



BİLECİK ŞEYH EDEBALI
ÜNİVERSİTESİ

**BİLECİK
ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı**

**HABİTAT FARKLILIKLARININ *RATTUS RATTUS*
BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
MOLEKÜLER TANIMLAMA TEKNİKLERİ İLE ANALİZİ
(RODENTIA: MURIDAE)**

**Uygar KABAOĞLU
Yüksek Lisans Tezi**

**1. Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Tuba YAĞCI**

**2. Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Rafiq GURBANOV**

**BİLECİK, 2020
Ref. No.: 10327651**



BİLECİK ŞEYH EDEBALI
ÜNİVERSİTESİ

**BİLECİK
ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ**

**Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı**

**HABİTAT FARKLILIKLARININ *RATTUS RATTUS*
BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
MOLEKÜLER TANIMLAMA TEKNİKLERİ İLE ANALİZİ
(RODENTIA: MURIDAE)**

**Uygar KABAOĞLU
Yüksek Lisans Tezi**

**1. Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Tuba YAĞCI**

**2. Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Rafiq GURBANOV**

BİLECİK, 2020



BİLECİK ŞEYH EDEBALI
ÜNİVERSİTESİ

**BİLECİK
SEYH EDEBALI UNIVERSITY**

**Graduate School of Sciences
Department of Biotechnology**

**THE ANALYSIS OF THE EFFECTS OF HABITAT
DIFFERENCES ON *RATTUS RATTUS* GUT MICROBIOTA
USING MOLECULAR IDENTIFICATION TECHNIQUES
(RODENTIA: MURIDAE)**

**Uygar KABAOĞLU
Master's Thesis**

**Thesis Advisor
Assist. Prof. Tuba YAĞCI**

**Co-Advisor
Assist. Prof. Rafiq GURBANOV**

BİLECİK, 2020



BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS

JÜRİ ONAY FORMU

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 28/01/2020 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Uygur KABAOĞLU'nun "Habitat Farklılıklarının Rattus Rattus Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkilerinin Moleküler Tanımlama Teknikleri İle Analizi (Rodentia: Muridae)" başlıklı tez çalışması Biyoteknoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak oy birliği/ oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

(Başkan olarak belirlenen kişi (JÜRİ BAŞKANI) şeklinde belirtilmelidir.)

ÜYE (1.TEZ DANIŞMANI) : Dr. Öğr. Üyesi Tuba YAĞCI

ÜYE (2.TEZ DANIŞMANI) : Dr. Öğr. Üyesi Rafiq GURBANOV

ÜYE (JÜRİ BAŞKANI) : Dr. Öğr. Üyesi Nahit PAMUKOĞLU

ÜYE : Dr. Öğr. Üyesi Fadime ÖZDEMİR KOÇAK

ÜYE : Dr. Öğr. Üyesi Sema LEBLEBİCİ

ONAY

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../..... tarih ve sayılı kararı.

İMZA/ MÜHÜR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca aynı zamanda tez çalışmam süresince yardımlarını ve tecrübelerini benimle paylaşan danışmanım Tuba YAĞCI' ya, ortak danışmanım Rafiq GURBANOV'a bu çalışmaya katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi akademik personeline ve desteklerinden dolayı Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne (2019-01.BŞEÜ.01-01) teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen Gizem BAŐARAN ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

BEYANNAME

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada, tez içindeki tüm verileri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun olarak sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmada kullanılmadığını beyan ederim.

...../...../ 20

(Adı Soyadı)

**HABİTAT FARKLILIKLARININ *RATTUS RATTUS* BAĞIRSAK
MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN MOLEKÜLER TANIMLAMA
TEKNİKLERİ İLE ARAŞTIRILMASI (RODENTİA: MURİDAE)**

ÖZET

Memeliler yaşamları boyunca mikrobiyota olarak adlandırılan çeşitli mikroorganizmalar ile simbiyotik bir ilişki içerisinde. Bu mikroorganizmaların konağın fizyolojisini, sağlığını ve hatta ruhsal dengesini etkilediği bilinmektedir. Memelilerde en yoğun ve en çeşitli mikroorganizma topluluğunun barınmasında bağırsakların kıvrımlı yapısı ve zengin besin içeriğine sahip olması etkilidir. Bağırsak mikrobiyotasının gelişimi, diyet ve yaşam tarzı dâhil olmak üzere konak ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşimle düzenlenir. Bu çalışmada kentsel ve kırsal olmak üzere farklı habitatlarda yaşayan memelilerin bağırsak mikrobiyotasındaki değişimlerin detaylı olarak aydınlatılması amaçlanmıştır. Amaçlarımız doğrultusunda, Bilecik ilinin kentsel ve kırsal alanlarından yakalanan *Rattus rattus* türüne ait yabanıl ve laboratuvar ratlarının bağırsak mikrobiyotasındaki tüm taksonomik değişimler 16S rRNA yeni nesil dizileme tekniği ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Sonuç olarak 3 farklı yaşam alanından alınan bağırsak mikrobiyotasında yaklaşık 2000 farklı bakteri türü tanımlanmıştır. Tüm bakteri türlerinde hesaplanan Shannon ve Simpsons değerlerine göre laboratuvar ratları en yüksek tür çeşitliliği göstermiştir. Mikrobiyota profillerinin benzerlikleri pCoA tekniği ile karşılaştırıldığında mikrobiyotayı oluşturan türlere ait bakteri popülasyonları farklı habitatlarda değişkenlik sergilemiştir. Gruplar arasındaki tür zenginliği tür seyreltme tekniği ile karşılaştırıldığında ise kırsal yaşam alanı başta olmak üzere tüm yabanıl ratlardaki toplam farklı tür sayısı laboratuvar ratlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Mikrobiyotada tür zenginliğine ve çeşitliliğine katkı sağlayan en önemli faktörün besin kaynakları olduğu belirlenmiştir. Besin çeşidinin artması mikrobiyotada tür zenginliğinin artmasına neden olurken, besin çeşidinin azalması tür çeşitliliğinin artmasına neden olmaktadır. Çalışmamız ilk defa olarak farklı mikrobiyal türlerin konak fizyolojisi üzerine etkileri açısından değerli bilgiler ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Habitat farklılıkları; Kentsel ve Kırsal Yaşam; Mikrobiyota; *Rattus rattus*; Yeni Nesil Dizileme.

