



**MİKROBİYAL LİPİTLERİN VE
PİGMENTLERİN SENTEZİ ÜZERİNE QUORUM
SENSING MOLEKÜLLERİNİN ETKİSİ**

Muhammet Enes KIZILER

Danışman: Prof. Dr. Mesut TAŞKIN
Yüksek Lisans Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
2021
(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

**MİKROBİYAL LİPİTLERİN VE PİGMENTLERİN SENTEZİ ÜZERİNE QUORUM
SENSING MOLEKÜLLERİNİN ETKİSİ**

(THE EFFECT OF QUORUM SENSING MOLECULES ON SYNTHESIS OF
MICROBIAL LIPIDS AND PIGMENTS)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammet Enes KIZILER

Danışman: Prof. Dr. Mesut TAŞKIN

Erzurum
Haziran, 2021

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Muhammet Enes KIZILER tarafından hazırlanan “Mikrobiyal Lipitlerin ve Pigmentlerin Sentezi Üzerine Quorum Sensing Moleküllerinin Etkisi” başlıklı çalışması 06/07/2021 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Biyoteknoloji Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ <i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Danışman:	Prof. Dr. Mesut TAŞKIN <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Hamid CEYLAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim YönetmeliĐi’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk BuĐrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Mesut TAŞKIN danışmanlığında sunulan “Mikrobiyal Lipitlerin ve Pigmentlerin Sentezi Üzerine Quorum Sensing Moleküllerinin Etkisi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	2	30
Kuramsal Temeller	6	30
Materyal ve Yöntem	0	35
Bulgular	0	20
Tartışma	4	20
Tezin Geneli	8	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Muhammet Enes KIZILAR	Prof. Dr. Mesut TAŞKIN
12.7.2021	12.7.2021
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Mesut TAŞKIN'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım

Deneyler sırasında bilgi ve görüşlerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Nazlı Pınar ARSLAN'a, Sayın Arş. Gör. Tuğba ORAK'a Sayın Öğr. Gör. Meryem DOYMUŞ'a, deneylerim sırasında göstermiş oldukları ilgi ve manevi destekleri için başta Sayın Arş. Gör. Şeyda ALBAYRAK olmak üzere tüm Araştırma Laboratuvarında çalışan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Son olarak hayatımın her alanında olduğu gibi bu süreç boyunca da maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Muhammmet Enes KIZILER

ÖZET

YÜKDEK LİSANS TEZİ

BELİRLİ MİKROORGANİZMALARDA QUORUM SENSING MOLEKÜLLERİNİN LİPİD VE PİGMENT ÜZERİNE ETKİSİ

Muhammmet Enes KIZILER

Danışman: Prof. Dr. Mesut TAŞKIN

Amaç: Mevcut çalışma Quorum Sensing Molekülü olarak bilinen Tyrosol ya da Farnesol'ün *Rhodotorula glutinis* ATCC (15125)' de lipit ve karoten sentezini, *Serratia marcescens*' de ise prodigiosin sentezi üzerine etkilerinin ortaya çıkartmak için gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot: Deneyler sırasında, sıvı formdaki Farnesol ve katı formdaki Tyrosol kültüre inkübasyonun 1. gününde (inokulasyondan hemen sonra) ya da 3. günün başlangıcında (49.saat) doğrudan eklendi. Kültürdeki hücre büyümesi, lipit veya pigment sentezi 5 günlük inkübasyon süresi sonunda analiz edildi. Üretim deneyleri sıvı besiyerinin (*R. glutinis* ve *S. marcescens* için sırasıyla Patates Dekstrozo Broth ve Nutrient Broth) 100 ml' sini içeren 250 ml' lik erlenmeyer flask' lar içerisinde gerçekleştirildi. Hücre büyümesi kuru ağırlığa göre belirlendi. Lipit ekstraksiyonu için kloroform: metanol (2:1) metodu, pigment ekstraksiyonu için aseton çözücüsü kullanıldı.

Bulgular: Kültüre 1. ya da 3. günün başlangıcında eklenen Farnesol'ün (2-16 µg/l) hiçbir konsantrasyonu *R. glutinis*'de lipit sentezi üzerinde etki göstermedi. Benzer şekilde, kültüre birinci günde eklenen Farnesol 'ün hiçbir konsantrasyonu karotenoid sentezini etkilemedi. Tam tersine, kültüre 3. günün başlangıcında eklenen Farnesol'ün bütün konsantrasyonları kontrole oranla *R. glutinis*'de karotenoid sentezini azalttı. Tyrosol (2-16 mg/l), 1. günde kültüre eklendiğinde lipit sentezini fazla etkilemedi, ancak 3. günde kültüre eklendiğinde lipit sentezini azalttı. 3. günde kültüre eklenen Tyrosol'ün tüm konsantrasyonları (2-16 µl/l), kontrole kıyasla *R. glutinis*'te karotenoid sentezini arttırdı ve karotenoid üretiminde maksimum artış (2,13 kat) 4 mg/l' lik tyrosol konsantrasyonunda gözlemlendi. Tyrosol'ün düşük (2-16 mg/l) ve yüksek konsantrasyonları (75-600 mg/l) kültüre 1. veya 3. gün eklendiğinde *Serratia marcescens*'te hücre büyümesini ve prodigiosin sentezini etkilemedi. Tam tersine, Farnesol'ün hem düşük (2-16 µl/l) hemde yüksek (50-800 µl/l) konsantrasyonları kontrole göre prodigiosin sentezini arttırdı ve prodigiosin sentezindeki maksimum artış (yaklaşık 5 kat) 200 µl/l Farnesol kültüre 3. günün başında eklendiğinde başarıldı.

Sonuç: Quorum Sensing Moleküllerinden olan Tyrosol'ün *Rhodotorula glutinis*'de karoten, Farnesol'ün ise *Serratia marcescens*'de prodigiosin sentezini arttırdığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Karoten, Mikrobiyal Lipit, Prodigiosin, Quorum Sensing Molekülleri

Haziran 2021, 58 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE EFFECT OF QUORUM SENSING MOLECULES ON LIPID AND PIGMENT IN CERTAIN MICROORGANISMS

Muhammmet Enes KIZILER

Supervisor: Prof. Dr. Mesut TAŞKIN

Aim: The current study was performed to elucidate effects of tyrosol and farnesol, known as Quorum Sensing Molecules, on lipid and carotene synthesis in *Rhodotorula glutinis* ATCC (15125) and prodigiosin synthesis in *Serratia marcescens*.

Material and method: During the experiments, farnesol in liquid form or tyrosol in solid form were added directly to the culture medium at the beginning of 1st (after inoculation) or 3rd day (49th h) of incubation. Cell growth, lipid or pigment synthesis in culture was analyzed at the end of the 5-day incubation period. The production experiments were performed in 250 mL flasks containing 100 mL of broth medium (potato dextrose broth and nutrient broth media for *Rhodotorula glutinis* and *Serratia marcescens*, respectively). Cell growth was determined according to dry cell weight. Chloroform: methanol (2:1) method was used for lipid extraction and acetone solvent for pigment extraction.

Results: No concentration of Farnesol (2-16 µl/l) added to the culture at the beginning of 1st or 3rd day showed no effect on lipid synthesis in *R. glutinis*. Similarly, no concentration of farnesol added to the culture on day 1 affected carotenoid synthesis. In contrast, when farnesol was added to the culture on day 3, its all concentrations decreased carotenoid synthesis in *R. glutinis* compared to control. Tyrosol (2-16 mg/l) did not affect lipid synthesis much when added to the culture on day 1, but it reduced lipid synthesis when added in the culture day 3. All concentrations (2-16 µl/l) of tyrosol added to the culture on the 3rd day increased carotenoid synthesis in *R. glutinis* compared to the control, and the maximum increase in carotenoid production (2.13 fold) was observed at 4 mg/l tyrosol concentration. Neither low (2-16 mg/l) nor high concentrations (75-600 mg/l) of tyrosol affect cell growth and prodigiosin synthesis in *Serratia marcescens* compared to control, when added the culture day 1 or 3. Conversely, both low (2-16 µl/l) and high (50-800 µl/l) concentrations of farnesol increased prodigiosin synthesis compared to the control, and the maximum increase (5-fold) in prodigiosin synthesis was achieved when 200 µl/l farnesol was added into the culture at the beginning of day 3.

Conclusion: It was determined that tyrosol, one of the Quorum Sensing Molecules, increased carotene synthesis in *R. glutinis* and farnesol increased prodigiosin synthesis in *S. marcescens*.

Key Words: Carotene, Microbial Lipid, Prodigiosin, Quorum Sensing Molecules

June 2021, 58 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	4
Quorum Sensing	4
Farnesol	5
Tyrosol	6
Mikrobiyal Lipidler	7
Oleaginous Mayalar	8
Lipid Biyosentezi	9
Mikrobiyal Lipidlerin Kullanım Alanı	11
Biyodizel	11
Gıda endüstrisi	12
Oleokimyasallar	13
Mikrobiyal Pigmentler	13
Karetenoidler.....	13
Prodiosinler	15
MATERYAL VE METOT.....	17
Materyal	17
Çalışmalarda kullanılan cihazlar	17
Kullanılan kimyasal malzemeler.....	17
Kullanılan çözeltiler	18
Çalışmada kullanılan ticari besiyerlerinin hazırlanması	18
Yöntem.....	18
Çalışmada kullanılan ortamın ve malzemelerin sterilizasyonu.....	18

Çalışmada kullanılan maya ve bakterinin canlandırılması.....	19
Ön kültürün hazırlanması.....	20
<i>Rhodotorula glutinis</i> ile lipid üretimi üzerine Tyrosol ve Farnesol moleküllerinin etkisi	21
<i>Rhodotorula glutinis</i> ATCC (15125)'nin biyokütle analizi ve mayadan lipid ekstraksiyonu	22
<i>Rhodotorula glutinis</i> ATCC (15125) ile pigment üretimi üzerine Tyrosol ve Farnesol moleküllerinin etkisi.....	22
<i>Rhodotorula glutinis</i> 'ın hücre büyüme analizi ve mayadan pigment ekstraksiyonu	22
<i>Serratia marcescens</i> 'in hücre büyüme analizi ve bakteriden pigment ekstraksiyonu	24
ARAŞTIRMA BULGULARI	26
<i>R. glutinis</i> ' de Hücre Büyümesi ve Lipit Sentezi Üzerine Farnesol ve Tyrosol'ün Etkisi	26
<i>R. glutinis</i> ' de Hücre Büyümesi ve Pigment Sentezi Üzerine Farnesol ve Tyrosol'ün Etkisi	27
<i>S. marcescens</i> ' de Hücre Büyümesi ve Prodigiosin Sentezi Üzerine Tyrosol ve Farnesol'ün Etkisi	29
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tez kapsamında kullanılan alet ve cihazlar	17
Tablo 2. Tez kapsamında kullanılan kimyasal malzemeler	17
Tablo 3. <i>R. glutinis</i> ile lipit üretimi ve hücre büyümesi üzerine farklı Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi	27
Tablo 4. <i>R. glutinis</i> ile Pigment Üretimi Üzerine Farklı Tyrosol ve Farnesol Konsantrasyonlarının Etkisi	28
Tablo 5. <i>Serratia marcescens</i> 'de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine düşük Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi	30
Tablo 6. <i>Serratia marcescens</i> ' de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine yüksek Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Farnesol	5
Şekil 2. Tyrosol	7
Şekil 3. PDA besiyerinde geliştirilen <i>Rhodotorula glutinis</i>	19
Şekil 4. NA besiyerinde geliştirilen <i>Serratia marcescens</i>	20
Şekil 5. PDB sıvı besiyeri içerisinde geliştirilen <i>Rhodotorula glutinis</i>	21
Şekil 6. NA sıvı besiyerinde geliştirilen <i>Serratia marcescens</i>	24
Şekil 7. <i>R. glutinis</i> ile lipit üretimi ve hücre büyümesi üzerine farklı tyrosol ve farnesol konsantrasyonlarının etkisi	27
Şekil 8. <i>R. glutinis</i> ile pigment üretimi ve hücre büyümesi üzerine farklı tyrosol ve farnesol konsantrasyonlarının etkisi	29
Şekil 9. <i>Serratia marcescens</i> ' de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine düşük tyrosol ve farnesol konsantrasyonlarının etkisi	30
Şekil 10. <i>Serratia marcescens</i> ' de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine yüksek Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi	32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACL	: Acil sitrat liyaz
ATP	: Adenozin trifosfat
DAG	: Diaçilgliserol
EFA	: Dışardan alınan çoklu doymamış yağ asitleri
FAS	: Yağ asidi sentaz
HCl	: Hidroklorik asit
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MAG	: Monoaçilgliserol
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitlerinden
NA	: Nutrient Agar
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NB	: Nutrient Broth
PDA	: Potato Dekstroz Broth
PDB	: Potato Dekstroz Broth
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
QS	: Quorum Sensing
QSM	: Quorum Sensing Molekül
TAG	: Triaçilgliserol

GİRİŞ

İletişim, yaşam boyunca popülasyonlar arasındaki davranışları koordine etmek için her zaman gerekli olmuştur. Bütün mikroorganizmalarda birden çok salgı molekülü vasıtasıyla hücreler arası iletişimini sağlamaktadır (Polke *et al.* 2017). QS; biyofilm oluşumu, virülans ekspresyonu, sekonder metabolit sentezi ve stres adaptasyon mekanizmaları gibi birçok süreçte mikroorganizmalar arasında bir iletişim mekanizması olarak bilinmektedir. QS molekülleri ekstrasellüler olarak biriktirilmektedir. Spesifik reseptörlerle algılanarak yanıt için gerekli eşik değere ulaştıklarında ise cevap ortaya çıkmaktadır (Saraçlı 2006). *C. albicans* için Farnesol ve Tyrosol gibi bazı bileşikler quorum sensing molekülü olarak bulunmuştur (Hornby *et al.* 2001)

Farnesol'ün *C. albicans* tarafından üretiminin belirlenmesinden sonra ökaryotlarda ilk quorum sensing sistemi açığa çıkmıştır (Hornby *et al.* 2001). Besiyerinde bulunan sığır serum albumini veya N-asetil glukozamin gibi etkenler sayesinde hif oluşumunu tetiklerken, misel oluşumunu baskılayabilen sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır (Mosel *et al.* 2005). Ayrıca sterol sentezinde görev alan farnesil pirofosfattan meydana gelmektedir (Hornby *et al.* 2003). *C. albicans*'ın oluşturduğu biyofilmin durgun kalmasını sağlayıp, olgunlaşmasını ve artmasını engellemektedir (Yu *et al.* 2012).

Candida albicans tarafında üretilen bir diğer QS molekülü ise tirozin türevi olan Tyrosol' dür. Tyrosol Farnesol ile karşılaştırıldığında hif oluşumunu arttırmaktadır. Böylece *C. albicans* Farnesol ve Tyrosol gibi QS'lerin etkisi ile morfojenезini kontrol altında tutabilmektedir. (Alem *et al.* 2006; Chen *et al.* 2004; Egbe *et al.* 2015).

Lipitler, yaklaşık 39 kJ/g (9 kcal/g) kadar yüksek bir enerji değerine sahip etkili bir enerji depolama şeklidir (Thevenieau and Nicaud 2013). Nötr lipidler, fosfolipidler, lipoproteinler, glikolipidler, yağ asitleri ve steroller olmak üzere çeşitli yapısal türleri içermektedir (Refaat 2009). Lipidler, üç uzun zincirli yağ asidinden ve bir gliserol molekülünden sentezlenen trigliseritleri içermektedir (Fazal *et al.* 2011). Yağ asitleri genellikle çift sayıda karbon atomlu, 14 ila 28 karbon içeren dalsız zincirlere sahiptir ve çoğunlukla trigliseritlerde ve fosfolipitlerde bulunmaktadır (Refaat 2009). Fiziksel olarak, yağlar katıdır ve oda sıcaklığında sıvı hale geçmektedir. Genellikle kloroform, heksan ve dietil eter gibi polar olmayan çözücülerde yüksek çözünürlükleri ile bilinmektedir. Lipidler; fungus, mikroalg, bakteri ve maya gibi çeşitli oleaginous mikroorganizma tarafında üretilmekle birlikte “Tek Hücre Yağı” olarak da adlandırılmaktadır (Matsakas *et al.* 2015). Oleaginous mayaların,

hücrel kuru ağırlıklarının %20'sine kadar lipid biriktirebildiği belirtilmiştir ve bu mayaların birçoğu, *Basidiomycetes Rhodotorula* , *Cryptococcus* , *Rhodospodidium* , *Sporidiobolus* , *Trichosporan* ve birkaçı Askomiset filumundan olan *Yarrowia lipolytica*, *Candida* sp., ailesine aittir (Ageitos *et al.* 2011; Polburee *et al.* 2015)

Pigment kelimesi, 'pigmentum' kelimesinden türemiştir ve görünür dalga boyundaki ışığı absorbe eden kimyasal bileşikler olarak bilinmektedir (Hari *et al.* 1994). Pigmentler genellikle kolay kolay çözünmeyen, ortama ilave edildiklerinde fiziksel ya da kimyasal olarak yapısı değişmeyen, renk verici, organik veya inorganik yapıli katılar olarak tanımlanmaktadır (Erdal and Ökmen 2013). Pigmentler kaynaklarına göre doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaktadır. Doğal pigmentler bitkiler, hayvanlar, böcekler, mikroorganizmalar tarafından üretilirken; sentetik pigmentler ise kimyasal sentezleme yoluyla laboratuvar ortamında üretilmektedir. Pigmentler renklendirici bileşen olarak tıpta, gıdalarda, tekstilde ve kozmetik gibi birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır (Erdal and Ökmen 2013).

Mikroorganizmalar tarafından çeşitli pigmentler üretilmektedir ve bu üretimden kaynaklı endüstriyel alanda kullanımına bağıli olarak bir takım umut verici öneme sahiptir (Aberoumand 2011; Ahmad *et al.* 2012). Karotenoidler, bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir. Likopen, α -karoten ve β -karoten veya oksijenli türevleri olarak sentezlenen doğal oluşun pigmentlerdir (Armstrong 1994, 1997; Das *et al.* 2007; Sandmann 2001). Bu pigmenti bir dizi mikroorganizma üretmektedir. *Phaffia*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* cinsine ait mayalar karoten üreticisi olarak bilinmektedir (Nelis and De Leenheer 1991)

Kırmızı mikrobiyal pigmentlerin bir diğeri ailesi olan prodigininler (Wang *et al.* 2020), çok yönlü bir sekonder metabolittir. Tripirrol kırmızısı pigmentler sınıfında yer alan Prodigiosin, 4-metoksi, 2-2 bipirol halka sistemi sahiptir (Boger and Patel 1988). PG üretiminin temel kaynağı *Serratia marcescens* olarak bilinmektedir. Aynı zamanda *Serratia*, *Janthinobacterium*, *Rugamonas*, *Streptomyces* gibi bazı bakteri türleri tarafından da prodigiosin üretme yeteneğine sahiptir (Wang *et al.* 2020).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda çeşitli karbon kaynaklarının, azot kaynaklarının ve kimyasalların lipid üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Belirtiğı üzere Quorum sensing moleküllerinden olan Farnesol ve Tyrosol'un mikroalglerde lipid üretimini artırdığı gözlenmiştir. Ancak oleaginous mayalarda bu iki maddenin lipid üretimi üzerinde etkisi araştırılmamıştır. Ayrıca yapılan literatür araştırmaları sonucunda yine bu maddelerin küflerde pigment üretimi üzerinde etkisi denenmiştir. Tez çalışmamızda hem oleaginous hem de pigment üretme yeteneğine sahip bir maya olan *Rhodotorula glutinis* üzerinde Farnesol ve

Tyrosol ‘ün etkisi araştırılmıştır. Ayrıca pigmetli bir bakteri olan *Serratia marcescent* ‘in pigment üretimi üzerinde etkisi de araştırılmıştır.



