandıktan sonra toplam hacim destile su ile 1 litreye tamamlanır.

10. (0,1 M K-fosfat/0,1 M KCl) (pH= 7,85) (Numuneyi tatbikten sonra afinite kolonunun yıkanması için kullanılan tampon): 13,6 g K-fosfat (0,1 mol) ve 7,45 g (0,1 mol) KCl karıştırılarak hacim destile su ile 800 mL′ye tamamlanır ve pH 7,85′e ayarlandıktan sonra toplam hacim 1 litre olacak şekilde destile su ilave edilir.

11. (80 mM K-fosfat+80 mM KCl+0,5 mM $NADP^+$+10 mM EDTA) (pH= 7,85) (Afinite jeline tutunmuş olan glukoz 6-fosfat dehidrogenazın elüsyonu tamponu): 5,44 g K-fosfat ($4x10^{-2}$ mol), 2,98 g KCl ($4x10^{-2}$ mol) 0,1913 g $NADP^+$ ($2x5.10^{-4}$ mol) ve 1,21 g EDTA ($5x10^{-3}$ mol) karıştırılır ve pH 7,85′e ayarlandıktan sonra toplam hacim destile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

12. % 0,02 lik NaN_3 çözeltisi (Afinite kolonunun bakterilerden korunması için kullanılan çözelti): 20 mg NaN_3 alınarak hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanır.

13. (0,1 M Tris + 0,5 M NaCl) (pH= 8,5) (Afinite kolonunun rejenerasyonu için hazırlanan tampon); 6,05 g Tris (0,05 mol) ve 14,61 g NaCl (0,25 mol) alınarak pH 8,5′e ayarlanır ve toplam hacim destile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

14. (0,1 M Na-asetat/0,5 M NaCl) (pH= 4,5) (Afinite kolonunun rejenerasyonu için hazırlanan tampon): 4,1 g Na-asetat (0,05 mol)

ve 14,61 g NaCl (0,25 mol) alınıp suda çözülür ve pH 4,5′e ayarlanır. Daha sonra toplam hacim destile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

15. SDS-PAGE'de kullanılan numune tamponu: 0,5 mL 1 M Tris-HCl (pH= 6,8), 1mL % 0,1 SDS ve 1 mL % 100′lük gliserin ve 1 mL % 0,1'lik brom timol mavisinin karıştırılarak hacimlerinin saf su ile 10 mL'ye tamamlanması ile hazırlanır. Bu tampona kullanılmadan önce 950 µl numune tamponunda 50 µl olacak şekilde β-merkapto etanol ilave edilir.

16. SDS-PAGE'de kullanılan yürütme tamponu: 1,5 g Tris ve 7,2 g glisin 50 mL suda çözüldükten sonra üzerine 5 mL % 0,1'lik SDS ilave edilerek toplam hacim destile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

17. Coomassie Brillant Blue G-250 renk reaktifi (proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan çözelti): 100 mg Coomassie Brillant Blue G-250, 50 mL % 95′lik etanolde çözülür. Bu çözeltiye % 95′lik 100 mL fosforik asit ilave edilir ve daha sonra çözeltinin hacmi saf su ile 1 litreye tamamlanır.

18. Boyama çözeltisi (jelin boyanması için kullanılan çözelti): 0,1 g Coomassie Blue R-250, % 50 metanol, % 10 asetik asit, % 40 saf su olacak şekilde yeteri kadar hazırlanır.

19. Yıkama çözeltisi (jelin yıkanması için kullanılan çözelti): % 50 metanol, % 10 asetik asit, % 40 saf su olacak şekilde yeteri kadar hazırlanır.

20. Sabitleştirme çözeltisi (jeldeki proteinlerin sabitleştirilmesi için kullanılan çözelti): 50 izopropanol, % 10 TCA, % 40 saf su olacak şekilde yeteri kadar hazırlanır.

Saflaştırma Tablosunun Hazırlanması

Saflaştırma tablosunun hazırlanabilmesi için yine insan eritrosit G6PD enziminin saflaştırılmasını örnek alarak alındı. Tablonun hazırlanması için bazı varsayımlarla hareket edildi.

Tablonun hazırlanabilmesi için saflaştırma basamaklarının her birinde numune miktarı, numune aktivitesi ve numunenin protein miktarının önceden belirlenmesi gerekir. Burada tablonun hazırlanması için hemolizatın hazırlanması, amonyum sülfat çöktürmesi ve 2′, 5′ ADP Sepharose 4B afinite kromatografisi basamakları kullanıldı. Öncelikle elimizde 1,18 EÜ/mL aktivite ve 25 mg/mL potein içeren 50 mL'lik homojenat, 0,90 EÜ/mL aktivite ve 5 mg/mL potein içeren 25 mL'lik amonyum sülfat çöktürme numunesi ve 2′, 5′- ADP Sepharose-4B afinite kromatografisi sonucu elde edilen 2,90 EÜ/mL aktivite ve 0,056 mg/mL potein içeren 5 mL'lik enzim numunesinin olduğunu varsayalım ve bu değerlere göre saflaştırma tablosunu oluşturalım.

Tablo 1. Saflaştırma basamakları

Saflaştırma Basamakları	**Aktivite (EÜ/mL)**	**Toplam Hacim (mL)**	**Protein miktarı (mg/mL)**	**Toplam protein (mg)**	**Toplam Aktivite (EÜ)**	**Spesifik Aktivite (EÜ/mg. protein)**	**Yüzde verim (%)**	**Saflaştırma Katsayısı**
Hemolizat	1,10	50	35	1750	55	0,031	100	1
Amonyum Sülfat Çöktürmesi %(35-65)	0,90	25	5	125	22,50	0,180	40,90	5,80
2′, 5′- ADP Sepharose-4B Afinite Kromatografisi	2,9	5	0,056	0,28	14,50	51,78	26,36	1670

Tablo hazırlanırken her bir basamaktaki spesifik aktivite, enzim aktivitesinin (EÜ/mL) protein miktarına (mg/mL) bölünmesi sonucu elde edilir. Örneğin hemolizatta spesifik aktivite (0,031 mg. protein/mL) 1,10'in (aktivite EÜ/mL) 35'e (protein miktarına mg/mL) bölünmesi sonucu elde edilir. Bir basamaktaki yüzde verim, toplam aktivitenin bir önceki basamaktaki toplam aktiviteye bölünmesi sonucu elde edilir. Örneğin amonyum sülfat çöktürmesi basamağı için elde edilen yüzde verim (40,90), 22,50'nin (amonyum sülfat çöktürmesi için toplam aktivite) 55'e (hemolizat için toplam aktivite) bölünmesi sonucu elde edilir. Saflaştırma katsayısı ise hemolizatta 1 kabul edilerek her bir basamaktaki spesifik aktivitenin hemolizatın spesifik aktivitesine bölünmesi sonucu elde edilir. Örneğin amonyum sülfat çöktürmesinin saflaştırma katsayısı (5,8), amonyum sülfat basamağında elde edilen spesifik aktivitenin (0,180 Spesifik Aktivite (EÜ/mg.protein) hemolizatın spesifik aktivitesine (0,031 Spesifik Aktivite (EÜ/mg.protein) bölünmesi ile elde edilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada metabolik süreçlerde önemli bir role sahip olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enziminin eritrositlerden saflaştırılmasında en etkili yöntemlerden biri olarak kabul edilen afinite kromatografisi yöntemi ayrıntılı bir şekilde ele alınmıştır. Sunulan saflaştırma protokolünün, enzimin izolasyonu ve saflaştırılması üzerine çalışan araştırmacılara yol göstermesi ve ilgili alandaki bilimsel çalışmalara katkı sağlaması beklenmektedir.

Kaynakça

Alhama, J., Loper-Boreo, J., Toribio, F., (1991). High-performance afinity chromatography of $NADP^+$ dehydrogenases from cell-free

extracts using a nucleatide analogue as general ligand, *Journal of Chromatography*, 586, 51-59.

Beutler E., 1971, Red cell metabolism manual of biochemical methods, Academic Press, London, 19, 68.

Bilgi, C., Ünsal, Ý., Özer, N., Erbil, M.K., Karaca, L., (1995). Purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase from dog liver, *Turkish Journal of Medical Sciences,* 24, 291-295

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

Cacciapuoti, A.F. and Lessie, T.G., (1977). Characterization of the fatty acid-sensitive glucose 6-phosphate dehydrogenase from Pseudomonas Cepacia, *Journal of Bacteriology*, 555-563.

Cristina, Delgado, M., Cristina Tejedor and Jose, Luque., (1990). Partıal purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase and phosphofructokinase from rat erythrocyte haemolysate by partitioning in aqueous two-phase systems, *Journal of Chromatograpy*, 498, 159-168.

Dikmen, N., Yüreğir, T.G., (1989). Kordon Kanından izole edilen galaktoz 6-fosfat kullanımı ile ilginç iki glukoz 6-fosfat dehidrogenaz varyantı, *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 14, 212-219.

Fazi, A., Magnani, M., Accorsi, A., Ninfali, P., Fornaini G., (1988). Simultaneous preparation from hunan placente of several enzymes of glucose metabolism, *Preparative Biochemistry*, 18(2), 153.

Fickenscher, K. and Scheibe, R., (1986). Purification and properties of the cytoplasmic glucose 6-dhosphate dehydrogenase from pea leaves, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247, 393-402.

Gonzale, G., Montserrat, N., Manuel, F., (1988). Purification and characterization of a cofactor that controls the oxidative phase of the pentose phosphate cycle in liver and other tissues of rat, *Biochimica et Biophysica Acta*, 990, 59-65.

Hondmann, D.H.A., Visser, J., (1990). Screening method for large numbers of dye-adsorbents for enzyme purification, *Journal of Chromatography*, 510, 155.

Kanhi, M.I., Toews, M.L., Carpar, W.R., (1976). A Kinetic study of glucose 6-phosphate dehydrogenase, *The Journal of Biological Chemstry*, 251, 2258-2262.

Kanhi, M.I., Toews, M.L., Carpar, W.R., (1976). Glucose 6-phosphate dehydrogenase,purıfication and characterizatıon, *The Journal of Biological Chemistry*. 251, 2255-2257.

Keha, E.E., ve Küfrevioğlu, Ö.İ., (1997). Biyokimya, Şafak Yayınevi, Erzurum.

Laemmli, D.K., (1970). Cleavage of structural proteins during in assembly of the head of Bacteriophage T_4, *Nature* (London), 227, 680.

Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox. M.M., (1993). Principles of Biochemistry, Worth Publishers, Inc., New York, Second Edition.

Li, J., Eriksson, K.O., Hjerten, S., (1990). High-performance liquid chromatography of proteins on deformed nonporous agarose beads. Afinity chromatography of dehydrogenases based on cıbacron blue-derıvatızed agarose, *Preparative Biochemıstry*, 20, (2), 107.

Morelli, A., Benatti, U., Gaetanı, G.F. and De Flora, A., (1978). Biochemical mechanisms of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75 (4), 1979-1983.

Niehaus, W.G., Mallett, T., (1994). Purification and characterization of glucose 6-phosphate dehydrogenase from Cryptococcus Neoformans, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 313, 304-309.

Ninfali, P., Orsenigo, T., Barociani and S. Rapa., (1990). Rapid purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase from mammal's erythrocytes, *Preparative Biochemistry*, 20, 297-309.

Okuno, H., Nagata, K. Nakajima, H., (1985). Purification and properties of glucose 6-phosphate dehydrogenase from Bacillus Stearothermophilus, *Journal of Applied Bıochemstry*, 7, 192.

Reuter, R., Naumann, M., Metz, P., Kopperschlager, G., (1990). Purification and characterization of glucose 6-phosphate dehydrogenase from Pseudomonos W6, *Biomedica Biochimica Acta*, 7, 539-546.

Sa, G., Das, T. Mukherjea, M., (1989). Purification and characterization of fatty acid-binding proteins from human fetal lung, Exp. *Experimental Lung Research*, 15, 619-634.

Segel, I.H., (1968). Biochemical Calculations. Inc., New York, 403.

Scopes, R.K., Testolin, V., Stoter, A., Griffiths-Smith, K., Algor, E.M., (1985). Simultaneous purification and characterization of glucokinase, fructokinase and glucose 6-phosphate dehydrogenase from Zymomonas Mobilis, *The Biochemical Journal*, 228, 627-634.

Shreve, D.S., Levy. H.R., (1977). On the molecular weight of human glucose 6-phosphate deyhdrogenase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 78, 1369-1375.

Stapleton, S.R., Porter, J.W., (1984). Purification of nucleotide requiring enzymes by immunoafinity chromatography, *Biochemical Journal*, 226, 653-659.

Takagahara, I., Suzukı, Y., Fujıta, T., Yamati, J., Fujii, K., Yamashita, J., Horio, T., (1977). Successive purification of several enzymes having afinities for phosphoric groups of substrates by afinity chromatography on P-cellulose, *The Journal of Biochemistry*, 83, 585-597.

Yüregir, G.T., Aksoy, K., Arpacı, A., Ünlükurt, İ. Tuli A., (1994). Studies on red cell glucose 6-phosphate dehydrogenase, Evaluation of reference values, *Annals of Clinical Biochemistry*, 31, 50-55.

Yüreğir, T.G., Aksoy, K., Dikmen, N. Ünlükurt, İ., (1988). Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin insan eritrositlerinden kısmi saflaştırılması ve enzimolojik özelliğinin incelenmesi, IX. Ulusal Biyoloji Kongresi, *Genel Biyoloji, Nümerik Taksonami ve Kantitatif Ekoloji Paneli bildirileri*, 1, 125-130.

BÖLÜM 5

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİDE CRISPR-Cas13a SİSTEMİYLE NÜKLEİK ASİT TANISINDA KULLANILAN METOTLAR

BERNA BAŞ[1]

Giriş

Çok çeşitli bitkileri infekte edebilme yeteneği olan ve hücresel yapıya sahip olmayan bitki virüsleri yaklaşık 12 – 900 nm büyüklüğündedir (Xavier & Whitfield, 2023:R478). Virüsler bitkiler arasında vektörlerle, aletle temas ederek mekanik yollarla, infekteli üreme materyalleriyle yayılabilmektedirler (Dumka & Kumar, 2025:17). Doğada latent periyotları virüs ırklarına, çevresel koşullara ve bitkilere bağlı olarak bazen yıllarca sürebilmekte bazen birkaç günde gözle görünür semptomlar gelişebilmekte, bazen semptom geliştirmeden latent olarak bitkileri infekte edebilmektedirler (Takahashi & ark., 2019). Mücadelesi zor olan viral bitki hastalıkları tarımsal ürünlerde önemli kayıplara neden olduğu için erken mücadelede güvenilir yöntemlerle hızlı ve arazide yerinde teşhis edilmesi büyük önem taşımaktadır. Viral teşhisler için ideal bir tanı testi hızlı, duyarlı, ucuz, kullanımı kolay ve arazide

[1] Doktor Öğretim Üyesi, Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Orcid: 0000-0003-2455-2849

uygulanabilir olmalıdır. Son dönemlerde nükleik asit polimorfizmini ortaya çıkaran CRISPR-Cas sistemlerinden Cas12a ve Cas13a mekanizmalarının virüslerde teşhis amaçlı uygulama araştırmaları ilgi odağı olmaya başlamıştır.

Moleküler tanı-teşhis amaçlı çalışmalarda hızlı, basit, ekonomik ve laboratuvar ekipmanı gerektirmeyen Cas13a sistemi bitki salgın hastalıklarının önlenmesi ve kısa sürede kontrol altına alınmasında oldukça ideal bir araçtır. Çeşitli RNA virüslerinin hızlı ve metota bağlı olarak hem kantitatif hem kalitatif tayinleri için günümüzde ilgi gören Cas13a 'nın kollateral aktivitesi kullanılarak çeşitli metotlar geliştirilmiştir (Hadidi, 2019; Fozouni & ark., 2021:323). Bu metotlardan bazıları SHERLOCK, HUDSON+SHERLOCK, CARVER, SHINE, DETECTR, CARMEN örneklenebilir (Myhrvold & ark., 2018:444; Freije & ark., 2019:826; Katzmeier & ark., 2019; Arizti-Sanz & ark., 2020; Shanmugaraj & ark., 2024; Kamariza & ark., 2025). SHERLOCK prensibinde; hedeflenen gen miktarını artırmak için Cas13, RPA, T7 transkripsiyonu kombine edilmekte ve Cas13a enzimlerinin önce *cis*- sonra *trans*- aktivitesi etkinleştikten sonra floresan sinyaller salınmaktadır (Gootenberg & ark., 2017:438). Bu teknikte DNA/RNA saflaştırma aşamaları laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmektedir. HUDSON+SHERLOCK kombinasyonunda da HUDSON reaksiyonu, RPA, T7 transkripsiyonu ve hedeflenen gen miktarını artırmak için Cas13 kullanılmakta olup *cis*- ve *trans*-aktiviteden sonra floresan ışık yayılmaktadır (Myhrvold & ark., 2018:444). Büyük viral salgınlarda kullanılabilen bu yöntem de DNA/RNA için özel saflaştırmaya ihtiyaç duyulmadan virüs içeren örnekteki nükleaz enzimleri ısıyla inaktif edilerek ve viral kılıf lize edilerek işlem gerçekleştirilmektedir. İlgili yöntemde nükleik asit izole edilmeden denemeye alınacak örnekler ısı ve kimyasal redüksiyon işleminden sonra doğrudan SHERLOCK testi için kullanılabilmektedir ve arazi de teşhisler için kullanılabilir

özelliktedir. Hem teşhiste hem de antiviral uygulamalarda kulanılan CARVER sisteminde ise Cas13 enzimi kültüre alınan hücrelerde ihtiyaç duyulan viral RNA seviyesini 40 kat kadar azaltmaktadır (Freije & ark., 2019:826). CARMEN tekniği PCR/RPA ve Cas13 kombinasyonuyla hedef geni çoğaltmakta olup *trans* aktiviteden sonra floresan sinyal vermektedir (Katzmeier & ark., 2019). Bu teknikle aynı anda yüzlerce virüs teşhis edilebilmektedir. Viral sekansları tür, ırk ve tek nükleotit (SNP) polimorfizm düzeyinde ayrım yapabildiği için geniş bir uygulama imkanı sunmakta ve yeni nesil dizileme (NGS) metodu ile birlikte uygulandığında patojen teşhisi, keşfi ve evriminde de uygulama potansiyeline sunmaktadır (Katzmeier & ark., 2019). Adı geçen bu yöntemlerden CARMEN-Cas13 arazide yerinde virüs teşhisleri için uygun bir platform olup pratik olarak henüz bitki patojen virüs teşhislerinde deneysel araştırmaları bulunmamaktadır. İlgili yöntemler genellikle, renk, elektrokimyasal ve floresan sinyalleri algılayarak çalışmaktadır. Sunulan derlemede Cas13a 'ya dayalı geliştirilen biyosensörlerin profilleri ve bitki virolojisinde uygulama potansiyelleri ele alınmıştır.

Cas13a Sistemiyle Bitki Virüslerinin Tespiti

1. Floresan Sinyallerle Virüslerin Algılanması

Cas13a nükleazlarının kollateral aktivitesine dayalı çeşitli raportör moleküller geliştirilerek nükleik asitler hızla teşhis edilebilmektedir (Kellner & ark., 2019:2986). Bu amaçla kullanılan metotlar aşağıdaki şekildedir.

a)floresan işaretli raportörlerle jel-bazlı tespit yöntemi (Abudayyeh & ark.,2016),

b)sönümlenmiş floresan raportörlerle florometrik tespit yöntemi (East-Seletsky & ark., 2016:270; Gootenberg & ark., 2017:438),

c)sıvı-sıvı faz ayrımıyla çözelti bulanıklığının modülasyonuyla görsel tespit yöntemi (Spoelstra & ark., 2021:1198),

d)antijen-işaretli raportörlerle lateral flow tespit yöntemi (Gootenberg & ark., 2018:439).