**THE ANALYSIS OF THE EFFECT OF HABITATS DIFFERENTIATIONS ON
RATTUS RATTUS GUT MICROBIOTA USING MOLECULAR
IDENTIFICATION TECHNIQUES (RODENTIA: MURIDAE)**

ABSTRACT

Mammals have a symbiotic relationship with various microorganisms called microbiota throughout their lives. These microorganisms are known to affect the host's physiology, health, and even mental balance. In the harbor of the densest and most diverse microorganisms in mammals, the curved structure of the intestines and their rich nutrient content are effective. The development of the gut microbiota is regulated by a complex interaction between host and environmental factors, including diet and lifestyle. In this study, it is aimed to elucidate the changes in the gut microbiota of mammals living in urban and rural habitats. All taxonomic changes in the gut microbiota of wild and laboratory rats belonging to *Rattus rattus* species from urban and rural areas of Bilecik province were examined comparatively by 16S rRNA next-generation sequencing technique. Thus, 2000 different bacterial species were identified in gut microbiota. According to the Shannon and Simpsons values calculated, laboratory rats showed the highest species diversity. When the similarities of microbiota profiles were compared with pCoA technique, bacterial populations showed variability among different habitats. The comparison species richness between the groups with species rarefaction technique revealed higher species richness in all wild rats, especially in the rural habitat, compared to laboratory rats. Food sources were determined as the most important factor contributing to species richness and diversity. While the increased food variety boosted species richness, species diversity was increased due to the diminished food variety. Our first-hand study has provided valuable information on the effects of different microbial species on host physiology.

Key Words: Habitat differences; Microbiota; Natural life; Next Generation Sequencing; *Rattus rattus*; Urban and Rural Life

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....
BEYANNAME.....
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)'un Habitat ve Besin Tercihi	4
1.2. Mikrobiyota Üzerine Ağır Metallerin Etkisi	6
1.3. Zirai İlaçların Mikrobiyota Üzerine Etkisi.....	8
1.4. Bağırsak Mikrobiyotasında Yaygın Olarak Bulunan Bakteriler	9
1.4.1. Bacteroidetes	9
1.4.2. Firmicutes.....	10
1.4.3. Proteobacteria.....	10
1.4.4. Aktinobacteria	11
1.4.5. Verrucomicrobia.....	11
1.4.6. Spirochaetes	12
1.4.7. Synergistia.....	12
1.4.8. Mollicutes.....	13
1.4.9. Fusobacteria	13
2. MATERYAL VE METOT.....	15
2.1. Hayvan Örneklerinin Hazırlanması	15