KURAMSAL TEMELLER

Quorum Sensing

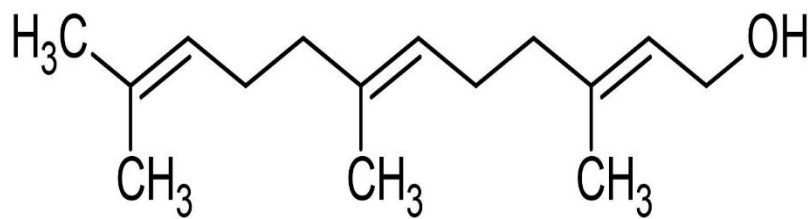
Mikroorganizmalar, hücreler arası etkileşimi artırmak, diğer hücrelerle iletişimi sağlamak, iç ve dış uyarılara karşı tepkileri kontrol etmek için görevli olan bazı maddeler üretmektedir ve bu maddeler Quorum Sensing Molekülü (QSM) olarak adlandırılmaktadır (Wongsuk *et al.* 2016). QS molekülleri yeterlilik ve biyoluminesans, biyofilm oluşumu, virülans faktörlerinin salgılanması, sporulasyon ve antibiyotik üretimi gibi mikroorganizmalardaki ekolojik ve tıbbi açıdan önemli birkaç özelliği düzenlemektedir. Küçük yayılabilir sinyal molekülleri ile transkripsiyonel aktivatör proteinler arasındaki etkileşime dayanan Quorum Algılama fenomeni, gen ekspresyonunu hücre yoğunluğu ile birleştirmektedir (Avbelj *et al.* 2016; Wongsuk *et al.* 2016) ve bu süreç Quorum Sensing (QS) olarak adlandırılmaktadır (Amache 2014; Borea *et al.* 2018). Başlangıçta QS, özel bir *Vibrio fischeri* sistemi olarak kabul edilmiştir. Bu sistemde LuxI / LuxR transkripsiyonel aktivatör ve otoindüktör sistemi, lüminesans üretimi için önemli olan Lux gen ekspresyonunun hücre yoğunluğuna bağlı kontrolüne aracılık etmektedir. Ancak daha sonra, çeşitli biyolojik rollere sahip diğer proteobakteriyel türlerdeki bazı homolog sistemler deneysel olarak ortaya çıkarılmıştır. Örneğin, *Agrobacterium tumefaciens*'de luxI / R homologları (traI / R), plazmitin bakteriler arasında konjugal transferini kontrol etmektedir (Faure and Lang 2014). Benzer şekilde *Pseudomonas aeruginosa*'da birçok virülans faktörünün ifadesi paralel olarak hareket eden iki devre tarafından kontrol edilmektedir (Kariminik *et al.* 2017; Rasamiravaka and El Jaziri 2016).

İlerleyen çalışmalarda QS, çeşitli fungus türlerinde de keşfedilmiştir. QSM'nin funguslardaki etkileri temel olarak morfogenez (küresel formdan hif formuna geçiş), fungal programlı hücre ölümünün başlaması, apoptoz ve patojenite için tanımlanmıştır. Biyofilm topluluklarında, QSM biyofilmi (yapışma fazı, proliferasyon, filamentasyon, olgunlaşma ve dispersiyon), hücre morfolojisinin düzenlenmesini ve popülasyon yoğunluğunu etkileyebilmektedir (Ramage *et al.* 2002; Wongsuk *et al.* 2016). Tek hücreli mayalar ve iplikli hücreler fungusların iki büyüme formudur. QS molekülleri hem mayalarda hem de küflerde araştırılmaktadır (Wongsuk *et al.* 2016). *Aspergillus* (Sorrentino *et al.* 2010) ve *Penicillium* (De Salas *et al.* 2015; Raina *et al.* 2010) cinsi filamentli funguslarda QSM tanımlanmıştır. Fungus dimorfizmi veya polimorfizmi, maya ve misel morfolojisi arasındaki çevresel bir dönüşümdür ve bu dönüşüm bazı fungus türlerinde gözlenmektedir (Barriuso *et al.* 2018;

Padder *et al.* 2018). Dimorfik bir fungus olan *C. albicans*, maya hücresinden filamentli büyüme evresine geçişin denetiminde kullanılan bir Quorum Sensing sistemine sahip olduğu gösterilen ilk fungus türüdür (Hogan 2006). Yapılan çalışmalarda, hücre yoğunluğu ile doğru orantılı seviyelerde *C. albicans* kültürlerinin büyümesi sırasında sürekli olarak üretilip, hücre dışına salınan maddenin Farnesol olduğu belirlenmiştir (Hornby *et al.* 2001). Kültür ortamında biriken Farnesol, yüksek bir yoğunluğa ulaştığı sırada germ tüplerinin oluşumunu önlemektedir (Lindsay *et al.* 2012)

Farnesol

Farnesol 3,7,11-trimetil-2,6,10-dodekatrien-1-ol yapısına sahip bir QSM'dir ve yapısal moleküler formülü $C_{15}H_{26}O$ 'dür (Westwater *et al.* 2005) . Farnesol ayrıca doğal bitki hücrelerinde uçucu yağlarda bulunan bir alkol olan farnesil pirofosfat defosforilasyonuyla üretilen 15 karbonun oluşturduğu bir terpendir (Khan *and* Sultana 2011). Farnesol adı ilk olarak *Vachellia farnesiana* (L.) Wight & Arn çiçeklerinde "akasya farnese" olarak bilinen bir moleküldür ve "ol" eki kimyasal olarak bir alkol olduğu için eklenmiştir (Trimble). Bununla birlikte Farnesol *Candida*'da belirlenmiş ilk Quorum Sensing molekülüdür ve *C. albicans*'ta pirofosfatın defosforilasyonuyla sterol sentetik yolağının bir yan ürünü olarak üretilmektedir (Hornby *et al.* 2003). Esas olarak aerobik koşullar altında üretilmektedir. Aşırı pH ve karbon veya nitrojen kaynağı türünden etkilenmeyen, asiklik bir seskiterpen, ısıya dayanıklı moleküldür (Westwater *et al.* 2005). Genel olarak Farnesol konsantrasyonu koloni oluşturan birim sayısı ile orantılıdır (Hornby *et al.* 2001).



Şekil 1. Farnesol (Vernillo *et al.* 2016)

Weber ve çalışma ekibi (2008) tarafından yapılan araştırmada fizyolojik koşullar altında, *C. albicans* izolatlarının ortalama 35.6 μ M (aralık: 13.7 ila 58.5 μ M) konsantrasyonda Farnesol salgıladığı belirlenmiştir. Bu konsantrasyon, 8.3 μ M üretim (aralık: 6.0 ila 17.5 μ M) gerçekleştiren *Candida dubliniensis* haricinde, *albicans* olmayan türler tarafından salgılanandan 35 kat daha yüksektir. *albicans* olmayan diğer tüm türler, ortama 0,4 ila 1 μ M arasında değişen, anlamlı olarak daha düşük konsantrasyonlarda Farnesol salgılamaktadır

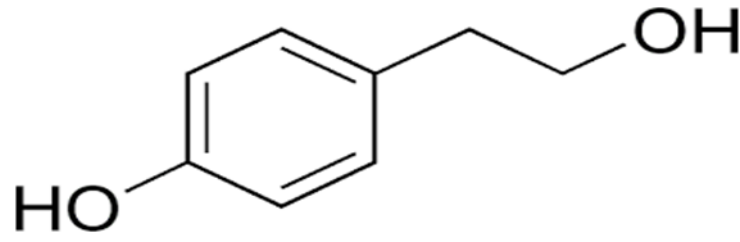
(Weber *et al.* 2008). Farnesol sentezi ile ilgili genlerin ekspresyonundaki farklılıklar, sterol sentezindeki türe özgü özelliklerle açıklanabilmektedir (Nickerson *et al.* 2006).

Farnesol kimyasal sentez ve metabolik mühendislik teknikleri kullanılarak yüksek miktarlarda üretilabilmektedir. Farnesol ve türevlerinin / analoglarının, anti-biyofilm, anti-kanser, anti-tümör ve fungisidal özellikler sergilediği yapılan çeşitli çalışmalar sonucu belirlenmiştir. Farnesol'ün anti-biyofilm aktivitesi, uygulama zamanına ve *Candida* biyofilm gelişimini inhibe etmek için kullanılan konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir. Yine de Farnesol'ün bakteriyel biyofilm üzerindeki etkisi daha az araştırılmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalar, Farnesol'ün birkaç bakteri ve fungusun büyümesini etkilediğini de ortaya çıkarmıştır. Bu durum da Farnesol'ün antimikrobiyal ajan olarak potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Derengowski *et al.* 2009). Farnesol'ün antimikrobiyal potansiyeli, bilinen antifungal ilaçlarla sinerji oluşturarak ve nano formülasyon yoluyla artırılmıştır. Bu nedenle, QS aktivitesinin yanı sıra Farnesol, etkili bir anti-mikrobiyal, anti-enflamatuar, anti-alerjik ve anti-obezite ajanı olarak kullanılabilmektedir (Gupta *et al.* 2018).

Tyrosol

Tyrosol (2- [4-hidroksifenil] etanol), tirozinin bir türevidir (Padder *et al.* 2018) ve hif gelişimini desteklemektedir (Chen *et al.* 2004). Ayrıca Hidroksityrosol ile birlikte sızma zeytinyağında bulunan ana fenolik bileşiklerden biridir (de la Torre-Robles *et al.* 2014).

Tyrosol, *C. albicans*'ın morfogenezini etkilemek için belirtilen ve tanımlanan ikinci QSM'dir. Fungus büyümesi sırasında hif oluşturucu koşullar altında büyüme ortamına salınmaktadır ve hücrelerin çimlenmeye başlaması için gecikme süresini kısaltmaktadır (Chen *et al.* 2004). *Rhodiola sachalinensis*'te tirozin dekarboksilaz enzimi belirlendiğinden Tyrosol'ün tiramin yoluyla sentezlendiği yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır (Qualley *et al.* 2012; Zhang *et al.* 2011). Ayrıca yapılan çalışmalarda, Tyrosol'ün *C. albicans*'ta morfogenezinde tirozol regülasyonunun farnesole ikincil olduğu ve bu nedenle etkisi yalnızca farnesol çevrede sınırlı olduğunda veya olmadığında görülen minor bir QSM olduğu ortaya koyulmuştur (Nickerson *et al.* 2006). Transkript profillemeye çalışmaları, Tyrosol'ün hücre döngüsü regülasyonunu, DNA replikasyonunu ve kromozom segregasyonunu etkilediğini de ortaya çıkarmıştır (Chen *et al.* 2004).



Şekil 2. Tyrosol (Vernillo *et al.* 2016)

Tyrosol hakkında yapılan çoğu çalışmadan yola çıkılarak; LDL oksidasyonunu engelleyici, serbest nitrojen ve oksijen radikallerinden arındırma gibi antioksidan birçok niteliğe sahip olduğu belirlenmiştir. (Mukherjee *and* Singh 2011). Ayrıca Tyrosol kalp koruyucu etkisinin olmasına ek olarak, aynı zamanda insandaki LDL düzeyini indirgeyici etki gösterme yeteneğine sahiptir (Dudley *et al.* 2008). Çeşitli hücre tiplerinde oksidatif stresi azalttığı da bildirilmektedir. Örneğin; zeytinyağı ve fenolik bileşeni Tyrosol, periferik kan mononükleer hücrelerinde dioksin kaynaklı toksisiteyi antioksidan bağımlı bir yolak yoluyla zayıflatmaktadır (Kalaiselvan *et al.* 2015). Radikal engelleyicisi, antikanserojen, antimikrobiyal ve kalp koruyucu niteliklerine sahip olduğundan, sağlık düzeyimizi yükselten çeşitli faaliyetlerde tyrosol ve hidroksityrosol rol üstlenmiştir (Pineiro *et al.* 2011).

Mikrobiyal Lipidler

Lipidler hemen hemen tüm canlı organizmalar tarafından sentezlenmektedir (Vitrac *et al.* 2013). Yağ asitleri, gliserolipidler, gliserofosfolipidler, sfingolipidler, sterol lipidler, prenol lipidler, sakkarolipidler ve poliketidler olarak sınıflandırılan lipidler; yağlar, mumlar, steroller, yağda çözünen vitaminler, monogliseritler, digliseritler, trigliseritler ve fosfolipitler gibi farklı birçok molekülü de içermektedir (Georgianna *and* Mayfield 2012; Gurr *et al.* 2002).

Lipidler hücre zarının yapısını oluşturmak, enerji depolama gibi önemli yapısal ve işlevsel birçok özelliklere sahip enerji depolarıdır (Thevenieau *and* Nicaud 2013). Mikroorganizmalar da hayati fonksiyonlarını yerine getirmek için lipit gibi önemli molekülleri üretmektedirler (Vitrac *et al.* 2013). Mikrobiyal lipidler; fungus, mikroalg, bakteri ve maya gibi çeşitli oleaginous mikroorganizma tarafında üretilmekle birlikte ‘ Tek Hücre Yağı’ olarak da adlandırılmaktadır (Matsakas *et al.* 2015). Oleaginous mikroorganizmalar, biyokütle miktarının yaklaşık olarak %20’sinden fazla lipid içeren türler olarak tanımlanmaktadır (Meng *et al.* 2009). Oleaginous mikroorganizmalar stres koşulları altında ise kuru ağırlıklarının neredeyse %70’ inden fazla oranda lipid içeriğine ulaşabilmektedir (Rossi *et al.* 2011). Örneğin; oleaginous mikroorganizmalarda lipit birikiminin besiyeri ortamındaki tüketilen besin maddesi sınırlandığında ve aynı zamanda fazla karbon kaynağı bulunması sonucunda ortaya çıktığı

gözlemlenmiştir (Amaretti *et al.* 2010b). Büyüme evresinde, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezlenmesi için nitrojen gerekmektedir. Ortamda fazla bulunan karbon; karbonhidrat, lipid, nükleik asit ve proteine dönüştürülerek enerji ve anabolik süreçler arasında dağıtılmaktadır. Karbon kaynağı tükenmeye başladığında büyüme hızı yavaşlamaktadır. Ayrıca protein ve nükleik asit sentezi durma fazına girmektedir. Oleaginous olmayan türlerde ise karbon fazlalığı kullanılmamaktadır ve depolamak için polisakkarite dönüştürülmektedir. Oleaginous olan türlerde ise fazla karbon kaynağı lipid sentezine yönlendirilmektedir ve hücre içi lipid bölgelerinde TAG biriktirmektedir (Amaretti *et al.* 2010b; Granger *et al.* 1993; Ratledge and Wynn 2002).

Oleaginous mikroorganizmaların büyük ölçekli işlemlerde sıvı ve katı yağ kaynakları olarak kullanılması yüksek bir endüstriyel ilgi sunmaktadır. Büyük bir tek hücreli mikroorganizma ailesi olarak mayalar, biyoteknolojik süreçlerin geliştirilmesi ve araştırılmasının kolaylığı nedeniyle en umut verici mikroorganizmalar arasında bulunmaktadır (Beopoulos and Nicaud 2012; Ratledge 2004).

Oleaginous Mayalar

Oleaginous mayaların, hücresel kuru ağırlıklarının %20'sine kadar lipid biriktirebildiği belirtilmiştir (Ageitos *et al.* 2011). Bugüne kadar bilinen tüm maya türlerinin sadece 30'unun kuru ağırlığının %25'inden fazla oranda lipid biriktirdiği bilinmektedir (Beopoulos *et al.* 2009). CNP oranı ve sıcaklığın yanı sıra pH, iz elementlerin varlığı, havalandırma ve çözünmüş oksijen oleaginous mayadaki lipid birikimini de etkilemektedir (Li *et al.* 2008; Zhao *et al.* 2008). Bu lipidi üreten mayaların birçoğu, Basidiomycetes (*Rhodotorula sp.*, *Cryptococcus sp.*, *Rhodospiridium sp.*, *Sporidiobolus sp.*, *Trichosporan sp.*) ve birkaçı Ascomiset filumuna (*Yarrowia lipolytica*, *Candida sp.*, vb.) (Ageitos *et al.* 2011; Polburee *et al.* 2015) aittir.

Lipid biriktiren mayalar nötr lipidleri; monoasilgliseroller (MAG), diasilgliseroller (DAG) ve triasilgliseroller (TAG) şeklinde depolamaktadır (Amaretti *et al.* 2010a). Oleaginous mayaların triasilgliserol (TAG) fraksiyonları bitki yağlarına benzemektedir. Oleaginous mayalar glukoz, ksiloz, arabinoz, mannoz, gliserol ve endüstriyel artıklar gibi birçok karbon kaynağı üzerinde yetişmektedir (Beopoulos *et al.* 2009) Ek olarak, bazı oleaginous mayalar trigliseridlerinde bulunan yağ asitlerini değiştirerek lipid kompozisyonlarını değiştirebilmektedir. *Rhodotorula glutinis*'in yağ asiti profilini oleik, linoleik ve palmitik asit oluşturmaktadır (Kot *et al.* 2016). Bu mayalarda en fazla bulunan yağ asitleri ise doymamış yağ asidi özelliğinde olan palmitoleik (C16:1), oleik (C18:1), linoleik (C18:2) ve α -linolenik (C18:3) asitler olmaktadır (Amaretti *et al.* 2010a). Bu mayaların kültürlerindeki fazla şekeri

yağa dönüştürülmektedir ve bu olay da lipojenez olarak adlandırılmaktadır (Amaretti *et al.* 2010a; Beopoulos *et al.* 2011; Katre *et al.* 2012).

Oleaginous mayaların ürettiği lipidlerin temel yağ asitlerinin mistik asit, palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit olduğu bilinmektedir (Li *et al.* 2007).

Oleaginous mayanın sitozolunda, ATP: sitrat liyazlar (ACL) sitratı keser ve sitrat, malat / sitrat translokaz sistemi vasıtasıyla mitokondriden sitozole taşımaktadır. Bu reaksiyonda oluşan asetil-Co-A, asetil-Co A karboksilaz enzimi yardımıyla malonil-Co A'ya dönüşmektedir. Lipidlerin de-novo sentezinde hem asetil-Co A hem de malonil-Co A, 14 ila 16 karbon uzunluğunda yağ asidi zincirleri oluşturmak için ilave edilmektedir. İlginç bir şekilde, oleaginous olmayan mikroorganizmaların çoğunda ACL (sitrat liyaz)'ın bulunmadığı ve ACL'nin triaçilgliserollerin sentezinden sorumlu olduğu bulunmuştur (Ratledge *and* Wynn 2002).

Mayalar, diğer mikrobiyal kaynaklara göre lipid üretimi için birtakım avantajlara sahiptir. Oleaginous mayalar diğer organizmalara nazaran yüksek bir büyüme hızına ve yüksek yağ içeriğine sahip olduğundan, mevsim veya iklim koşullarından bitkilere oranla çok daha az etkilenebilir. Ayrıca kültürleri, mikro alglerden daha kolay ölçeklenmektedir (Ageitos *et al.* 2011). Birçok oleaginöz maya, sulu ve şeker bakımından zengin olan ortamlarda karbonhidratları fermente edememektedir. Çoğu oleaginous maya zorunlu aerobdur. Bu özellik kombinasyonu, mayaların kuru, besin fakiri nişlerde uzun süre kıtlıktan kurtulmasını ve lignoselülozik çöktü ürünlerin depolamasını sağlamaktadır. Bu nedenle, oleaginous mayalar özellikle karbonun eksikliğinde hayatta kalmasını sağlayan bir form bulunmaktadır ve bu form asimile olma ve depolama konusunda avantaj sağlamaktadır. (Sitepu *et al.* 2014).

Sonuç olarak, tarımsal faaliyeti etkilemeden biyokütle atıklarını kullanan yeni biyoyakıt işlemlerinin geliştirilmesi; küresel gıda güvenliğini sağlamak, sürdürülebilir enerji ve oleokimyasalların tedariği gibi gereklilikleri karşılamak için talep edilmektedir. Bu amaçla oleaginous mayalar, geniş bir atık biyokütle substratını trigliseritlere fermentatif olarak dönüştürebildiklerinden, biyo-bazlı enerji ve platform kimyasalları talebini karşılamak için potansiyel olarak sürdürülebilir bir alternatif sunmaktadır (Li *et al.* 2008).