CRISPR endonükleazlarının programlanabilir özellikleri, patojen mikroorganizmalara ait nükleik asitlerin teşhisi amacıyla kullanılmaktadır. SHERLOCK (Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter un-LOCKing) ve DETECTR (DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter) teknikleri attomolar konsantrasyonda DNA/RNA teşhislerinde kullanılabilmektedir (Myhrvold & ark., 2018:444; Pandya, Jagani & Singh, 2024:1739). Diğer teknik HUDSON (Heating Unextracted Diagnostic Samples to Obliterate Nuclease) ısı ve kimyasal redüksiyonla vücut sıvısındaki nükleik asitleri doğrudan tanılayan prosestir (Gootenberg & ark., 2018:439; Chaijarasphong & ark., 2019; Zhang, Zhang & Xie, 2020).

Nükleik asit tanısında en yaygın kullanılan rutin klasik bir PCR tekniği bir numunede yaklaşık < 100 kopya nükleik asit (yani attomolar-zeptomolar seviyesinde) tanısı yapabilme kapasitesindedir ancak deneyimli personel, özel ve pahalı ekipman gerektirmektedir (Niemz, Ferguson & Boyle, 2011; Syal & ark., 2017; Venbrux, Crauwels & Rediers, 2023).

Bazen de özellikle virüs yoğunluğu PCR 'la bile tanılanamayacak kadar düşük olabilmektedir. Örneğin klinik izolatlardan elde edilen ZIKV virüsünün RT-PCR ile tanısı için gereken RNA miktarı 0.7–220 × 10^6 kopya.ml^{-1} olup, SHERLOCK için 2 × 10^3 kopya.ml^{-1} (3.2 aM) yeterli olmuştur (Gourinat & ark., 2015:84; Gootenberg & ark., 2017:438). PCR ile nükleik asit tanı-teşhis çalışmalarında ihtiyaç duyulan RNA miktarı sabit olmayıp viral örneklere, kullanılan PCR (RT-PCR, qPCR gibi) tekniklerine

göre değişebilmektedir. RT-PCR testi ile SARS-CoV-2 teşhisinde 1000 kopya.ml^{-1} RNA iyi bir analitik duyarlılıkta sonuç vermektedir (Wu & ark., 2020).

SHERLOCK (Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter Unlocking) çeşitli RNA örneklerini aynı anda ultra hassas düzeyde tayin edebilmektedir (Kellner & ark., 2019:2986). SHERLOCK ile Cas13a sisteminde uygulanan strateji de hedef alınan DNA bölgesi RPA gibi bir prosedürle çoğaltılmaktadır. T7 promoter sekansları entegre edilerek çoğaltılan dsDNA ürünleri T7 RNA polimeraz yardımıyla transkripsiyona uğrayarak bol miktarlarda ssRNA örnekleri üretilmekte olup bunlarda CRISPR-Cas13a ile tanınmaktadır (Kellner & ark., 2019:2986; Mao & ark., 2023).

Portatif teşhis enstrümanlarıyla kullanılan SHERLOCK ilk olarak 2017 yılında bir grup araştırıcının nükleik asitleri hızlı ve güvenilir tanı amacıyla geliştirdikleri bir metotdur (Gootenberg & ark., 2017:438). Analitik duyarlılığı, özgüllüğü, kolaylığı, hızı ve esnekliğinden dolayı farklı platformlara uyumu, SHERLOCK teknolojisine ilgiyi artırmaktadır. Memelilerde RNA mühendislik çalışmalarında CRISPR-Cas13 aracılı hedef RNA knockout veya knockdown ile başarılı sonuçlar elde edilmiş olsa da kollateral aktivitesinin hedef dışında kalan diğer RNA moleküllerine zarar vermesi ve bu hasarın tanılanmasının zorluğu sistemin en önemli dezavantajıdır (Kordyś, Sen & Warkocki, 2022; Tuncel & ark., 2025:419). Terapötik çalışmalarda konukçu RNA 'sına zarar verebileceğinden dolayı Cas13 grubu nükleazların, nükleik asit tanı-teşhislerinde kullanımı daha ideal görünmektedir.

Raportör molekül tercihine göre SHERLOCK metodunun sonucu, floresan sinyal okuma ve lateral flow testleriyle yorumlanmaktadır. Cas13a nükleazları RNA transkriptleriyle çalıştığı için ilk aşamada transkriptlerin konsantrasyonları artırılmaktadır. Örneğin test edilecek RNA virüsünün hedeflenen bölgesi RT-RPA (veya LAMP, HDA gibi yöntemler de tercih

edilebilir ancak bunlar yüksek ısıda çalıştığı için arazi koşullarında ideal değillerdir (Tomita & ark., 2008:877; Vincent, Xu & Kong, 2004:795)) ile çoğaltılır, yani tek bir test tüpü içinde RNA 'dan DNA üretilir, böylece DNA çoğaltılır (PCR testine benzer şekilde), ardından T7 RNA polimeraz gibi bir enzim yardımıyla ilgili DNA 'dan bol miktarlarda viral RNA üretilir. Cas13a nükleazı cis aktivitesiyle bu RNA 'yı parçaladıktan sonra kollateral aktivitesiyle diğer hedef dışındaki RNA transkriptlerini de parçalamaktadır. Raportör olarak kullanılacak olan RNA transkriptleri daha önceden laboratuvar koşullarında hazırlanmaktadır. Yaklaşık 5-10 nükleotit uzunluğundaki bu raportör RNA prob parçalarının her iki ucu, 5′ uç ve 3′ uç, kimyasal işlem görmektedir (Nalefski & ark., 2021; Deng & ark., 2023). Bir uçta fluorophore gibi floresan ışık yayan kimyasal diğer uç bölgeye ise BHQ1 (Black Hole Quencher) gibi sönümleyici boya eklenmektedir. Cas13a nükleazının cis aktivitesinden sonra kollateral aktivite işlevsel olduğu için ilgili prob RNA molekülleri de parçalanmaktadır. Fluorophore bulunan segment sönümleyici uçtaki segmentten ayrıldıktan sonra belirgin bir şekilde floresan ışık yayılmaktadır. Böylece virüs RNA 'sının varlığı kanıtlanmaktadır. Cas13a cis aktivitesini gerçekleştiremezse veya Cas13a nükleazı hedeflenen RNA ile uyumlu değilse RNA transkripti kesilememekte ve böylece trans aktivitede gerçekleşmemektedir.

Ancak SHERLOCK testi belli bir prosedüre sahip olsa da halen yapılan araştırmalar sonuçları doğrulamak amacıyla qRT-PCR ile birlikte yapılmaktadır. Yöntemin dezavantajları; laboratuvar koşullarında birçok aşamaları olan RNA ekstraksiyon ve çoğaltımı RPA ile bir tek tüp içerisinde ve tek aşamalı gerçekleştirildiği için hedeflenen sekans bölgesi kantitatif olarak arzu edilen miktara ulaşamayabilir. Mutlak kantitatif değerin önemli olduğu dPCR testinde ihtiyaç duyulan miktarlarda DNA konsantrasyonunda meydana gelecek çok hafif bir miktar değişimi tespit edilemeyebilir. Bu nedenle duyarlı gen profil çalışmaları için SHERLOCK uygun

olmayabilir. Belli bir metodolojisi olsa da SHERLOCK henüz arazide yerinde uygulama çalışmaları bulunmamaktadır. Yine de elastik ve kolay bir yöntem olduğu için yakın gelecekte araziye uyarlanabilir özellikler geliştirilmesi beklentiler arasındadır.

LFA Test Şeritleri

Cas13a ile teşhis amacıyla çeşitli platformlar geliştirilmiş olsa da bu metotlar insan hastalık virüslerinin teşhisinde uygulanmış olup fitopatojen virüslerin tanısında ise floresan ışık ve lateral flow teşhis metoduyla ilgili araştırmalar çok az sayıda bulunmaktadır.

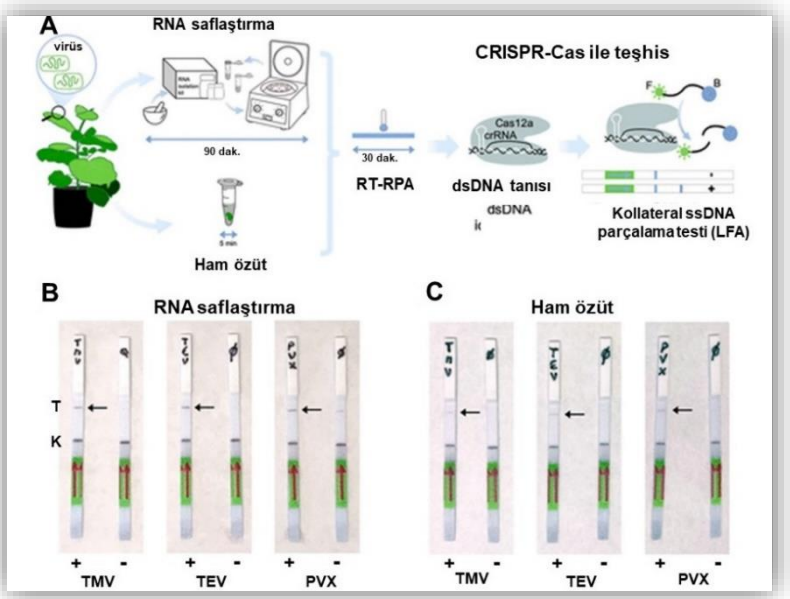
Normal koşullarda laboratuvarda RNA ekstraksiyonu ve çoğaltımı özel ekipman ve deneyimli personel gerektirmektedir. SHERLOCK için kullanılan LFA test şeritleri insanlarda hastalığa neden olan virüs teşhislerinde kullanılmaktadır (Hall & ark., 2025). Virüsle infekteli bitki örneklerinin LFA test şeridi uygulaması aşağıdaki şekil 1 ’de özetlenmiştir.

Şüpheli bitki örneği tampon çözeltide iyice ezilip özütü çıkarıldıktan sonra saflaştırma aşaması olmadan sıvı solüsyondan 1 damla alınarak test bandındaki örnek çukura yerleştirilmektedir.

LFA şeritleri genel olmayıp her virüs için ayrı olarak hazırlanmaktadır (Wei & ark., 2025; Yan & ark., 2026:135). Cam veya polistren plastik destek şeritlerin üzeri porlu bir yapıya sahip olan nitroselüloz ve/veya benzeri membranla kaplanmaktadır (Rao & ark., 2005:227). Pozitif şerit çizgisinde araştırılan virüsün RNA veya DNA ’sının komplementer nükleik asit bazları yer almaktadır. Bu nükleik asitler floresan boya ile boyalı olup araştırılan numune içinde virüs varsa hem test şeridi hem örnek şeridi içindeki nükleik asitler Watson-Crick modeline göre eşleşmekte ve cep telefonunun ışığıyla bile görünecek şekilde floresan ışık yayılmaktadır. Numune içinde virüs yoksa test şeridi ışık yaymamaktadır. Bundan dolayı lateral flow assay testi daha geniş kullanım imkanı bulmuştur.

Yapılan bir denemede prob olarak biotin ve floresan işaretli ssDNA molekülü kullanılarak Cas12a sistemiyle çalışılmıştır (Marqués & ark., 2022:2384). Tütünde RNA virüsleri *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tobacco etch virus* (TEV) ve *Potato virus X* (PVX) karışım halinde kullanılmış ve Cas12a, Cas13a/d metotlarıyla başarılı bir şekilde teşhis edilmişlerdir. Cas12a ile hazırlanan ssDNA problarının varlığı LFA test şeritleriyle doğrulanmıştır. Şekilde 1A ’da LFA ile CRISPR-Cas12a teşhis taslağı verilmiştir. Şekil 1B de’ görüldüğü gibi LFA şeritleri üzerindeki kontrol (K) bantları koyu renkli olup virüsün saf DNA ’sını içermektedir. Test edilen (T) örneklerde şekil 1B saf RNA içerirken şekil 1C saflaştırma işlemi yapılmayan viral infekteli bitki ham özütleri doğrudan kullanılmıştır. Her iki grupta test örnekleri pozitif sonuç vermiş ancak ham özütlerdeki RNA ’lar saf ve konsantre olmadığı için bandlar daha açık renkte çıkmıştır. Sonuçlar göstermektedir ki, LFA şeritleri arazide yerinde kolaylıkla çiftçiler tarafından uygulanabilme potansiyeline sahiptir.

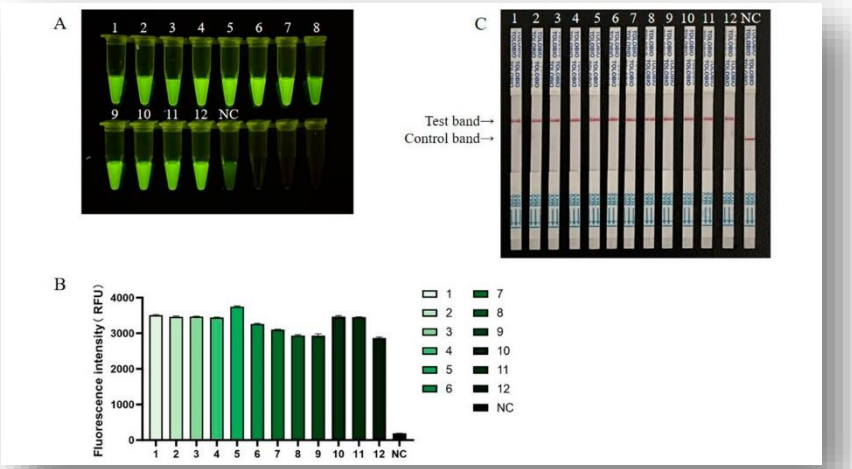
Şekil 1. CRISPR-Cas12a ile arazide bitki virüsü teşhisi. A) LFA ile CRISPR-Cas12a teşhis taslak şeması, LFA şeritleri B)saf RNA örneklerini C)saflaştırma yapılmaksızın ham bitki özütlerindeki RNA 'ları içermektedir



Kaynak (Marqués & ark., 2022:2384) 'den alınmıştır

Yine benzer şekilde en güncel araştırmalardan biri domuzlarda Nipah virüsünü (NiV) teşhis amaçlı gerçekleştirilmiş Cas13a sistemine dayalı LFA şeritleriyle tanısı yapılmıştır (Yin & ark., 2025). Elde edilen deneysel bulgular aşağıdaki şekil 2 'de verilmiştir. Araştırıcılar ilgili virüsün RT-RPA-CRISPR/Cas13a teşhis duyarlılığını (şekil 2-1), farklı virüs RNA 'larını kullanarak özgüllüğünü (şekil 2-2) ve klinik simülasyon örneklerle uyum testi için sağlıklı domuz RNA örneklerini – kontrol olarak ve NiV ssRNA örneklerini + kontrol olarak kullanarak (şekil 2 ve 3) LFA şeritleriyle teşhis çalışmaları yapmışlardır. Ayrıca denemenin detaylı sonuçları şekil 3 ve şekil 4 'te verilmiştir.

Şekil 2. CRISPR/Cas13a ile gerçekleştirilen bir deneysel çalışmanın sonuçları. A)Floresan imajı akıllı telefon kamerasıyla mavi ışık transmisyon cihazı kullanarak elde edilmiştir, B)Floresan sinyaller mikroplaka okuyucularla tayin edilmiştir, C)Cas13a-LFA duyarlılık çalışması

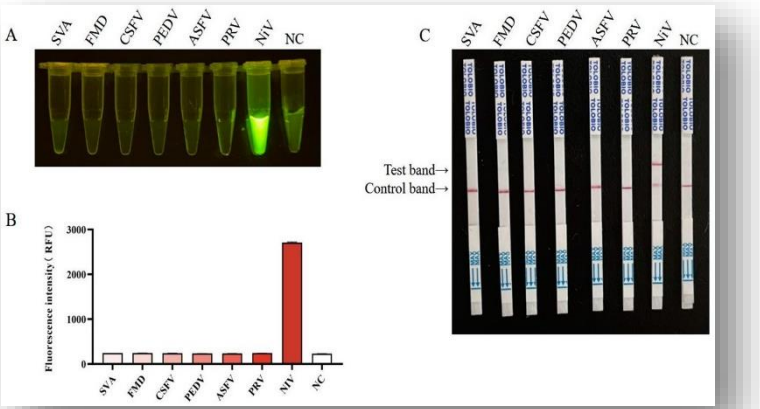


Kaynak: Yin & ark., (2025) 'den alınmıştır

İki farklı raportör RNA kullanılan denemede RNA segmentlerinden floresan analizler için 5′-FAM-UUUUUUUUUU-3′-BHQ1, lateral flow şeritleri için 5′-FAM-UUUUUUUUUU-3′-biotin hazırlanmıştır. Prob RNA raportörleri U11 sekansına sahip olup 5′ uçta FAM (Carboxyfluorescein) ve 3′ uçta ise BHQ1 (Black Hole Quencher) ve diğer segmentte biotin içeren diziler Cas13a nükleazının ana substrat üzerindeki cis aktivitesinden sonra trans aktiviteyle parçalanmakta böylece FAM bölgeden floresan ışık yayılmaktadır. Teknik olarak Cas13a nükleaz enzimi ana substratı crRNA ile uyumlu değilse kollateral aktivite

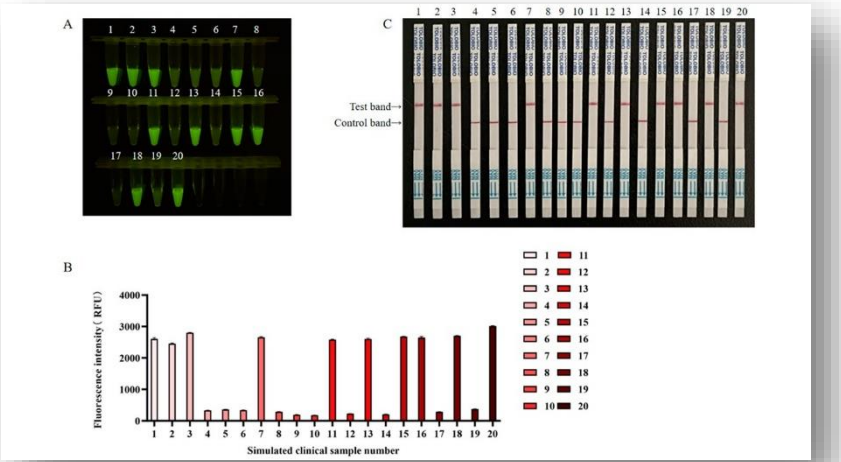
gösteremeyeceği için floresan ışık ya çok zayıf veya hiç bir gelişme beklenmez.