2.2. DNA İzolasyonu	15
2.3. 16S rRNA V3-V4 Bölgesinin Amplifikasyonu.....	16
2.4. Kütüphane Hazırlama ve Dizileme İşlemi	17
2.5. Ham Verinin Biyoinformatik Analizi	17
2.6. Raporlama ve Grafiğe Dönüştürme	17
3. BULGULAR	18
3.1. Bakteriyal Çeşitlilik Analizleri.....	18
3.2. Tür Seviyesinde Taksonomik Dağılımlar	21
3.3. Diğer Taksonomik Dağılımlar.....	25
3.4. Hayvan Gruplarında Belirlenen Mikrobiyota Profilleri.....	35
4. TARTIŞMA	39
4.1. Mikrobiyotadaki Tür Çeşitliliği (Diversity) ve Tür Zenginliği (Richness)	39
4.2. Türlerle Göre Mikrobiyotadaki Değişimler	40
4.2.1. Kentsel alanlarda yaşayan <i>Rattus rattus</i> 'da bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi	40
4.2.2. Kırsal alanlarda yaşayan <i>Rattus rattus</i> 'da bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi	43
4.2.3. Laboratuvar ratlarının bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi	44
4.3. Diğer Taksonomik Birimlere Göre Mikrobiyotadaki Değişimler	46
5. SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:	Gruplar arasındaki mikrobiyotada tür popülasyonlarının dağılımı hesaplanarak elde edilen tür çeşitliliği (diversity indeksi) eğrisi.	19
Şekil 2:	Gruplardaki tür çeşitliliğini anlamlandırarak pCoA Plot tekniği ile oluşturulan benzerlik düzlemi.	20
Şekil 3:	OTU'ların okunma sayısına göre farklı türlerin (popülasyon miktarları önemsenmeden) sayısını gösteren tür zenginliği (richness) eğrisi..	21
Şekil 4:	Kentsel yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> grubuna ait en yüksek 10 bakteri türünün yüzdelik dağılım grafiği.	23
Şekil 5:	Kırsal yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> (RH2) grubuna ait en yüksek 10 bakteri türünün yüzdelik dağılım grafiği	23
Şekil 6:	Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait en yüksek 10 bakteri türünün yüzdelik dağılım grafiği.	24
Şekil 7:	Kentsel yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> grubuna ait Şube düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.	27
Şekil 8:	Kırsal yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> grubuna ait Şube düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.	27
Şekil 9:	Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait şube düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzde dağılım grafiği.	27
Şekil 10:	Mikrobiyotadaki Proteobakteri alt sınıflarının yüzdelik dağılım grafiği.	29
Şekil 11:	Kentsel yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> (RH1) grubuna ait Cins düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.	33
Şekil 12:	Kırsal yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> (RH2) grubuna ait Cins düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.	34
Şekil 13:	Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait Cins düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzde dağılım grafiği.	34
Şekil 14:	Kentsel yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> (RH1) grubunda mikrobiyota üyelerini taksonomik birimler ile gösteren kladogram.	36
Şekil 15:	Kırsal yaşam alanından alınan <i>Rattus rattus</i> (RH2) grubunda mikrobiyota üyelerini taksonomik birimler ile gösteren kladogram.	37
Şekil 16:	Laboratuvar ratları grubunda (RL) mikrobiyota üyelerini taksonomik birimler ile gösteren kladogram.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1: Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan bileşenler ve miktarları.	16
Çizelge 2: Gruplardaki tür seviyesinde çeşitliliği gösteren Shannon ve Simpsons hesaplamalarının değerleri	18
Çizelge 3: Tür düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı.	22
Çizelge 4: Alem düzeyindeki mikrobiyota içeriğinin taksonomik dağılımı.....	25
Çizelge 5: Şube düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı	26
Çizelge 6: Sınıf düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı	28
Çizelge 7: Takım düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı.....	30
Çizelge 8: Familya düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı.	31
Çizelge 9: Cins düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı.....	32

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Derece Celsius (Sıcaklık birimi)
♂	: Erkek birey (cinsiyet)
ul	: Mikrolitre (birim)
mM	: Minimolar (birim)
g	: Merkezkaç kuvvetinin ölçüm birimi
≈	: Yaklaşık olarak eşittir

Kısaltmalar

RH1	: <i>Rattus rattus</i> Habitat 1 (Kentsel yaşam alanından alınan örnekler)
RH2	: <i>Rattus rattus</i> Habitat 2 (Kırsal yaşam alanından alınan örnekler)
RL	: <i>Rattus sp.</i> Laboratuvar (Laboratuvar ortamında yetiştirilen örnekler)
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FASTQ	: Sekanslama dizilerinin hata oranı ile ifade eden yazım formatı
OTU	: Sekanslama ile oluşturulan anlamlı dizi parçaları
V3-V4	: 16S rRNA ekzon bölgeleri
dNTP	: Deoksinükleozit trifosfat

1. GİRİŞ

Gelişmiş organizmalar, çoğunluğunu farklı türde bakterilerin oluşturduğu aynı zamanda mantar, virüs ve diğer tek hücrelileri de içeren çeşitli mikroorganizmalara ev sahipliği yapar. Bu organizmalar yararlı bakterilerle uyumlu, dengeli bir yaşam sürdürmektedir. İnsan ve birçok memelinin ev sahipliği yaptığı mikroorganizmaların oluşturduğu topluluğun tümüne Mikrobiyota, bu topluluğun toplam gen yapısı ve etkileştiği çevreye ise Mikrobiyom adı verilir (Cénit vd., 2014; Walker vd., 2013).

Memeli mikrobiyotası deri, üreme organları, solunum ve yaygın olarak bağırsak sisteminde yerleşmiştir. Memeli organizmalarda en yoğun ve en çeşitli mikroorganizma topluluğunun barınmasında bağırsakların kıvrımlı yapısı ve zengin besin içeriğine sahip olması etkilidir (Yılmaz vd., 2017). Bu bakteriler vitaminleri, aminoasitleri ve kısa zincirli yağ asitleri gibi metabolitleri sentezler (Bull vd., 2014). Bu nedenle, bağırsak mikrobiyal topluluklarının karakterizasyonu, sağlık ve hastalıkta konak-mikrop etkileşiminin anlaşılmasında büyük öneme sahiptir. Yapılan çalışmalar bağırsak mikrobiyomundaki bozulmaları otizm, depresyon, şizofreni, obezite, tip 2 diabetes mellitus, romatoid artrit gibi çeşitli metabolik ve komorbid nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirmiştir (Grochowska vd., 2018; Shreiner vd., 2015). Bu nedenle mikrobiyal topluluğun gelişimi, sağlıklı bir yaşamın bütün evrelerinde büyük bir öneme sahiptir (Gensollen vd., 2016). Bağırsak mikrobiyotasının gelişimi, diyet ve yaşam tarzı dahil olmak üzere konak ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşimle düzenlenir (Rothschild vd., 2018). Bağırsak mikrobiyotasının doğumdan yaşlılığa kadar dinamikleri, bu topluluğun konak içindeki değişkenliğine ve hastalık riskleri ile olası ilişkilere ışık tutabilir (Bäckhed vd., 2015).