Lipid Biyosentezi

Oleaginous bir mikroorganizmadaki lipid birikimi, besiyerinde bulunan karbon kaynağının tüketilmesiyle başlamaktadır, fakat fazla karbon lipid biriktirebilen hücreler tarafından değiştirilerek triaçilgliserollere (TAG) dönüştürülmektedir (Ratledge 2002). Lipid biyosentezi, çeşitli lipid yapılarında (örn. fosfolipidler, TAG) esterlenen yağ asitlerinin sürekli

olarak beslemesini gerektirmektedir. Bu durum da, yağ asidi biyosentezinin gerçekleştiği sitozolde sürekli bir asetilkoenzim A (CoA) beslemesini gerektirmektedir. *S. cerevisiae*'de, yağ asidi sentezi için gerekli olan asetil-CoA, glikolitik yol tarafından üretilen asetat ile asetil-CoA sentaz tarafından sağlanmaktadır (Galdieri *et al.* 2014; Krivoruchko *et al.* 2015). *S. cerevisiae*'da ACS1 ve ACS2 genleri tarafından kodlanan iki asetil-CoA sentaz vardır. Her iki enzimin de sitozole ve çekirdeğe lokalize olduğu düşünülmektedir. Ancak bu iki enzim farklı düzenlemelere sahiptir. Glikoz ortamında büyüme sırasında, ACS1 bastırılırken, ACS2 aktive edilmektedir (Galdieri *et al.* 2014). Diğer taraftan ACS1'in asetata çok daha yüksek bir afinitesi vardır ve bu durum da ACS1 enziminin en çok glioksilat döngüsünde yer aldığını göstermektedir (Fakas 2017).

Karbon kaynağı olarak Asetil-CoA ihtiyacının yanı sıra, yağ asidi biyosentezi, NADPH tarafından sağlanan önemli miktarda indirgeme enerjisi gerektirmektedir. Malik enzim tarafından katalize edilen reaksiyon, yağlı mikroorganizmalarda lipid biyosentezi için ana NADPH kaynağı olarak ileri sürülmüştür (Zhang *et al.* 2007). Malik enzim sitozol ve mitokondride lokalize olmaktadır ancak sadece sitozolik formunun lipid biyosentezinde görev aldığı belirlenmiştir (Fakas 2017). Bu duruma kanıt olarak *Mucor circinelloides* ile yapılan çalışmalar örnek verilebilmektedir. Metabolik mühendislik çalışmaları sonucu sitozolik malik enzimin aşırı ekspresyonu lipid biyosentezini artırmıştır (Zhang *et al.* 2007). *Yarrowia lipolytica*, sitozolik bir malik enzim içermemektedir. Ancak YALI0E18634g tarafından kodlanan bir mitokondriyal malik enzimi içerdiği belirlenmiştir (Zhang *et al.* 2013). *Y. lipolytica*'da mitokondriyal malik enzimin aşırı ekspresyonu, lipid içeriğinde herhangi bir artışa neden olmamıştır, bu durum da aktivitenin, yağ asidi biyosentezi için kullanılan NADPH havuzuna katkıda bulunmadığını göstermektedir (Beopoulos *et al.* 2009). *Y. lipolytica*'da, gerekli NADPH muhtemelen oksidatif pentoz fosfat yolu ile sağlanmaktadır (Wasylenko *et al.* 2015).

Yağ asidi biyosentezi, biyosentezde öncülük eden asetil-CoA'yı uzun zincirli yağ asitlerine (yani 14'ten fazla karbon atomu içeren yağ asitlerine) dönüştüren bir dizi reaksiyon olarak sitozolde gerçekleşmektedir. Asetil-CoA'nın yağ asitlerine dönüştürülmesi, ACC1 kodlu asetil-CoA karboksilaz (YALI0C11407g) tarafından katalizlenen bir reaksiyon olan karboksilasyonunun malonil-CoA'ya dönüştürülmesiyle başlamaktadır. ACC1, biyotine bağımlı bir enzimdir ve yağ asidi biyosentezinde geri dönüşü olmayan kararlı bir reaksiyonu katalizlemektedir (Fakas 2017). Yağ asidi biyosentezi yolundaki ilerleyen adımlar, Fas1 (YALI0B15059g) ve Fas2 (YALI0B19382g) olmak üzere iki alt birimden oluşan yağ asidi sentaz (Fas) kompleksi tarafından katalizlenmektedir. Fas kompleksi, sitozolde lokalize

olmakla birlikte malonil-CoA'yı (ACC1 tarafından oluşturulan) CoA'nın uzun zincirli esterlerine dönüştüren bir dizi reaksiyonu katalizlemektedir. Bu seri, 3-keto-açıl-ACP'yi (açıl taşıyıcı protein) oluşturmak için malonil-CoA'nın asetil-CoA ile yoğunlaştırılmasıyla başlamaktadır ve daha sonra 3-hidroksiaçıl-ACP'ye indirgenmektedir (Tehlivets *et al.* 2007). Bu indirgeme reaksiyonunu 2,3-trans-enoil-ACP oluşturan bir dehidrasyon reaksiyonu izlemektedir. 3-trans-enoil-ACP, ardından bütiril-ACP'ye indirgenmektedir. Bu reaksiyon serisi, ilerleyen açıl-ACP zincirinde malonil-CoA'dan kaynaklanan iki karbon atomunun eklenmesiyle sonuçlanmaktadır. Seri birkaç kez tekrarlanmaktadır ve bu durum 16 (C16: 0) veya 18 (C18: 0) karbon atomundan oluşan doymuş açıl zincirlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu açıl zincirler daha sonra CoA'ya aktarılmaktadır ve sırasıyla palmitoil-CoA (C16:0) ve stearoil-CoA (C18:0) oluşmaktadır. Palmitoyl-CoA ve stearoyl-CoA, palmitoleyl-CoA (C16: 1) veya oleoyl-CoA (C18: 1) oluşturmak için OLE1 (YALI0C05951g) tarafından kodlanan (Δ) 9 desatüraz enzimi ile desatürasyona uğratılmaktadır (Martin *et al.* 2007). Palmitatın nihai ürün olduğu varsayılarak, asetil-CoA'dan yağ asidi biyosentezi için genel stokiometri aşağıdaki gibidir (Fakas 2017):



Mikrobiyal Lipidlerin Kullanım Alanı

Biyodizel

Son yıllarda yüksek enerji fiyatları ve maliyeti, enerji, çevre güvenliği, petrol kaynakları ile ilgili endişeler artmakta ve bizi yenilenebilir bir biyoyakıt bulmaya yönlendirmektedir. En umut verici yenilenebilir biyoyakıtlardan biri, yağ asidi metil esterlerinin bir karışımı olan biyodizeldir ve genel olarak, kısa zincirli alkoller ile triaçilgliserollerin (TAG'ler) karşılıklı esterlenmesi (oksijenli asitlerle alkollerin etkileşerek ester oluşturması) yoluyla bitkisel, hayvansal veya atık yağlardan üretilmektedir (Kulkarni *and* Dalai 2006; Liang Jiang 2013). Soya fasulyesi yağı, kolza tohumu yağı, hurma yağı ve mısır yağı biyodizel üretimi için temel hammaddedir. Bununla birlikte, geleneksel petrol bakımından zengin mahsullerden biyodizel üretimi; arazi mevcudiyeti, iklim, yakıt olarak yem ve gıda mahsullerinin kullanımına ilişkin çevresel ve sosyal konularla çalışma alanı daraltılmıştır. Mayalar, mikro algler, bakteriler ve funguslar dahil olmak üzere oleaginous mikroorganizmaların yüksek lipit içerikleri, gerekli manipülasyonlar sonucunda daha fazla artırılabilir. Böylece biyodizel üretimi için umut verici hammadde olarak kullanılabilme yeteneğine sahip olunabilmektedir (Wang *et al.* 2012). Diğer beklenti ise maya, fungus, bakteri ve mikroalg gibi yağlı mikroorganizmaların ucuz lipit kaynakları olarak kullanılmasıdır (Gao *et al.* 2010; Wang *et al.* 2012; Xu *et al.* 2006).

Oleaginous mikroorganizmalardan elde edilen lipidler; yağlı mikroorganizmaların yetiştirilmesi, toplanması, kurutulması ve bu mikroorganizmalardan lipid ekstraksiyonunun yanı sıra lipidin transesterifikasyon reaksiyonu ile biyodizelin sentezini içeren ana aşamaların içinde bulunduğu gerekli yöntemler kullanılarak biyodizel üretimi için kullanılabilir. (Christie 1993; Grima *et al.* 2003; Wang *et al.* 2012).

Rhodotorula glutinis mayası tarafından üretilen triaçilgliseroller (TAG) transesterifikasyon işlemiyle biyodizel yapmak için kullanılabilir. Easterling *et al* (2009) tarafından yapılan çalışmada *R. glutinis*'de farklı büyüme substratlarının TAG birikimi ve üretilen yağ asitleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Maya; dekstroz, ksiloz, gliserol, dekstroz ve ksiloz, ksiloz ve gliserol veya dekstroz ve gliserol içeren ortamda 24 saat kültürlenmiş, kuru biyokütlede sırasıyla %16, 12, 25, 10, 21 ve 34 TAG biriktirildiği belirlenmiştir. Lipitler, *R. glutinis* kültüründen ekstrakte edilmiş ve yağlı asit metil esterleri oluşturmak için transesterifikasyon reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Sonuçlar, test edilen karbon kaynakları için doygunluk derecesinde bir fark olduğunu göstermektedir. Tek başına gliserol içeren ortamda kültürlenmiş hücrelerin, % 53 ile en yüksek doymamış yağ asiti oranına, ksiloz ortamında ise % 25 ile en düşük seviyeye sahip olduğu belirlenmiştir (Easterling *et al.* 2009).

Gıda endüstrisi

İnsanlarda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) vücutta yeterli miktarlarda sentezlenmediğinden mecburen dışardan hazır olarak almak gerekmektedir. Dolayısıyla dış kaynaklardan elde edilmelidir. Bu yüzden genellikle EFA olarak adlandırılmaktadır. EFA'lar, optimal insan sağlığı için gerekli olan ancak vücut tarafından sentezlenmeyen yağ asitleridir ve diyet kaynaklarından elde edilmelidir (Dyal *and* Narine 2005). PUFA'lar dolaşım hastalıkları, arterosklerozis, koroner kalp hastalıkları ve kanda yüksek lipid içeriği gibi hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bu nedenle diyetle alınmaları vücut gelişimi ve özellikle kalp-damar hastalıklarının önlenmesi bakımından önemlidir (Papanikolaou *and* Aggelis 2011). PUFA'lar, benzersiz yapılarından dolayı birçok fizyolojik işlevlere sahiptir. Bu bileşiklerin sağlık açısından yararlı oldukları konusunda birçok avantajı dikkate alındığında talep artmıştır. Ancak hayvanlar ve bitkiler dahil geleneksel kaynaklar talebi karşılayamamaktadır (Ji *and* Huang 2019). Omega-6 yağ asitleri cilt sağlığını korumakla beraber esnek ve pürüzsüz cilt oluşumunu sağlamaktadır. Bu nedenle deri yaralanmaları ile enfeksiyonlardan korunup, vücut ısı ve su kaybı düzenlenmektedir (Burr *et al.* 1989). Bu yağ asitlerinin eksikliğinin insanlarda astım, artritis, büyümede gerileme, şeker, bazı kanser türlerinin yanında öğrenme eksikliğine de yol açtığını gözlemlenmiştir (Lewis *et al.* 2000).

Oleokimyasallar

Oleokimyasallar, petrokimyasalların yerinde de kullanılabilir. Genellikle belli bir miktarda ortamda bulunabilen bitkisel ve hayvansal yağlardan elde edilmektedir (Biermann *et al.* 2011). Mikrobiyal yağ asidi biyosentezi, yenilenebilir oleokimyasalların üretimi için bir alternatif bir yol sunduğundan dikkatleri üzerine çekmiştir (Lennen *and* Pfleger 2013).

Oleaginous organizmalardan elde edilen oleokimyasallar birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır; bunlar yakıtlarda, kozmetik ürünlerde ve endüstriyel ürünlerde dahil birçok farklı alanlarda kullanılmasıyla birtakım avantajlara sahiptir. Kullanılan oleokimyasallar arasında diğerlerine nazaran yüzey aktif maddelerde ve biyodizel üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Basit oleokimyasallar arasında yağ asitleri, yağ alkoller ve metil ester bulunur. Esterlere ek olarak, ağırlıklı olarak sabunlar, deterjanlar, kozmetik katkı maddeleri, feromonlar ve tatlandırıcı bileşiklerde ve potansiyel olarak biyoyakıt olarak kullanılabilen yağlı alkoller, aldehitler ve balmumu esterleri için geniş ölçüde kullanım alanları vardır (Noweck *and* Grafahrend 2000; Steen *et al.* 2010).

Mikrobiyal Pigmentler

Pigment kelimesi biyolojik olarak “Hayvanlarda ya da bitkilerde bulunan, vücut sıvısında süspansiyon halinde ya da dokuda birikintiler olarak hücre içindeki granüllerde veya hücre membranında yer alan renkli maddedir.” ve günümüzde hala daha aynı anlamda kullanılmaktadır (Buxbaum 2008).

Son zamanlarda mikroorganizmanın bir renk kaynağı olarak kullanılması önem kazanmaktadır. Çünkü mikroorganizmalardan pigment üretimi, ucuz kültür ortamında kolay ve hızlı büyüme, hava koşullarından ve farklı tonlarda renk üretebilmektedir. Bundan dolayı, mikrobiyal pigment üretimi, çeşitli endüstriyel uygulamalar için potansiyelini ortaya çıkarmak için ortaya çıkan araştırma alanlarından biridir (Shahitha *and* Poornima 2012).

Karotenoidler

Karotenoidler, bitkiler, algler, siyanobakteriler, bakteriler ve mantarlar tarafından sentezlenen sarı, turuncu-kırmızı-pigmentli bir polizoprenoit grubudur (Kanzky *et al.* 2015; Rodriguez-Concepcion *et al.* 2018; Saini *and* Keum 2017). Bu bileşikler, büyük yapısal ve işlevsel çok yönlülükleri nedeniyle doğada son derece önemlidir (Esteban *et al.* 2015). Bunlar; *Dunaliella salina*, *Chlorococcum sp.*, *Neochloris wimmeri*, *Chlorella zofii*, *ngiensis*, *Protosiphon botryoides*, *Chlorella*, *Scenedesmus* ve *Haematococcus* cinsine ait mikroalg türleri, ticari olarak hayati öneme sahip karotenoidlerin önemli üreticileri olarak kabul edilir. Bu organizmalar astaxanthin, lutein ve β -karoten üretebilir. *Rhodotorula glutinis* mayası

karotenoidler, torulen, torularhodin, γ -karoten ve β -karoten'i çeşitli miktarlarda üretirken, *Flavobacterium sp*'de zeaksantin verimini ve aktinomiset *Streptomyces mediolani*'de baskın olan bir aromatik karoten olan izorenieratenin üretim verimini göstermiştir. Yeni karotenoid üreten organizmalar yaratmak veya karotenoid üretimini arttırmak için çeşitli metabolik mühendislik yaklaşımları da kullanılmıştır (Borowitzka 2010). Örneğin, *Escherichia coli* bakterisi likopen üretecek şekilde tasarlanmıştır (Alper *et al.* 2006) ve *Saccharomyces cereviceae* mayası (Verwaal *et al.* 2007) β -karoten üretmek üzere tasarlanmıştır.

Karotenoidler; likopen, α -karoten ve β -karoten veya oksijenli türevleri olarak sentezlenen doğal oluşan pigmentlerdir (Armstrong 1994, 1997; Das *et al.* 2007; Sandmann 2001). Beta karoten, açık sarı veya turuncu renkte bir pigmenttir. Ayrıca A vitaminin öncül maddesidir. Beta karoten bağırsak epitel hücrelerinde A vitamini dönüşürmektedir. Karaciğer de ise palmitat esteri olarak depolanmaktadır. Genellikle havuç ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunmaktadır (Goodwin 1980; Miura *et al.* 1998; Telefoncu 1995). Likopen domates başta olmak üzere karpuz, pembe greyfurt gibi meyve ve sebzelerde bulunmaktadır (Agarwal *et al.* 2001; Clinton 1998; Narisawa *et al.* 1998; Voutilainen *et al.* 2006). Likopen, düz bir zincir halinde düzenlenmiş 11 adet çift ve 2 adet tekli bağ içeren hidrokarbon zincirinin açık formundan oluşmaktadır. Likopen genellikle all-trans ve 5-cis, 9-cis, 13-cis ve 15-cis izomeri formu ile tanınmaktadır (Isaacson *et al.* 2002; Minhthy and Steven 1999; Zechmeister and Polgar 1944).

Karotenoidler, farklı pigment özelliklerinden ve aynı zamanda insan sağlığı üzerindeki muhtemel yararlı etkilerinden dolayı ilgi odağı olmuştur (Armstrong 1994, 1997; Das *et al.* 2007; Sandmann 2001). Karotenoidlerle yapılan çalışmalarda, antikanser ve antioksidan özelliklerinin ortaya çıkmasıyla, farmasötikler ve nutrasötikler olarak karotenoidlerin daha geniş kullanım alanına sahip olacağı düşünülmektedir (Lee and Schmidt-Dannert 2002). Karotenoid üretimi çeşitli organizmaların doğal biyosentetik kapasitesinden dolayı, ticari olarak biyolojik konakçılardan üretimini sağlanması için, ilgili yolları geliştirmek amacıyla önemli bir çaba ortaya çıkmıştır ve aynı zamanda bu pigmentler yoğun bir araştırma alanı oluşturmaktadır (Ausich 1997).

Karotenoidleri bir takım yararına ek olarak insan ve hayvan tüketiminde de yer almaktadır. Kümes hayvanlarında deri, yumurta sarısını renklendirmek, kültür balıkçılığı koşullarında yetiştirilen balıkların etini renklendirmek ve kabukluların kabuklarını renklendirmek için pigment olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda insan tüketimi için gıdalarda renklendiriciler olarak vitaminler, besin takviyelerinin bileşenleri olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Kronik hastalıkları azaltmanın bir yolu olarak karotenoidlerin merkezi

bir rolü olduğunu öne süren bir dizi epidemiyolojik çalışmada ve doğrudan klinik çalışmalarda ikna edici kanıtlar görülmüştür. Araştırmalar, karotenoidler açısından zengin bir diyetin, kalp hastalığı, kanser, göz hastalığı ve diğer hastalıkların riskinin azalması yönünde avantajlara sahip olduğunu göstermektedir (Ausich 1997).

Bazı yağlı mikroorganizmalar lipid üretiminin yanısıra Karoten gibi diğer ürünleri de üretebilmektedir. Kırmızı yağlı bir maya olan *Rhodotorula glutinis*, kuru ağırlığının yaklaşık % 70'ine kadar lipitleri depolayabilmektedir (Meng *et al.* 2009) ve ayrıca kültür ortamında gelişme sırasında lipitin yanı sıra bazı karotenoidleri biriktirebilmektedir (Buzzini *et al.* 2007). Her iki ürüne de ulaşmak için gereken büyüme ortamında karbon / nitrojen (C / N) oranı önemli bir rol oynamaktadır. Yüksek C / N oranlarından dolayı yüksek lipid verimleri elde edilebileceği bilinmektedir. Pigment üretimi üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen birtakım sonuçlar, C / N oranı ile pigment üretimi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Braunwald *et al.* 2013; Saenge *et al.* 2011a). Bu duruma ek olarak karotenoid ve lipit sentezinde Asetil CoA'yı ilk olarak yer olmaktadır. Bu yüzden belirli C\N oranları her iki üretim yolağında da etki sahibi olduğu bilinmektedir (Braunwald *et al.* 2013).