Şekil 3. RT-RPA-CRISPR/Cas13a ile hassas teşhis. A)Floresan imajı akıllı telefon kamerasıyla mavi ışık transmisyon cihazı kullanarak elde edilmiştir, B)Floresan sinyal yoğunluğu mikroplaka okuyucularla tayin edilmiştir, C)Cas13a-LFA 'nın özgüllük denemesi



Kaynak Yin & ark., (2025) 'den alınmıştır

Şekil 4. CRISPR/Cas13a ile simüle edilen NiV virüsü klinik örnek analizleri. A)Floresan imajı akıllı telefon kamerasıyla mavi ışık transmisyon cihazı kullanarak elde edilmiştir, B)Floresan sinyal yoğunluğu mikroplaka okuyucularla tayin edilmiştir, C)Simüle edilen klinik örneklerin CRISPR/Cas13a ile LFA test sonuçları



Kaynak: Yin & ark., (2025) 'den alınmıştır

Sonuç Değerlendirme

Moleküler teşhislerde hızlı ve duyarlı tanı-teşhis amaçlı geliştirilen teknolojiyle Cas13a kollateral trans-parçalama aktivitesi floresan olarak hazırlanan prob RNA'lar kullanılarak gözlenmektedir. Genellikle önce nükleik asit örnekleri çoğaltılmakta ardından RNA transkriptleri üretilmekte ve böylece hedeflenen ssRNA 'lar üretilmiş olmaktadır. Hedeflenen bölgenin baz dizisine sahip olan ssRNA ile crRNA spacer bölgeyle eşleşince Cas13a kompleksi aktiflenmekte ve floresan sinyale sahip molekülü taşıyan hedef dışı ilgisiz ssRNA raportör molekülleri (prob veya biyosensörler) trans-parçalanmaya uğradıktan sonra floresan ışık yayılmaktadır.

Oldukça yüksek bir kapasiteye sahip mikro-kuyulu çiplerle bir test örneği ile birçok virüs RNA 'sının Cas13a ile taraması hızlı, özgül, duyarlı bir şekilde yapılabilmektedir (Ackerman & ark., 2020). Stabil bir metot kullanıldığında, Cas13 ile viral teşhis hızlı, özgül, duyarlı ve tek bir test başına 0,05 $ (~2,36 TL) bedel ile

oldukça düşük maliyete sahip olduğu bildirilmiştir (Shihong Gao, Zhu & Lu, 2021). Ancak metodolojiye göre bu maliyet bazen küçük çaplı değişkenlik de gösterebilmektedir (Hak & ark., 2025; Sheri & ark., 2025). Örneğin her bir reaksiyon bedeli Cas13a ile 0,32 $, RT-PCR ile 7,78 $, dPCR ile 11,95 $ olarak hesaplanmıştır (Sheri & ark. 2025).

Çoğunlukla tıbbi klinik teşhislerde viral nükleik asit tayinleri için geliştirilen SHERLOCK yaklaşık 50 dakika gibi kısa bir süre içinde UV altında hatta cep telefon ışığı bile kullanılarak çıplak gözle floresan ışık yayan prob nükleik asitleri teşhis edilebilmektedir. Bitki viral infeksiyonlar ve salgınlar tarımda küresel ekonomiyi etkileyebilecek önemli kayıplar yaratmaktadır. CRISPR Cas13a sistemi, hastalığın tüm araziye yayılmasını önlemek için erken tanı-teşhis çalışmalarında ve epidemiyolojik araştırmalarda yeni ve güçlü bir alternatiftir.

RT-RPA–CRISPR/Cas13a ile viral RNA teşhis araştırma çalışmaları duyarlı, özgül ve pozitif olduğu bilinen numunelerle %100 uyumlu sonuçlar vermektedir. Ancak DNA, RNA gibi nükleik asit araştırmalarında kullanılan enzimler, çözeltiler vb. kimyasalların soğuk koşullarda transfer edilmesi gerekmektedir. Hassas çözeltilerin liyofilizasyon gibi tekniklerle kurutulması sorunu çözebilir niteliktedir. Yakın gelecekte oda ısısında solüsyonların aktivitesini koruyan yeni tampon çözeltiler veya teknikler geliştirilerek bu sorunların zamanla giderilebileceği ümit edilmektedir. Yenilikçi teknolojilerle çiftçilerin bile kullanabileceği tampon solüsyonlar ve test şeritleriyle henüz semptom göstermeyen bitkilerde patojen virüsler arazide yerinde erken dönemde teşhis edilebilecektir. Böylece önleyici bitki koruma tedbirlerinin erken uygulanmasıyla hastalıkların yayılması da engellenebilecektir.

Kaynakça

Abudayyeh, O. O., Gootenberg, J. S., Konermann, S., Joung, J., Slaymaker, I. M., Cox, D. B., ... & Zhang, F. (2016). C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. *Science*, *353*(6299), aaf5573. DOI:10.1126/science.aaf5573

Arizti-Sanz, J., Freije, C. A., Stanton, A. C., Petros, B. A., Boehm, C. K., Siddiqui, S., ... & Myhrvold, C. (2020). Streamlined inactivation, amplification, and Cas13-based detection of SARS-CoV-2. *Nature Communications*, *11*(1), 5921. DOI:10.1038/s41467-020-19097-x

Chaijarasphong, T., Thammachai, T., Itsathitphaisarn, O., Sritunyalucksana, K. & Suebsing, R. (2019). Potential application of CRISPR-Cas12a fluorescence assay coupled with rapid nucleic acid amplification for detection of white spot syndrome virus in shrimp. *Aquaculture*, *512*, 734340. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734340

Deng, X., Osikpa, E., Yang, J., Oladeji, S. J., Smith, J., Gao, X. & Gao, Y. (2023). Structural basis for the activation of a compact CRISPR-Cas13 nuclease. *Nature Communications*, *14*(1), 5845. DOI:10.1038/s41467-023-41501-5

Dumka, S. & Kumar, S. (2025). Transmission of Viruses. In *Textbook of General Virology* (pp. 17-23). CRC Press. DOI:10.1201/9781003369349

East-Seletsky, A., O'Connell, M. R., Knight, S. C., Burstein, D., Cate, J. H., Tjian, R. & Doudna, J. A. (2016). Two distinct RNase activities of CRISPR-C2c2 enable guide-RNA processing and RNA detection. *Nature*, *538*(7624), 270-273. DOI:10.1038/nature19802

Freije, C. A., Myhrvold, C., Boehm, C. K., Lin, A. E., Welch, N. L., Carter, A., ... & Sabeti, P. C. (2019). Programmable inhibition

and detection of RNA viruses using Cas13. *Molecular Cell*, *76*(5), 826-837. DOI:10.1016/j.molcel.2019.09.013

Fozouni, P., Son, S., Díaz de León Derby, M., Knott, G. J., Gray, C. N., D'Ambrosio, M. V., Zhao, C., Switz, N. A., Kumar, G. R., Stephens, S. I., Boehm, D., Tsou, C. L., Shu, J., Bhuiya, A., Armstrong, M., Harris, A. R., Chen, P. Y., Osterloh, J. M., Meyer-Franke, A., Joehnk, B., … Ott, M. (2021). Amplification-free detection of SARS-CoV-2 with CRISPR-Cas13a and mobile phone microscopy. *Cell*, *184*(2), 323–333.e9. DOI:10.1016/j.cell.2020.12.001

Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Lee, J. W., Essletzbichler, P., Dy, A. J., Joung, J., ... & Zhang, F. (2017). Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, *356*(6336), 438-442. DOI: 10.1126/science.aam9321

Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Kellner, M. J., Joung, J., Collins, J. J. & Zhang, F. (2018). Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. *Science*, *360*(6387), 439-444. DOI: 10.1126/science.aaq0179

Gourinat, A. C., O'Connor, O., Calvez, E., Goarant, C. & Dupont-Rouzeyrol, M. (2015). Detection of Zika virus in urine. *Emerging infectious diseases*, *21*(1), 84–86. DOI:10.3201/eid2101.140894.

Hadidi, A. (2019). Next-Generation Sequencing and CRISPR/Cas13 Editing in Viroid Research and Molecular Diagnostics. *Viruses*, *11*(2), 120. DOI:10.3390/v11020120

Hall, T., Gulati, S., Sang, R., Jia, Z., Mckinnirey, F., Vesey, G., ... & Deng, F. (2025). CRISPR biosensing with lateral flow assays for point of care Diagnostics: Overcoming commercial development challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *189*, 118275. DOI:10.1016/j.trac.2025.118275

Kamariza, M., McMahon, K., Kim, L., Welch, N. L., Stenson, L., Allan-Blitz, L. T., ... & Sabeti, P. C. (2025). Multiplexed detection of febrile infections using CARMEN. *Nature Communications*, *17*(1), 32. DOI:10.1038/s41467-025-66243-4

Katzmeier, F., Aufinger, L., Dupin, A., Quintero, J., Lenz, M., Bauer, L., ... & Heymann, M. (2019). A low-cost fluorescence reader for in vitro transcription and nucleic acid detection with Cas13a. *PloS one*, *14*(12), e0220091. DOI:10.1371/journal.pone.0220091

Kellner, M. J., Koob, J. G., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O. & Zhang, F. (2019). SHERLOCK: nucleic acid detection with CRISPR nucleases. *Nature Protocols*, *14*(10), 2986-3012. DOI:10.1038/s41596-019-0210-2

Kordyś, M., Sen, R. & Warkocki, Z. (2022). Applications of the versatile CRISPR-Cas13 RNA targeting system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, *13*(3), e1694. DOI:10.1002/wrna.1694

Mao, X., Xu, M., Luo, S., Yang, Y., Zhong, J., Zhou, J., ... & Chen, Z. (2023). Advancements in the synergy of isothermal amplification and CRISPR-cas technologies for pathogen detection. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *11*, 1273988. DOI:10.3389/fbioe.2023.1273988

Marqués, M. C., Sánchez-Vicente, J., Ruiz, R., Montagud-Martínez, R., Márquez-Costa, R., Gómez, G., ... & Rodrigo, G. (2022). Diagnostics of infections produced by the plant viruses TMV, TEV, and PVX with CRISPR-Cas12 and CRISPR-Cas13. *ACS Synthetic Biology*, *11*(7), 2384-2393. DOI:10.1021/acssynbio.2c00090

Myhrvold, C., Freije, C. A., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Metsky, H. C., Durbin, A. F., ... & Sabeti, P. C. (2018). Field-

deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science*, *360*(6387), 444-448. DOI:10.1126/science.aas8836

Nalefski, E. A., Patel, N., Leung, P. J., Islam, Z., Kooistra, R. M., Parikh, I., ... & Madan, D. (2021). Kinetic analysis of Cas12a and Cas13a RNA-Guided nucleases for development of improved CRISPR-Based diagnostics. *Iscience*, *24*(9). DOI: 10.1016/j.isci.2021.102996

Niemz, A., Ferguson, T. M., & Boyle, D. S. (2011). Point-of-care nucleic acid testing for infectious diseases. *Trends in Biotechnology*, *29*(5), 240-250.

Pandya, K., Jagani, D. & Singh, N. (2024). CRISPR-cas systems: programmable nuclease revolutionizing the molecular diagnosis. *Molecular Biotechnology*, *66*(8), 1739-1753. DOI: 10.1007/s12033-023-00819-7

Rao, R. S., Albala, J. S., Lane, S. M., Matthews, D. L., Fisher, A. M., Lambert, J. L. & Coleman, M. A. (2005). Developing rapid point-of-care multiplex detection for use in lateral flow devices. In *Smart Medical and Biomedical Sensor Technology III* (Vol. 6007, pp. 227-233). SPIE. DOI:10.1117/12.630157

Shanmugaraj, C., Kumar, H. A., Jaiganesh, V., Biswas, M. K. & Gangaraj, R. (2025). CRISPR-Cas technology: an emerging opportunity for precise identification of diseases in plants. *Journal of Plant Diseases and Protection*, *132*(1), 39. DOI:10.1007/s41348-024-01025-6

Spoelstra, W. K., Jacques, J. M., Gonzalez-Linares, R., Nobrega, F. L., Haagsma, A. C., Dogterom, M., ... & Reese, L. (2021). CRISPR-based DNA and RNA detection with liquid-liquid phase separation. *Biophysical Journal*, *120*(7), 1198-1209. DOI:10.1016/j.bpj.2021.02.013

Syal, K., Mo, M., Yu, H., Iriya, R., Jing, W., Guodong, S., Wang, S., Grys, T. E., Haydel, S. E., & Tao, N. (2017). Current and emerging techniques for antibiotic susceptibility tests. *Theranostics*, *7*(7), 1795–1805. DOI:10.7150/thno.19217

Takahashi, H., Fukuhara, T., Kitazawa, H. & Kormelink, R. (2019). Virus Latency and the Impact on Plants. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2764. DOI:10.3389/fmicb.2019.02764

Tomita, N., Mori, Y., Kanda, H. & Notomi, T. (2008). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nature Protocols.* 3, 877–882. DOI:10.1038/nprot.2008.57

Tuncel, A., Pan, C., Clem, J. S., Liu, D., & Qi, Y. (2025). CRISPR-Cas applications in agriculture and plant research. *Nature reviews. Molecular cell biology*, *26*(6), 419–441. DOI:10.1038/s41580-025-00834-3

Venbrux, M., Crauwels, S. & Rediers, H. (2023). Current and emerging trends in techniques for plant pathogen detection. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1120968. DOI:10.3389/fpls.2023.1120968

Vincent, M., Xu, Y. & Kong, H. (2004). Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO Reports.* 5, 795–800. DOI: 10.1038/sj.embor.7400200

Wei, T., Yan, Y., Niu, M., Dong, X., Li, H., Sun, Y. & Fa, Y. (2025). A rapid LASV detection method based on CRISPR-Cas13a and recombinase aided amplification with special lateral-flow test strips. *Scientific Reports*, *15*(1), 20640. DOI:10.1038/s41598-025-07071-w

Wu, Y., Xu, W., Zhu, Z. & Xia, X. (2020). Laboratory verification of an RT-PCR assay for SARS-CoV-2. *Journal of*

Clinical Laboratory Analysis, *34*(10), e23507. DOI:10.1002/jcla.23507

Xavier, C. A. & Whitfield, A. E. (2023). Plant virology. *Current Biology*, *33*(11), R478-R484. DOI: 10.1016/j.cub.2023.03.038

Yan, Y., Wei, T., Dong, X., Niu, M., Han, Y., Sun, Y. & Li, H. (2026). A rapid and sensitive yellow fever virus detection method based on CRISPR/Cas13a and reverse transcription recombinase-aided amplification with special lateral-flow test strips. *Biosafety and Health*, *8*(02), 135-142. DOI:10.1016/j.bsheal.2026.03.001

Yin, J., Cui, J., Zheng, H., Guo, T., Wei, R., Sha, Z., ... & Ni, B. (2025). Implementation of RT-RAA and CRISPR/Cas13a for an NiV Point-of-Care Test: A Promising Tool for Disease Control. *Viruses*, *17*(4), 483. DOI:10.3390/v17040483

Zhang, Y. M., Zhang, Y. & Xie, K. (2020). Evaluation of CRISPR/Cas12a-based DNA detection for fast pathogen diagnosis and GMO test in rice. *Molecular Breeding*, *40*(1), 11. DOI:10.1007/s11032-019-1092-2

BÖLÜM 6

TATLI SU EKOSİSTEMLERİNDE MİKROALGLERİN BİYOİNDİKATÖR ROLÜ

BENGÜ TEMİZEL[1]

Giriş

Tatlı su ekosistemleri, biyolojik çeşitliliğin korunması ve ekolojik dengenin sürdürülebilmesi açısından büyük öneme sahiplerdir. Bu ekosistemler, aynı zamanda içme suyu temini, tarımsal sulama, endüstriyel kullanım ve rekreasyon gibi birçok temel ihtiyacı karşılamaktadır (Dudgeon & ark., 2006:163). Göller, akarsular, barajlar ve sulak alanlar, bu yönüyle insan yaşamına doğrudan katkı sağlayan kritik sucul sistemlerdir. Ancak son yıllarda sanayileşme, kentleşme, yoğun tarımsal faaliyetler ve iklim değişikliği gibi antropojenik etkiler nedeniyle tatlı su ekosistemlerinde ciddi çevresel bozulmalar meydana gelmektedir (Dudgeon & ark., 2006: 163; Vörösmarty & ark., 2010:555; Wu & ark., 2017:124). Özellikle noktasal olmayan kirlilik kaynakları, besin tuzu yüklenmesi ve habitat değişimleri sucul sistemlerin doğal yapısını önemli ölçüde etkilemektedir (Carpenter, 1998:287). Bu süreçler, su kalitesinin ve ekolojik dengenin bozulmasına neden olmaktadır.

Su kaynaklarına ulaşan çeşitli kirleticiler; besin elementi artışı, toksik madde birikimi ve fizikokimyasal parametrelerde değişimlere yol açarak ekosistem işleyişini doğrudan etkilemektedir. Bu durum yalnızca su kalitesinin bozulmasına değil, aynı zamanda biyolojik çeşitliliğin azalmasına ve ekosistem hizmetlerinin

[1] Öğr. Gör. Dr., Giresun Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, GRÜMLAB, Orcid: 0000-0002-5217-3013

zayıflamasına da neden olmaktadır (Dudgeon, 2006:163; Lynch & ark., 2023:e1633). Bu nedenle tatlı su sistemlerinin düzenli olarak izlenmesi, ekosistem sağlığının değerlendirilmesi ve çevresel değişimlerin erken dönemde belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Wu & ark., 2017:124; Temizel & Soylu, 2021:414). Etkin su kalitesi yönetimi hem insan sağlığının korunması hem de sucul ekosistemlerin sürdürülebilirliği açısından temel bir gereklilik olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle tatlı su sistemlerinin düzenli olarak izlenmesi ve çevresel değişimlerin erken dönemde belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Mogane & ark., 2023:926; Medeiros & Milošević, 2023:1).

Sucul ortamlardaki değişimlerin belirlenmesinde fiziksel ve kimyasal analizler yaygın olarak kullanılmasına rağmen, bu yöntemler çoğu zaman yalnızca ölçüm yapıldığı andaki çevresel koşulları yansıtmaktadır. Bu nedenle, su kalitesinin zaman içerisindeki değişimini ve ekosistem yanıtlarını bütüncül olarak değerlendirmede sınırlı kalabilmektedirler. Buna karşılık biyolojik izleme yöntemleri, canlı organizmaların çevresel değişimlere verdikleri tepkileri ortaya koyarak ekosistemin genel durumu hakkında daha kapsamlı ve bütüncül bilgiler sunmaktadır (Medeiros & Milošević, 2023:1; Stefanidis & Papastergiadou, 2024:1460). Bu yöntemler, yalnızca fiziksel ve kimyasal parametreleri değil, aynı zamanda bu değişimlerin biyota üzerindeki uzun vadeli etkilerini de yansıtmaktadır. Biyoindikatörler, çevresel koşullardaki değişimleri varlıkları, bollukları, tür kompozisyonları veya fizyolojik tepkileri aracılığıyla yansıtan organizmalar olarak tanımlanmaktadır (Warnasuriya & ark., 2023:164583). Bu organizmalar, ekosistemlerdeki stres faktörlerinin belirlenmesinde önemli göstergeler olarak kabul edilmektedir.

Biyolojik izleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan organizma gruplarından biri de tatlı su mikroalgleridir. Tatlı su mikroalgleri, sucul besin zincirinin temel üreticileri arasında yer

almakta ve ekosistem işleyişinde birincil üretim yoluyla enerji akışını sağlayarak önemli bir rol oynamaktadır (Astuti & ark., 2026: 101428). Özellikle diyatomeler, yeşil algler ve siyanobakteriler, çevresel değişimlere karşı gösterdikleri hassasiyet nedeniyle biyolojik değerlendirme çalışmalarında yaygın biçimde kullanılan önemli göstergeler arasında yer almaktadır (Taurozzi & ark., 2024: 108707; Paerl & Otten, 2013:995). Besin tuzu miktarı, organik kirlilik, ağır metal varlığı ve sıcaklık değişimleri gibi çevresel faktörler, mikroalg topluluklarının tür çeşitliliğini, bolluğunu ve topluluk yapısını doğrudan etkilemektedir (Paerl & Huisman, 2008:57). Bu nedenle mikroalg topluluklarında meydana gelen değişimler, sucul ortamların ekolojik durumu ve trofik yapısı hakkında önemli ve güvenilir bilgiler sağlamaktadır. Son yıllarda moleküler biyoloji teknikleri ve otomatik analiz sistemlerinin gelişmesiyle birlikte mikroalg temelli biyolojik izleme çalışmaları daha hızlı, daha hassas ve daha güvenilir hâle gelmiştir (Amaral & ark., 2024:235). Özellikle DNA tabanlı yöntemler sayesinde türlerin daha doğru tanımlanabilmesi, biyolojik değerlendirme çalışmalarının etkinliğini önemli ölçüde artırmıştır (Ebenezer & ark., 2012:129).