Sağlıklı bireylerde mikrobiyota, doğum şeklinin bile etkilediği ve doğumdan sonra ekolojik çevre ile olan etkileşime bağlı olarak oluşmaya başlar (Wopereis vd., 2014). Mikrobiyotanın olgunlaşma sürecinde beslenme, genetik faktörler, yaş ve yaşanılan coğrafik bölgeler etki göstermektedir (Flandroy vd., 2018). Ortamdaki etkenlerden kaynaklanan çevresel mikrobiyota bağırsak mikrobiyotasıyla etkileşime girip onu destekleyebildiğinden, farklı ortamlar ve karakteristik mikrobiyotlar nörogelişim ve zihinsel sağlığı etkileme potansiyeline sahiptir (Rook, 2013).

İlk yaşlardan itibaren oluşmaya başlayan bağırsak mikrobiyotasının fizyolojik, metabolik ve bağışıklık sistemi üzerinde oldukça karmaşık ve aktif görevler üstlendiği tahmin edilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık sisteminin bakteriler ile ilk defa tanışmasını ve daha sonra bakterilere karşı kullanmak üzere hafıza hücreleri (B lenfositler) oluşmasında büyük bir etkidir (Chow vd., 2010; Björkstén vd., 2001). Böylece bağırsak mikrobiyotasındaki bakteri türlerine karşı bağışıklık kazanılarak bağışıklık sistemi güçlendirilir. Gelişen bağışıklık sistemi yararlı ve zararlı bakterileri birbirinden ayırt edebilir. Böylece denge içerisinde uyumlu bakterilere tolerans gösterilirken, hastalık oluşturanlara karşı savunma yanıtı verilir. Bağırsak mikrobiyotası bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını, besin emilimini ve metabolizmayı etkiler, patojen kolonizasyonunu önler (Vrieze vd., 2010; Belkaid vd., 2014). Araştırmacılar bağırsak mikrobiyotası dengesizliğinin genellikle enerji metabolizması, besin emilimi ve bağışıklık sistemi bozuklukları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2015; Jin vd., 2015).

Stresin bağırsak bariyer fonksiyonunu önemli ölçüde etkilediği, bağırsak geçirgenliği ve sistemik inflamasyona yol açtığı gösterilmiştir (Lambert, 2009). Örneğin, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar), bağırsak mikrobiyotası, konak immün tepkisi ve indol türevleri gibi aromatik aminoasit metabolitlerinin epitel bariyer bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Maslowski vd., 2009; Bansal vd., 2010). Prebiyotikler ve probiyotikler, mikrobiyotayı normalleştirmek ve intestinal bariyer fonksiyonunu iyileştirmek için umut verici bir yaklaşım olarak önerilmiştir (Russo vd., 2012; Wilms vd., 2016).

Mikrobiyotanın yetişkinlerde, aşırı bir dış stres etkeni olmadan (örneğin diyet değişiklikleri veya antibiyotik tedavisi) nispeten stabil ve esnek olduğu öne sürülmüştür. (Faith vd., 2013; Rajilić-Stojanović vd., 2013). Mikrobiyotadaki bu esneklik, bir stres etkisi sona erdiğinde ilk durumuna dönmesini sağlar (Palleja vd., 2018). Moleküler temelli mikrobiyal araştırmalar, mikrobiyal ekolojiye bakış açısını büyük ölçüde artırmış ve mikrobiyotadaki değişkenlikle ilgili dış faktörlerin tanımlanmasını hızlandırmıştır (Falony vd., 2016).

Louis Pasteur, mikropsuz yaşamın imkânsız olduğunu düşünürken (Pasteur, 1885), bugün mikropsuz farelerin bazı çalışmalar için uygun olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, mikropsuz fareler adı verilen aksenik fareler, konakçı ve bağırsaktaki bakteriler arasındaki etkileşimi incelemek için yararlı araçlar sağlar (Smith vd., 2007; Yi vd., 2012). Bununla birlikte, mikropsuz hayvanlar, geleneksel spesifik patojen içermeyen (SPF) bireylerden fizyolojik olarak farklıdır ve bu nedenle ksenobiyotiklerin in vivo kullanımında farklılıklar gösterir (Ilett vd., 1990).