Prodiosinler

Kırmızı mikrobiyal pigmentlerin bir ailesi olan prodigininler (Wang *et al.* 2020) , çok yönlü bir sekonder metabolittir. Tripirrol kırmızısı pigmentler sınıfında yer alan Prodigiosin, 4-metoksi, 2-2 bipirol halka sistemi sahiptir. Pigmentin biyolojik sentezi, mono ve bipirol öncüllerinin ayrı ayrı sentezlendiği ve daha sonra prodigiosin oluşturmak üzere bir araya getirildiği kompleks bir süreçtir (Boger *and* Patel 1988). Aynı zamanda Prodigiosin, Metil Amil Pirol (MAP) ve Metoksi Bipirrol Karbaldehit (MBC) olarak adlandırılan iki bileşiğin yoğunlaşmasıyla da oluşmaktadır (Harris *et al.* 2004; Ravindran *et al.* 2019). Prodigiosinin hücre dışı veziküllerle ilişkili olduğu, hücre ile ilişkili olduğu veya hücre içi granüllerde bulunduğu belirtilmiştir (Kobayashi *and* Ichikawa 1991; Matsuyama *et al.* 1986). Prodigiosin üretiminin birçok çevresel faktörlerden, inorganik fosfat varlığından, besiyeri içeriği, sıcaklık ve pH'dan da etkilenmektedir. *Serratia spp.*'den pigment üretimi için çok sayıda besiyeri çeşidi bulunmaktadır. Günümüzde prodigiosin biyosentezi için kullanılan besiyerleri Nutrient Broth (NB) ve PeptonGliserol Broth (PG) olarak bilinmektedir (Darshan Manonmani 2015).

Prodigioninler üç gruba ayrılmaktadır. İlk grup, lineer tripirol grubudur. Genellikle *S. marcescens*, *Serratia plymuthica*, *Hahella chejuensis* ve *Vibrio psychroerythreus*'tan elde edilen prodigiosin ile *Streptomyces longisporus ruber*, *Streptoverticillium rubrreticuli* ve *Saccharopolyspora sp.*'dan elde edilen undesilprodigiosini içermektedir. Prodigiosin'de birbirine bağlı iki rotamerde cis ve trans bulunmaktadır. Bu formlar arasında meydana gelen

denge pH'ya bağlıdır. İkinci grup ise makrosiklik grubu olarak bilinmektedir. Pirol A ve pirol C arasındaki halka ile tanımlanmaktadır. Bu grupta bulunan tek pigment olan Siklononilprodigiosin (C₂₃H₂₉N₃O) pigmenti bulunmaktadır. *Actinomadura pelletieri* ve *Actinomadura madurae* gibi bakterilerinden elde edilmektedir. Üçüncü grup ise, Pirol C'de halkasal bir grup olarak bilinmektedir. *Alteromonas rubra* ve *P. denitrificans*'den elde edilen sikloprodigiosinleri ile *Saccharopolyspora sp.* ve *S. coelicolor*'dan elde edilen bütilsikloheptilprodigionin pigmentleri bu grupta bulunmaktadır (Bennett and Bentley 2000; Elahian *et al.* 2013; Harris *et al.* 2004; Kim *et al.* 2008; Williamson *et al.* 2006).

PG üretiminin temel kaynağı *Serratia marcescens* olarak bilinmektedir. (Wang *et al.* 2020). Ayrıca *Pseudomonas magnesorubra*, *Vibrio psychroerythrous* (Gerber 1975; Paruchuri and Harshey 1987), *Serratia rubidaea*, *Alteromonas rubra*, *Janthinobacterium lividum* BR01, *Rugamonas rubra*, *Streptomyces coelicolor*, *Streptomyces spectabilis* BCC 4785, *Streptomyces fusant* NRCF69 gibi bazı bakteri türleri de prodigiosin üretme yeteneğine sahiptir (Wang *et al.* 2020).

S. marcescens doğada yaygın olarak bulunmaktadır (Grimont *et al.* 1977). Bu bakteri birçok farklı besin kullanma yeteneği ile önemli bir hayatta kalma potansiyeline sahiptir ve zor şartlar altında bile yaşamsal faaliyetlerini devam ettirmektedir. *S. marcescens*'e normal konjuktival florada nadiren rastlanmaktadır (Parment 1997). *S.marcescens* suşları prodigiosin üretimine bağlı olarak çoğunlukla kırmızı iken (Thomson *et al.* 2000) hastane salgınları ile ilişkilendirildiğinde suşlar çoğunlukla renksiz olduğu görülmüştür (Carbonell *et al.* 2000; Hejazi and Falkiner 1997). Çoğu *S. marcescens* suşu aynı zamanda çoklu antibiyotiğe direnç göstermektedir (Alexandrakis *et al.* 2000; Hejazi and Falkiner 1997).

Prodigininler; antimikrobiyal, anti-parazitik, insektisidal, anti-kanser, antioksidan, anti-inflamatuar, immünosupresan ve algisidal aktiviteler gibi özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Prodigiosin'lerin doğal boyalar olarak potansiyel uygulamaları da nadiren tekstil, mum ve kozmetikte kullanımları açısından araştırılmıştır (Wang *et al.* 2020). Prodigiosin son zamanlarda miyelom, T hücreli lösemi, Burkitt lenfoması, meme, kolon, karaciğer ve akciğer kanserleri üzerindeki immün sistemi baskılayıcı ve anti-kanser etkisi olduğundan dolayı dikkat çekici bir sekonder metabolit olmuştur. Günümüzde prodigiosinin dört anti-kanser etki mekanizması tanımlanmıştır. Bu mekanizmalar; hücre içi asitlenmenin başlaması, Topoizomeraz I ve II inhibitörü olan DNA bölünmesinin başlaması, MAPK aktivitesinin düzenlenmesi ve hücre döngüsünün inhibisyonu gibi mekanizmalar bulunmaktadır (Agwa *et al.* 2018; Elahian *et al.* 2013; Francisco *et al.* 2007; Pérez-Tomás Vinas 2010; Williamson *et al.* 2005).

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmalarda kullanılan cihazlar

Tablo 1. Tez kapsamında kullanılan alet ve cihazlar

No	Cihazlar	Marka
1	Otoklav	HMC HIRAYAMA
2	Hassas Terazi	DenverInstrument, SHIMADZU ATX224
3	Manyetik Karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A
4	Vortex	Wisd WiseMix VM-10
5	Mikropipet Takımı	Ependorf
6	Etüv	Redline by-BINDER
7	İnkübatör	Termo Scientific Heraus Incubator
8	Saf Su Cihazı	Bamstead Pure Easy
9	Mikroskop	Boeco
10	Buzdolabı	Vestel
11	Santrifüj	Hettich
12	Steril Kabin	Telstar Bio-II-A
13	Spektrofotometre	Beckman Coulter
14	Çalkalamalı İnkübatör	ZHWY-2102C
15	Su Banyosu	MEMMERT
16	-86°C Dondurucu	Glacier Ultralow Freezer's

Kullanılan kimyasal malzemeler

Tablo 2. Tez kapsamında kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasallar	Üretici
HCl	Riedel-de Haën
NaOH	Sigma-Aldrich
Kloroform	Sigma-Aldrich
Metanol	Sigma-Aldrich
Farnesol	Sigma-Aldrich
Tyrosol	Across Organics
Aseton	Sigma-Aldrich
Nutrient Broth	Oxoid
Nutrient Agar	Oxoid
Potato Dextrose Agar	Merck
Potato Dextrose Broth	Neogen

Kullanılan çözeltiler

1 M NaOH Çözeltisi: 4 gr NaOH 100 ml saf suda çözülerek elde edildi.

1 M HCl Çözeltisi: 8 ml 12,07 M saf HCl ‘den alınıp 92 ml saf su ile karışımından sonra 100 ml çözelti hazırlandı.

2 M HCl Çözeltisi: 13,4-14 ml 12,07 M’lık Saf HCl 83 ml saf su ile hazırlanarak 100 ml çözelti elde edildi.

Metanol-1 M HCl Çözeltisi: 200 ml 1 M metanol-HCl çözeltisi, 184 ml metanol 16 ml HCl ile hazırlandı.

Çalışmada kullanılan ticari besiyerlerinin hazırlanması

Patates Dekstroz Agar (PDA): 39 gr besiyeri 1000 ml saf suda manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldü.

Patates Dekstroz Broth (PDB): 24 gr besiyeri tartıldı ve 1000 ml saf suda çözüldü.

Nutrient Agar (NA): 20gr/lt konsatrasyonda olacak şekilde saf su ile hazırlandı.

Nutrient Broth (NB): 13 gr besiyeri tartılarak 1000 ml saf su içerisinde çözüldü.

Yöntem

Çalışmada kullanılan ortamın ve malzemelerin sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan tüm cam malzemeler, pipet uçları, besiyerleri ve tüpler 121°C’de 15 dk otoklavda sterilizasyon işleminin ardından çalışmalar yapıldı.



Şekil 3. PDA besiyerinde geliştirilen *Rhodotorula glutinis*

Çalışmada kullanılan maya ve bakterinin canlandırılması

Çalışmada kullanılan *Rhodotorula glutinis* (ATCC 15125) mayası 4 °C’de muhafaza edilen yatık agardan aseptik koşullar altında iğne öze yardımıyla alınarak PDA besiyerine çizgi ekimi yapıldı. Petriler 30 °C’de 48 saat inkübe edildi.

Çalışmada kullanılan *Serratia marcescens* -80°C’ de saklanan stok besiyerinden aseptik koşullar altında iğne öze yardımıyla alınıp NA besiyerine çizgi ekimi yapıldı. Petriler 30 °C’de 24 saat inkübe edildi.



Şekil 4. NA besiyerinde geliştirilen *Serratia marcescens*

Ön kültürün hazırlanması

Rhodotorula glutinis ATCC (15125) mayası için ön kültür besiyeri, 250 ml'lik erlenlerde 100 ml PDB besiyeri olacak şekilde hazırlanıp otoklavlandı. Uygun sıcaklığa kadar soğutulan besiyerlerine daha önceden petride canlandırılan *Rhodotorula glutinis* ATCC (15125) mayasından bir öze dolusu alınarak ekimi gerçekleştirildi. İnokulasyondan sonra besiyerleri 25 °C ve 200 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 48 saat bekletildi.

Serratia marcescens bakterisi için ön kültür besiyeri 250 ml'lik erlenlerde 100 ml NB besiyeri olacak şekilde hazırlandı ve otoklavlandı. Uygun sıcaklığa kadar soğutulan besiyerlerine daha önceden petride canlandırılan *Serratia marcescens* bakterisinden bir öze dolusu alınarak ön kültür besiyerine ekim yapıldı. Ardından besiyerleri 25 °C ve 200 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 24 saat bekletildi.



Şekil 5. PDB sıvı besiyeri içerisinde geliştirilen *Rhodotorula glutinis*

***Rhodotorula glutinis* ile lipid üretimi üzerine Tyrosol ve Farnesol moleküllerinin etkisi**

Rhodotorula glutinis ATCC (15125) mayası ile lipid üretimini gerçekleştirmek için 250 ml'lik erleninde 100 ml PDB besiyeri hazırlanıp ekimi yapıldı. Bu amaçla önkültür besiyerinden 1 ml alınıp PDB besiyerlerine inokule edildi. Ardından örnekler lipid üretimi için, çalkalamalı inkübatörde 25°C ve 200 rpm çalkalama hızında 5 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. Herbir Quorum Sensing Molekülü ve bu moleküllerin kültüre eklenme süreleri için ayrı ayrı erlenlerde kültür hazırlandı. Bu amaçla kültürün 1. (ekim yapıldıktan hemen sonra) ve 3. günün (49.saat) Farnesol (2,4,8,16 µl) veya Tyrosol (2,4,8,16 mg/lt) maddeleri eklendi. Madde eklenmemiş kültür kontrol olarak kullanıldı.

***Rhodotorula glutinis* ATCC (15125)'nin biyokütle analizi ve mayadan lipid ekstraksiyonu**

İnkübasyon süresinin sonunda kültürler, önceden darası alınmış santrifüj tüplerinde 5000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Pellet 2 kez distile su ile yıkanarak sabit ağırlığa gelinceye kadar 80 °C'ye ayarlanmış etüvde kurutuldu. Kurutma sonrası tüplerin ağırlığından boş tüplerin ağırlığı çıkartılarak net biyokütle hesaplandı.

Lipid ekstraksiyonu için kuru biyokütlelerden 0,1 g alınıp, önceden darası alınmış santrifüj tüpüne konuldu. Kuru biyokütlenin içerisine 5 ml 2M HCl eklenip 5 dk vortekslenildikten sonra 80°C'ye ayarlanan su banyosunda 1 saat inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda santrifüj tüpleri oda sıcaklığında soğutuldu. Ardından 5000 g'de 10 dk santrifüjlendi ve supernatant kısmı uzaklaştırıldı. Pelletin üzerine 2:1 oranında kloroform: metanol çözeltisinden 10 ml ilave edildi. 5 dk vorteksin ardından 5000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında 3 faz gözlemlendi. Oluşan üst faz ve alt faz dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldı. Lipid ekstraksiyonu gerçekleştirilen katı kütle tekrar 80°C'ye ayarlanmış etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutuldu. Başlangıçta elde edilen biyokütleden, ekstraksiyondan sonra elde edilen biyokütle çıkartılarak toplam lipid konsantrasyonu (gr/lt) hesaplandı. Lipid içeriği (%) ise aşağıda belirtilen formüle göre hesaplandı:

$$\text{Lipit içeriği (\%)} = [\text{Lipit konsantrasyonu (gr/lt)} / \text{Hücre biyokütlesi (gr/lt)}] \times 100$$

***Rhodotorula glutinis* ATCC (15125) ile pigment üretimi üzerine Tyrosol ve Farnesol moleküllerinin etkisi**

Yukarıda ön kültürün hazırlanması kısmında bahsedildiği gibi *Rhodotorula glutinis* ATCC (15125) mayası için önkültür hazırlandı ve 1 ml'si karotein üretimini gerçekleştirmek amacıyla 250 ml'lik erlenlerde 100 ml olacak şekilde hazırlanan PDB besiyerine ekildi. İnokulasyonun işleminin ardından örnekler karoten üretimi için, çalkalamalı inkübatörde 25°C ve 200 rpm çalkalama hızında 5 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. Herbir Quorum Sensing Molekülü ve bu moleküllerin kültüre eklenme süreleri için ayrı ayrı erlenlerde kültür hazırlandı. Bu amaçla kültürün 1. (ekim yapıldıktan hemen sonra) ve 3. günlerinden farnesol (2,4,8,16 µl) veya tyrosol (2,4,8,16 mg/lt) maddeleri eklendi. Madde eklenmemiş kültür kontrol olarak kullanıldı.

***Rhodotorula glutinis* 'ın hücre büyüme analizi ve mayadan pigment ekstraksiyonu**

Kuru biyokütleler havanda dövülerek mekanik parçalama işlemi gerçekleştirildi. Parçalanan kuru biyokütleden 0,1 gram tartılarak darası alınmış santrifüj tüplerine konuldu ve -20°C'de 48 saat bekletildi. 48 saatin sonunda her bir santrifüj tüpüne 1'e 10 oranında HCl (0,1

gr kuru biyokütle için 1 ml HCl) konularak 60 °C’de 10 dk su banyosunda bekletildi. 10.000 rpm’de 10 dk santrifüj işlemi sonrasında sıvı kısım uzaklaştırıldı. Saf aseton’dan 5 ml alınarak her bir santrifüj tüpüne eklendikten sonra 5 dk vorteks işlemi uygulandı. 3000 rpm’de 5 dk santrifüj işlemini yaptıktan sonra her biri tüpün süpernatantı temiz santrifüj tüpüne aktarıldı ve bu işlem katı biyokütleden renk kaybolana kadar devam edildi. Elde edilen süpernatantların spektrofotometrede absorbans ölçümü max absorbans için 300-800 arası dalga boyunda taratıldı. Bu işlemde kör olarak aseton kullandı. Maksimum absorbans 490 nm’de ölçüldü. Karoten miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$W_{TC} = A_{max} \cdot D \cdot V/E \cdot W$$

W_{TC} = Karotenoid konsantrasyonu (mg/g)

A_{max} = 508 nm absorbans

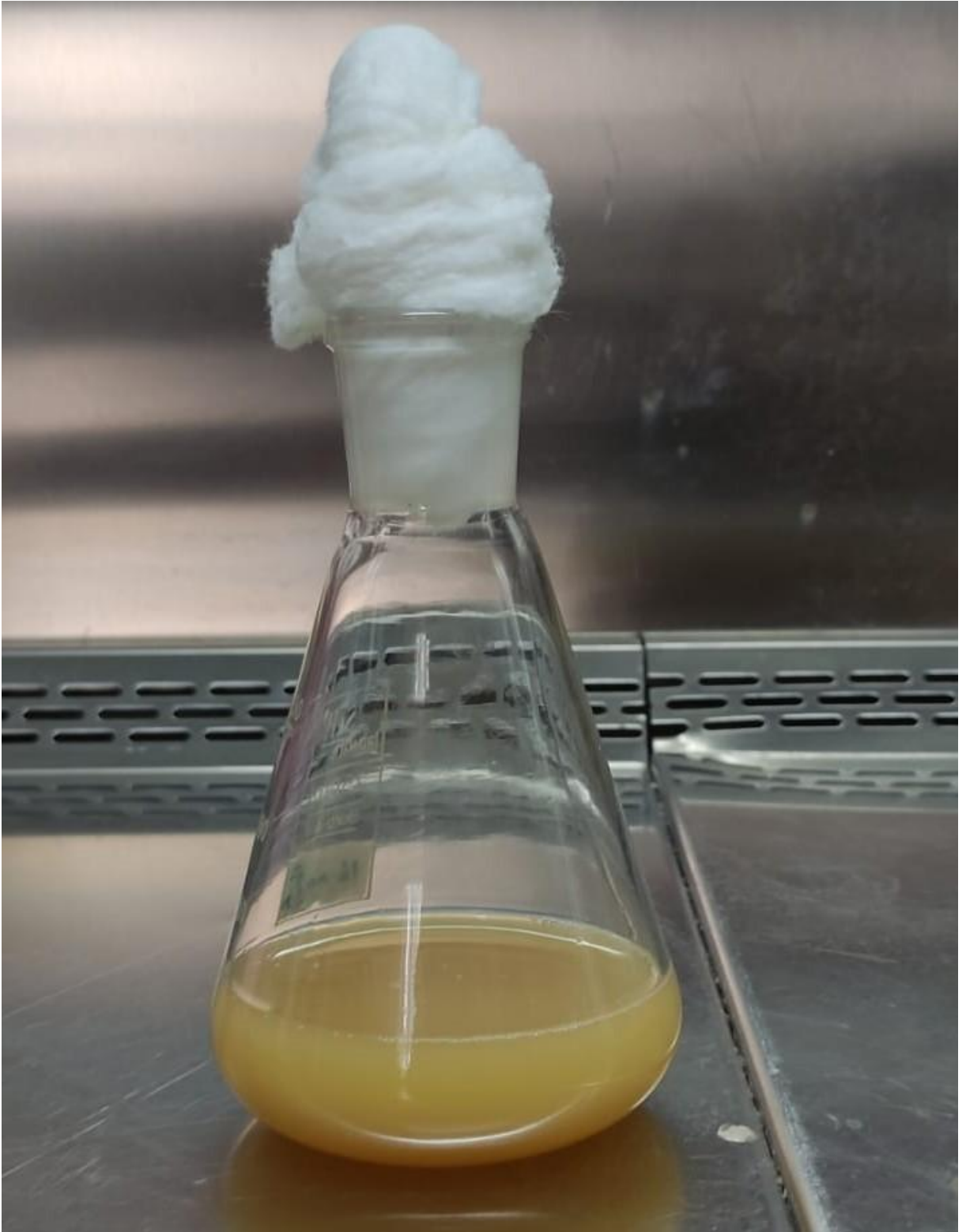
V = Asetonun miktarı (ml)

W = Kuru biyokütle (g)

E = Toplam karotenoidlerin yok olma katsayısı

***Serratia marcescens* ile pigment üretimi üzerine Farnesol ve Tyrosolün etkisi**

Serratia marcescens mayası ile pigment üretimini gerçekleştirmek için 250 ml’lik erlerde 100 ml NB besiyeri hazırlanıp ekimi yapıldı. Bu amaçla önkültür besiyerinden 1 ml alınıp NB besiyerlerine inokule edildi. Ardından örnekler pigment üretimi için, çalkalamalı inkübatörde 25°C ve 200 rpm çalkalama hızında 5 gün süre ile inkübasyona bırakıldı. Herbir Quorum Sensing Molekülü ve bu moleküllerin kültüre eklenme süreleri için ayrı ayrı erlenlerde kültür hazırlandı. Bu amaçla kültürün 1.gün (ekim yapıldıktan hemen sonra) ve 3. günlerinden Farnesol (2,4,8,16 µl) veya Tyrosol (2,4,8,16 mg/lt) maddeleri eklendi. Ayrıca Tyrosol’ün (75-600 mg/lt) ve Farnesol’ün yüksek doz (50-800 µl/lt) denemesi yine 1. gün veya 3.gün eklenmek suretiyle gerçekleştirildi. Madde eklenmemiş kültür kontrol olarak kullanıldı.