Bu bölümde tatlı su mikroalglerinin biyoindikatör olarak kullanım potansiyeli, çevresel değişimlere verdikleri ekolojik ve fizyolojik tepkiler ile su kalitesinin değerlendirilmesindeki rolleri ele alınacaktır.

Tatlı Su Mikroalgleri ve Su Ekosistemleri

Tatlı su ekosistemleri, insan yaşamı için kritik öneme sahip birçok kaynak ve hizmet sunmasına rağmen, biyoçeşitlilik kaybının en yoğun yaşandığı ve en fazla değişime uğrayan ekosistemler arasında yer almaktadır (Geist, 2011:1507). Bu ekosistemlerde yaşayan mikroalgler, sucul besin zincirinin temel üreticileri olup oksijen üretimi ile azot ve fosfor döngülerinde önemli rol

oynamaktadır (Reinl & ark., 2022:118573; Xiang & ark., 2023:3958). Mikroalg topluluklarının tür kompozisyonu ve bolluğunda meydana gelen değişimler, ekosistem işleyişi, enerji akışı ve madde döngüleri üzerinde önemli etkiler oluşturabilmektedir. Ayrıca su kalitesinin belirlenmesinde biyoindikatör olarak kullanılmaları, çevresel değişimlerin izlenmesinde önem taşımaktadır (Astuti & ark., 2026:101428; Palanivel & ark., 2026:139).

Tatlı su mikroalgleri, çevresel koşullara bağlı olarak büyük çeşitlilik göstermektedir (Bhattacharjee & ark., 2025:35). Işık, sıcaklık, pH, çözünmüş besin elementleri ve su hareketliliği gibi çeşitli çevresel faktörler mikroalg topluluklarının dağılımını ve baskın türlerini etkilemektedir (Meng & ark., 2021:124695). Tatlı sularda en yaygın görülen mikroalg grupları arasında diyatomeler, yeşil algler ve siyanobakteriler bulunmaktadır (Enamala & ark., 2018:49). Mikroalgler yalnızca primer üretimden sorumlu organizmalar olmayıp, aynı zamanda biyoyakıtlar, biyoaktif tıbbi ürünler ve gıda bileşenleri için yenilenebilir, sürdürülebilir ve ekonomik kaynaklardır (Khan & ark., 2018:36) Siyanobakteriler ve bazı yeşil alg türlerinin aşırı çoğalması sonucu meydana gelen zararlı alg patlamaları (HABs), besin maddelerince zenginleşmenin ve ekolojik bozulmanın önemli göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir (Paerl & Otten:995, 2013; Huisman & ark., 2018:471).

Tatlı Su Mikroalglerinin Çeşitliliği

Tatlı su mikroalgleri oldukça geniş bir taksonomik çeşitliliğe sahiptir. Bu organizmaların farklı çevresel koşullara uyum sağlayabilmeleri, çeşitli habitatlarda yayılım göstermelerine olanak tanımaktadır. Mikroalg topluluklarının yapısı, suyun trofik düzeyi ve fizikokimyasal özellikleri hakkında önemli bilgiler sunmaktadır (Damtew & ark., 2018:1).

Tablo 1 Tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak bulunan mikroalg gruplarının temel özellikleri ve temsilci cinsleri

Alg Bölümü (Filum)	Tipik Renk	Tatlı Su Türlerinin Tipik Morfolojisi	Hareket Yeteneği (Vejetatif Hücreler/ Koloniler)	Tipik Örnekler
Mavi-yeşil algler (Cyanophyta)	Mavi-yeşil	Mikroskobik veya görünür -genellikle koloni oluşturur	Yüzdürme düzenlemesi, bazıları kayarak hareket eder	*Cylindrospermopsis, Microcystis*
Yeşil algler (Chlorophyta)	Çimen yeşili	Mikroskobik veya görünür - tek hücreli ya da ipliksi koloni	Bazı tek hücreli ve koloniler kamçılıdır	*Chlamydomonas, Scenedesmus* sp., *Chlorella*
Öglenoidler (Euglenophyta)	Çeşitli renkler	Mikroskobik - tek hücreli	Çoğunlukla kamçılı	*Euglena, Phacus*
Sarı-yeşil algler (Xanthophyta)	Sarı-yeşil	Mikroskobik - tek hücreli veya ipliksi	Kamçılı zoosporlar ve gametler	*Ophiocytium, Vaucheria*
Dinoflagellatlar (Dinophyta)	Kırmızı-kahverengi	Mikroskobik - tek hücreli	Tamamı kamçılı	*Ceratium, Peridinium*
Kriptomonadlar (Cryptophyta)	Çeşitli renkler	Mikroskobik - tek hücreli	Çoğunlukla kamçılı	*Rhodomonas, Cryptomonas*
Krizofitler (Chrysophyta)	Altın kahverengi	Mikroskobik - tek hücreli veya koloni	Bazıları kamçılı	*Mallomonas, Dinobryon*
Diyatomeler (Bacillariophyta)	Altın kahverengi	Mikroskobik - tek hücreli veya ipliksi koloni	Substrat üzerinde kayarak hareket	*Navicula, Aulacoseira*
Kırmızı algler (Rhodophyta)	Kırmızı	Mikroskobik veya görünür - tek hücreli ya da koloni	Hareketsiz	*Batrachospermu, Bangia*
Kahverengi algler (Phaeophyta)	Kahverengi	Görünür - çok hücreli yastıksı ve kabuksu talluslar	Hareketsiz	*Pleurocladia, Heribaudiella*

Kaynak: Bellinger & Sigee, 2015:6 ve Damtew, 2018:1'den uyarlanmıştır.

Tatlı su ekosistemlerinde çok sayıda mikroalg grubu bulunmasına rağmen, su kalitesi değerlendirmelerinde ve biyolojik izleme çalışmalarında en yaygın olarak diyatomeler (Bacillariophyta), yeşil algler (Chlorophyta) ve siyanobakteriler (Cyanobacteria) kullanılmaktadır. Bu gruplar, çevresel değişimlere duyarlı olmaları ve farklı kirlilik düzeylerine özgü tepkiler vermeleri nedeniyle önemli biyoindikatörler olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, söz konusu mikroalg gruplarının temel özellikleri "Tatlı Sularda Biyoindikatör Olarak Kullanılan Başlıca Mikroalg Grupları" başlığı altında özetlenmiştir.

Ekolojik Fonksiyonlar

Tatlı su mikroalgleri, ekosistemlerin hem yapısal hem de fonksiyonel sürdürülebilirliğini sağlayan temel organizmalardır. Birincil üretim yoluyla enerji girişini sağlarken, besin döngülerine katılarak elementlerin geri kazanımını desteklerler. Ayrıca fotosentetik faaliyetleri sayesinde çözünmüş oksijen üretimi gerçekleştirir ve sucul besin ağlarının temelini oluştururlar (Astuti & ark., 2026:101428). Mikroalgler, güneş enerjisini biyolojik olarak kullanılabilir organik maddeye dönüştüren başlıca primer üreticiler arasında yer almakta ve bu özellikleri sayesinde sucul ekosistemlerde enerji akışının başlangıç noktasını oluşturmaktadır (Dokulil & Qian, 2021:77). Bunun yanında mikroalgler, karbonun biyolojik olarak tutulmasına katkı sağlayarak küresel karbon döngüsünde de önemli bir rol üstlenmektedir. Özellikle fitoplanktonik mikroalgler tarafından gerçekleştirilen fotosentetik faaliyetler, atmosferik karbondioksitin uzaklaştırılmasına ve sucul ortamlarda karbon depolanmasına katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle mikroalgler yalnızca yerel ekosistem işleyişi açısından değil, aynı zamanda küresel biyokimyasal döngüler açısından da önemli organizmalar olarak kabul edilmektedir (Xu & ark., 2023:641, Hou & ark., 2024:106495). Tatlı su mikroalglerinin

ekosistem içerisindeki temel ekolojik fonksiyonları ve sucul ekosistem üzerindeki etkileri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2 Tatlı su mikroalglerinin başlıca ekolojik fonksiyonları ve sucul ekosistem üzerindeki etkileri

Ekolojik Fonksiyon	Mikroalglerin Rolü	Ekosistem Üzerindeki Etkisi	Kaynak
Birincil üretim	Fotosentez yoluyla güneş enerjisini organik maddeye dönüştürür	Sucul besin ağlarının enerji temelini oluşturur	Naselli-Flores & Padisak, 2023:2691
Besin döngüsü	Azot ve fosfor gibi besin elementlerinin biyolojik dönüşümüne katkı sağlar	Besin elementlerinin geri kazanımı ve ekosistem verimliliğinin artması	Bellinger & Sigee, 2015:2, Astuti & ark., 2026:101428
Oksijen üretimi	Fotosentez sırasında çözünmüş oksijen üretir	Su kolonunda oksijen dengesinin korunması ve aerobik yaşamın sürdürülmesi	Wetzel, 2001:389
Karbon döngüsü	Fotosentez yoluyla CO_2'yi organik karbon formuna dönüştürür	Karbon depolanmasına katkı sağlar ve iklim düzenleyici süreçleri destekler	Bhardwaj & ark., 2025:285, Astuti & ark., 2026:101428
Besin ağlarındaki rolü	Zooplankton, bentik omurgasızlar ve diğer tüketiciler için temel besin kaynağı oluşturur.	Trofik seviyeler arasında enerji transferini sağlar	Bellinger & Sigee, 2015:2

Not: Tablo, ilgili literatürlerden yararlanılarak oluşturulmuştur.

Mikroalgler gerçekleştirdikleri ekolojik fonksiyonlar sayesinde sucul ekosistemlerin üretkenliği, biyolojik çeşitliliği ve ekolojik dengesi üzerinde doğrudan etkilidirler. Mikroalg topluluklarının yapısında meydana gelen değişimler; enerji akışı, besin döngüsü ve oksijen dengesi gibi temel ekosistem süreçlerinden

etkilendiğinden, bu organizmalar ekosistem sağlığının değerlendirilmesinde önemli göstergeler olarak kabul edilmektedir. Ayrıca mikroalglerin çevresel değişimlere hızlı tepki vermesi, onların biyoindikatör olarak kullanılmalarının temel nedenlerinden birini oluşturmaktadır (Martínez-Burgos & ark., 2024:323).

Su Kalitesi Parametreleri ve Mikroalg Tepkileri

Su kalitesi parametreleri, sucul ekosistemlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılan temel göstergeler arasında yer almaktadır (Rocha & ark., 2015:171). Bu parametrelerde meydana gelen değişimler, mikroalg topluluklarının tür çeşitliliği, yoğunluğu, metabolik aktiviteleri ve topluluk yapısı üzerinde doğrudan etkili olmaktadır (Astuti & ark., 2026:101428). Mikroalgler çevresel değişimlere hızlı tepki verebildikleri için su kalitesindeki değişimlerin belirlenmesinde önemli biyolojik göstergeler olarak kullanılmaktadır (Gökçe, 2016:81**)**. Mikroalg topluluklarında gözlenen değişimler, yalnızca su kalitesindeki farklılıkları değil, aynı zamanda ekosistemin genel sağlığı ve işleyişi hakkında da önemli bilgiler sunmaktadır. Özellikle sıcaklık, ışık, pH, çözünmüş oksijen, besin tuzu miktarı ve ağır metal konsantrasyonları gibi faktörler, mikroalglerin büyüme ve gelişim süreçlerini önemli ölçüde etkilemektedir (Patrick & ark., 2026:41; Pawari & ark., 2015:943). Su kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan parametreler genel olarak fiziksel, kimyasal ve biyolojik parametreler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu parametrelerin her biri mikroalglerin büyüme, çoğalma ve tür kompozisyonu üzerinde farklı düzeylerde etkiler oluşturmaktadır (Gatamaneni & ark., 2018:1037). Bu nedenle mikroalglerin çevresel değişkenlere verdikleri tepkilerin anlaşılması, sucul ekosistemlerin izlenmesi ve yönetimi açısından büyük önem taşımaktadır.

Fiziksel Parametreler

Bulanıklık

Bulanıklık, suda bulunan askıda katı maddelerin ışık geçirgenliğini azaltması sonucu ortaya çıkan önemli bir fiziksel parametredir. Bulanıklığın artması, mikroalglerin fotosentetik aktivitelerini sınırlandırabilmektedir. Özellikle diyatomlar ve yeşil algler gibi ışığa duyarlı mikroalg gruplarında büyüme hızının azalmasına neden olmaktadır. Bunun yanında yüksek bulanıklık, bazı türlerin baskılanmasına ve ışık toleransı yüksek türlerin baskın hale gelmesine yol açabilmektedir (Tanner & ark., 2026:394).

İletkenlik

İletkenlik, suda çözünmüş iyon miktarını gösteren önemli bir parametredir. Tarımsal drenaj, endüstriyel atıklar ve evsel deşarjlar sonucu artan iyon konsantrasyonu, mikroalg topluluk yapısında değişimlere neden olmaktadır. Özellikle yüksek iletkenlik koşullarında tuzluluğa toleranslı mikroalg türlerinin baskın hale geldiği görülmektedir. İletkenlikte meydana gelen değişimler, fitoplankton yoğunluğu ve tür kompozisyonunun değerlendirilmesinde önemli bilgiler sağlamaktadır (Çelekli, 2025:7760).

Sıcaklık

Sıcaklık, mikroalglerin büyümesini, fotosentez hızını ve metabolik aktivitelerini etkileyen temel çevresel faktörlerden biridir. Artan sıcaklık, bazı mikroalg türlerinde büyüme hızını artırırken, bazı hassas türlerde metabolik stres oluşturarak popülasyon azalmasına neden olabilmektedir. Özellikle yüksek sıcaklık koşulları siyanobakteri gelişimini teşvik etmekte ve zararlı alg patlamalarının oluşumuna katkı sağlamaktadır. Sıcaklık değişimleri ayrıca mikroalglerin pigment yapısı, lipid üretimi ve tür dağılımı üzerinde de etkili olmaktadır (Tanner & ark., 2026:394; Paerl, 2018:76).

Tuzluluk

Tuzluluk, mikroalglerin hücresel osmotik dengesini etkileyen önemli fiziksel parametrelerden biridir. Tuzluluk seviyesindeki değişimler, özellikle tatlı su mikroalglerinin tür çeşitliliği üzerinde belirleyici olmaktadır. Yüksek tuzluluk koşullarında yalnızca toleranslı türler gelişimini sürdürebilmekte, hassas türler ise ortamdan kaybolabilmektedir. Bu durum mikroalg topluluk yapısında önemli değişimlere neden olmaktadır (Bellinger & Sigee, 2015:121; Xu & ark., 2023:641).

Kimyasal Parametreler

pH

pH, mikroalglerin büyümesi ve fotosentetik aktiviteleri üzerinde doğrudan etkili olan temel kimyasal parametrelerden biridir. Farklı mikroalg türleri farklı pH tolerans aralıklarına sahiptir. Asidik veya alkali koşullar, tür kompozisyonunda değişimlere neden olarak bazı türlerin baskın hale gelmesini sağlayabilmektedir. Özellikle diyatom toplulukları pH değişimlerine karşı oldukça duyarlı olup biyolojik izleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Birks & ark., 1990:263; Bellinger & Sigee, 2015:41).

Çözünmüş Oksijen

Çözünmüş oksijen miktarı, sucul ekosistemlerin biyolojik durumu hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Mikroalgler fotosentez yoluyla oksijen üretirken, organik kirliliğin arttığı ortamlarda çözünmüş oksijen seviyeleri düşebilmektedir. Özellikle yoğun siyanobakteri patlamaları sonrası meydana gelen ayrışma süreçleri, sudaki oksijen miktarının azalmasına ve sucul canlılar için stres koşullarının oluşmasına neden olmaktadır (Jacob-Lopes & ark., 2020:105756).

Besin Tuzları (Azot ve Fosfor)

Azot ve fosfor, mikroalg gelişimini belirleyen en önemli besin elementleri arasında yer almaktadır. Bu besin maddelerinin aşırı artışı ötrofikasyona neden olmakta ve özellikle siyanobakteriler ile bazı yeşil alg türlerinin aşırı çoğalmasına yol açmaktadır. Besin tuzu zenginleşmesi sonucunda tür çeşitliliği azalırken, kirliliğe toleranslı türler baskın hale gelmektedir. Bu nedenle azot ve fosfor seviyeleri, mikroalg temelli su kalite değerlendirmelerinde önemli parametreler olarak kullanılmaktadır (Dodds & Smith, 2016:155).

Ağır Metaller

Kadmiyum, kurşun, cıva ve arsenik gibi ağır metaller mikroalgler üzerinde toksik etkiler oluşturabilmektedir (Shanab & ark., 2012:392). Ağır metal kirliliği, mikroalglerin fotosentez kapasitesini azaltmakta, hücresel yapılarını bozmakta ve büyüme hızlarını düşürmektedir. Bununla birlikte bazı mikroalg türleri ağır metallere tolerans geliştirebilmekte ve bu özellikleri sayesinde biyolojik izleme çalışmalarında biyogösterge olarak kullanılabilmektedir (Xiao & ark., 2025:1843).

Biyolojik Parametreler

Bakteriler ve Mikroalg İlişkisi

Sucul ekosistemlerde bakteriler ve mikroalgler arasında yakın bir ekolojik ilişki bulunmaktadır. Organik madde miktarının artmasıyla birlikte bakteriyel aktivite yükselmekte, bu durum çözünmüş oksijen seviyelerini etkileyerek mikroalg topluluk yapısında değişimlere neden olmaktadır. Özellikle organik kirliliğin yoğun olduğu sularda kirliliğe toleranslı alg türleri baskın hale gelmektedir (Palmer, 1969:78; Khan & ark., 2022:132841).

Zararlı Alg Patlamaları

Bazı mikroalg türlerinin aşırı çoğalması sonucu meydana gelen zararlı alg patlamaları (HABs), su kalitesinin bozulduğunu gösteren önemli biyolojik göstergelerdendir. Özellikle siyanobakteriler tarafından oluşturulan alg patlamaları; toksin üretimi, oksijen azalması ve ışık geçirgenliğinin düşmesi gibi ciddi ekolojik problemlere yol açmaktadır. Bu durum hem sucul organizmalar hem de insan sağlığı açısından önemli riskler oluşturmaktadır (Paerl, 2018:76; Amorim & Nascimento Moura, 2021:143605; Igwaran, 2024:71).

Bazı Çevresel Faktörlere Karşı Mikroalglerin Biyolojik Tepkileri

Sıcaklık, mikroalglerin büyümesini, metabolizmasını, fotosentez hızını ve topluluk yapısını etkileyen temel çevresel faktörlerden biridir. Farklı mikroalg türleri farklı optimum sıcaklık aralıklarına sahip olup, sıcaklık değişimleri türlerin büyüme hızında olumlu veya olumsuz etkiler oluşturabilmektedir. Artan sıcaklık; fotosentez, solunum ve enzimatik reaksiyonları etkileyerek hücresel metabolizmayı değiştirmekte, ayrıca hücre boyutu, hareket kabiliyeti ve biyokimyasal içerikte değişimlere neden olmaktadır. Yüksek sıcaklıklar bazı türlerde lipid üretimini artırırken, aşırı sıcaklık stresinin protein ve zar yapılarında bozulmalara yol açtığı bildirilmektedir (Gao & ark., 2017:293; Dory & ark., 2024:509). Bunun yanında sıcaklık artışı, zararlı alg patlamalarının (HABs) oluşumunu teşvik ederek mikroalg topluluk yapısı ve biyoçeşitliliği üzerinde önemli değişikliklere neden olabilmektedir. Bu nedenle sıcaklığa bağlı topluluk değişimleri, iklim değişikliğinin tatlı su ekosistemleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde önemli biyolojik göstergeler olarak kullanılabilmektedir.