Bağırsak mikrobiyotasının ağır metaller de dahil olmak üzere çevresel kirleticilerin biyoyararlanımı ve toksisitesinin önemli bir aracı olması muhtemeldir (Breton vd., 2013). Mikrobiyota kendi başına bağırsak içindeki metallerle ya da, aktif alım yoluyla, pasif taşıma veya emme yoluyla etkileşime girebilir (Morozzi vd., 1986; Halttunen vd., 2008). Oral yolla alınmış toksik metallerin girişini kontrol eden bağırsak bariyer bütünlüğü, epitelyal ve mukoza tabakasının fiziksel engellerini içeren bir yapı olarak mikrobiyota konakçı etkileşimlerinde önemli bir yere sahiptir. Bağırsak mikrobiyotası ve metabolitleri, pH, oksidatif denge, detoksifikasyon enzimleri, ksenobiyotik-metabolize eden ve konakçı proteinlerin taşınması gibi çevresel parametreleri de etkileyen önemli faktörlerdir (Claus vd., 2011).

Mikrobiyal araştırmaların büyük bir çoğunluğunda, kemirgen hayvanların dışkı mikrobiyomu yüksek verimde sekanslama teknikleri ile analiz edilerek bağırsak mikrobiyotası üzerinde kontaminantların etkisi belirlenmiştir (Brinkman vd., 2011; Breton vd., 2013). Laboratuvar hayvanlarında (*Rattus rattus*, *Mus musculus* vb.) diyet uygulaması ile gerçekleştirilen bu araştırmalarda ağır metaller gibi inorganik ya da pestisitler gibi organik kirleticilerin mikrobiyota üzerine etkisi incelenmiştir (Sizentsov vd., 2019; Breton vd., 2013; Fang vd., 2018; Fazeli vd., 2010; Feng vd., 2017; Jaeggi vd., 2015). Son yıllarda bağırsak mikrobiyomunun insan psikolojisi ve metabolizması üzerinde şaşırtıcı etkilerini ortaya çıkaran araştırmalarda ise in vivo modeller olarak zebra balığı, *Caenorhabditis elegans* (nematod), *Drosophila melanogaster* (insect)' ın yanı sıra fareler ve sıçanlar yaygın olarak kullanılan rodentlerdir (Wei vd., 2018; Lict and Bahl, 2019).

İnsan bağırsak mikrobiyotasında Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia, Cyanobacteria, Spirochaetes olmak üzere toplam 8 bakteri grubu tanımlanmıştır. İnsan ve fare mikrobiyotası Fusobacteria'lar dışında mikrobiyal çeşitlilik bakımından benzerlik göstermektedir. Firmicutes ve Bacteroidetes'ler memeli bağırsak mikrobiyotası için baskın türlerdir (Backhed vd., 2005). Hayvan modelleri, mikrobiyotayı değiştirici faktörlerin olumsuz etkilerinin değerlendirilmesinde önemli bir araç oluşturmaktadır (Chung vd., 2012). Bağırsakta meydana gelen mikrobiyal değişikliklerin insanlarda nörolojik hastalıklardan metabolik ve kardiyovasküler hastalıklara, ayrıca kanser ve gastrointestinal rahatsızlıklara kadar etkili olması mikrobiyota araştırmalarını ilgi odağı haline getirmiştir (Helminck vd., 2019).

Ekolojik ve evrimsel kuvvetler bağırsak mikrobiyotasının mikrobiyal çeşitliliği ile ilişkilendirilen güçlü hipotezlerdir. Bu araştırmada doğal rodent popülasyonlarının (*Rattus rattus*) bağırsak mikrobiyotası, 16S rRNA yeni nesil dizileme tekniği ile tespit edilerek "Ekolojik faktörler ve Mikrobiyota" arasındaki ilişki belirlenmesi hedeflenmiştir.

1.1. *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758)'un Habitat ve Besin Tercih

Rattus cinsinin üyeleri yaklaşık üç milyon yıl önce Pliyosen döneminde ortaya çıkmış ve Güneydoğu Asya'ya dağılmıştır (Aplin vd., 2003). Geniş habitat çeşitliliğinde yaşamaya adapte olabilmeleri, onların sonraki zamanlarda Antartika hariç her kıtada ve tüm habitat tiplerinde yayılmalarını sağlamıştır (Lund, 1994). *Rattus* (Fischer, 1803) cinsi, 66 türe sahip olup memelilerin en büyük kemirgen cinsini oluşturur (Musser & Carleton, 2005). Bu türler arasında insanlarla yakın ilişkili "kommensal tür" ler olarak bilinen *R. exulans*, *R. nitidus* ve *R. turkestanicus* esas olarak Orta ve Güneydoğu Asya'da bulunurken, *R. norvegicus* ve *R. rattus*'un dağılımı neredeyse dünya çapındadır (Aplin vd., 2003). Türkiye'de *Rattus rattus* (Siyah sıçan) ve *R. norvegicus* (Kahverengi sıçan) olmak üzere iki tür bulunmaktadır (Yiğit vd., 1998). *R. rattus* ve *R. norvegicus* nadiren yaban hayatında bulunan ve insanlarla birlikte yaşama yakınlığı diğer türlere göre çok daha fazla olan türlerdir (Feng ve Himsworth, 2014).