Şekil 6. NA sıvı besiyerinde geliştirilen *Serratia marcescens*

***Serratia marcescens*'in hücre büyüme analizi ve bakteriden pigment ekstraksiyonu**

5 günlük inkübasyon süresinin sonunda kültürün 50 ml'si, önceden darası alınmış santrifüj tüplerinde 5000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Pellet 2 kez distile su ile yıkanarak sabit ağırlığa gelinceye kadar 80 °C'ye ayarlanmış etüvde kurutuldu. Kurutma sonrası tüplerin ağırlığından boş tüplerin ağırlığı çıkartılarak net biyokütle hesaplandı. Kalan 50 ml'si ise

prodigiosin miktarının belirlenmesi için kullanıldı. 5000 rpm’de 10 dk santrifüjün ardından hücreler metanol-1 M HCl çözeltisinde süspanse edildi. Hazırlanan süspansiyon 10 dk vortekslendi ve ardından 6000 rpm’de 10 dk santrifüj işlemi gerçekleştirildi. UV-Vis spektrofotometre kullanılarak 300-800 nm dalga boyu arasında taranan supernatantın absorbansı ve 535’teki maksimum absorbans prodigiosin varlığını doğruladı. Son olarak supernatant mg/lt cinsinden prodigiosin konsantrasyonunu belirlemek için evaporatorde konsantre edildi.



ARAŞTIRMA BULGULARI

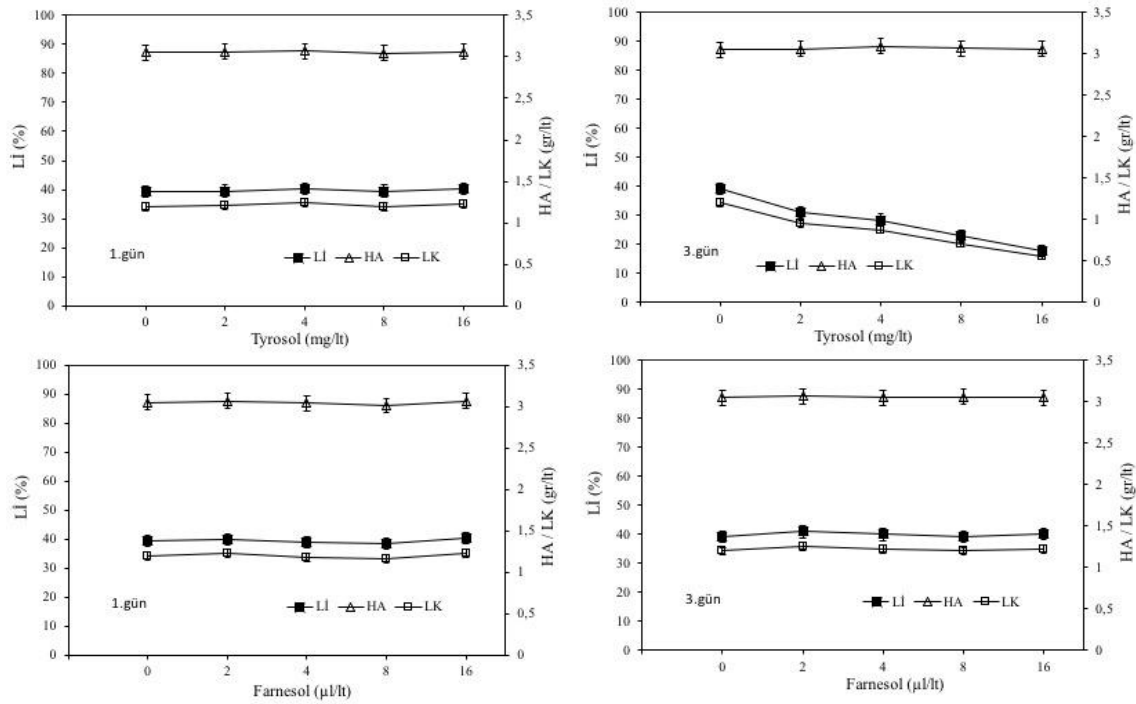
***R. glutinis*' de Hücre Büyümesi ve Lipit Sentezi Üzerine Farnesol ve Tyrosol'ün Etkisi**

Tablo 3 ve Şekil 3' den görülebileceği gibi 1. günde ortama eklenen Farnesol'ün ya da Tyrosol'ün hiçbir konsantrasyonu hücre büyümesini pozitif ya da negatif yönde çok fazla etkilememiştir. Örneğin, 5. günün sonunda kontrol grubunda hücre kuru ağırlığı 3,05; en yüksek Farnesol (16 µl/lt) ve Tyrosol (16 mg/lt) konsantrasyonlarında ise sırasıyla 2,98 ve 3,06 olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde, kültüre 1. günde eklenen Farnesol veya Tyrosol'ün hiçbir konsantrasyonunun lipit sentezini de çok fazla etkilemediği belirlenmiştir. Örneğin, lipit konsantrasyonu ve lipit içeriği kontrol grubunda sırasıyla 1,20 gr/lt ve %39,3; en yüksek farnesol grubunda 1,16 gr/lt ve %38,9 en yüksek Tyrosol grubunda da 1,23 gr/lt ve %40,2 olarak ölçülmüştür.

Tablo 3 ve Şekil 7' den görülebileceği gibi Tyrosol ve Farnesol'de kültüre 3. günde ilave edildiğinde de hücre büyümesini çok fazla etkilememiştir. Örneğin, en yüksek Farnesol ve Tyrosol konsantrasyonlarında elde edilen hücre ağırlıkları (sırasıyla 3,05 ve 3,06 gr/lt) ile kontrol grubundaki hücre ağırlığı (3,05 gr/lt) birbirine son derece yakın bulunmuştur. Ayrıca, kültüre 3. günde eklenen Farnesol'ün lipit sentezini de kayda değer ölçüde etkilemediği belirlenmiştir. Örneğin, kontrol grubu için belirlenen lipit konsantrasyonu ve lipit içeriği değerleri (sırasıyla 1,20 gr/lt ve %39,3), en yüksek farnesol grubu için belirlenen değerlere (sırasıyla 1,23 gr/lt ve %40) son derece yakın bulunmuştur. Farnesol'ün aksine, kültüre 3. günde eklenen Tyrosol'ün bütün konsantrasyonlarının kontrole oranla lipit sentezini azalttığı belirlenmiştir. Örneğin, lipit konsantrasyonu kontrol grubunda 2,20 gr/lt iken 2, 4, 8 ve 16 mg/lt Tyrosol gruplarında 0,95; 0,88; 0,70 ve 0,55 gr/lt olarak, lipit içeriği kontrol grubunda %39,3 iken 2, 4, 8 ve 16 mg/lt Tyrosol gruplarında %31; 28,5; 22,9 ve 17,8 olarak ölçülmüştür.

Tablo 3. *R. glutinis* ile lipit üretimi ve hücre büyümesi üzerine farklı Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi

Uygulama grupları	1.gün madde ilavesi			3.gün madde ilavesi		
	HA (gr/lt)	LK (g/L)	Lİ (%)	HA (gr/lt)	LK (g/L)	Lİ (%)
Kontrol	3,05	1,20	39,3	3,05	1,20	39,3
2 mg/lt T	3,06	1,21	39,5	3,06	0,95	31
4 mg/lt T	3,07	1,24	40,4	3,09	0,88	28,5
8 mg/lt T	3,04	1,20	39,5	3,07	0,70	22,9
16 mg/lt T	3,06	1,23	40,2	3,06	0,55	17,8
2 µl/lt F	3,06	1,22	39,8	3,07	1,26	41,0
4 µl/lt F	3,04	1,18	38,8	3,05	1,22	40
8 µl/lt F	3,01	1,16	38,5	3,06	1,20	39,2
16 µl/lt F	2,98	1,16	38,9	3,05	1,22	40,3



Şekil 7. *R. glutinis* ile lipit üretimi ve hücre büyümesi üzerine farklı tyrosol ve farnesol konsantrasyonlarının etkisi

R. glutinis'de Hücre Büyümesi ve Pigment Sentezi Üzerine Farnesol ve Tyrosol'ün Etkisi

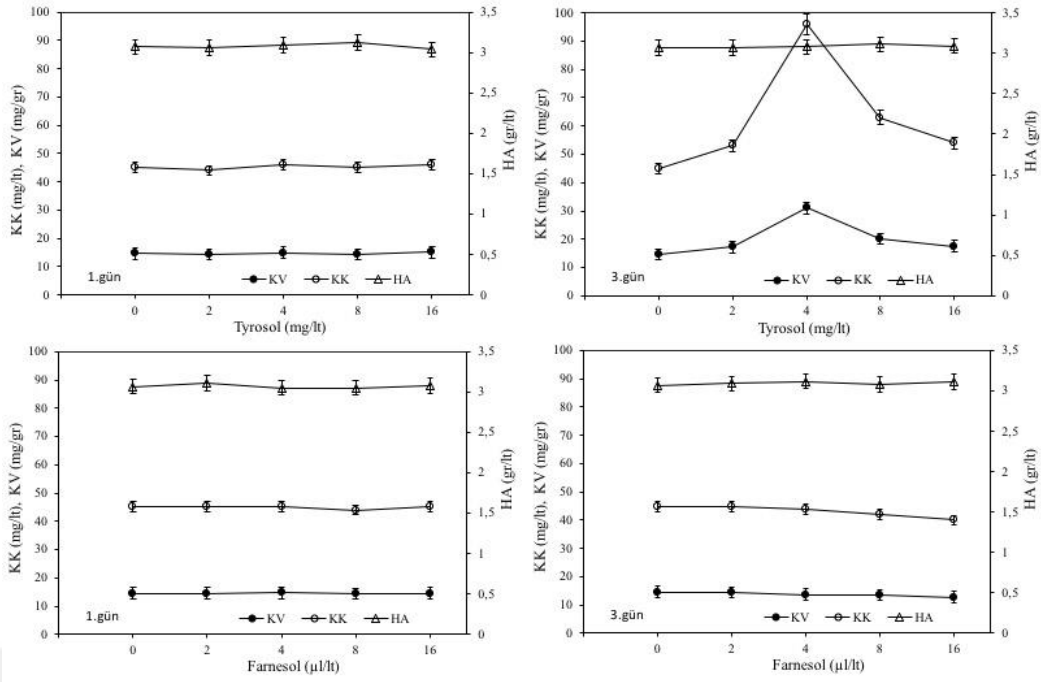
Tablo4 ve şekil 8' den görülebileceği gibi kültüre 1. günde eklenen Tyrosol ya da Farnesol'ün hiçbir konsantrasyonu kontrole oranla karotenoid sentezini çok fazla etkilememiştir. Örneğin, toplam karotenoid içeriği kontrol grubunda 45 mg/lt, en yüksek

Farnesol (16 µl/lt F) ve Tyrosol (16 mg/lt T) gruplarında ise sırasıyla 45 ve 46 mg/lt olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde, Tyrosol veya Farnesol ilavesinin karotenoid verimlerini de (mg karotenoid/g biomass) çok fazla etkilenmediği tespit edilmiştir. Örneğin, hem kontrol grubu hemde en yüksek farnesol grubundaki karotenoid verimi 14,6 mg/gr olarak hesaplanmıştır. Deneyler, 1. gün ilavesinin aksine kültüre 3. günde Farnesol ilavesinin kontrole oranla karotenoid sentezini inhibe ettiğini göstermiştir. Örneğin, en yüksek Farnesol (16 µl/lt F) konsantrasyonunda 3. gün ilavesinde toplam karotenoid konsantrasyonu 40 mg/lt, kontrol grubunda ise 45 mg/lt olarak ölçülmüştür. Yine en yüksek farnesol konsantrasyonundaki (16 µl/lt F) karotenoid veriminin (KV) (12,8 mg/gr) kontrol grubundaki karotenoid veriminden (14,6 mg/gr) düşük olduğu belirlenmiştir. Hücre kuru ağırlıklarında ise önemli bir değişim tespit edilmemiştir. Örneğin, kontrol ve en yüksek farnesol gruplarındaki hücre ağırlıkları sırasıyla 3,07 ve 3,11 gr/lt olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4' den görülebileceği gibi Farnesol'un tam aksine, kültüre 3. günde eklenen Tyrosol'un bütün konsantrasyonları kontrole oranla karotenoid sentezini artırmıştır. Örneğin, toplam karotenoid içeriği kontrol grubunda 45 mg/L fakat 2, 4, 8 ve 16 mg/lt Tyrosol gruplarında sırasıyla 53, 96, 63 ve 54 mg/lt olarak ölçülmüştür. 3. günde Tyrosol ilavesi yapılan kültürlerde karotenoid verimleri 2, 4, 8 ve 16 mg/lt tyrosol gruplarında 17,3; 31,1; 20,2 ve 17,5 mg/lt kontrol grubunda ise 14, 6 mg/lt olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlardan da görülebileceği gibi, özellikle 16 mg/lt Tyrosol grubunda kontrole oranla karotenoid sentezinde yaklaşık olarak 2,13 kat artış başarılmıştır.

Tablo 4. *R. glutinis* ile Pigment Üretimi Üzerine Farklı Tyrosol ve Farnesol Konsantrasyonlarının Etkisi

Uygulama grupları	1.gün ilavesi			3. gün ilavesi		
	HA (gr/lt)	KK (mg/lt)	KV (mg/g)	HA (gr/lt)	KK (mg/lt)	KV (mg/g)
Kontrol	3,07	45	14,6	3,07	45	14,6
2 mg/lt T	3,06	44	14,3	3,07	53	17,3
4 mg/lt T	3,09	46	14,9	3,08	96	31,1
8 mg/lt T	3,12	45	14,4	3,11	63	20,2
16 mg/lt T	3,04	46	15,1	3,09	54	17,5
2 µl/lt F	3,11	45	14,5	3,09	45	14,5
4 µl/lt F	3,05	45	14,7	3,12	44	13,7
8 µl/lt F	3,05	44	14,4	3,08	42	13,6
16 µl/lt F	3,08	45	14,6	3,11	40	12,8



Şekil 8. *R. glutinis* ile pigment üretimi ve hücre büyümesi üzerine farklı tyrosol ve farnesol konsantrasyonlarının etkisi

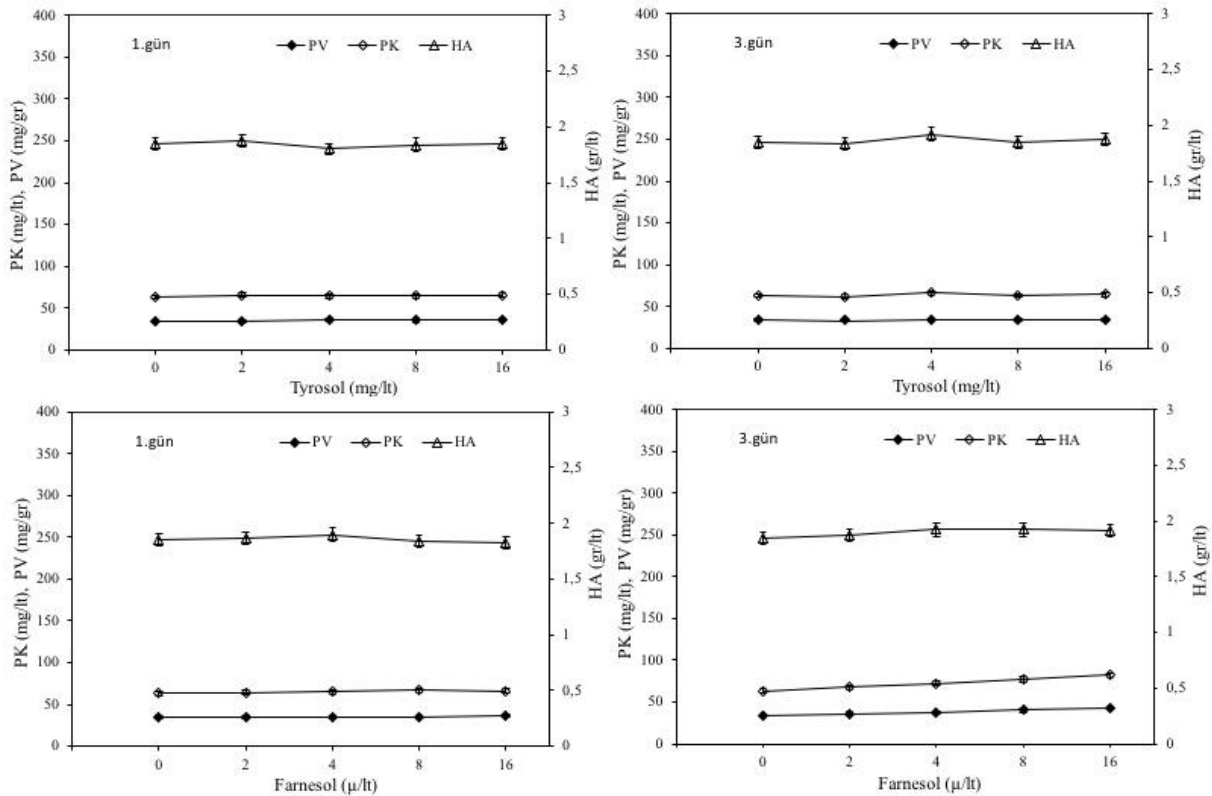
***S. marcescens*'de Hücre Büyümesi ve Prodigiosin Sentezi Üzerine Tyrosol ve Farnesol'ün Etkisi**

R. glutinis' de olduğu gibi *S. marcescens* ile pigment üretimi sırasında da ilk olarak Tyrosol'ün 2-16 mg/lt ve Farnesol'ün 2-16 μl/lt' lik konsantrasyonları test edilmiştir. Bununla birlikte, test edilen hiçbir konsantrasyonunda Tyrosol gerek 1. günde gerekse 3. günde kültüre eklendiğinde pigment üretiminde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Örneğin, prodigiosin konsantrasyonu kontrol grubunda 63 mg/lt, 1. günde 16 mg/lt tyrosol ilavesi yapılan grupta 65 mg/lt ve 3. günde 16 mg/lt tyrosol ilavesi yapılan grupta 64 mg/lt olarak ölçülmüştür. Prodigiosin verimi (PV)' de kontrol grubunda 34,1 mg/gr, 1.günde 16 mg/lt Tyrosol eklenmiş grupta 35,1 mg/gr ve 3. günde 16 mg/lt tyrosol eklenmiş grupta 34,2 mg/gr olarak belirlenmiştir. Bu yüzden, çalışmanın takip eden aşamalarında Tyrosol'ün daha yüksek konsantrasyonlarının test edilmesine karar verilmiştir. Farnesol kültüre 1. günde eklendiğinde hücre büyümesinde önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. Örneğin, kontrol grubundaki hücre ağırlığı ile (1,85 gr/lt) 1. günde 16 μl/lt farnesol ilave edilmiş gruptaki hücre ağırlığı (1,82 gr/lt) birbirine yakın bulunmuştur. Bununla birlikte, 3. günde Farnesol ilavesi çok az da olsa prodigiosin sentezini artırmıştır. Örneğin, prodigiosin konsantrasyonu kontrol grubunda 63 mg/lt iken 1. günde 16 μl/lt farnesol ilave edilmiş grupta 66 mg/lt olarak ölçülmüştür. 1. gün ilavesinde olduğu gibi Farnesol kültüre 3. günde ilave edildiğinde, Farnesol konsantrasyonlarının hücre büyümesini etkilemediği görülmüştür. Tam tersine, kültüre 3. günde eklenen Farnesol test edilen bütün konsantrasyonlarda kontrole oranla prodigiosin sentezinde önemli sayılabilecek artışlara neden olmuştur. Örneğin, kontrol grubunda prodigiosin konsantrasyonu 63 mg/L iken 3. günde 2, 4,

8 ve 16 $\mu\text{l/l}$ Farnesol eklenen gruplarda 68, 72, 77 ve 82 mg/L olarak ölçülmüştür. Prodigiosin verimi kontrol grubunda 34,1 mg/gr iken, 2, 4, 8 veya 16 $\mu\text{l/l}$ Farnesol eklenen gruplarda sırasıyla 36,3; 37,5; 40,1 ve 42,9 mg/gr olarak hesaplanmıştır. Kısacası, kültüre 1. veya 3. günde eklenen Farnesol'ün düşük konsantrasyonlarda bile prodigiosin sentezini artırdığı tespit edilmiştir. Bu yüzden, çalışmanın takip eden aşamalarında farnesolün daha yüksek konsantrasyonlarında (50-800 $\mu\text{l/l}$) test edilmesine karar verilmiştir.