Tuzluluk, mikroalglerin büyümesi, morfolojisi, fizyolojik aktiviteleri ve biyokimyasal yapıları üzerinde etkili olan önemli çevresel faktörlerden biridir. Mikroalg türleri tuzluluğa toleranslarına göre farklı gruplara ayrılmakta ve her tür farklı tuzluluk seviyelerine farklı tepkiler vermektedir. Tuzluluk stresine maruz kalan mikroalglerde hücre boyutu, hücre bölünmesi ve hareket kabiliyeti değişebilmekte; bazı türlerde "palmelloid" adı verilen çok hücreli yapılar oluşabilmektedir (Khona & ark., 2016:434; Shetty & ark., 2019:1657). Yüksek tuzluluk ayrıca plazmoliz, vakuol oluşumu ve organel bozulmaları gibi hücresel değişimlere neden olabilmektedir. Bunun yanında tuzluluk değişimleri fotosentetik pigment miktarı, lipid ve karbonhidrat üretimi gibi metabolik süreçleri de etkilemektedir. Mikroalgler, ozmotik strese karşı iyon dengesi, osmoprotektan üretimi ve antioksidan mekanizmalar geliştirerek uyum sağlamaktadır. Sonuç olarak tuzluluk değişimleri, mikroalglerin dağılımı, biyokütle üretimi, fizyolojik aktiviteleri ve topluluk yapısı üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Shetty & ark., 2019:1657; Bazzani & ark., 2021:1242).

Işık, mikroalglerin büyümesi, fotosentezi, metabolizması ve topluluk yapısını etkileyen temel çevresel faktörlerden biridir. Uygun ışık şiddeti fotosentetik aktiviteyi ve birincil üretimi artırırken, aşırı ışık ve özellikle UV-B radyasyonu fotosentetik sistemde oksidatif hasara neden olarak büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkileyebilmektedir (Dwivedi & Ahmad, 2023:47). UV ışınları; pigment yapısında bozulma, DNA hasarı, hücre hareketliliğinde azalma ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu gibi çeşitli hücresel streslere yol açmaktadır. Bununla birlikte bazı mikroalg türleri, karotenoidler ve miykosporin-benzeri amino asitler gibi koruyucu bileşikler üreterek yüksek ışık ve UV stresine karşı uyum sağlayabilmektedir (Geraldes & ark., 2025:104326; Punchakara & ark., 2023:e00740). Işık şiddetindeki değişimler

ayrıca fotosentez hızını, pigment üretimini, lipid birikimini ve fitoplankton topluluk kompozisyonunu etkileyerek türler arasında farklı fizyolojik tepkilere neden olmaktadır (Maltsev & ark., 2021:515). Bu nedenle ışık rejimindeki değişimler, özellikle fitoplankton topluluklarının dikey dağılımı ve tür kompozisyonu üzerinde önemli etkiler oluşturabilmektedir (Boulianne & ark., 2025: fbaf035).

pH değişimleri, mikroalglerin büyümesi, fotosentezi, metabolik aktiviteleri ve tür dağılımı üzerinde önemli etkiler oluşturan temel çevresel faktörlerden biridir. Tatlı su ekosistemlerinde meydana gelen pH değişimleri, karbon kaynaklarının kullanılabilirliğini ve besin elementlerinin çözünürlüğünü etkileyerek mikroalglerin büyüme performansı üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Wu & ark., 2022:120266). Mikroalg türleri farklı optimum pH aralıklarına sahip olduğundan, pH değişimleri tür kompozisyonu, biyokütle üretimi ve birincil üretkenlik üzerinde türlere özgü etkiler göstermektedir. Düşük pH koşulları fotosentez, enzim aktivitesi, hücre içi pH dengesi ve besin elementi kullanılabilirliği gibi fizyolojik süreçleri etkileyebilmektedir. Ayrıca pH değişimleri fitoplankton topluluklarının tür kompozisyonunu ve baskın tür yapısını değiştirebilmekte; özellikle bazı siyanobakteriler ve mikroalgler, gelişmiş karbon yoğunlaştırma mekanizmaları sayesinde yüksek CO_2 ve düşük pH koşullarında rekabet avantajı kazanabilmektedir (Kholssi & ark., 2023:105932; Kupriyanova & ark., 2023:1569).

Sıcaklık, tuzluluk, ışık ve pH gibi çevresel faktörlerde meydana gelen değişimler, mikroalglerin büyüme, metabolizma, pigment üretimi ve topluluk yapısında önemli değişikliklere neden olmaktadır. Mikroalglerin bu çevresel değişimlere hızlı ve ölçülebilir tepkiler vermesi, onların su kalitesi değerlendirmelerinde ve biyolojik izleme çalışmalarında etkili biyoindikatör organizmalar olarak kullanılmalarını sağlamaktadır (Astuti & ark., 2026:101428).

Su Kirliliğinin Biyoindikatörleri Olarak Mikroalgler

Mikroalgler ve su kirliliği arasında güçlü bir etkileşim bulunmaktadır. Mikroalglerin büyümesi, su ortamlarında azot ve inorganik fosfor miktarındaki artışa bağlı olarak gerçekleşmektedir (Kshirsagar, 2013:339). Alg topluluklarında meydana gelen değişimler ise büyük ölçüde insan faaliyetlerinden kaynaklanan kirliliğe bağlıdır ve bu durum, ilgili ortamın doğal çeşitliliğinin bozulmasına neden olmaktadır. Antropojenik etkilerin bulunduğu ortamlardaki kirlilik düzeyi, biyolojik gösterge olarak tanımlanan alg topluluklarının varlığının incelenmesiyle belirlenebilmektedir. Alg biyolojik göstergeleri üzerine yapılan araştırmalarda hâlen çeşitli eksiklikler bulunmasına rağmen, algler; kirliliğe bağlı olarak hızlı büyüme değişiklikleri göstermeleri, kısa yaşam döngülerine sahip olmaları ve popülasyonlarının kolaylıkla tahmin edilebilmesi nedeniyle su kalitesinin belirlenmesinde en etkili ve hızlı yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir. Mikroalgler, çevresel koşullardaki değişimlere kısa sürede tepki verebildikleri için sucul ekosistemlerde meydana gelen bozulmaların erken dönemde tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. (Chitthan & ark., 2025:133843).

Biyolojik izleme, farklı lokasyonlardaki çevresel koşulların değerlendirilmesinde hızlı, güvenilir ve ekonomik bir yöntem sunmaktadır. Bu yöntem, ekolojik faktörlerin sucul organizmalar üzerindeki etkilerini doğrudan ölçerek çeşitli stres faktörlerini bir arada değerlendirmekte ve böylece genel su kalitesinin kapsamlı bir analizini sağlamaktadır (Zaky & ark., 2022:37). Bu bağlamda, mikroalg topluluklarında meydana gelen değişimlerin temel olarak su kalitesindeki değişikliklerden kaynaklandığını anlamak önemlidir. İlk aşamada, su kalitesindeki değişimler mikroalg topluluğunun bileşiminde nicel farklılıklar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Fitoplankton yoğunluğu da bu çevresel faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Nitel değişimler ise yeni türlerin ortaya çıkması veya mevcut türlerin ortamdan kaybolması şeklinde

gözlemlenebilmektedir. Bu nedenle, su kalitesinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için hem nitel hem de nicel verilerin birlikte incelenmesi gerekmektedir (Rawson, 1956:18). Bazı alg türleri, kıyısal alanlarda insan faaliyetleri sonucu oluşan antropojenik etkilerin biyolojik göstergeleri olarak kabul edilmektedir (M'rabet & ark., 2019:385). Özellikle *Navicula, Nitzschia* ve *Gomphonema* gibi diyatom cinsleri, organik kirlilik ve besin tuzu zenginleşmesine verdikleri duyarlı tepkiler nedeniyle tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak kullanılan biyolojik göstergeler arasında yer almaktadır. (Naz & ark., 2025:307). Biyoindikatör olarak kullanılan mikroalg grupları arasında özellikle diyatomeler, yeşil algler ve siyanobakteriler ön plana çıkmakta olup, bu grupların çevresel değişimlere verdikleri tepkiler su kalitesinin değerlendirilmesinde önemli bilgiler sağlamaktadır.

Mikroalgler, sucul ekosistemlerde çevresel değişimlere kısa sürede tepki verebilmeleri nedeniyle en etkili biyolojik gösterge gruplarından biri olarak kabul edilmektedir. Kısa yaşam döngülerine ve yüksek üreme hızlarına sahip olmaları, su kalitesinde meydana gelen değişimlerin topluluk yapısına hızlı bir şekilde yansımasını sağlamaktadır. Fizikokimyasal ölçümler çoğu zaman yalnızca örnekleme anındaki çevresel koşulları gösterirken, mikroalg toplulukları belirli bir zaman diliminde gerçekleşen çevresel etkilerin bütünleşik sonucunu yansıtmaktadır (Stevenson, 2014:437). Ayrıca mikroalgler, sucul besin ağlarının temel üreticileri olmaları nedeniyle besin tuzu zenginleşmesi, organik kirlilik, asidifikasyon, ağır metal kirliliği ve iklim kaynaklı değişimlere karşı duyarlı tepkiler göstermektedir. Tür kompozisyonu, bolluk, biyokütle ve fonksiyonel özelliklerde meydana gelen değişimler, ekosistem sağlığındaki bozulmaların erken dönemde belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Wu & ark., 2017:124; Martínez-Burgos & ark., 2024:323).

Mikroalglerin bir diğer önemli avantajı ise farklı ekolojik toleranslara sahip çok sayıda tür içermeleridir. Özellikle diyatomeler, yeşil algler ve siyanobakteriler, farklı çevresel koşullara özgü yanıtlar vererek su kalitesinin değerlendirilmesinde yüksek ayırt edicilik sağlamaktadır. Örneğin bazı diyatom türleri düşük besin tuzu konsantrasyonlarına sahip oligotrofik koşulları temsil ederken, bazı türler organik kirlilik ve ötrofikasyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Benzer şekilde siyanobakterilerin baskın hâle gelmesi çoğu zaman artan besin tuzu yükü ve ekolojik bozulma ile ilişkilendirilmektedir (Kelly & ark., 2008:1; Bellinger & Sigee, 2015:101). Bu özellikleri sayesinde mikroalgler yalnızca mevcut çevresel durumu değil, aynı zamanda ekosistemde meydana gelen değişimlerin yönü ve şiddeti hakkında da bilgi sağlayabilmektedir.

Son yıllarda çevresel DNA (eDNA), DNA metabarkodlama ve yüksek çözünürlüklü görüntü analiz sistemlerinin gelişmesi, mikroalg tabanlı biyolojik izleme çalışmalarının doğruluğunu ve etkinliğini önemli ölçüde artırmıştır. Geleneksel mikroskobik yöntemlerle belirlenmesi güç olan nadir veya kriptik türler, moleküler teknikler sayesinde daha hassas biçimde tespit edilebilmektedir. Bu durum, mikroalglerin su kalitesinin değerlendirilmesindeki kullanım alanlarını genişletmekte ve biyolojik izleme programlarının güvenilirliğini artırmaktadır (Kezlya & ark., 2023:1038; Rivera, 2025:67). Bu nedenle mikroalgler günümüzde hem klasik biyolojik değerlendirme çalışmalarında hem de yeni nesil biyomonitoring uygulamalarında en önemli biyolojik gösterge gruplarından biri olarak değerlendirilmektedir.

Tatlı Sularda Biyoindikatör Olarak Kullanılan Mikroalg Grupları

Tatlı su ekosistemlerinde bulunan mikroalgler, çevresel değişimlere hızlı tepki vermeleri nedeniyle su kalitesinin değerlendirilmesinde önemli biyolojik göstergeler olarak kullanılmaktadır. Mikroalg topluluklarının tür kompozisyonu, yoğunluğu ve çeşitliliği; besin tuzu miktarı, organik madde yükü, ağır metal kirliliği ve ötrofikasyon gibi çevresel faktörlerden doğrudan etkilenmektedir. Bu nedenle farklı mikroalg grupları, farklı kirlilik tiplerinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır.

Diyatomlar (Bacillariophyta)

Diyatomlar (Bacillariophyceae), deniz ve tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak bulunan fotosentetik mikroalglerdir (Kociolek & ark., 2026). Birincil üretici olarak karbon ve silika döngülerine katkı sağlarken, sentezledikleri lipitler aracılığıyla sucul besin ağlarının temel bileşenlerinden birini oluştururlar (Yogeshwaran & ark., 2025:106277). Su kalitesinin değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan mikroalg gruplarından biri olan diyatomlar, silisli hücre duvarları sayesinde çevresel değişimlere karşı hassas tepkiler vermektedir (Bellinger & Sigee, 2015:34). Diyatom topluluklarının analizi, su ekosistemlerinin ekolojik durumu ve su kalitesi hakkında önemli bilgiler sunmaktadır (Jakovljević & ark., 2021:107847). Özellikle trofik durum, asitlik ve organik kirliliğin belirlenmesinde etkili göstergeler olarak kabul edilirler. Diyatomların biyokütle ve tür çeşitliliğindeki değişimler, sudaki azot ve fosfor düzeylerindeki değişimleri yansıtmaktadır (Bere, 2016:312; Jakovljević & ark., 2021:107847). Bu nedenle diyatomlar, biyolojik su kalitesi değerlendirmelerinin temel bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Charles & ark., 2021:107082).

Yeşil Algler (Chlorophyta)

Yeşil algler (Chlorophyta), klorofil-*a* ve klorofil-*b* pigmentleri taşıyan fotosentetik organizmalardır. Hücre yapıları ve yaşam formları bakımından oldukça geniş bir çeşitlilik göstermektedirler (Bellinger & Sigee, 2015:17). Yeşil algler, sucul ve bazı karasal habitatlarda yaygın olarak bulunmakla birlikte tür çeşitliliği fazladır. Yüz milyonlarca yıldır küresel ekosistemlerin işleyişinde önemli bir rol üstlenmektedirler (Falkowski & ark., 2004:354; Leliaert & ark., 2012:1). Onlar, uzun vadeli besin konsantrasyonunun biyolojik göstergeleri olarak işlev görme potansiyeline sahiptir ve su kalitesindeki mekansal ve zamansal değişiklikleri göstermek için kullanılabilir (Salo & Salovius-Laurén, 2022:109034).

Siyanobakteriler (Cyanobacteria)

Siyanobakteriler (Cyanobacteria), prokaryotik yapıda fotosentetik mikroorganizmalardır ve "mavi-yeşil algler" olarak da bilinmektedir. Siyanobakteriler, özellikle ötrofik sularda yoğun olarak gelişen ve su kalitesinin bozulduğunu gösteren önemli mikroorganizmalardır (Bellinger & Sigee, 2015:13). Fosfor ve azot bakımından zengin ortamlarda hızla çoğalarak "alg patlamaları" oluştururlar. Bu durum çözünmüş oksijen miktarının azalmasına, ışık geçirgenliğinin düşmesine ve sucul ekosistemde ciddi ekolojik problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Paerl, 2018:76). Siyanobakteriler, sucul ortamların trofik durumunu yansıtan önemli biyoindikatörlerdir. Koloni oluşturan türlerin baskınlığı yüksek besin maddesi seviyelerine işaret ederken, tek hücreli planktonik türler daha düşük besin düzeyleriyle ilişkilendirilmektedir. Ayrıca bentik heterosistli türler, özellikle azot düzeylerinin izlenmesinde kullanılmaktadır (Bellinger & Sigee, 2015:13).

Mikroalg Tabanlı Biyolojik İzleme ve Su Kalitesi Değerlendirmesi

Mikroalgler, sucul ekosistemlerde çevresel değişimlere hızlı tepki vermeleri nedeniyle biyolojik izleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Su kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan fizikokimyasal analizler anlık veriler sağlarken, mikroalg toplulukları belirli bir zaman dilimindeki çevresel değişimlerin bütüncül etkisini yansıtmaktadır. Bu nedenle mikroalg tabanlı biyolojik izleme yöntemleri, sucul ekosistemlerin ekolojik durumunun belirlenmesinde güvenilir ve etkili araçlar olarak kabul edilmektedir (Kelly & Whitton, 1995:433).

Biyolojik izleme çalışmalarında ilk aşama, uygun örnekleme yöntemlerinin uygulanmasıdır. Mikroalg örnekleri genellikle plankton ağları, su örnekleme şişeleri veya yüzey kazıma yöntemleri kullanılarak toplanmaktadır. Örnekleme sürecinde sıcaklık, pH, çözünmüş oksijen, iletkenlik ve besin tuzu konsantrasyonları gibi fizikokimyasal parametreler de ölçülmektedir. Böylece biyolojik veriler ile çevresel faktörler arasındaki ilişki değerlendirilebilmektedir (Wu & ark., 2017:124).

Toplanan örneklerde tür tayini, ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu gibi yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Günümüzde moleküler yöntemler ve DNA temelli analizler de mikroalg türlerinin daha hassas şekilde belirlenmesinde kullanılmaktadır. Tür çeşitliliği ve baskın türlerin belirlenmesi, su ortamındaki kirlilik düzeyi hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Özellikle kirliliğe toleranslı türlerin baskın hale gelmesi, ekosistemde çevresel stresin arttığını göstermektedir (Stevenson, 2014:437).

Mikroalg topluluklarının değerlendirilmesinde hücre yoğunluğu ölçümleri önemli bir yer tutmaktadır. Hücre sayımları genellikle hemositometre veya Sedgwick-Rafter sayım kamaraları kullanılarak yapılmaktadır. Fitoplankton yoğunluğundaki artış,

özellikle azot ve fosfor bakımından zengin sularda ötrofikasyonun göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Reynolds, 2006:651). Bunun yanında klorofil-*a* konsantrasyonu da fitoplankton biyokütlesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir parametredir.

Su kalitesinin biyolojik olarak değerlendirilmesinde çeşitli biyoindeksler kullanılmaktadır. Özellikle diyatom tabanlı indeksler, tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Palmer Alg İndeksi, Trophic Diatom Index (TDI) ve Biological Diatom Index (BDI) gibi indeksler; organik kirlilik, besin tuzu yükü ve ötrofikasyon düzeyinin belirlenmesinde etkili sonuçlar vermektedir (Kelly & Whitton, 1995:433). Bu indeksler, tür çeşitliliği ve türlerin kirliliğe tolerans düzeylerine göre hesaplanmaktadır.

Mikroalgler ayrıca erken uyarı sistemi olarak da önemli bir işleve sahiptir. Özellikle siyanobakteri patlamaları, ağır metal kirliliği ve toksik madde birikimleri gibi çevresel riskler, mikroalg topluluklarında meydana gelen hızlı değişimlerle önceden tespit edilebilmektedir. Bu durum, olası ekolojik bozulmaların erken dönemde belirlenmesine ve gerekli çevresel önlemlerin alınmasına katkı sağlamaktadır (Paerl & Paul, 2012:1349).