Siyah sıçanlar kentsel alanlarda depolar, konutlar ve diğer insan yerleşim yerlerinin etrafında (binaların çatıları, asma tavan araları, duvar boşlukları, yer altı tünelleri) bulunurlar (Dowding vd., 1994; Bennet vd., 2011). Kırsal alanlarda ise çiftlikler, ahır ve mahsullerin depolandığı odalar gibi alanlar onların besin ihtiyacına uygun yerlerdir (Yabe vd., 1979; Nowak, 1999). Kırsal bölgelerde yaşayan ratlara kıyasla, kentsel ratlar genellikle daha yüksek bir büyüme oranına sahip ve cinsel olgunluğa daha hızlı bir şekilde ulaşır (McGuire vd., 2006). Tipik bir yetişkin siyah sıçan 15 ila 22 cm vücut boyu, 12.75 ila 18.25 cm tam boy uzunluğundadır. Vücut ağırlığı ise alt türlere bağlı olarak 75 ila 230 g arasında değişmektedir (Schwartz vd., 2001; Gillespie, 2004.). Hem kentsel hem de kırsal sıçanlarda, büyüme hızı yaşla birlikte azalır, ancak ergin kentsel sıçanlar yaşlandıkça kütle kazanmaya devam ederken, ergin kırsal sıçanlar ya aynı ağırlıkta kalır ya da kilo verir. Davis (1949), hem kentsel hem de kırsal popülasyonlara ait bireylerin aynı diyetle beslendiğinde aynı oranda büyüdüğünü ve aynı boyuta ulaştığını göstermiştir. Büyüme ve olgunlaşma oranları, değişken kaynak bolluğunun bir fonksiyonu olarak şehirlerarasında ve şehir içindeki farklı alanlar arasında değişebilmektedir (Glass vd., 1988).

Siyah sıçanların doğal besin kaynağını salyangozlar, eklembacaklılar, mantarlar, tohumlar, yapraklar, meyveler, çiçekler, ağaç kabuğu ve saplar gibi besinler oluşturmaktadır (Clark, 1980; Marsh, 1994). Bozkır alanlarda yaşayan *R. rattus*'un mide içeriğinde % 70 meyveler, % 15 eklembacaklılar, % 8 tohumlu meyveler, % 2 kök, % 1 çiçek, % 1 çimen yaprağı ve iz besinler olarak ($= < \% 1$) çeşitli tohumlar ve yapraklar tespit edilmiştir (Clark vd., 1982). Ancak sıçanlar çok çeşitli yiyeceklere adapte olabildikleri için besin tercihi büyük ölçüde mevcudiyetle belirlenir. Örneğin, kentsel yaşam durumunda doğal besin bulamayan sıçanlar için çöpte bulunan çürümüş yiyecekler bir besin kaynağıdır (Glass vd., 1988; Traweger ve Slotta-Bachmayr, 2005).

Kemirgenlerin birincil besin kaynağı olan bitki örtüsü ve omurgasızlardaki kirletici konsantrasyonları dikkate alınarak yapılan araştırmalar çevre kirliliği hakkında önemli bilgiler sağlanmıştır (Pereira vd., 2006). Karasal yaşam alanlarında rat ve fareler başta ağır metal olmak üzere inorganik kirleticiler, radyoaktif kirleticiler ve organik kirleticilerin oluşturdukları çevre kirliliğini ortaya çıkarmak için biyomonitör olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Wünschmann, 2002; Jankovska vd., 2009).

1.2. Mikrobiyata Üzerine Ağır Metallerin Etkisi

Laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan araştırmalarda özellikle ağır metallerin küçük memeli mikrobiyatasında önemli değişikliklere neden olduğu kaydedilmiştir. Breton vd. (2013), düşük konsantrasyonlarda (10 veya 20 mg / kg) ve yüksek konsantrasyonlarda (100 mg / kg) kadmiyum'a (Cd) maruz bırakılan sıçanlarda Firmicutes'in Bacteroidetes'e oranının önemli ölçüde azaldığını kaydetmiştir. Kadmiyum ile muamele edilmiş sıçanlarda, Bifidobacteri ve Lactobacilli gibi faydalı bakterilerin yoğunluğu önemli ölçüde azalırken, Clostridiales, Prevotella ve S24-7 gibi zararlı bakterilerin yoğunluğu arttırmıştır. Kadmiyum (Cd)'a maruz kalmanın, sıçanların bağırsak kanalındaki mikrobiyom üzerindeki etkisi birçok araştırmacı tarafından kaydedilmiştir (Liu vd., 2014; Fazeli vd., 2010). Benzer şekilde, Kurşun (Pb) ile muamele edilmiş sıçanlarda, *Lactococcus*, *Enterorhabdus* ve *Caulobacterales* yoğunluğu azalırken kilo ve diğer hastalıklarla ilişkili olan Desulfovibrionaceae, *Barnesiella* ve *Clostridium* bakterilerinin yoğunluğu artmıştır (Wu vd., 2016).