Tablo 5. *Serratia marcescens* 'de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine düşük Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi

Uygulama grupları	1.gün madde ilavesi			3.gün madde ilavesi		
	HA (gr/lt)	PK (gr/lt)	PV (mg/gr)	HA (gr/lt)	PK (gr/lt)	PV (mg/gr)
Kontrol	1,85	63	34,1	1,85	63	34,1
2 mg/lt T	1,87	65	34,7	1,83	62	33,8
4 mg/lt T	1,80	64	35,5	1,92	66	34,3
8 mg/lt T	1,84	64	34,9	1,85	63	34,1
16 mg/lt T	1,85	65	35,1	1,87	64	34,2
2 $\mu\text{l/l}$ F	1,87	64	34,2	1,87	68	36,3
4 $\mu\text{l/l}$ F	1,85	65	35,1	1,92	72	37,5
8 $\mu\text{l/l}$ F	1,90	67	35,2	1,92	77	40,1
16 $\mu\text{l/l}$ F	1,82	66	36,2	1,91	82	42,9

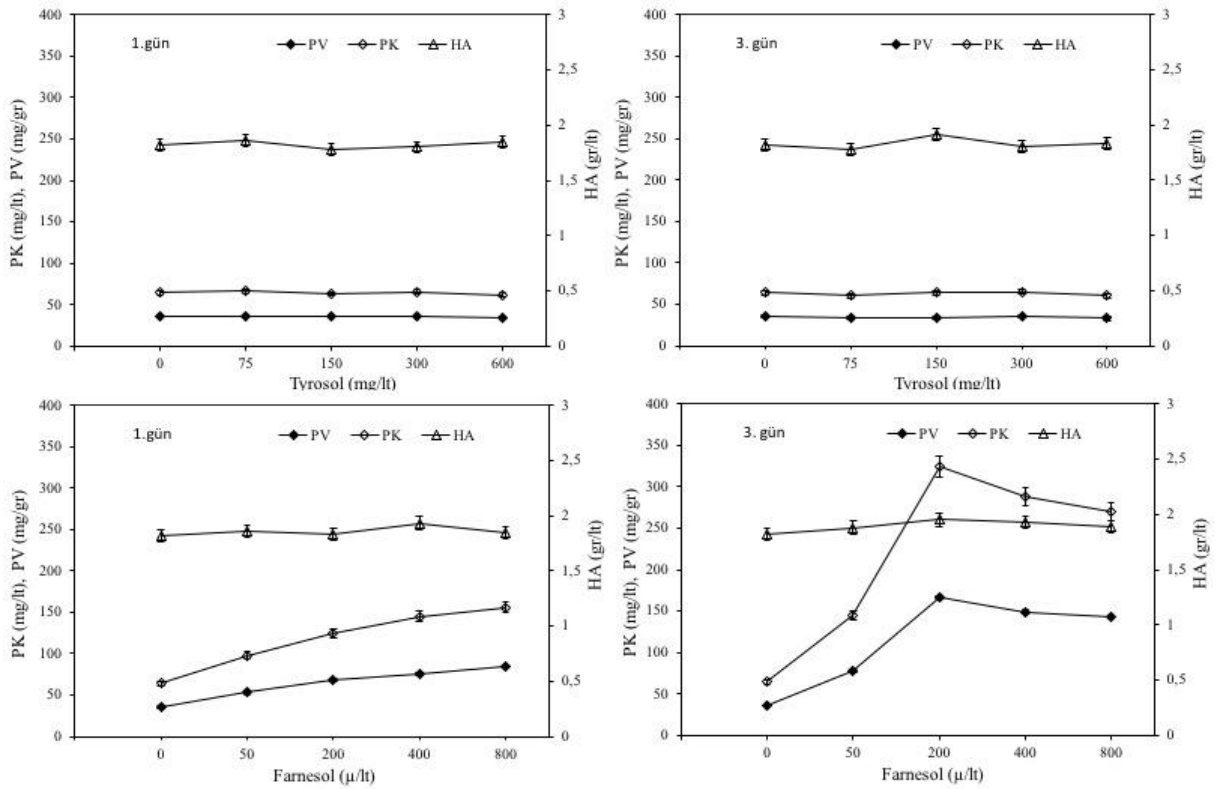


Şekil 9. *Serratia marcescens* 'de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine düşük tyrosol ve farnesol konsantrasyonlarının etkisi

Tablo 6 ve Şekil 10' dan görülebileceği gibi yüksek konsantrasyonlarda (75-600 mg/lt) 3. günde kültüre eklenen Tyrosol' de hücre büyümesini ve prodogiosin sentezini etkilememiştir. Örneğin, 1. günde kültüre eklenen 600 mg/lt Tyrosol varlığında üretilen prodogiosin miktarı (62 mg/lt) ile kontrol grubundaki prodogiosin miktarı (64 mg/lt) birbirine son derece yakın bulunmuştur. Yine, Tyrosol kültüre 3. günde eklendiğinde kontrol grubundaki ve en yüksek Tyrosol grubundaki prodogiosin konsantrasyonları arasında (sırasıyla 64 ve 60 mg/lt) önemli bir fark tespit edilmemiştir. Kontrol grubundaki hücre ağırlığı (1,82 gr/lt) ile 1. ve 3. günde 600 mg/lt Tyrosol ilavesi yapılan gruplardaki hücre ağırlıkları (sırasıyla 1,85 ve 1,83 gr/lt) birbirine yakın bulunmuştur. Sonuçlardan da görülebileceği gibi kontrole oranla 1 ya da 3. günde kültüre eklenen Farnesol'ün yüksek konsantrasyonları da (50-800 µl/lt) hücre büyümesini etkilememiştir. Örneğin, hücre kuru ağırlığı kontrol grubunda 1,82 gr/lt, 1 ve 3. günde 800 µl/lt Farnesol ilavesi yapılan gruplarda sırasıyla 1,85 ve 1,89 gr/lt olarak ölçülmüştür. Ancak, 1. günde ilave edilen Farnesol'ün aynı konsantrasyonlarının prodogiosin sentezini kontrole oranla kademeli olarak artırdığı görülmüştür. Örneğin, prodogiosin konsantrasyonu kontrol grubunda 64 mg/lt iken 1. günde 50, 200, 400 ve 800 µl/lt farnesol ilavesi yapılan gruplarda sırasıyla 98, 124, 145 ve 156 mg/lt olarak ölçülmüştür. 3. günde kültüre eklenen Farnesol'ün kontrole oranla prodogiosin sentezini daha fazla artırdığı tespit edilmiştir. Kontrole oranla prodogiosin konsantrasyonunda en fazla artış özellikle 3.günde 200 µl/lt Farnesol ilave edilen kültürde tespit edilmiştir. Örneğin, kontrol grubundaki prodogiosin konsantrasyonu 64 mg/lt iken 200 µl/lt farnesol grubundaki prodogiosin konsantrasyonu 324 mg/lt olarak ölçülmüştür. Bu sonuçta kontrole oranla 200 µl/lt F uygulamasının pigment sentezinde yaklaşık 5 kat artışa neden olduğunu ortaya çıkarmıştır. Daha yüksek Farnesol konsantrasyonları (400 ve 800 µl/lt) kontrole oranla prodogiosin sentezini artırsada, 200 µl/lt Farnesol konsantrasyonuna oranla daha düşük prodogiosin konsantrasyonlarına neden olmuştur.

Tablo 6. *Serratia marcescens*' de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine yüksek Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi

Uygulama grupları	HA (gr/lt)	PK (gr/lt)	PV (mg/gr)	HA (gr/lt)	PK (gr/lt)	PV (mg/gr)
Kontrol	1,82	64	35,2	1,82	64	35,2
75mg/lt T	1,86	66	35,5	1,78	60	33,7
150 mg/lt T	1,78	63	35,3	1,91	64	33,5
300 mg/lt T	1,80	65	36,1	1,80	65	36,1
600 mg/lt T	1,85	62	33,5	1,83	60	32,8
50 µl/lt F	1,86	98	52,7	1,88	145	77,1
200 µl/lt F	1,83	124	67,8	1,95	324	166,2
400 µl/lt F	1,93	145	75,2	1,93	288	149,2
800 µl/lt F	1,85	156	84,3	1,89	270	142,9



Şekil 10. *Serratia marcescens*' de hücre büyümesi ve Prodigiosin sentezi üzerine yüksek Tyrosol ve Farnesol konsantrasyonlarının etkisi

TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğal pigmentler bitkiler, algler, böcekler ve mikroorganizmalar gibi organizmalar tarafından sentezlenmektedir (Erdal and Ökmen 2013). Ancak mikroorganizmalar, daha hızlı büyümeleri, genetik manipülasyonlara daha açık olmaları, büyüme için fazla alana ihtiyaç duymamaları ve kültür koşullarının daha kolay kontrol edilmesi gibi avantajları nedeniyle bitkilere göre doğal pigmentlerin daha iyi kaynağı olarak kabul edilmiştir (Heer Sharma 2017; Narsing Rao *et al.* 2017; Tuli *et al.* 2015). Doğal pigmentlerin en önemlilerinden birisi de sarı, turuncu ve kırmızı renklere sahip olan karotenoidlerdir. Bu pigmentlerin sadece renklendirici özelliği değil aynı zamanda antikanserojen, antiobezite, immünomodülatör ve antioksidan özellikleri de bulunmaktadır (Kanzky *et al.* 2015; Rodriguez-Concepcion *et al.* 2018). Ayrıca, karotenoid tüketimi, yaşa bağlı katarakt ve koroner kalp hastalığı riskini azaltıcı özelliğinin gibi yararlı etkilerle ilişkilidir (Ausich 1997). Bir pigment çeşidi olan karotenoid bitkiler, algler, bakteriler, funguslar ve mayalar tarafından da sentezlenebilmektedir (Erdal and Ökmen 2013). Özellikle *Rhodotorula glutinis* mayasının iyi bir karotenoid üreticisi olduğu bilinmektedir. Bu mayanın ayrıca, lipitleri ve fenilalanin amonyum liyaz ve invertaz dahil birçok enzimi de sentezlediği belirtilmektedir (Borowitzka 2010; Kot *et al.* 2016; Taskin 2013; Taskin and Erdal 2011). Prodigiosin biyoteknolojik ve tıbbi öneme sahip olan diğer bir doğal pigmenttir. Kırmızı renkli bu pigment *Serratia marcescens*, *Pseudoalteromonas*, *Streptomyces lividans*, *Pseudomonas* ve *Vibrio* spp. gibi bakteriler tarafından üretilmektedir. Ancak Gram negatif bakteri *S. marcescens* bu pigmentin ana üreticisi olarak bilinmektedir (Wang *et al.* 2020). Prodigiosin, gıda endüstrisinde doğal renklendirici olarak kullanılabilir. Bu pigment ayrıca antikanser, antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antimalaryal özelliklerinden dolayı tıbbi açıdanda öneme sahiptir (Wang *et al.* 2020). Gerçekleştirilen çalışmalarda pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen konsantrasyonu, çalkalama hızı, ışık, inkübasyon süresi, karbon ve nitrojen kaynakları gibi kültür parametrelerinin *R. glutinis* ve/veya *S. marcescens*'deki pigmentlerin sentezini önemli ölçüde etkilediği bildirilmiştir (Andreyeva and Ogorodnikova 2015; Darshan and Manonmani 2015; Lin *et al.* 2019; Palacio-Castañeda *et al.* 2019; Zhao *et al.* 2019).

Örneğin şeker kamışı melası, üre ve KH_2PO_4 konsantrasyonlarının, *Rhodotorula glutinis* 'te hücre kütlesini ve karotenoidlerin üretimini etkilediği gösterilmiştir. İki aşamadan meydana gelen bu optimizasyon stratejisi, hücre kütlesini 1,9 kat artırdığı, karotenoid konsantrasyonunu ise 2,5 kat artırdığını ortaya koymuştur. (Park *et al.* 2005). Yapılan bir başka çalışmada ham gliserolün *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 tarafından lipitlerin ve

karotenoidlerin ikisinin bir arada üretilmesi için tek karbon kaynağı olarak nitrojen kaynağı olarak da amonyum sülfat ve sülfaktan olarak da Tween 20 'nin kullanılması durumunda lipid ve karotenoid sentezinde artış olduğunu gözlemlenmiştir (Saenge *et al.* 2011b). Yüksek C / N oranlarında lipid ve karotenoid sentezini artırdığı aynı zamanda sadece C / N oranı değil karbon ve nitrojen içeriklerinin de etkilediğini gözlenmiştir. Amonyum içerikleri lipid sentezindeki verimliliği etkilemezken, karotenoid üretimi düşük ve yüksek amonyum içeriğinde azalmıştır. Bu parametreler karotenoid sentezini olumlu etkilerken lipid sentezinde artış meydana getirmediğini belirlemişlerdir ve genel olarak lipid ve karotenoid sentezinin daha yüksek C / N oranlarında uyarıldığı anlaşılmıştır (Braunwald *et al.* 2013). *Rhodotorula glutinis*'de lipogenez ve β -karoten biyosentezi eş zamanlı olarak; tek karbon kaynağı olarak sodyum asetat kullanıldığı ortamda ışığa maruz bırakılarak gerçekleştirmiştir. Elde edilen sonuçlarda, hücre büyümesinin, hücre içi lipogenezin ve karoten sentezinin 10 gr\lt ve 20 gr\lt sodyum asetat kullanıldığında optimal gelişim gösterdiğini belirlemişlerdir. Yüksek ışık hücre büyümesi ve lipid üretimini negatif yönde etkilerken, karoten birikimini olumlu yönde etkilediği gözlemlenmiştir. Işıklı bir ortama maruz bırakmak asetat tüketimi, lipogenez ve β -karoten biyosentezinde görev alan genlerin ekspresyonunda artışı önemli ölçüde artırdığını gözlemlemişlerdir (Gong *et al.* 2020).

Farklı kalite derecelerinde toz haline getirilmiş ve elenmiş fıstık tohumlarının, mevcut ortamlara göre *Serratia marcescens* ile prodigiosin üretiminde kırk katlık bir artış sağlamada tutarlı olduğunu sonucuna ulaşılmıştır (Giri *et al.* 2004).

Serratia marcescens ile Prodigiosin üretiminde pigment miktarının sirke ile çökeltilmiş kazein substrat olarak kullanıldığında, yüksek saflıktaki kazeinin kullanıldığından daha yüksek olduğunu ve maksimum prodigiosin üretiminin, pH 8.0'da 10 gr\lt kazeinde olduğu belirlenmiştir (Valentina *et al.* 2019)

Yapılan bazı çalışmalarda, fenol (Kim *et al.* 2004), tween 80 ve pamuk tohumu yağı (Aksu and Eren 2007) , sodyum azid (Yolmeh and Khomeiri 2016), gibi bazı maddelerinde pigment üretimi artırmak üzere *R. glutinis* 'in kültüründe teşvik edici (inducer) olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Farnesol ve Tyrosol fungal morfolojinin kontrolünde görev alan moleküllerdir (Albuquerque and Casadevall, 2012). Yapılan çalışmalar, farnesol ve tirozolün, fungal morfolojisinin kontrolü dışında mikroorganizmalarda başka rollere de sahip olduğunu göstermiştir. Örneğin, Chang *et al.* (2019), eksojen olarak uygulanan Tyrosol'ün patojenik bakterilerde violasein ve piyosiyenin sentezini inhibe ettiğini bildirmiştir. Jakab *et al.* (2019) eksojen tirozolün *Candida parapsipolis* mayasında süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz

ve katalaz aktivitelerini arttırdığını belirtmiştir. Guo *et al.* (2011), eksojen olarak uygulanan Farnesol'ün, filamentli mantar *Penicillium decumbens*'te biyoteknolojik öneme sahip enzimlerin sentezini arttırdığını belirtmiştir. Başka bir çalışmada (Wang *et al.*, 2017), Farnesol'ün *Trametes versicolor*'da hücre dışı polisakkaritlerin sentezini arttırdığı gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, *Monascus*' da pigment sentezini tyrsolün artırdığı rapor edilmiştir (Erkaya *et al.*, 2020). Bununla birlikte, bu moleküllerin *R. glutinis*' te lipit ve karotenoid, *S. marcescens*' te ise prodigiosin sentezi üzerinde nasıl bir etki yaptığı henüz araştırılmamıştır. Bu yüzden, mevcut çalışmada da kültüre farklı konsantrasyonlarda ve farklı zamanlarda eklenen iki quorum sensing molekülünün *R. glutinis*'te lipit ve karotenoid, *S. marcescens*' te ise prodigiosin sentezinde inducer (teşvik edici) olarak kullanılabilirliği test edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar kültüre 1. günde (inokulumdan hemen sonra ilk 1 saat) eklenen Farnesol ya da Tyrosol'ün (özellikle düşük konsantrasyonların) hücre büyümesinin yanısıra lipit ve pigment sentezi üzerinde çok fazla etki yapmadığını göstermiştir. Tam tersine, bu iki molekülden birisi olan Tyrosol'ün kültüre 49. saatte (3. gün başlangıcı) eklendiğinde lipit sentezini azalttığı fakat karotenoid sentezini artırdığı tespit edilmiştir. Diğer molekül olan Farnesol'ün ise kültüre 49. saatte eklendiğinde *S. marcescens*' de prodigiosin sentezini artırdığı tespit edilmiştir. Bu moleküllerin inokulasyondan hemen sonra (1.gün başlangıcı) eklendiğinde çok fazla etkili olmaması; kültürün başlangıcında büyüme evresinde olan ve metabolik aktivitesi yüksek olan hücrelerin ortama eklenenen molekülleri enzimatik olarak biyotransformasyona uğratması ve bu moleküllerin aktivitesini azaltmasıyla açıklanabilmektedir. Aynı moleküller 49.saatte (3. gün başlangıcı-durağan evre) eklendiğinde ise hücrelerin biyotransformasyonla ilgili enzimatik aktiviteleri düşük olduğu için bu moleküller herhangi bir dönüşüme uğramamış olabilir ve bu yüzden bu moleküller sadece pigment ya da lipit sentezi ilgili yolları etkilemiş olabilir. *R. glutinis*' te lipit ve karotenoidlerin, *S. marcescens*' te ise prodigiosinin genellikle kültürün geç aşamalarında yani durağan fazdan sonra daha fazla sentezlenmeye başlandığı belirtilmektedir (Williams *et al.*, 1971; Taskin and Erdal, 2011; Taskin *et al.*, 2016). Mevcut çalışmada da yaptığımız ön denemeler sonucunda *R. glutinis* ve *S. marcescens* hücrelerinin kontrol besiyerinde inkübasyonun ilk 48 saati içerisinde iyi gelişme gösterdiği (*S. marcescens* özellikle ilk gün) ancak çok fazla pigmentasyon yeteneğine sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Aynı hücrelerde ise 48. saatten sonra hücre büyümesinin çok yavaşladığı diğer bir ifadeyle mikrobiyal hücrelerin durağan evreye girdiği ancak pigment sentezinin arttığı (özellikle 72. saatten sonra) belirlenmiştir. Tüm bilgiler göz önüne alındığında 49.saatte (3.gün başlangıcı) kültüre eklenen maddelerin hücreleri durağan fazdan itibaren üretilen diğer metabolitlerden ziyade pigment sentezine yönlendirdiği sonucuna

varılabilir. Örneğin, kültüre 49. saatte eklenen Tyrosol' ün *R. glutinis*'te lipit sentezini azalttığı fakat karotenoid sentezini artırdığını görülmüştür. Bu durum kültür ortamına eklenen Tyrosol'ün karbon kaynaklarının lipit sentezi yerine karotenoid sentezine yönlendirilmesi ile açıklanabilir.