Mikroalg tabanlı biyolojik izleme yöntemleri, fizikokimyasal analizlerle karşılaştırıldığında daha ekonomik ve sürdürülebilir bir yaklaşım sunmaktadır. Fizikokimyasal yöntemler çoğunlukla belirli bir andaki çevresel durumu yansıtırken, mikroalg toplulukları uzun süreli çevresel değişimlerin etkilerini ortaya koyabilmektedir. Ayrıca biyolojik izleme çalışmaları daha düşük maliyetle geniş alanlarda uygulanabilmekte ve sürekli çevresel izleme açısından önemli avantaj sağlamaktadır (Zaky & ark., 2022:37). Bu nedenle mikroalgler, sürdürülebilir su yönetimi ve ekosistem izleme çalışmalarında önemli biyolojik araçlar arasında yer almaktadır.

Sonuç ve Gelecek Perspektifleri

Tatlı su mikroalgleri, sucul ekosistemlerin ekolojik durumunun değerlendirilmesinde önemli biyolojik göstergeler arasında yer almaktadır. Çevresel değişimlere hızlı tepki vermeleri, kısa yaşam döngülerine sahip olmaları ve su kalitesindeki değişimleri doğrudan yansıtmaları nedeniyle biyolojik izleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle diyatomlar, yeşil algler ve siyanobakteriler; organik kirlilik, ötrofikasyon, ağır metal birikimi ve iklimsel değişimlerin belirlenmesinde etkili biyolojik indikatörler olarak değerlendirilmektedir. Mikroalg topluluklarının tür çeşitliliği, yoğunluğu ve fizyolojik yapısında meydana gelen değişimler, sucul ekosistemlerde oluşan çevresel baskıların erken dönemde tespit edilmesine katkı sağlamaktadır.

Günümüzde artan nüfus, sanayileşme, tarımsal faaliyetler ve iklim değişikliği gibi faktörler, tatlı su kaynakları üzerindeki baskıyı giderek artırmaktadır. Bu durum, sürdürülebilir su yönetimi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu hâle getirmektedir. Mikroalg tabanlı biyolojik izleme yöntemleri, su kalitesinin uzun dönemli değerlendirilmesine olanak sağlaması ve fizikokimyasal analizlere göre daha bütüncül sonuçlar sunması nedeniyle sürdürülebilir çevresel yönetim uygulamalarında önemli avantajlar sağlamaktadır. Özellikle düşük maliyetli olmaları ve geniş alanlarda uygulanabilmeleri, mikroalglerin çevresel izleme programlarında kullanımını giderek yaygınlaştırmaktadır (Wu & ark., 2017:124).

İklim değişikliği, mikroalg topluluklarının yapısı ve dağılımı üzerinde önemli etkiler oluşturmaktadır. Artan sıcaklık, değişen yağış rejimleri ve besin tuzu yükündeki artış; özellikle siyanobakteri patlamalarının sıklığını artırarak sucul ekosistemlerde ciddi ekolojik bozulmalara neden olmaktadır. Bu nedenle gelecekteki biyomonitoring çalışmalarında iklim değişikliğinin mikroalg toplulukları üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı şekilde araştırılması büyük önem taşımaktadır. Ayrıca iklim kaynaklı stres faktörlerinin

su kalitesi üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde mikroalg temelli erken uyarı sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Paerl & Paul, 2012:1349).

Son yıllarda moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, mikroalg tabanlı biyolojik izleme çalışmalarına yeni yaklaşımlar kazandırmıştır. Özellikle çevresel DNA (eDNA) ve DNA metabarkodlama yöntemleri sayesinde türlerin daha hızlı ve hassas şekilde tanımlanabilmesi mümkün hâle gelmiştir. Bu yöntemler, klasik mikroskobik analizlere göre daha yüksek doğruluk sağlayarak nadir ve kriptik türlerin belirlenmesine olanak tanımaktadır. DNA tabanlı biyomonitoring yöntemlerinin gelişmesi, sucul ekosistemlerin daha kapsamlı değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır (Kezlya & ark., 2023:1038).

Bunun yanında yapay zekâ, uzaktan algılama teknolojileri ve otomatik görüntüleme sistemleri, mikroalg tabanlı biyolojik izleme çalışmalarında yeni nesil uygulamaların gelişmesini sağlamaktadır. Makine öğrenmesi algoritmaları ile desteklenen erken uyarı sistemleri, zararlı alg patlamalarının ve ani su kalite değişimlerinin önceden tahmin edilmesine yardımcı olmaktadır. Özellikle gerçek zamanlı biyosensör sistemleri ve yapay zekâ destekli analizler, gelecekte su kaynaklarının korunmasında önemli araçlar arasında yer alacaktır (Astuti & ark., 2026: 101428).

Türkiye, zengin iç su kaynaklarına sahip olmasına rağmen tatlı su mikroalglerinin biyogösterge olarak kullanımına yönelik çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Özellikle göller, barajlar ve akarsu sistemlerinde uzun dönemli biyomonitoring çalışmalarının artırılması gerekmektedir. Türkiye'de farklı iklim bölgelerinde bulunan tatlı su ekosistemlerinin mikroalg çeşitliliğinin belirlenmesi, ulusal su kalite indekslerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca moleküler yöntemler, uzaktan algılama teknikleri ve yapay zekâ destekli analizlerin ulusal izleme programlarına entegre edilmesi, gelecekte daha etkili ve

sürdürülebilir su yönetimi stratejilerinin oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

Kaynakça

Amaral, D. S. D., Tholozan, L. V., Bonemann, D. H., Jansen-Alves, C., Boschetti, W., Novo, D. L. R., ... & Pereira, C. M. P. D. (2024). Algal biosensors for detection of potentially toxic pollutants and validation by advanced methods: A brief review. *Chemosensors*, *12*(11), 235. https://doi.org/10.3390/chemosensors12110235

Amorim, C. A., & do Nascimento Moura, A. (2021). Ecological impacts of freshwater algal blooms on water quality, plankton biodiversity, structure, and ecosystem functioning. *Science of the Total Environment*, *758*, 143605. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143605

Astuti, S. P., Hashmi, Z., Bilad, M. R., Payus, C. M., Affandi, M., & Soegianto, A. (2026). Freshwater Microalgae as Bioindicators: A Review of Trait-Based Advances, Ecosystem Insights, and Biomonitoring Innovations. *Environmental Challenges*, *22*, 101428. https://doi.org/10.1016/j.envc.2026.101428

Bazzani, E., Lauritano, C., Mangoni, O., Bolinesi, F., & Saggiomo, M. (2021). Chlamydomonas responses to salinity stress and possible biotechnological exploitation. *Journal of Marine Science and Engineering*, *9*(11), 1242. https://doi.org/10.3390/jmse9111242

Bellinger, E. G., & Sigee, D. C. (2015). *Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators*. John Wiley & Sons.

Bere, T. (2016). Are diatom-based biotic indices developed in eutrophic, organically enriched waters reliable monitoring metrics in clean waters? *Ecological Indicators*, *62*, 312-316. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.11.008

Bhardwaj, R., Sahoo, A., Yadav, A., Nitesh, Sharma, S., Meena, M., & Swapnil, P. (2025). Economic perspectives of algal biotechnology. In *Industrial and Biotechnological Applications of Algae* (pp. 285-303). Singapore: Springer Nature Singapore.

Bhattacharjee, S., Kalita, N., Patgiri, S., & Baruah, P. P. (2025). Diversity, bioprospecting and downstream processing of freshwater microalgae: emerging trends in biotechnology. *Algae-derived Biochemicals of Industrial Importance*, 35-50.

Birks, H. J. B., Line, J. M., Juggins, S., Stevenson, A. C., & Ter Braak, C. J. F. (1990). Diatoms and pH reconstruction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 263-278.

Boulianne, J. S., Kivilä, E. H., Beisner, B. E., & Rautio, M. (2025). Winter plankton dynamics in a boreal lake: community structure, vertical distribution and reproduction under ice. *Journal of Plankton Research*, *47*(5), fbaf035. https://doi.org/10.1093/plankt/fbaf035

Carpenter, S. R. (1998). The need for large-scale experiments to assess and predict the response of ecosystems to perturbation. In *Successes, limitations, and frontiers in ecosystem science* (pp. 287-312). New York, NY: Springer New York.

Charles, D. F., Kelly, M. G., Stevenson, R. J., Poikane, S., Theroux, S., Zgrundo, A., & Cantonati, M. (2021). Benthic algae assessments in the EU and the US: Striving for consistency in the face of great ecological diversity. *Ecological Indicators*, *121*, 107082. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107082

Chitthan, S. V., Dhanasekaran, D., & Thajuddin, N. (2025). Algal sensitivity and tolerance as key tools for validating organic pollution status in freshwater, detection of algal bioindicators. *Journal of Hydrology, 661*, 133843. https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2025.133843

Çelekli, A. (2025). The first eco-assessment of phytoplankton assemblages associated with environmental conditions of different lakes in the Western Black Sea basin of Türkiye. *Environmental Science and Pollution Research*, *32*(12), 7760-7775. https://doi.org/10.1007/s11356-025-36184-y

Damtew E, Roman N, Woinshet L. 2018. Some Application of microalgae in sewage treatment, there availability, and sampling protocol up to conservation with factor encounter. *Advances* in *Oceanography* & *Marine Biology* *1*(1):1–5. doi: 10.33552/AOMB.2018.01.000502

Dodds, W. K., & Smith, V. H. (2016). Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in streams. *Inland Waters*, *6*(2), 155-164. https://doi.org/10.5268/IW-6.2.909

Dokulil, M. T., & Qian, K. (2021). Photosynthesis, carbon acquisition and primary productivity of phytoplankton: a review dedicated to Colin Reynolds. *Hydrobiologia*, *848*(1), 77-94. https://doi.org/10.1007/s10750-020-04321-y

Dory, F., Cavalli, L., Franquet, E., Van Wambeke, F., Misson, B., Mounier, S., ... & Bertrand, C. (2024). Algal-and soil-derived dissolved organic

matter shapes bacteria-phytoplankton interactions in a high-altitude lake. *Freshwater Biology*, *69*(4), 509-526. https://doi.org/10.1111/fwb.14225

Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C., ... & Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews, 81*(2), 163-182. https://doi.org/10.1017/S1464793105006950

Dwivedi, S., & Ahmad, I. Z. (2023). Cyanobacteria in ocean. Current Status of Marine Water Microbiology, 47-66.

Ebenezer, V., Medlin, L. K., & Ki, J. S. (2012). Molecular detection, quantification and diversity evaluation of microalgae. *Marine Biotechnology*, *14*(2), 129-142. https://doi.org/10.1007/s10126-011-9427-y

Enamala, M. K., Enamala, S., Chavali, M., Donepudi, J., Yadavalli, R., Kolapalli, B., ... & Kuppam, C. (2018). Production of biofuels from microalgae-A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *94*, 49-68. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.012

Falkowski, P. G., Katz, M. E., Knoll, A. H., Quigg, A., Raven, J. A., Schofield, O., & Taylor, F. J. R. (2004). The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science*, *305*(5682), 354-360. https://doi.org/10.1126/science.1095964

Gao, L., Sun, J., Xu, W., & Xiao, G. (2017). Catalytic pyrolysis of natural algae over Mg-Al layered double oxides/ZSM-5 (MgAl-LDO/ZSM-5) for producing bio-oil with low nitrogen content. *Bioresource Technology*, *225*, 293-298. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.077

Gatamaneni, B. L., Orsat, V., & Lefsrud, M. (2018). Factors affecting growth of various microalgal species. *Environmental Engineering Science*, *35*(10), 1037-1048. https://doi.org/10.1089/ees.2017.0521

Geist, J. (2011). Integrative freshwater ecology and biodiversity conservation. *Ecological Indicators*, *11*(6), 1507-1516.

Geraldes, V., Jacinavicius, F. R., Passos, L. S., de Fátima Fiore, M., Bastos, E. L., & Pinto, E. (2025). Toxicity and photoprotective properties of mycosporine-like amino acids from the cyanobacterium Sphaerospermopsis torques-reginae. *Algal Research*, 104326. https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104326

Gökçe, D. (2016). Algae as an indicator of water quality. In *Algae-Organisms for Imminent Biotechnology*. IntechOpen.

Hou, W., Chen, J., He, M., Ren, S., Fang, L., Wang, C., ... & Wang, W. (2024). Evolutionary trends and analysis of the driving factors of Ulva prolifera green tides: A study based on the random forest algorithm and multisource remote

sensing images. *Marine Environmental Research*, *198*, 106495. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2024.106495

Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(8), 471-483.

Igwaran, A., Kayode, A. J., Moloantoa, K. M., Khetsha, Z. P., & Unuofin, J. O. (2024). Cyanobacteria harmful algae blooms: causes, impacts, and risk management. *Water, Air, & Soil Pollution*, *235*(1), 71. https://doi.org/10.1007/s11270-023-06782-y

Jacob-Lopes, E., Santos, A. B., Severo, I. A., Deprá, M. C., Maroneze, M. M., & Zepka, L. Q. (2020). Dual production of bioenergy in heterotrophic cultures of cyanobacteria: process performance, carbon balance, biofuel quality and sustainability metrics. *Biomass and Bioenergy*, *142*, 105756. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105756

Jakovljević, O. S., Popović, S. S., Živić, I. M., Stojanović, K. Z., Vidaković, D. P., Naunovic, Z. Z., & Krizmanić, J. Ž. (2021). Epilithic diatoms in environmental bioindication and trout farm's effects on ecological quality assessment of rivers. *Ecological Indicators, 128,* 107847. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107847

Kelly, M. G., & Whitton, B. A. (1995). The trophic diatom index: a new index for monitoring eutrophication in rivers. *Journal of Applied Phycology*, *7*(4), 433-444.

Kelly, J. R., Scheibling, R. E., Iverson, S. J., & Gagnon, P. (2008). Fatty acid profiles in the gonads of the sea urchin Strongylocentrotus droebachiensis on natural algal diets. *Marine Ecology Progress Series*, *373*, 1-9. https://doi.org/10.3354/meps07746

Kezlya, E., Tseplik, N., & Kulikovskiy, M. (2023). Genetic markers for metabarcoding of freshwater microalgae. *Biology*, *12*(7), 1038. https://doi.org/10.3390/biology12071038

Khan, M. I., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories, 17*(1), 36. https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x

Khan, M. J., Das, S., Vinayak, V., Pant, D., & Ghangrekar, M. M. (2022). Live diatoms as potential biocatalyst in a microbial fuel cell for harvesting continuous diafuel, carotenoids and bioelectricity. *Chemosphere*, *291*, 132841. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132841

Kholssi, R., Lougraimzi, H., & Moreno-Garrido, I. (2023). Influence of salinity and temperature on the growth, productivity, photosynthetic activity and intracellular ROS of two marine microalgae and cyanobacteria. *Marine*

Environmental Research, *186*, 105932. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.105932

Khona, D. K., Shirolikar, S. M., Gawde, K. K., Hom, E., Deodhar, M. A., & D'Souza, J. S. (2016). Characterization of salt stress-induced palmelloids in the green alga, Chlamydomonas reinhardtii. *Algal Research*, *16*, 434-448. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.035

Kociolek, J. P., Ashworth, M. P., & Alverson, A. J. (2026). A phylogenetic classification of diatoms (Bacillariophyta). *Journal of Phycology*, *62*(1), 44-67. https://doi.org/10.1111/jpy.70125

Kshirsagar, A. D. (2013). Bioremediation of wastewater by using microalgae: an experimental study. *International Journal of Life Science Biotechnology and Pharma Research*, *2*(3), 339-346.

Kupriyanova, E. V., Pronina, N. A., & Los, D. A. (2023). Adapting from low to high: an update to CO2-concentrating mechanisms of cyanobacteria and microalgae. *Plants, 12*(7), 1569. https://doi.org/10.3390/plants12071569

Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., & De Clerck, O. (2012). Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *31*(1), 1-46. https://doi.org/10.1080/07352689.2011.615705

Lynch, A. J., Cooke, S. J., Arthington, A. H., Baigun, C., Bossenbroek, L., Dickens, C., ... & Jähnig, S. C. (2023). People need freshwater biodiversity. Wiley Interdisciplinary Reviews: *Water, 10*(3), e1633. https://doi.org/10.1002/wat2.1633

M'rabet, C., Yahia, O. K. D., Couet, D., Gueroun, S. K. M., & Pringault, O. (2019). Consequences of a contaminant mixture of bisphenol A (BPA) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), two plastic-derived chemicals, on the diversity of coastal phytoplankton. *Marine Pollution Bulletin*, *138*, 385-396. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.035

Maltsev, Y., & Maltseva, K. (2021). Fatty acids of microalgae: Diversity and applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *20*(2), 515-547. https://doi.org/10.1007/s11157-021-09571-3

Martínez-Burgos, W. J., Pozzan, R., de Carvalho, J. C., Cavali, M., Mariano, A. B., Vargas, J. V., ... & Soccol, C. R. (2024). The role of microalgae as bioindicators of aquatic contamination. In *Algae as a natural solution for challenges in water-food-energy nexus: toward carbon neutrality* (pp. 323-347). Singapore: Springer Nature Singapore.

Medeiros, A. S., & Milošević, D. (2023). Progress in understanding the vulnerability of freshwater ecosystems. *Science Progress*, *106*(2), 1-11. https://doi.org/10.1177/00368504231173840

Meng, Y., Li, A., Li, H., Shen, Z., Ma, T., Liu, J., ... & Sun, Y. (2021). Effect of membrane blocking on attached cultivation of microalgae. *Journal of Cleaner Production*, *284*, 124695. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124695

Mogane, L. K., Masebe, T., Msagati, T. A., & Ncube, E. (2023). A comprehensive review of water quality indices for lotic and lentic ecosystems. *Environmental Monitoring and Assessment*, *195*(8), 926. https://doi.org/10.1007/s10661-023-11512-2

Naselli-Flores, L., & Padisák, J. (2023). Ecosystem services provided by marine and freshwater phytoplankton. *Hydrobiologia*, *850*(12), 2691-2706. https://doi.org/10.1007/s10750-022-04795-y

Naz, S., Verma, J., Khan, A. S., Dhyani, S., Srivastava, G., Singh, P., ... & Srivastava, P. (2025). Benthic diatoms as indicators of water quality in Sharda (Kali), a transboundary Himalayan River. *Environmental Monitoring and Assessment, 197*(3), 307. https://doi.org/10.1007/s10661-025-13695-2

Palanivel, P., Thajuddin, F., Rajendran, P. J., Elumalai, A., & Muralitharan, G. (2026). Exploring the phylogeny, molecular and genomic adaptations of thermophilic microalgae and cyanobacteria. *Planta*, *263*(6), 139. https://doi.org/10.1007/s00425-026-05002-1

Palmer, C. M. (1969). A composite rating of algae tolerating organic pollution 2. *Journal of Phycology*, *5*(1), 78-82.

Patrick, A. P. R., Joseph, S. J. P., & Subramani, N. (2026). Assessing the diversity of microalgal assemblages on polymeric substrates shaped by environmental and anthropogenic factors in lentic freshwaters: APR Patrick & ark. *Aquatic Sciences*, *88*(2), 41. https://doi.org/10.1007/s00027-026-01273-8

Pawari, M. J., & Gawande, S. (2015). Assessment of underground water quality around Hadapsar region in Pune, Maharashtra. *International Research Journal of Engineering and Technology*, *2*, 943-950.

Paerl, H. W. (2018). Mitigating toxic planktonic cyanobacterial blooms in aquatic ecosystems facing increasing anthropogenic and climatic pressures. *Toxins*, *10*(2), 76. https://doi.org/10.3390/toxins10020076

Paerl, H. W., & Huisman, J. (2008). Blooms like it hot. *Science*, *320*(5872), 57-58. https://doi.org/10.1126/science.1155398

Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbial Ecology*, *65*(4), 995-1010.