Krom'a (Cr) maruz bırakılmış sıçanlarda, Bacteroidetes ve Tenericutes oranı artmış ve Firmicutes oranı önemli ölçüde azalmıştır. Ancak Kurşun'a (Pb) maruz kalan sıçanlarda, Bacteroidetes ve Firmicutes oranlarının düştüğü görölmüştür (Wu vd., 2016). Sıçanlarda krom toksisitesinin azaltılması durumunda, probiyotik suşu *L. plantarum* TW1-1'in bağırsak mikrobiyotasının dengesinin korunmasında ve bağırsak bakterilerinin krom azaltma kabiliyetinin arttırılmasındaki kritik rolü vurgulanmıştır (Wu vd., 2017.) Probiyotiklerin, ağır metallerin indüklediği bağırsak mikrobiyotasının değişen kompozisyonunu ve fonksiyonunu geri kazanmada rol oynadığını göstermiştir. *L. reuteri* DSM17938 müdahalesi, düşük konsantrasyondaki Nikel (Ni) diyetli sıçanlarda, bağırsak mikrobiyotası dengesinin restorasyonuna ve laktik asit bakterilerinin (LAB) biyolojik çeşitliliğinin artmasına katkıda bulunmuştur (Randazzo vd., 2014).

Ağır metallerin toksisitesini azaltmak için kullanılan probiyotikler genellikle Lactobacil'dir (Monachese vd., 2012). Araştırmalar, Lactobacilli'nin akut ve kronik kadmiyum (Cd) toksisitesini azaltabildiğini, organizmaları pestisitlerin toksisitesine karşı koruyabildiğini ortaya çıkarmıştır (Kamaladevi vd., 2016; Trinder vd., 2016). Ayrıca antibiyotiklerin diyare ile ilişkili riskini azaltabileceğini ve bağırsak mikrobiyotasının yeniden dengelediğini göstermiştir (Hempel vd., 2012).

Diyetlerinde yüksek bakır seviyesi içeren (120 veya 240 mg / kg) sıçan gruplarında Christensenellaceae, Lachnospiraceae ve Allobaculum, Flavonifractor, Oscillospira, Blautia bakterilerinin popülasyon yoğunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Oscillibacter, Anaerotruncus, Peptococcus ve Dorea artarken, Allobaculum, Flavonifractor ve Oscillospira bolluğu cins düzeyinde 240 mg Cu / kg grubunda azalmıştır (Feng vd., 2017). Cins seviyesinde, 6 mg Cu / kg gruba kıyasla, yüksek bakır seviyesi içeren (120 veya 240 mg / kg) grupta Ruminococcaceae, Defluviitaleaceae, Peptococcaceae, Peptostreptococcaceae ve Turicibacter, Coprococcus, Blautia familyası ile ilişkili olan çoğu cinsin bolluğu artmıştır (Feng vd., 2017).

Bağırsak mikrobiyotasının metabolik aktivitesi, kirletici maddelerin indüklediği toksisitenin neden olduğu doku hasarı ve diğer hastalıklara karşı rol oynamaktadır (Pengya vd., 2019). Allobaculum'un dekstran sülfat sodyum kaynaklı inflamasyonu önlediği (Wang, 2015) ve ileal (ileum kaynaklı) bağışıklık markerleri ile pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Cox vd., 2014). Zackular, (2014), bağırsak mikrobiyotasında Ruminococcaceae ve Lachnospiraceae'nin artış göstermesinin, bu bakterilerin kolorektal kanserin teşhisinde mikrobiyom biyobelirteçleri olabileceğini bildirmiştir. Mikrobiyal çeşitlilik demir ile indüklenmiş ratlarda önemli ölçüde etkilenmiştir (Fang vd., 2018). Düşük bakteri çeşitliliği ve düşük Lachnospiraceae türleri, bağırsak iltihabıyla ilişkili ve kolite yatkınlık belirteci olarak kabul edilmiştir (Lepage vd., 2011; Brinkman vd., 2011). Demir (Fe) mikroorganizmalar için kritik bir mikro besin maddesi olmasına rağmen hayvan çalışmalarında aşırı demir takviyesinin bağırsak mikrobiyotasının disbiyosis'ine neden olduğu gösterilmiştir (Lee vd., 2008; Tompkins vd., 2001). Aşırı serbest demir, oksidatif stresi indükleyebilecek zarar verici serbest radikal türlerin üretimine katılabilir (Papanikolaou vd., 2005).

Yapılan çalışmalar yüksek demir içerikli diyetin, sıçan kalın bağırsağında kript hücre proliferasyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstererek ülseratif koliti şiddetlendirebileceğini ortaya koymuştur (Siegers vd., 1992; Carrier vd., 2006). Ratlarda 24 mg Fe uygulaması Ruminococcaceae UCG-014'ün bolluğundaki önemli bir artış, Lachnospiraceae FCS020 ve Allobaculum'un bol miktarda azalması bağırsak sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açmıştır. Aynı zamanda Enterobakterileri arttırdığı ve bağırsak iltihabını indüklediği bildirilmiştir (Jaeggi vd., 2015; Zimmermann vd., 2010).

Coprococcus 1' in kontrol grubuna göre görülen anlamlı artışın, büyük olasılıkla metabolik yollarındaki hidrojenazlar gibi demir bağımlı enzimlerden dolayı olduğu görülmüştür (Calusinska vd., 2010).