Kısacası, mevcut çalışmada uygun inkübasyon sürelerinde ve konsantrasyonlarda kültüre eklenen tyrosolün *R. glutinis*' te karotenoid sentezi, farnesol' ün ise *S. marcescens*' te prodigiosin sentezini artırdığı tespit edilmiştir. Önceki çalışmalar, Tyrosol'un ve Farnesol'ün farklı organizmalarda çok sayıda genin ekspresyon seviyesini değiştirebileceğini göstermiştir (Décanis *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2011; Chang *et al.*, 2019; Jakab *et al.*, 2019). Bu yüzden, pigment sentezinde görülen artışlar Tyrosol ya da Farnesol'ün pigment sentezinde görev alan enzimlerle ilişkili genlerin ekspresyon seviyeleri üzerinde yaptığı değişikliklere bağlanabilir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Erkaya *et al.*, 2020), Tyrosol' ün *Monascus purpureus* küfünde pigment sentezini artırdığı rapor edilmiştir. Dolayısıyla, Tyrosol ile *R. glutinis* mayasında pigment sentezinin artırılması çok şaşırtıcı olmamalıdır. Tyrosol, bazı canlılarda doğal olarak mevcut olmasına rağmen kimyasal olarak sentezlenebilen ucuz bir bileşiktir (Gupta *et al.*, 2018). İnsan toksisitesi olmayan Tyrosol, nöroprotektif, antioksidan, antihipertansiyon, yaşlanmayı geciktirici ve iltihap önleyici gibi bazı yararlı etkilerde sahiptir (Erkaya *et al.*, 2020). Düşük fiyatı, toksik olmaması ve pigment sentezini teşvik etmesi gibi faydalı özellikleri göz önüne alındığında Tyrosol'ün fungal pigmentlerinin endüstriyel üretiminde indükleyici olarak kullanılabileceği sonucu çıkarılabilir.

Asiklik bir seskiterpen alkol olan Farnesol, ağırlıklı olarak doğada çeşitli bitkilerin uçucu yağlarında bulunur. Anti-kanser ve anti-inflamatuar etkiler sergilediği ve ayrıca alerjik astım, glioz ve ödemi hafiflettiği bildirilmiştir. Ayrıca Farnesol içeren kremlerin atopik dermatite karşı iyileştirici etki gösterdiğide rapor edilmiştir (Jung *et al.*, 2018). Dolayısıyla, Tyrosol gibi Farnesol'ünde insan toksisitesinin olmadığı tam tersine çeşitli hastalıklara karşı insanları koruyabileceği görülmektedir. Bu yüzden, *S. marcescens* kültüründe pigment üretimi için Farnesol güvenli bir şekilde teşvik edici olarak kullanılabilecektir. Diğer bir ifadeyle, üretilen prodigiosini kontamine etme ihtimali olan Farnesol'ün zararlı etkiside olmayacaktır.

KAYNAKLAR

- Aberoumand, A.,(2011). A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, **6**(1): 71-78.
- Agarwal, A., Shen, H., Agarwal, S., & Rao, A.,(2001). Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *Journal of medicinal food*, **4**(1): 9-15.
- Ageitos, J. M., Vallejo, J. A., Veiga-Crespo, P., & Villa, T. G.,(2011). Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Applied microbiology and biotechnology*, **90**(4): 1219-1227.
- Agwa, M., Elessawy, F., Hussein, A., El Demellawy, M., Elzoghby, A., Abd El-Salam, M., & Eldiwany, A.,(2018). Development and validation of a robust analytical method to quantify both etoposide and prodigiosin in polymeric nanoparticles by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Analytical Methods*, **10**(19): 2272-2280.
- Ahmad, W. A., Ahmad, W. Y. W., Zakaria, Z. A., & Yusof, N. Z. (2012). Application of bacterial pigments as colorant. In *Application of bacterial pigments as colorant* (pp. 57-74). Springer.
- Aksu, Z., & Eren, A. T.,(2007). Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. *Biochemical engineering journal*, **35**(2): 107-113.
- Alem, M. A., Oteef, M. D., Flowers, T. H., & Douglas, L. J.,(2006). Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development. *Eukaryotic cell*, **5**(10): 1770.
- Alexandrakis, G., Alfonso, E. C., & Miller, D.,(2000). Shifting trends in bacterial keratitis in south Florida and emerging resistance to fluoroquinolones. *Ophthalmology*, **107**(8): 1497-1502.
- Alper, H., Miyaoku, K., & Stephanopoulos, G.,(2006). Characterization of lycopene-overproducing *E. coli* strains in high cell density fermentations. *Applied microbiology and biotechnology*, **72**(5): 968-974.
- Amache, R. (2014). Quorum sensing for improved production of industrially useful products from filamentous fungi University of Westminster].
- Amaretti, A., Raimondi, S., Sala, M., Roncaglia, L., De Lucia, M., Leonardi, A., & Rossi, M.,(2010a). Single cell oils of the cold-adapted oleaginous yeast *Rhodotorula glacialis* DBVPG 4785. *Microbial cell factories*, **9**(1): 1-6.
- Amaretti, A., Raimondi, S., Sala, M., Roncaglia, L., De Lucia, M., Leonardi, A., & Rossi, M.,(2010b). Single cell oils of the cold-adapted oleaginous yeast *Rhodotorula glacialis* DBVPG 4785. *Microbial cell factories*, **9**(1): 73.
- Andreyeva, I., & Ogorodnikova, T.,(2015). Pigmentation of *Serratia marcescens* and spectral properties of prodigiosin. *Microbiology*, **84**(1): 28-33.
- Armstrong, G. A.,(1994). Eubacteria show their true colors: genetics of carotenoid pigment biosynthesis from microbes to plants. *Journal of Bacteriology*, **176**(16): 4795-4802.
- Armstrong, G. A.,(1997). Genetics of eubacterial carotenoid biosynthesis: a colorful tale. *Annual Reviews in Microbiology*, **51**(1): 629-659.
- Ausich, R. L.,(1997). Commercial opportunities for carotenoid production by biotechnology. *Pure and applied chemistry*, **69**(10): 2169-2174.
- Avbelj, M., Zupan, J., & Raspor, P.,(2016). Quorum-sensing in yeast and its potential in wine making. *Applied microbiology and biotechnology*, **100**(18): 7841-7852.

- Barriuso, J., Hogan, D. A., Keshavarz, T., & Martínez, M. J.,(2018). Role of quorum sensing and chemical communication in fungal biotechnology and pathogenesis. *FEMS microbiology reviews*, **42**(5): 627-638.
- Bennett, J., & Bentley, R.,(2000). Seeing red: the story of prodigiosin.
- Beopoulos, A., Cescut, J., Haddouche, R., Uribealarea, J.-L., Molina-Jouve, C., & Nicaud, J.-M.,(2009). *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. *Progress in lipid research*, **48**(6): 375-387.
- Beopoulos, A., & Nicaud, J.-M.,(2012). Yeast: A new oil producer? *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, **19**(1): 22-28.
- Beopoulos, A., Nicaud, J.-M., & Gaillardin, C.,(2011). An overview of lipid metabolism in yeasts and its impact on biotechnological processes. *Applied microbiology and biotechnology*, **90**(4): 1193-1206.
- Biermann, U., Bornscheuer, U., Meier, M. A., Metzger, J. O., & Schäfer, H. J.,(2011). Oils and fats as renewable raw materials in chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, **50**(17): 3854-3871.
- Boger, D. L., & Patel, M.,(1988). Total synthesis of prodigiosin, prodigiosene, and desmethoxyprodigiosin: Diels-Alder reactions of heterocyclic azadienes and development of an effective palladium (II)-promoted 2, 2'-bipyrrole coupling procedure. *The Journal of Organic Chemistry*, **53**(7): 1405-1415.
- Borea, L., Naddeo, V., Belgiorio, V., & Choo, K.-H.,(2018). Control of quorum sensing signals and emerging contaminants in electrochemical membrane bioreactors. *Bioresource technology*, **269**: 89-95.
- Borowitzka, M. A. (2010). Carotenoid production using microorganisms. In *Single cell oils* (pp. 225-240). Elsevier.
- Braunwald, T., Schwemmlin, L., Graeff-Hönninger, S., French, W. T., Hernandez, R., Holmes, W. E., & Claupein, W.,(2013). Effect of different C/N ratios on carotenoid and lipid production by *Rhodotorula glutinis*. *Applied microbiology and biotechnology*, **97**(14): 6581-6588.
- Burr, M. L., Gilbert, J., Holliday, R. a., Elwood, P., Fehily, A., Rogers, S., Sweetnam, P., & Deadman, N.,(1989). Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *The Lancet*, **334**(8666): 757-761.
- Buxbaum, G. (2008). Industrial inorganic pigments. John Wiley & Sons.
- Buzzini, P., Innocenti, M., Turchetti, B., Libkind, D., van Broock, M., & Mulinacci, N.,(2007). Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, and *Sporidiobolus*. *Canadian Journal of Microbiology*, **53**(8): 1024-1031.
- Carbonell, G., Della Colleta, H., Yano, T., Darini, A., Levy, C., & Fonseca, B.,(2000). Clinical relevance and virulence factors of pigmented *Serratia marcescens*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, **28**(2): 143-149.
- Chen, H., Fujita, M., Feng, Q., Clardy, J., & Fink, G. R.,(2004). Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**(14): 5048-5052.
- Christie, W. W.,(1993). Preparation of lipid extracts from tissues. *Advances in lipid methodology*, **2**(1): 195-213.

- Clinton, S. K.,(1998). Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutrition reviews*, **56**(2): 35-51.
- Darshan, N., & Manonmani, H.,(2015). Prodigiosin and its potential applications. *Journal of food science and technology*, **52**(9): 5393-5407.
- Das, A., Yoon, S.-H., Lee, S.-H., Kim, J.-Y., Oh, D.-K., & Kim, S.-W.,(2007). An update on microbial carotenoid production: application of recent metabolic engineering tools. *Applied microbiology and biotechnology*, **77**(3): 505.
- de la Torre-Robles, A., Rivas, A., Lorenzo-Tovar, M. L., Monteagudo, C., Mariscal-Arcas, M., & Olea-Serrano, F.,(2014). Estimation of the intake of phenol compounds from virgin olive oil of a population from southern Spain. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **31**(9): 1460-1469.
- De Salas, F., Martínez, M. J., & Barriuso, J.,(2015). Quorum-sensing mechanisms mediated by farnesol in *Ophiostoma piceae*: effect on secretion of sterol esterase. *Applied and environmental microbiology*, **81**(13): 4351.
- Derengowski, L. S., De-Souza-Silva, C., Braz, S. V., Mello-De-Sousa, T. M., Bão, S. N., Kyaw, C. M., & Silva-Pereira, I.,(2009). Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, **8**(1): 1-9.
- Dudley, J. I., Lekli, I., Mukherjee, S., Das, M., Bertelli, A. A., & Das, D. K.,(2008). Does white wine qualify for French paradox? Comparison of the cardioprotective effects of red and white wines and their constituents: resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. *Journal of agricultural and food chemistry*, **56**(20): 9362-9373.
- Dyal, S. D., & Narine, S. S.,(2005). Implications for the use of *Mortierella* fungi in the industrial production of essential fatty acids. *Food Research International*, **38**(4): 445-467.
- Easterling, E. R., French, W. T., Hernandez, R., & Licha, M.,(2009). The effect of glycerol as a sole and secondary substrate on the growth and fatty acid composition of *Rhodotorula glutinis*. *Bioresource technology*, **100**(1): 356-361.
- Egbe, N. E., Paget, C. M., Wang, H., & Ashe, M. P.,(2015). Alcohols inhibit translation to regulate morphogenesis in *C. albicans*. *Fungal Genetics and Biology*, **77**: 50-60.
- Elahian, F., Moghimi, B., Dinmohammadi, F., Ghamghami, M., Hamidi, M., & Mirzaei, S. A.,(2013). The anticancer agent prodigiosin is not a multidrug resistance protein substrate. *DNA and cell biology*, **32**(3): 90-97.
- Erdal, P., & Ökmen, G.,(2013). Gıdalarda kullanılan mikrobiyal kaynaklı pigmentler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, **6**(2): 56-68.
- Esteban, R., Moran, J. F., Becerril, J. M., & García-Plazaola, J. I.,(2015). Versatility of carotenoids: an integrated view on diversity, evolution, functional roles and environmental interactions. *Environmental and Experimental Botany*, **119**: 63-75.
- Fakas, S.,(2017). Lipid biosynthesis in yeasts: A comparison of the lipid biosynthetic pathway between the model nonoleaginous yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the model oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. *Engineering in Life Sciences*, **17**(3): 292-302.
- Faure, D., & Lang, J.,(2014). Functions and regulation of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*. *Frontiers in plant science*, **5**: 14.
- Fazal, M., Haseeb, A., & Masjuki, H.,(2011). Biodiesel feasibility study: An evaluation of material compatibility; performance; emission and engine durability. *Renewable and sustainable energy reviews*, **15**(2): 1314-1324.

- Francisco, R., Pérez-Tomás, R., Giménez-Bonafé, P., Soto-Cerrato, V., Giménez-Xavier, P., & Ambrosio, S.,(2007). Mechanisms of prodigiosin cytotoxicity in human neuroblastoma cell lines. *European journal of pharmacology*, **572**(2-3): 111-119.
- Galdieri, L., Zhang, T., Rogerson, D., Lleshi, R., & Vancura, A.,(2014). Protein acetylation and acetyl coenzyme a metabolism in budding yeast. *Eukaryotic cell*, **13**(12): 1472.
- Gao, C., Zhai, Y., Ding, Y., & Wu, Q.,(2010). Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*. *Applied Energy*, **87**(3): 756-761.
- Georgianna, D. R., & Mayfield, S. P.,(2012). Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels. *Nature*, **488**(7411): 329-335.
- Gerber, N. N.,(1975). Prodigiosin-like pigments. *CRC critical reviews in microbiology*, **3**(4): 469-485.
- Giri, A. V., Anandkumar, N., Muthukumaran, G., & Pennathur, G.,(2004). A novel medium for the enhanced cell growth and production of prodigiosin from *Serratia marcescens* isolated from soil. *BMC microbiology*, **4**(1): 1-10.
- Gong, G., Zhang, X., & Tan, T.,(2020). Simultaneously enhanced intracellular lipogenesis and β -carotene biosynthesis of *Rhodotorula glutinis* by light exposure with sodium acetate as the substrate. *Bioresource technology*, **295**: 122274.
- Goodwin, T. (1980). Biogeochemistry of carotenoids. In *The biochemistry of the carotenoids* (pp. 346-349). Springer.
- Granger, L. M., Perlot, P., Goma, G., & Pareilleux, A.,(1993). Efficiency of fatty acid synthesis by oleaginous yeasts: prediction of yield and fatty acid cell content from consumed C/N ratio by a simple method. *Biotechnology and bioengineering*, **42**(10): 1151-1156.
- Grima, E. M., Belarbi, E.-H., Fernández, F. A., Medina, A. R., & Chisti, Y.,(2003). Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology advances*, **20**(7-8): 491-515.
- Grimont, P., Grimont, F., Dulong, H., Rosnay, D., & Sneath, P.,(1977). Taxonomy of the genus *Serratia*. *Microbiology*, **98**(1): 39-66.
- Gupta, P., Sharma, M., Arora, N., Pruthi, V., & Poluri, K. M.,(2018). Chemistry and biology of farnesol and its derivatives: quorum sensing molecules with immense therapeutic potential. *Current topics in medicinal chemistry*, **18**(22): 1937-1954.
- Gurr, M. I., Harwood, J. L., & Frayn, K. N. (2002). *Lipid biochemistry* (Vol. **409**). Springer.
- Hari, R. K., Patel, T. R., & Martin, A. M.,(1994). An overview of pigment production in biological systems: functions, biosynthesis, and applications in food industry. *Food Reviews International*, **10**(1): 49-70.
- Harris, A. K., Williamson, N. R., Slater, H., Cox, A., Abbasi, S., Foulds, I., Simonsen, H. T., Leeper, F. J., & Salmond, G. P.,(2004). The *Serratia* gene cluster encoding biosynthesis of the red antibiotic, prodigiosin, shows species-and strain-dependent genome context variation. *Microbiology*, **150**(11): 3547-3560.
- Heer, K., & Sharma, S.,(2017). Microbial pigments as a natural color: a review. *Int J Pharm Sci Res*, **8**(5): 1913-1922.
- Hejazi, A., & Falkiner, F.,(1997). *Serratia marcescens*. *Journal of medical microbiology*, **46**(11): 903-912.
- Hogan, D. A.,(2006). Talking to themselves: autoregulation and quorum sensing in fungi. *Eukaryotic cell*, **5**(4): 613.