Paerl, H. W., & Paul, V. J. (2012). Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. Water Research, 46(5), 1349-1363.

Punchakara, A., Prajapat, G., Bairwa, H. K., Jain, S., & Agrawal, A. (2023). Applications of mycosporine-like amino acids beyond photoprotection.

Applied and Environmental Microbiology, 89(11), e00740-23.https://doi.org/10.1128/aem.00740-23

Rawson, D. S. (1956). Algal indicators of trophic lake types. *Limnology and Oceanography*, *1*(1), 18-25.

Reinl, K. L., Harris, T. D., Elfferich, I., Coker, A., Zhan, Q., Domis, L. N. D. S., ... & Sweetman, J. N. (2022). The role of organic nutrients in structuring freshwater phytoplankton communities in a rapidly changing world. *Water Research*, *219*, 118573. https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118573

Reynolds, B. (2006). A review of delay-discounting research with humans: relations to drug use and gambling. *Behavioural Pharmacology*, *17*(8), 651-667.

Rivera, M. C. (2025). Metagenomics, microbiomes, and symbioses. In *Metagenomics for Microbiology* (pp. 67-94). Academic Press.

Rocha, G. S., Pinto, F. H. V., Melão, M. G. G., & Lombardi, A. T. (2015). Growing Scenedesmus quadricauda in used culture media: is it viable?. *Journal of Applied Phycology*, *27*(1), 171-178. https://doi.org/10.1007/s10811-014-0320-8

Salo, T., & Salovius-Laurén, S. (2022). Green algae as bioindicators for long-term nutrient pollution along a coastal eutrophication gradient. *Ecological Indicators*, *140*, 109034. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109034

Shanab, S., Essa, A., & Shalaby, E. (2012). Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian Isolates). *Plant Signaling & Behavior*, *7*(3), 392-399. https://doi.org/10.4161/psb.19173

Shetty, P., Gitau, M. M., & Maróti, G. (2019). Salinity stress responses and adaptation mechanisms in eukaryotic green microalgae. *Cells*, *8*(12), 1657. https://doi.org/10.3390/cells8121657

Stefanidis, K., & Papastergiadou, E. (2024). Ecological monitoring and assessment of freshwater ecosystems: new trends and future challenges. *Water, 16*(11), 1460. https://doi.org/10.3390/w16111460

Stevenson, J. (2014). Ecological assessments with algae: a review and synthesis. *Journal of Phycology*, *50*(3), 437-461. https://doi.org/10.1111/jpy.12189

Tanner, K. B., Cardall, A. C., Taggart, J. B., & Williams, G. P. (2026). An Earth Observation Data-Driven Investigation of Algal Blooms in Utah Lake: Statistical Analysis of the Effects of Turbidity and Water Temperature. *Remote Sensing*, *18*(3), 394. **https://doi.org/10.3390/rs18030394**

Temizel, B., & Soylu, E. N. (2021). Harşit Çayı (Giresun, Türkiye) Epilitik Alglerinin Mevsimsel Değişimi Üzerine Bir Araştırma. J*ournal of*

Anatolian Environmental and Animal Sciences, 6(3), 414-420. https://doi.org/10.35229/jaes.952299

Taurozzi, D., Gallitelli, L., Cesarini, G., Romano, S., Orsini, M., & Scalici, M. (2024). Passive biomonitoring of airborne microplastics using lichens: A comparison between urban, natural and protected environments. *Environment International*, *187*, 108707. https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108707

Vörösmarty, C. J., McIntyre, P. B., Gessner, M. O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P., ... & Davies, P. (2010). Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature, 467*(7315), 555-561.

Warnasuriya, S. D., Udayanga, D., Manamgoda, D. S., & Biles, C. (2023). Fungi as environmental bioindicators. *Science of the Total Envi*ronment, *892*, 164583. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164583

Wetzel, R. G. (2001). *Limnology: lake and river ecosystems*. gulf professional publishing.

Wu, N., Dong, X., Liu, Y., Wang, C., Baattrup-Pedersen, A., & Riis, T. (2017). Using river microalgae as indicators for freshwater biomonitoring: Review of published research and future directions. *Ecological Indicators, 81,* 124-131. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.05.066

Wu, J. Y., Gu, L., Hua, Z. L., Wang, D. W., Xu, R. Y., Ge, X. Y., & Chu, K. J. (2022). Removal of Per-, Poly-fluoroalkyl substances (PFASs) and multi-biosphere community dynamics in a bacteria-algae symbiotic aquatic ecosystem. *Environmental Pollution*, *314*, 120266. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120266

Xiang, Q., Zhou, Y., & Tan, C. (2023). Toxicity effects of polystyrene nanoplastics with different sizes on freshwater microalgae *Chlorella vulgaris*. *Molecules*, *28*(9), 3958. https://doi.org/10.3390/molecules28093958

Xiao, Y., Li, X., Nie, Y., Chen, J., Zhang, X., Hao, F., & Fu, Y. (2025). Long-Term Shifts in Algal Bloom Patterns of Tangxun Lake Under Urbanization and Climate Change. *ACS ES&T Water*, *5*(4),1843-1852.https://doi.org/10.1021/acsestwater.4c01206

Xu, S., Yang, J., Marrakchi, F., Wei, M., Liu, Y., Xiao, Y., ... & Wang, S. (2023). Macro-and micro-algae-based carbon composite for pharmaceutical wastewater treatment: Batch adsorption and mechanism study. *Process Safety and Environmental Protection*, *176*, 641-652. https://doi.org/10.1016/j.psep.2023.06.020

Yogeshwaran, M., Thacker, M., Wadmare, N., Vigneshwaran, A., Radhakrishnan, C., Pardhi, S., & Karthick, B. (2025). Soil diatoms and their

applications as an indicator of environmental changes. *Applied Soil Ecology*, *213*, 106277. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.106277

Zaky, T. H. Z., Abdelgawad, H. S., Fatah, M. K., & Gamal, A. (2022). Study of Water Quality of Treatment Plant Wastewaters El-Fayoum Governorate. *International Journal of Environmental Studies and Researches*, *1*(1), 37-45. https://doi.org/10.21608/ijesr.2022.288812

BÖLÜM 7

THİACLOPRİDİN *Galleria mellonella*'NIN PROTEİN, LİPİD ve KARBONHİDRAT MİKTARLARINA ETKİLERİ

HALİL UĞUR AYTEKİN[1]
TAMER KAYIŞ[2]

Giriş

Pestisitler, ürün yetiştirme ve ürünlerin depolanması sırasında ürün zararlısı organizmaları engellemek, onları kontrol altında tutmak veya tamamen ortadan kaldırmak amacıyla kullanılan kimyasallardır (Abdollahi & ark., 2004: 142). Bu kimyasallara maruz kalma çeşitli nörolojik hastalıklar, kanser, üreme bozuklukları ve sinir sistemi bozuklukları dahil olmak üzere çok sayıda bozukluğa neden olmaktadır (Gangemi & ark., 2016: 4475). İnsektisitler ise zararlı böcekleri kontrol eden kimyasal veya biyolojik kökenli pestisit türleridir. Bu ajanlar böceklerin tarımsal zararlarını, hayvanlar üzerindeki olumsuz etkilerini ve yerleşim yerlerindeki

[1] Dr. Gaziantep Üniversitesi Araban MYO (Doktora tezinden üretilmiştir), Orcid: 0000-0002-3811-4295
[2] Prof. Dr., Adıyaman Üniversitesi, Biyoloji, Orcid: 0000-0002-1769-2133

olumsuz etkilerinin engellenmesi amacıyla kullanılır (Ware & Whitacre, 2004: 6).

Nikotin türevi insektisitler 1970'li yıllarda kurşun içerikli bileşiklerle yapılan çalışmalarda tesadüfi olarak bulunmuştur ve genel olarak neonikotinoidler olarak adlandırılırlar. Daha sonra yeni türevleri sentez edilmiş ve nitiazinden sonra imidakloprid üretilmiş ve o yıllardan sonra yaygın olarak kullanılmıştır (Mencke & Jeschke 2002:701; Kollmeyer & ark., 1999:71). Geleneksel organofosfatlı ve organoklorlu insektisitlere göre hedef olmayan canlı gruplarına karşı vadettiği düşük toksisite ve seçici zararlı grubu nedeniyle oldukça popüler olmuşlardır (Tomizawa & Casida 2005:247; Ihara & ark., 2006:35). Merkezi sinir sistemine ait nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) üzerine nikotine benzer şekilde bir uyarım gerçekleştirirler ve iyon geçiş yollarında depolarizasyonu kuvvetli bir şekilde uyarırlar (Tomizawa & Casida 2005:247). Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin alt birimlerindeki farklılıklardan dolayı bu grup insektisitlerin hedef dışı canlılara (memeli ve kuşlar gibi) oranla böceklere daha etkili olduğunu göstermiştir (Matsuda & ark., 2001:573; Casida & Quistad, 2004:81).

Neonikotinoidler arasından clothianidine, imidacloprid ve thiamethoxamın *Apis mellifera* (bal arısı) üzerine olan toksik etkileri nedeniyle kullanımları kısıtlanmıştır (European Commission, 2013). Bununla birlikte tarım ürünlerinde, evlerde haşerelere karşı ve parazitleri kontrol etmek için evcil hayvanlarda farklı neonikotinoid insektisitler geniş ölçüde kullanılmaktadır (Mencke & Jeschke, 2002:701). Suda çözünürlüğü son derece yüksek olan neonikotinoidler su kaynaklarına kolayca karışabilmekte ve bitkiler tarafından kolayca absorbe edilebilerek kalıntı oluşturabilmektedir (Gurur, 2013).

Thiacloprid, kontakt mide zehiri ve sistemik etkili bir insektisit olup, böcekleri özellikle yaprak bitlerini ve küçük sinekleri kontrol etmek için tarımsal ürünler üzerinde kullanılmak üzere

geliştirilmiştir (Yu & ark., 2007: 205; Öncüer & Durmuşoğlu, 2008:464). Fizyolojik pH aralığında omurgalıların nAChR'sine düşük afiniteye sahiptir. Bu nedenle memelilerde, balıklarda, kuşlarda ve kümes hayvanlarında düşük akut ve kronik toksisite gösterdiği belirtilmektedir (Singla & Sandhu, 2015:147). Bunun yanında son yıllarda Thiacloprid'in balıklarda yüksek seviyelerde akut toksisite sahip olduğu (Osterauer & Köhler, 2008: 485; Tomizawa & Casida 2005:247), bal arılarında anten duyarlılığını, öğrenme ve hafıza permormansını etkilediği belirtilmiştir (Le & ark. 2023:163820) ve kırmızı toptak solucanın *Eisenia andrei*'de büyüme ve gelişmeyi etkilediği gösterilmiştir (Van loon & ark., 2022:1686). Ayrıca thiaclopridin beyin ve karaciğer hücrelerinde reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu arttırdığı, lipid peroksidasyona yol açtığı da bilinmektedir (Schwarzbacherová & ark., 2019: 104654).

Böceklerde lipitler, karbonhidratlar ve proteinler, fizyolojik süreçlerin ve biyokimyasal reaksiyonların düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir. Bu makromoleküller, enerji metabolizmasının sürdürülmesine ve biyosentez süreçleri için gerekli yapı taşlarının sağlanmasına katkıda bulunmanın yanı sıra, böceklerin büyüme ve gelişimi ile hormon, feromon ve enzimlerin sentezinde de temel işlevlere sahiptir (Coskun & ark., 2006; Coskun & ark., 2009; Coskun & Emre, 2015; Daluwatta & ark., 2026).

İnsektisitlerin neden olduğu oksidatif stres sonucunda oluşan serbest radikaller miktarına, maruziyet sürelerine ve hedef hücrenin çeşidine göre farklı etkiler gösterebilmektedirler. Serbest radikallerin hedefinde öncelikli olarak membran lipidleri olmakla birlikte proteinler ve karbohidratlar da serbest radikallerden önemli ölçüde etkilenirler (Nordberg & Arner, 2001: 1287).

Lipidler üzerine olan etkilerini membran yapısını oluşturan kolesterol ve doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek gösterirler ve lipid peroksidasyonu adı verilen bir reaksiyonla membranın geçirgenliği ve akışkanlığının bozulmasına yol açarlar. (Halliwell &

Gutteridge, 1999: 936). Serbest radikaller proteinlerin yapıtaşını oluşturan aminoasitlerde yapısal değişikliklere, bağ yapılarında bozulmalara ve proteinlerin kümeleşerek çökelmesine yol açarlar (Erenel & ark., 1992). Buna bağlı olarak da proteinlerin rol aldığı enzimatik reaksiyonlarda, hücre zarında bulunan protein yapılı kanallarda taşıma işlemlerinde ve protein fibrillerinde kasılma işlevinde buzulmaya sebep olurlar (Shacter, 2000: 428). Ayrıca monosakkaritlerin otooksidasyonuna yol açarak karbohidratlar üzerinde etkilere neden olurlar. Bu etkiler sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehid gibi reaktif bileşenler DNA, RNA ve proteinler üzerine olumsuz etkiler gösterirler (Thornaley & Vasak, 1985:35; Devasagayam & ark., 2004:794). Özellikle bu reaksiyon sonucu oluşan hidroksil radikalleri özellikle DNA üzerinde bazların oksidasyonuna, kırılmalara ve mutasyona neden olurlar (Gümrükçüoğlu, 2009).

Galleria mellonella, petek güvesi veya büyük balmumu güvesi olarak da adlandırılan, Lepidopetra takımının, Pyralidae ailesinin ve Galleriinae alt ailesine ait bir böcek türüdür (Kwadha & ark., 2017: 61). Arı kovanlarında balmumu ve polenle beslenirler ve kovanlarda galeri oluşumuna neden oldukları için zararlı bir böcek türü olarak tanımlanırlar (Singkum & ark., 2019: 31). *G. mellonella* tam tam başkalaşım döngüsüne sahip tipik bir holometabol böcektir ve larva evresinde önemli bir enfeksiyon modeli olarak son yıllarda bilim dünyasının ilgisini çekmektedir (Tsai & ark., 2016: 214; Kwadha & ark., 2017: 61). *G. mellonella*, son yıllarda özellikle bakteriyel ve fungal enfeksiyonların araştırılması için popüler bir hayvan modeli haline gelmiştir. Diğer omurgasız modellerin aksine, deneylerde kullanım için uygun bir boyuta sahiptir ve özellikle 37 ◦C'de yaşamını devam ettirebilmesi nedeniyle insan patojen çalışmalarının yapılması için son derece uygunudur. Laboratuvarda üretilmesi son derece kolay ve ucuzdur, aynı zamanda ekstra laboratuvar olanakları ve uzman personel gerektirmez. Dahası,

omurgasız bir hayvan olması nedeniyle etik yönden herhangi bir kısıtlama söz konusu değildir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemleri hem hücresel hem de humoral savunma mekanizmalarına sahip oldukları için insanlarla birçok benzer özelliğe sahiptir. Bu nedenle, etkinliklerini ve toksisitelerini test etmek için patojenlerin ve antimikrobiyal ajanların hassas dozları enjekte edilebilir. Bu nedenle çeşitli toksisite çalışmalarında ve enfeksiyon modeli olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Emre & ark., 2013; Kayis & ark., 2015; Tsai & ark., 2016: 214; Kayis & ark., 2019; Coskun & ark., 2020; Coskun & ark., 2021).

Sunulan çalışmanın amacı, thiaclopridin son yıllarda sıklıkla model organizma olarak tercih edilen *G. mellonella*'da protein, lipid ve karbohidrat gibi biyokimyasal belirteçler üzerine etkilerini belirlemektir. Elde edilen veriler memelilerinde içinde olduğu hedef dışı organizmalar için thiaclopridin potansiyel toksik etkilerinin ortaya konulmasında yardımcı olacaktır.

Materyal ve Yöntem

G. mellonella (L.) larvaları Bronskill, (1961:102) tarafından belirlenen yarı sentetik besin içerisinde 28°C ± 2°C, %60± 5 bağıl neme sahip karanlık ortamda ergin böceklerin besin içerisine bıraktığı yumurtalardan elde edilmiştir. Açılan yumurtalardan çıkan larvalar aynı ortamda son evreye gelinceye kadar (yaklaşık 250-350 mg) takip edilmiştir. Deneylerde son evreye gelen bu larvalar kullanılmıştır.

Thiaclopridin LD50 değerinin belirlenebilmesi için son evre larvalarına Hamilton marka mikro enjeksiyon iğnesi kullanılarak sol arka bacağın önünden thiaclopridin (Calypso Od 240) farklı dozları enjekte edildi ve 96 saatlik LD50 değerinin belirlenebilmesi için ölen ve hayatta kalan larvalar kayıt altına alındı. Finney (1982), probit analiz yöntemi ile LD50 değeri 38µg olarak tespit edildi. Thiaclopridin sublethal dozlar seçilerek larlavalara 10 µl fosfat

tamponu içerisinde 5µg, 10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30µg thiacloprid olacak şekilde ayarlanan dozlarının uygulanmasına karar verildi. Kontrol grubu olarak hiçbir enjeksiyon yapılmayan larvalar, negatif kontrol grubu olarak da 10 µl fosfat tamponu enjekte edilen larvalar kullanıldı. Enjeksiyon yapılan larvalalar 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarda alınarak ağırlıkları tartıldı ve – 80 C de analizler yapılıncaya kadar bekletildi. Analizler için larvalar fosfat tamponu içerisinde homojenize edildi ve santrifüjlenerek elde edilen süpernatant analizlerde kullanıldı.

Total protein miktarı analizinde Lowry protein metodu Lowry & ark., (1951: 265), total lipit miktarı analizinde Van Handel (1985b: 302) yöntemi ve total karbonhidrat miktarı analizinde Van Handel (1985a: 299), belirlemiş olduğu metod kullanıldı.

Verilerin değerlendirilmesi SPSS 20.00 istatistik programıyla yapılmış, varyans analizi sontasında Student Newman Keul's (SNK) testi uygulanarak ortalama ve standart hatalar belirlenmiştir.

Bulgular

Farklı thiacloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının toplam protein miktarına etkileri Tablo 1 de gösterilmiştir. Thiacloprid 24. saatte kontrol grupları ile karşılaştırıldığında total protein miktarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır ($p>0.05$). Bununla birlikte 48. saatte en yüksek doz olan 30 µg thiacloprid konsatrasyonunda, 72. saatte 20 µg, 25 µg ve 30 µg thiacloprid konsatrasyonlarında ve 96. saatte 25 µg ve 30 µg thiacloprid konsatrasyonlarında protein miktarları hem kontrol gruplarına göre hem de diğer thiacloprid konsatrasyonlarına göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$).

Tablo 1. Thiacloprid G. mellonella larvalarında toplam protein düzeyine etkisi

	Thiacloprid µg	Saat (24) (Ort±Std)	Saat (48) (Ort±Std)	Saat (72) (Ort±Std)	Saat (96) (Ort±Std)
Protein (mg/100mg)	0.00	2.924±0.192[a]	3.349±0.247[a]	3.205±0.136[a]	3.204±0.084[a]
	0.00*	3.275±0.213[a]	3.695±0.138[a]	3.535±0.125[a]	3.378±0.144[a]
	5.00	3.299±0.111[a]	3.364±0,121[a]	3.544±0.218[a]	3.376±0.137[a]
	10.00	3.382±0.129[a]	3.764±0.189[a]	3.702±0.128[a]	3.271±0.094[a]
	15.00	2.986±0.189[a]	3.101±0.128[a]	3.579±0.134[a]	3.448±0.068[a]
	20.00	3.196±0.105[a]	3.513±0.166[a]	2.638±0.191[b]	3.212±0.043[a]
	25.00	3.092±0.035[a]	3.410±0.231[a]	2.685±0.081[b]	2.216±0.062[b]
	30.00	3.452±0.117[a]	2.422±0.120[b]	2.580±0.187[b]	2.138±0.044[b]

**: Negatif kontrol*

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır (P<0.05)

Farklı thiacloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının toplam lipit miktarına etkileri Tablo 2' de gösterilmiştir. 24 saatlik periyotta kontrol grubunda 11.269 mg/100mg olan lipid miktarı negatif kontrol grubunda ve 5 µg lık thiacloprid enjekte edilen grupta önemli bir değişiklik göstermezken, 10 µg ve 15 µg thiacloprid konsatrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde artarken yüksek thiacloprid dozlarında (20 µg, 25 µg ve 30 µg) ise kontrol grupları ve düşük thiacloprid dozlarına göre ise önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). Deney periyodunun 48. saatinde, kontrol grubunda 12.557 mg/100mg olan lipid miktarı negatif kontrol grubu ve 5 µg, 10 µg ve 15 µg thiacloprid konsatrasyonlarında önemli ölçüde değişmezken 20 µg, 25 µg ve 30 µg thiacloprid dozlarında doza bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$).

Tablo 2. Thiacloprid G. mellonella larvalarında toplam lipid düzeyine etkisi

	Thiacloprid µg	Saat (24) (Ort±Std)	Saat (48) (Ort±Std)	Saat (72) (Ort±Std)	Saat (96) (Ort±Std)
Lipid (mg/100mg)	0.00	11.269±0.504^{c}	12.257±0.191^{a}	13.614±0.323^{a}	14.512±0.432^{a}
	0.00*	11.756±0.275^{abc}	12.485±0.450^{a}	13.740±0.525^{a}	14.686±0.506^{a}
	5.00	11.554±0.458^{bc}	12.906±0.334^{a}	13.479±0.702^{a}	15.441±0.736^{a}
	10.00	12.746±0.375^{ab}	12.937±0.200^{a}	14.144±0.617^{a}	15.023±0.362^{a}
	15.00	13.008±0.299^{a}	13.143±0.174^{a}	14.876±0.490^{a}	12.523±0.357^{b}
	20.00	8.822±0.308^{d}	9.227±0.168^{b}	10.451±0.506^{b}	11.097±0.406^{c}
	25.00	8.565±0.425^{d}	8.355±0.203^{c}	9.175±0.184^{b}	9.894±0.575^{c}
	30.00	4.886±0.184^{e}	4.758±0.283^{d}	5.047±0.179^{c}	5.901±0.239^{d}

**: Negatif Kontrol*

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır (P<0.05)

Farklı thiacloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının toplam karbonhidrat miktarına etkileri Tablo 3' de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde *G. mellonella* larvalarının karbohidrat miktarlarına denenen tüm periyotlarda düşük thiacloprid dozlarında (5 µg ve 10 µg) kontrol grubu ve negatif kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Buna karşın yüksek thiacloprid (15 µg, 20 µg, 25 µg ve 30 µg) dozlarında genel olarak denenen tüm periyotlarda karbohidrat miktarlarında önemli azalmalar meydana gelmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3. Thiacloprid G.mellonella larvalarında toplam karbonhidrat düzeyine etkisi

	Thiacloprid µg	Saat (24) (Ort±Std)	Saat (48) (Ort±Std)	Saat (72) (Ort±Std)	Saat (96) (Ort±Std)
Karbonhidrat (mg/100mg)	0.00	10.962±0.458^{a}	10.281±0.423^{a}	10.913±0.464^{a}	11.182±0.228^{a}
	0.00*	11.053±0.467^{a}	10.267±0.313^{a}	10.600±0.469^{a}	10.575±0.300^{a}
	5.00	10.519±0.568^{a}	11.043±0.697^{a}	10.612±0.182^{a}	10.568±0.506^{a}
	10.00	10.719±0.492^{a}	10.962±0.334^{a}	10.670±0.451^{a}	10.589±0.436^{a}
	15.00	7.775±0.153^{b}	8.531±0.421^{b}	7.560±0.216^{b}	8.153±0.373^{b}
	20.00	8.170±0.245^{b}	7.841±0.322^{b}	7.329±0.441^{b}	6.852±0.216^{c}
	25.00	6.292±0.321^{c}	7.212±0.214^{b}	6.374±0.445^{b}	6.001±0.113^{c}
	30.00	3.634±0.122^{d}	3.477±0.166^{c}	3.883±0.125^{c}	3.595±0.217^{d}

**: Negatif kontrolHarfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır (P<0.05)*

Tartışma

İnsektisitler gibi toksik maddelerin organizmalarda en önemli kronik etkilerinden biri oksidatif strese neden olmaları ve serbest radikal oluşumunu indüklemeleridir. Serbest radikaller organizmada hemostatik dengeyi bozarak enzim aktiviteleri, temel makromoleküllerin yapım ve yıkım süreçlerini ve iyon dengesi gibi birçok parametreyi etkileyebilir (Kayis & ark., 2015; Yucel & Kayis, 2019).

Protein, lipit ve karbonhidratlar serbest radikallerden etkilenen moleküllerdir ve bunların depolanması ve kullanımı toksik strese bağlı olarak farklılık gösterebilir (Saleem & ark., 1998: 144; Hogervorst & ark., 2007: 223). Çalışmamızda toplam protein miktarları 48. saatten sonra sadece yüksek thiacloprid dozlarında azalmalar göstermiştir. Diğer dozlarda kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir. Ribeiro & ark., (2001:131) böceklerde pestisitlerin etkisiyle oluşan oksidatif stres koşullarında protein katabolizmasında oluşan bir adaptasyon sonucu protein miktarlarında değişiklikler olabileceğini kaydetmişlerdir. Bunun yanında Yucel & Kayis, (2019:27), *G mellonella* larvalarında imidaclopridin yüksek konsantrasyonlarının protein miktarında azalmaya neden olduğunu, Dağdevran, (2017: 51) ise yine aynı böcekte emamektin benzoatın protein miktarları üzerine önemli bir etkide bulunmadığını belirtmişlerdir.

Böcekler yaşamsal aktivitelerinde gereksinim duydukları enerjiyi öncelikle karbohidratlardan sağlarlar (Lee & ark., 2004:189; Chen & Fadamiro, 2006: 46). Çalışmamızda 15 µg ve daha yüksek thiacloprid dozlarında karbohidrat miktarlarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Benzer sonuçlar thiamethoxam ve imidacloprid enjekte edilen *G. mellonella* larvalarında (Yucel & Kayis, (2019:27; Kayis & ark., (2019:36623), spinosyn uygulanan *Spodoptera littoralis* larvalarında ve Spiromesifen uygulanan

*Drosophila melanogaster'*de Kissoum & Soltani, (2016: 452) elde edilmiştir.

Böcekler enerji gereksinimleri için gerekli olan lipidleri başlıca besinlerinden sağlarlar. Elde edilen bu lipidler daha sonra ihtiyaç durumunda kullanılmak üzere depolanabilir. Bunun yanında lipidler protein ve karbohidrat moleküllerinden de sentezlenebilir (Werren, 1987:498-506).

Çalışmamızda lipid miktarlarında gözlenen azalmalar daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. Kayis & ark., (2019:27) thiamethoxam enjekte edilen *G. mellonella* larvalarında, Sak & ark., (2006: 53) *P. turionellae'*da*,* Fotouhi & ark., (2015:11) *B. mori'*de, Dağdevran, (2017:51) ve Yucel & Kayis, (2019:27) *G. mellonella*'da farklı insektisitlerin toplam lipit miktarını önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Karbohidrat ve lipid miktarındaki bu azalmanın *G. mellonella* larvalarının içinde bulundukları stres koşullarında gereksinim duydukları enerjinin karşılanmasına yönelik bir azalma olduğu düşünülmektedir.

Toksik maddeler canlıların vücuduna alındıktan sonra ya detoksifikasyon enzimleri tarafından zararsız hale getirilir ya da biyolojik olarak transformasyona uğratılarak daha az zararlı bileşikler haline getirilirler. Tüm bu işlemlerde yani detoksifikasyon enzimlerinin ve HSP' lerinin (heat shock protein) sentezlenmesinde ve metabolitlerin vücuttan atılmasında enerji mutlaka kullanılmaktadır (Choi & ark., 2001:11; Sak & ark., 2006: 53; Maryanski & ark., 2002:127). Total lipid ve karbohidrat miktarlarında meydana gelen azalmaların thiaclopridin toksik etkilerinin ortadan kaldırılmasında yukarıda bahsedilen mekanizmaların gereksinim duyduğu enerji için kullanıldığı düşünülmektedir. Bunun yanında Salem & ark., (2024), *S. frugiperda*'da spinetoramın bu temel besin maddelerinin miktarlarındaki değişikliğine neden olduğunu bu durumun sindirim

enzimlerinin aktivitelerinde meydana gelen değişikliklerden kaynaklanabileceğini belirtmiştir.

Sonuç olarak thiacloprid model organizma *G. mellonella*'da protein, lipid ve karbonhidrat gibi biyokimyasal belirteçler üzerine önemli etkilerde bulunmuştur. Bu durum thiaclopridin zararlı böceklerle mücadelesi konusunda etkinliğini göstermesinin yanı sıra, hedef dışı canlılara da potansiyel toksik etkilerini de yansıtmaktadır.

Kaynakça

Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaie, A., (2004). Pesticides and oxidative stress: a review, *Medical Science Monitor, 10*(6): 141-47.

Bronskill, J. (1961). A cage to simplify the rearing of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Pyralidae). *Journal of The Lepidopterists' Society, 15* (2), 102-104.

Casida, J. E. & Quistad, G. B. (2004). Why insecticides are more toxic to insects than people: the unique toxicology of insects. *Journal of Pesticide Science, 29* (2), 81-86. https://doi.org/10.1584/jpestics.29.81.

Chen, L. & Fadamiro, H. Y. (2006). Comparing the effects of five naturally occurring monosaccharide and oligosaccharide sugars on longevity and carbohydrate nutrient levels of a parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspis*. *Physiological Entomology, 31*(1), 46-56. https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2005.00484.x.

Choi, J., Roche, H. & Caquet, T. (2001). Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology Pharmacology, 130* (1), 11-17. https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00206-X

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 & Emre I. (2015). Role of Lipids, Amino Acids, and Sucrose on the Total Adultand Female Emergence, and Content of Glycogen and Protein in *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Annals Of The Entomologıcal Socıety Of Amerıca, 108* (5), 820-826. https://doi.org/10.1093/aesa/sav066.

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. https://doi.org/ 10.1038/s41598-020-67072-9.

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. https://doi.org/10.1007/s10534-021-00341-w.

Coskun, M., T. Kayis, P. Ozalp, K. Kocalar, C. I. Tatlıcıoglu, & I. Emre (2009). The effects of a meridic diet on the sex ratio of offspring, on glycogen and protein content, and on productivity and longevity of adult *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) for five generations. *Belgian Journal of Zoology* 139, 103–108.

Dağdevran, B. (2017). Emamektin Benzoatın *Galleria mellonella* 'nın Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi. Adıyaman: Adıyaman üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Daluwatta, S.S.K., Loiotine, Z., BellezzaOddon, s., Candian, V., Biasato, I., Tedeschi, R. & Gasco, L. (2026). Dietary carbohydrate, protein and lipid modulation shape growth, nutritional profile and antimicrobial peptidegene expression

in edible yellow meal worm larvae. *Animal* 20, 101915. https://doi.org/10.1016/j.animal.2026.101915.

Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S. & Lele, R.D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India, 52*, 794-804.

Emre, I., Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O. & Cogun, H.Y. (2013). Changes in antioxidative enzyme activity, glycogen, lipid, protein, and malondialdehyde content in cadmium-treated *Galleria mellonella* larvae. *Annals of the Entomological Society of America, 106* (3), 371-377. https://doi.org/10.1603/AN12137.

Erenel, G., Erbaş, D., & Aricioğlu, A., (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi, 3*, 243-250.

European Commission, "Bee Health: EU-wide Restrictions on Pesticide Use to Enter into Force". European Commission, Brussels, 2013.

Finney, D. (1982). "Probit analysis'' 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge".

Fotouhi, K., Fazel, M.M. & Kavaousi, A., (2015). Effects of pyriproxyfen on bioenergetic resources of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Turkish Journal of Entomology, 39* (1), 11-22. https://doi.org/10.16970/ted.14717

Gangemi, S., Miozzi, E., Teodoro, M., Briguglio, G., De Luca, A., Alibrando, C. & Libra, M. (2016). Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of

chronic diseases in humans. *Molecular Medicine Reports, 14* (5), 4475-4488. https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5817

Gurur (2013). ‘’Su Kaynağı Nedir?’’, (http://www.nkfu.com/su-kaynagi-nedir/) (10.10.2017).

Gümrükçüoğlu, A. Serbest Radikaller. Erişim: genetikbilimi.com/gen/serbest radikaller”. 28.01.2009.

Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine. Third Edition, Oxford University Pres. Inc., New York, 936s.

Hogervorst, P.A., Wäckers, F.L. & Romeis, J. (2007). Effects of honeydew sugar composition on the longevity of *Aphidius ervi*. *Entomology Experimentalis et Applicata, 122* (3), 223-232. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00505.x

Ihara, M., Brown, L. A., Ishida, C., Okuda, H., Sattelle, D. B. & Matsuda, K. (2006). Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency. *Journal of Pesticide Science, 31*(1), 35-40. https://doi.org/10.1584/jpestics.31.35

Jeschke, P. & Nauen, R. (2008). Neonicotinoids from zero to hero in insecticide chemistry. Pest Management Science: formerly *Pesticide Science, 64* (11), 1084-1098. https://doi.org/10.1002/ps.1631

Kayis, T., Coskun, M. & Emre, I. (2012). Effects of diazinon on antioxidant enzymes and adult emergence of the parasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae. *Turkish Journalof Entomology*, *36*(4), 463-473.

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. https://doi.org/10.1093/aesa/sav038.

Kayis, T., Altun, M. & Coskun, M. (2019). Thiamethoxam-mediated alteration in multi-biomarkers of a model organism, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Science and Pollution Research, 26*, 36623-36633. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06810-7.

Kissoum, N. & Soltani, N. (2016). Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Entomology and Zoology Studies, 4* (1), 452-456.

Kollmeyer, W. D., Flattum, R. F., Foster, J. P., Powell, J. E., Schroeder, M. E. & Soloway, S. B. (1999). Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides. In Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor (pp. 71-89). Tokyo: Springer Japan

Kwadha, C. A., Ong'amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K. & Fombong, A. T. (2017). The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Insects, 8* (2), 61. https://doi.org/10.3390/insects8020061.

Li, A., Ke, L.Y.Y., Diao, Q.Y., Wu, Y., Dai, P. & Liu, Y. (2023). Thiacloprid impairs honeybee worker learning and memory with inducing neuronal apoptosis and downregulating memory-related genes. *Science of the Total Environment 885*, 163820. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163820

Lee, J. C., Heimpel, G. E. & Leibee, G. L. (2004). Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp. *Entomologia Experimentalis et Applicata, 111* (3), 189-199. https://doi.org/10.1111/j.0013-8703.2004.00165.x

Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry, 193* (1), 265-75.

Maryanski, M., Kramarz, P., Laskowski, R. & Niklinska, M. (2002). Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in carabid beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to zinc-or cadmium-contaminated food. *Ecotoxicology, 11*(2), 127-139. https://doi.org/10.1023/A:1014425113481.

Matsuda, K., Buckingham, S. D., Kleier, D., Rauh, J. J., Grauso, M. & Sattelle, D. B. (2001). Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences, 22* (11), 573-580. https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01820-4.

Mencke, N. & Jeschke, P. (2002). Therapy and prevention of parasitic insects in veterinary medicine using imidacloprid. *Current Topics in Medicinal Chemistry, 2* (7), 701-715. https://doi.org/10.2174/1568026023393598.

Nordberg, J. & Arnér, E.S.J., (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine, 31*(11), 1287-1312. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00724-9

Osterauer, R. & Köhler, H.R. (2008). Temperature-dependent effects of the pesticides Thiacloprid and diazinon on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic*

Toxicology, 86 (4), 485-494. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.12.013.

Öncüer, C. & Durmuşoğlu, E. (2008). Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi, 464.

Ribeiro, S., Sousa, J. P., Nogueira, A. J. A. & Soares, A. M. V. M. (2001). Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 49* (2), 131-138.

Sak, O., Uckan, F. & Ergin, E. (2006). Effects of cypermetrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Belgian Journal of Zoology, 136*(1), 53-58.

Salem, S.A.R., Alhousini, E.M.E., Al-Amgad, Z. & Mahmoud, M.A.B. (2024). Efficiency of Spinetoram on Biological, Biochemical, and Histological Parameters in the Invasive Fall Armyworm *Spodoptera Frugiperda* (*Lepidoptera*: *Noctuidae*) in Egypt. *Journal of Plant Diseases and Protection, 131*, 489–499. https://doi.org/10.1007/s41348-023-00835-4

Saleem, M., Shakoori, A.R. & Mantle, D. (1998). Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (Cypermethrin), in adult beetles of a stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 39* (4), 144-154.

Schwarzbacherová, V., Wnuk, M., Deregowska, A., Holečková, B. & Lewinska, A. (2019). In vitro exposure to thiacloprid-based insecticide formulation promotes oxidative stress, apoptosis and genetic instability in bovine lymphocytes.

Toxicology in Vitro, 61, 104654. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.104654

Shacter, E. (2000). Protein oxidative damage. In Methods in enzymology. *Academic Press* Vol. 319, pp. 428-436.

Singkum, P., Suwanmanee, S., Pumeesat, P. & Luplertlop, N. (2019). A powerful in vivo alternative model in scientific research *Galleria mellonella*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 66* (1), 31-55. https://doi.org/10.1556/030.66.2019.001.

Singla, S. & Sandhu, H.S. (2015). Alterations in hematological profile of experimentally induced subchronic thiacloprid toxicosis in *Gallus domesticus*. *Toxicology International, 22* (1), 147-151.

Thornaley, P.J. & Vasak, M., (1985). Possible role of metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress: Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochimica et Biophysica Acta, 827*, 35–44.

Tomizawa, M. & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 45* (1), 247-268. https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095930.

Tsai, C. J. Y., Loh, J.M.S. & Proft, T. 2016. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence, 7* (3), 214-229. https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289.

Van Handel, E. (1985a). Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association, 1*(3), 299-301.

Van Handel, E. (1985b). Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association, 1* (3), 302-304.

Van Loon, S., Vicente, V. B. & Van Gestel, C. A. (2022). Long-Term Effects of Imidacloprid, Thiacloprid, and Clothianidin on the Growth and Development of *Eisenia andrei*. *Environmental Toxicology and Chemistry, 41*(7), 1686-1695. https://doi.org/10.1002/etc.5345.

Ware, G.W. & Whitacre, D.M. (2004). An introduction to insecticides. The pesticide book, 6.

Werren, J.H. (1987). Labile Sex Ratios in Wasps and Bees. *Bioscience, 37*, 498-506.

Yu, Y.L., Wu, J.L., Stahler, M. & Pestemer, W. (2007). Residual dynamics of Thiacloprid in medical herbs marjoram, thyme, and camomile in soil. *Journal of Environmental Sciences, 19* (2), 205-209. https://doi.org/10.1016/S1001-0742(07)60033-3

Yucel, M.S. & Kayis, T. (2019). Imidacloprid induced alterations in oxidative stress, biochemical, genotoxic, and immunotoxic biomarkers in non-mammalian model organism *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Environmental Science and Health, Part B, 54* (1), 27-34. https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1530545


BİDGE