- Hornby, J. M., Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., & Nickerson, K. W.,(2001). Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Applied and environmental microbiology*, **67**(7): 2982.
- Hornby, J. M., Kebaara, B. W., & Nickerson, K. W.,(2003). Farnesol biosynthesis in *Candida albicans*: cellular response to sterol inhibition by zaragozic acid B. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **47**(7): 2366.
- Isaacson, T., Ronen, G., Zamir, D., & Hirschberg, J.,(2002). Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of β -carotene and xanthophylls in plants. *The Plant Cell*, **14**(2): 333-342.
- Ji, X.-J., & Huang, H.,(2019). Engineering microbes to produce polyunsaturated fatty acids. *Trends in biotechnology*, **37**(4): 344-346.
- Kalaiselvan, I., Dicson, S. M., & Kasi, P. D.,(2015). Olive oil and its phenolic constituent tyrosol attenuates dioxin-induced toxicity in peripheral blood mononuclear cells via an antioxidant-dependent mechanism. *Natural product research*, **29**(22): 2129-2132.
- Kanzy, H. M., Nasr, N., El-Shazly, H. A., & Barakat, O. S.,(2015). Optimization of carotenoids production by yeast strains of *Rhodotorula* using salted cheese whey. *Int J Curr Microbiol App Sci*, **4**(1): 456-469.
- Kariminik, A., Baseri-Salehi, M., & Kheirkhah, B.,(2017). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing modulates immune responses: an updated review article. *Immunology letters*, **190**: 1-6.
- Katre, G., Joshi, C., Khot, M., Zinjarde, S., & RaviKumar, A.,(2012). Evaluation of single cell oil (SCO) from a tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 as a potential feedstock for biodiesel. *Amb Express*, **2**(1): 1-14.
- Khan, R., & Sultana, S.,(2011). Farnesol attenuates 1, 2-dimethylhydrazine induced oxidative stress, inflammation and apoptotic responses in the colon of Wistar rats. *Chemico-biological interactions*, **192**(3): 193-200.
- Kim, B. K., Park, P. K., Chae, H. J., & Kim, E. Y.,(2004). Effect of phenol on β -carotene content in total carotenoids production in cultivation of *Rhodotorula glutinis*. *Korean Journal of Chemical Engineering*, **21**(3): 689-692.
- Kim, D.-K., Kim, J.-H. F., Yim, J.-H., Kwon, S.-K., Lee, C.-H., & Lee, H.-K.,(2008). Red to red-the marine bacterium *Hahella chejuensis* and its product prodigiosin for mitigation of harmful algal blooms. *Journal of microbiology and biotechnology*, **18**(10): 1621-1629.
- Kobayashi, N., & Ichikawa, Y.,(1991). Separation of the prodigiosin-localizing crude vesicles which retain the activity of protease and nuclease in *Serratia marcescens*. *Microbiology and immunology*, **35**(8): 607-614.
- Kot, A. M., Błażej, S., Kurcz, A., Gientka, I., & Kieliszek, M.,(2016). *Rhodotorula glutinis*—potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries. *Applied microbiology and biotechnology*, **100**(14): 6103-6117.
- Krivoruchko, A., Zhang, Y., Siewers, V., Chen, Y., & Nielsen, J.,(2015). Microbial acetyl-CoA metabolism and metabolic engineering. *Metabolic engineering*, **28**: 28-42.
- Kulkarni, M. G., & Dalai, A. K.,(2006). Waste cooking oil an economical source for biodiesel: a review. *Industrial & engineering chemistry research*, **45**(9): 2901-2913.
- Lee, P., & Schmidt-Dannert, C.,(2002). Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology*, **60**(1-2): 1-11.

- Lennen, R. M., & Pfleger, B. F.,(2013). Microbial production of fatty acid-derived fuels and chemicals. *Current opinion in biotechnology*, **24**(6): 1044-1053.
- Lewis, N. M., Seburg, S., & Flanagan, N.,(2000). Enriched eggs as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poultry Science*, **79**(7): 971-974.
- Li, Q., Du, W., & Liu, D.,(2008). Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied microbiology and biotechnology*, **80**(5): 749-756.
- Li, W., Du, W., Li, Y.-h., Liu, D.-h., & Zhao, Z.-b.,(2007). Enzymatic transesterification of yeast oil for biodiesel fuel production. *Chinese Journal of Process Engineering*, **7**(1): 133.
- Liang, M.-H., & Jiang, J.-G.,(2013). Advancing oleaginous microorganisms to produce lipid via metabolic engineering technology. *Progress in lipid research*, **52**(4): 395-408.
- Lin, C., Jia, X., Fang, Y., Chen, L., Zhang, H., Lin, R., & Chen, J.,(2019). Enhanced production of prodigiosin by *Serratia marcescens* FZSF02 in the form of pigment pellets. *Electronic Journal of Biotechnology*, **40**: 58-64.
- Lindsay, A. K., Deveau, A., Piispanen, A. E., & Hogan, D. A.,(2012). Farnesol and cyclic AMP signaling effects on the hypha-to-yeast transition in *Candida albicans*. *Eukaryotic cell*, **11**(10): 1219.
- Martin, C. E., Oh, C.-S., & Jiang, Y.,(2007). Regulation of long chain unsaturated fatty acid synthesis in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, **1771**(3): 271-285.
- Matsakas, L., Bonturi, N., Miranda, E. A., Rova, U., & Christakopoulos, P.,(2015). High concentrations of dried sorghum stalks as a biomass feedstock for single cell oil production by *Rhodosporidium toruloides*. *Biotechnology for biofuels*, **8**(1): 1-6.
- Matsuyama, T., Murakami, T., Fujita, M., Fujita, S., & Yano, I.,(1986). Extracellular vesicle formation and biosurfactant production by *Serratia marcescens*. *Microbiology*, **132**(4): 865-875.
- Meng, X., Yang, J., Xu, X., Zhang, L., Nie, Q., & Xian, M.,(2009). Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable energy*, **34**(1): 1-5.
- Minhthy, L. N., & Steven, J.,(1999). Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol*, **53**(2): 38-45.
- Miura, Y., Kondo, K., Saito, T., Shimada, H., Fraser, P. D., & Misawa, N.,(1998). Production of the carotenoids lycopene, β -carotene, and astaxanthin in the food yeast *Candida utilis*. *Applied and environmental microbiology*, **64**(4): 1226.
- Mosel, D. D., Dumitru, R., Hornby, J. M., Atkin, A. L., & Nickerson, K. W.,(2005). Farnesol concentrations required to block germ tube formation in *Candida albicans* in the presence and absence of serum. *Applied and environmental microbiology*, **71**(8): 4938.
- Mukherjee, G., & Singh, S. K.,(2011). Purification and characterization of a new red pigment from *Monascus purpureus* in submerged fermentation. *Process Biochemistry*, **46**(1): 188-192.
- Narisawa, T., Fukaura, Y., Hasebe, M., Nomura, S., Oshima, S., Sakamoto, H., Inakuma, T., Ishiguro, Y., Takayasu, J., & Nishino, H.,(1998). Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats by lycopene and tomato juice rich in lycopene. *Japanese journal of cancer research*, **89**(10): 1003-1008.
- Narsing Rao, M. P., Xiao, M., & Li, W.-J.,(2017). Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications. *Frontiers in microbiology*, **8**: 1113.

- Nelis, H. J., & De Leenheer, A.,(1991). Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds. *Journal of Applied Bacteriology*, **70**(3): 181-191.
- Nickerson, K. W., Atkin, A. L., & Hornby, J. M.,(2006). Quorum sensing in dimorphic fungi: farnesol and beyond. *Applied and environmental microbiology*, **72**(6): 3805.
- Noweck, K., & Grafahrend, W.,(2000). Fatty alcohols. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*.
- Padder, S. A., Prasad, R., & Shah, A. H.,(2018). Quorum sensing: A less known mode of communication among fungi. *Microbiological research*, **210**: 51-58.
- Palacio-Castañeda, V., Pérez-Hoyos, A., Carrascal-Correa, D., & Osorio-Echeverri, V. M.,(2019). Antibacterial pigment production by *Serratia marcescens* using different casein types obtained from milk Producción de un pigmento antibacteriano con *Serratia marcescens* usando diferentes tipos de caseína obtenida de leche. *Revista Colombiana de Biotecnología*, **21**(1): 82-90.
- Papanikolaou, S., & Aggelis, G.,(2011). Lipids of oleaginous yeasts. Part I: Biochemistry of single cell oil production. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **113**(8): 1031-1051.
- Park, P., Cho, D., Kim, E., & Chu, K.,(2005). Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using statistical experimental design. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **21**(4): 429-434.
- Parment, P. A.,(1997). The role of *Serratia marcescens* in soft contact lens associated ocular infections: a review. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, **75**(1): 67-71.
- Paruchuri, D. K., & Harshey, R. M.,(1987). Flagellar variation in *Serratia marcescens* is associated with color variation. *Journal of bacteriology*, **169**(1): 61-65.
- Pérez-Tomás, R., & Vinas, M.,(2010). New insights on the antitumoral properties of prodiginines. *Current medicinal chemistry*, **17**(21): 2222-2231.
- Pineiro, Z., Cantos-Villar, E., Palma, M., & Puertas, B.,(2011). Direct liquid chromatography method for the simultaneous quantification of hydroxytyrosol and tyrosol in red wines. *Journal of agricultural and food chemistry*, **59**(21): 11683-11689.
- Polburee, P., Yongmanitchai, W., Lertwattanasakul, N., Ohashi, T., Fujiyama, K., & Limtong, S.,(2015). Characterization of oleaginous yeasts accumulating high levels of lipid when cultivated in glycerol and their potential for lipid production from biodiesel-derived crude glycerol. *Fungal biology*, **119**(12): 1194-1204.
- Polke, M., Sprenger, M., Scherlach, K., Albán- Proaño, M. C., Martin, R., Hertweck, C., Hube, B., & Jacobsen, I. D.,(2017). A functional link between hyphal maintenance and quorum sensing in *Candida albicans*. *Molecular microbiology*, **103**(4): 595-617.
- Qualley, A. V., Widhalm, J. R., Adebisin, F., Kish, C. M., & Dudareva, N.,(2012). Completion of the core β -oxidative pathway of benzoic acid biosynthesis in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **109**(40): 16383-16388.
- Raina, S., Odell, M., & Keshavarz, T.,(2010). Quorum sensing as a method for improving sclerotiorin production in *Penicillium sclerotiorum*. *Journal of biotechnology*, **148**(2-3): 91-98.
- Ramage, G., Saville, S. P., Wickes, B. L., & López-Ribot, J. L.,(2002). Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Applied and environmental microbiology*, **68**(11): 5459.
- Rasamiravaka, T., & El Jaziri, M.,(2016). Quorum-sensing mechanisms and bacterial response to antibiotics in *P. aeruginosa*. *Current microbiology*, **73**(5): 747-753.

- Ratledge, C. (2002). Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. In: Portland Press Ltd.
- Ratledge, C.,(2004). Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production. *Biochimie*, **86**(11): 807-815.
- Ratledge, C., & Wynn, J. P.,(2002). The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms. *Advances in applied microbiology*, **51**: 1-52.
- Ravindran, A., Sunderrajan, S., & Pennathur, G.,(2019). Phylogenetic studies on the prodigiosin biosynthetic operon. *Current microbiology*, **76**(5): 597-606.
- Refaat, A.,(2009). Correlation between the chemical structure of biodiesel and its physical properties. *International Journal of Environmental Science & Technology*, **6**(4): 677-694.
- Rodriguez-Concepcion, M., Avalos, J., Bonet, M. L., Boronat, A., Gomez-Gomez, L., Hornero-Mendez, D., Limon, M. C., Meléndez-Martínez, A. J., Olmedilla-Alonso, B., & Palou, A.,(2018). A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in lipid research*, **70**: 62-93.
- Rossi, M., Amaretti, A., Raimondi, S., & Leonardi, A.,(2011). Getting lipids for biodiesel production from oleaginous fungi. *biodiesel-feedstocks and processing technologies*, **1**: 72-74.
- Saenge, C., Cheirsilp, B., Suksaroge, T. T., & Bourtoom, T.,(2011a). Efficient concomitant production of lipids and carotenoids by oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* cultured in palm oil mill effluent and application of lipids for biodiesel production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **16**(1): 23-33.
- Saenge, C., Cheirsilp, B., Suksaroge, T. T., & Bourtoom, T.,(2011b). Potential use of oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* for the bioconversion of crude glycerol from biodiesel plant to lipids and carotenoids. *Process Biochemistry*, **46**(1): 210-218.
- Saini, R. K., & Keum, Y.-S.,(2017). Progress in microbial carotenoids production. *Indian journal of microbiology*, **57**(1): 129-130.
- Sandmann, G.,(2001). Carotenoid biosynthesis and biotechnological application. *Archives of biochemistry and biophysics*, **385**(1): 4-12.
- Saraçlı, M. A.,(2006). Quorum sensing": mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor. *Gülhane Tıp Dergisi*, **48**(4): 244-250.
- Shahitha, S., & Poornima, K.,(2012). Enhanced production of prodigiosin production in *Serratia marcescens*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **2**(8): 138.
- Sitepu, I. R., Garay, L. A., Sestric, R., Levin, D., Block, D. E., German, J. B., & Boundy-Mills, K. L.,(2014). Oleaginous yeasts for biodiesel: current and future trends in biology and production. *Biotechnology advances*, **32**(7): 1336-1360.
- Sorrentino, F., Roy, I., & Keshavarz, T.,(2010). Impact of linoleic acid supplementation on lovastatin production in *Aspergillus terreus* cultures. *Applied microbiology and biotechnology*, **88**(1): 65-73.
- Steen, E. J., Kang, Y., Bokinsky, G., Hu, Z., Schirmer, A., McClure, A., Del Cardayre, S. B., & Keasling, J. D.,(2010). Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass. *Nature*, **463**(7280): 559-562.
- Taskin, M.,(2013). Co-production of tannase and pectinase by free and immobilized cells of the yeast *Rhodotorula glutinis* MP-10 isolated from tannin-rich persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruits. *Bioprocess and biosystems engineering*, **36**(2): 165-172.

- Taskin, M., & Erdal, S.,(2011). Production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* MT- 5 in submerged fermentation using the extract from waste loquat kernels as substrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **91**(8): 1440-1445.
- Tehlivets, O., Scheuringer, K., & Kohlwein, S. D.,(2007). Fatty acid synthesis and elongation in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, **1771**(3): 255-270.
- Telefoncu, A. (1995). *Biyoteknoloji*, Ege Üniversitesi Yayınları. In: Bornova-İzmir.
- Thevenieau, F., & Nicaud, J.-M.,(2013). Microorganisms as sources of oils. *Ocl*, **20**(6): D603.
- Thomson, N., Crow, M., McGowan, S., Cox, A., & Salmond, G.,(2000). Biosynthesis of carbapenem antibiotic and prodigiosin pigment in *Serratia* is under quorum sensing control. *Molecular microbiology*, **36**(3): 539-556.
- Trimble, H. phia College of Pharmacy. Fourth edition, with illustrations. Philadelphia: P. Blakiston, Son & Co., 1892. 8vo. Pp. 119.
- Tuli, H. S., Chaudhary, P., Beniwal, V., & Sharma, A. K.,(2015). Microbial pigments as natural color sources: current trends and future perspectives. *Journal of food science and technology*, **52**(8): 4669-4678.
- Valentina, P.-C., Alejandra, P.-H., Daniel, C.-C., & Víctor Manuel, O.-E.,(2019). Antibacterial pigment production by *Serratia marcescens* using different casein types obtained from milk. *Revista Colombiana de Biotecnología*, **21**(1): 82-90.
- Vernillo, G., Savoldelli, A., Skafidas, S., Zignoli, A., La Torre, A., Pellegrini, B., Giardini, G., Trabucchi, P., Millet, G. P., & Schena, F.,(2016). An extreme mountain ultra-marathon decreases the cost of uphill walking and running. *Frontiers in physiology*, **7**: 530.
- Verwaal, R., Wang, J., Meijnen, J.-P., Visser, H., Sandmann, G., van den Berg, J. A., & van Ooyen, A. J.,(2007). High-level production of beta-carotene in *Saccharomyces cerevisiae* by successive transformation with carotenogenic genes from *Xanthophyllomyces dendrorhous*. *Applied and environmental microbiology*, **73**(13): 4342.
- Vitrac, H., Bogdanov, M., & Dowhan, W.,(2013). In vitro reconstitution of lipid-dependent dual topology and postassembly topological switching of a membrane protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110**(23): 9338-9343.
- Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J., & Rissanen, T. H.,(2006). Carotenoids and cardiovascular health. *The American journal of clinical nutrition*, **83**(6): 1265-1271.
- Wang, C., Chen, L., Rakesh, B., Qin, Y., & Lv, R.,(2012). Technologies for extracting lipids from oleaginous microorganisms for biodiesel production. *Frontiers in Energy*, **6**(3): 266-274.
- Wang, S.-L., Nguyen, V. B., Doan, C. T., Tran, T. N., Nguyen, M. T., & Nguyen, A. D.,(2020). Production and potential applications of bioconversion of chitin and protein-containing fishery byproducts into prodigiosin: A Review. *Molecules*, **25**(12): 2744.
- Wasylenko, T. M., Ahn, W. S., & Stephanopoulos, G.,(2015). The oxidative pentose phosphate pathway is the primary source of NADPH for lipid overproduction from glucose in *Yarrowia lipolytica*. *Metabolic engineering*, **30**: 27-39.
- Weber, K., Sohr, R., Schulz, B., Fleischhacker, M., & Ruhnke, M.,(2008). Secretion of E, E-farnesol and biofilm formation in eight different *Candida* species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **52**(5): 1859.

- Westwater, C., Balish, E., & Schofield, D. A.,(2005). *Candida albicans*-conditioned medium protects yeast cells from oxidative stress: a possible link between quorum sensing and oxidative stress resistance. *Eukaryotic cell*, **4**(10): 1654.
- Williamson, N. R., Fineran, P. C., Leeper, F. J., & Salmond, G. P.,(2006). The biosynthesis and regulation of bacterial prodiginines. *Nature Reviews Microbiology*, **4**(12): 887-899.
- Williamson, N. R., Simonsen, H. T., Ahmed, R. A., Goldet, G., Slater, H., Woodley, L., Leeper, F. J., & Salmond, G. P.,(2005). Biosynthesis of the red antibiotic, prodigiosin, in *Serratia*: identification of a novel 2- methyl- 3- n- amyl- pyrrole (MAP) assembly pathway, definition of the terminal condensing enzyme, and implications for undecylprodigiosin biosynthesis in *Streptomyces*. *Molecular microbiology*, **56**(4): 971-989.
- Wongsuk, T., Pumeesat, P., & Luplertlop, N.,(2016). Fungal quorum sensing molecules: role in fungal morphogenesis and pathogenicity. *Journal of basic microbiology*, **56**(5): 440-447.
- Xu, H., Miao, X., & Wu, Q.,(2006). High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of biotechnology*, **126**(4): 499-507.
- Yolmeh, M., & Khomeiri, M.,(2016). Using physical and chemical mutagens for enhanced carotenoid production from *Rhodotorula glutinis* (PTCC 5256). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **8**: 158-166.
- Yu, L.-h., Wei, X., Ma, M., Chen, X.-j., & Xu, S.-b.,(2012). Possible inhibitory molecular mechanism of farnesol on the development of fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilm. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **56**(2): 770.
- Zechmeister, L., & Polgar, A.,(1944). Cis—trans isomerization and cis-peak effect in the α -carotene set and in some other stereoisomeric sets. *Journal of the American Chemical Society*, **66**(1): 137-144.
- Zhang, H., Zhang, L., Chen, H., Chen, Y. Q., Ratledge, C., Song, Y., & Chen, W.,(2013). Regulatory properties of malic enzyme in the oleaginous yeast, *Yarrowia lipolytica*, and its non-involvement in lipid accumulation. *Biotechnology letters*, **35**(12): 2091-2098.
- Zhang, J.-X., Ma, L.-Q., Yu, H.-S., Zhang, H., Wang, H.-T., Qin, Y.-F., Shi, G.-L., & Wang, Y.-N.,(2011). A tyrosine decarboxylase catalyzes the initial reaction of the salidroside biosynthesis pathway in *Rhodiola sachalinensis*. *Plant cell reports*, **30**(8): 1443-1453.
- Zhang, Y., Adams, I. P., & Ratledge, C.,(2007). Malic enzyme: the controlling activity for lipid production? Overexpression of malic enzyme in *Mucor circinelloides* leads to a 2.5-fold increase in lipid accumulation. *Microbiology*, **153**(7): 2013-2025.
- Zhao, X., Kong, X., Hua, Y., Feng, B., & Zhao, Z.,(2008). Medium optimization for lipid production through co- fermentation of glucose and xylose by the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **110**(5): 405-412.
- Zhao, Y., Guo, L., Xia, Y., Zhuang, X., & Chu, W.,(2019). Isolation, identification of carotenoid-producing *Rhodotorula* sp. from marine environment and optimization for carotenoid production. *Marine drugs*, **17**(3): 161.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Muhammet Enes KIZILER
Doğum tarihi:	-
Doğum Yeri:	-
Medeni Hali:	-
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	-
Faks:	-
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Pasinler Anadolu Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi (2018)
Yüksek lisans:	Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Ens, Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Doktora:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta
Almanca:	-
Rusça:	-
İlgi Alanları ve Hobiler	