1.3. Zirai İlaçların Mikrobiyota Üzerine Etkisi

Bağırsak mikrobiyotasındaki bakteriler insektisit direnci ile ilişkilendirilmiştir (Dada vd., 2018). Malathion, diazinon ve glifosat pestisitlerin önemli üç temsilcisidir. Diazinonun bağırsak mikrobiyomu üzerine etkisi cinsiyetlere göre sıçan modellerinde incelenmiştir. Spesifik olarak, Bacteroidaceae, Burkholderiales, Clostridiaceae ve Erysipelotrichaceae'e ait *Coprobacillus* dâhil olmak üzere birçok bakteri cinsi sadece erkek sıçanlardaki mikrobiyomlarda tespit edilmiştir. *Lachnospiraceae*, *Butyrivibrio*, *Lachnospiraceae*, *Shuttleworthia*, *Staphylococcaceae* bakterileri diazinon uygulanmasından sonra erkek sıçanlarda tamamen yok oldukları rapor edilmiştir (Gao vd., 2017). Diğer bir yaygın pestisit türü olan organoklorik pestisit (OCP)'in, hayvanlarda bağırsak florası, lipit metabolizması, doku ve vücut ağırlığına zararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Sıçanlarda, organoklorik pestisit; Firmicutes ve Proteobacteria popülasyonlarının artmasına Bacteroidetes, Verrucomicrobia ve Actinobacteria popülasyonunun azalmasına neden olmuştur (Liu vd., 2017). Bir diğer pestisit türü Permetrin, sıçanlarda diyet yoluyla uygulandığında, *Bacteroides prevotella* ve *B. porphyromonas* türlerinin popülasyonunda azalmaya ve fekal mikrobiyotada Enterobacteriaceae ve Lactobacillus'un popülasyonunun artışa neden olmuştur (Nasuti vd., 2016). Sıçanların beslenme kaynağı olan mantarları engellemek için tarımda yaygın olarak kullanılan İmidazol uygulanan sıçanların mikrobiyomunda, Lactobacillus ve Bifidobacterium'un popülasyonu azalırken, Deltaproteobacteria ve Desulfovibrio'nun miktarı İmidazol uygulamasına cevap olarak artmıştır (Kan vd., 2015).

Zararlı eklembacaklılara karşı kullanılan bir insektisit türü olan Chlorpyrifos'un sıçanlar üzerinde 9 hafta uygulandıktan sonra bakteriyel cinsler arasında farklı paternler oluşturularak sıçanlarda bağırsak mikrobiyotası üzerinde etkiler yarattığı görülmüştür (Fanga vd., 2018). Normal diyet ile beslenen sıçanlarda klorpirif (organofosfat pestisit)'lerden etkilenen 12 bakteri cinsinden belirgin bir şekilde; sadece Sutterella cinsi bakterilerin klorterrifos ile iki kattan daha fazla zenginleştiği görülmüştür.

Ayrıca düşük klorpirifos dozu, Allobaculum, Candidatus Saccharimonas, Coprococcus, Anaeroplasm, Roseburia ve Sutterella 'da artışa Pseudoflavonifractor, Anaerosporobacter, Aerococcus, Brevundimonas ve Trichococcus' da azalmaya neden olmuştur (Fanga vd., 2018).

Memeliler çevresel kirleticilere oral, inhalasyon ve deri yolu ile maruz kalmaktadır. Kıl ve deri, kirletici maddelere karşı önemli bir engel sağlasa da rodentlerin genellikle kontamine olmuş besinler aracılığı ile ağır metaller ve zirai kimyasallara maruz kalmaktadır. Solunum yolu ile maruz kalma ise ancak zamanının çoğunu toprak altında geçiren bazı türler için önemli bir maruz kalma yoludur (Smith vd., 2007; Beernaert vd., 2008).

1.4. Bağırsak Mikrobiyotasında Yaygın Olarak Bulunan Bakteriler

Memeli mikrobiyotası farklı hayvan türlerinde farklı kompozisyonlara sahip olup anatomik ve beslenme alışkanlıklarına (omnivor, karnivor, herbivor) bağlı olarak oldukça karmaşık ve geniştir (Flemer vd., 2016). İnsan ve sıçanlara ait mikrobiyal sekans verilerine göre her ikisinde de benzer olarak Firmicutes ve Bacteroidetes (% 93) türlerinin baskın olduğu tespit edilmiştir (Leala vd., 2019). Laboratuvar ratlarının kullanıldığı diğer araştırmalarda da farelere göre rat bağırsak mikrobiyotasının insanlara daha çok benzediği doğrulanmıştır (Albert vd., 2008; Manichanh vd., 2010). Bununla birlikte kentsel yaşam alanlarındaki yabancı sıçanların patojenik bakterisi (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio spp.*, *Coccidia ve Eimeria spp.*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*) kaynağı olduğu bilinmektedir (Battersby and Webster 2001; Guenther vd., 2012; Himsworth vd., 2015).

1.4.1. Bacteroidetes

Bacteroidetes şubesi, toprakta, çökeltilerde, deniz suyunda, bağırsaklarda ve hayvanların derisi de dâhil olmak üzere çevrede yaygın olarak bulunan üç büyük Gram negatif, şekilsiz, anaerobik veya aerobik ve çubuk şeklindeki bakteri sınıfından oluşur. Bazı Bacteroides türleri fırsatçı patojenler olsa da, birçok Bacteroidetes, gastrointestinal sisteme yüksek oranda bulunan simbiyotik türlerdir. Bacteroidetes bağırsaklarda çok fazla miktarda bulunur. Proteinlerin veya kompleks şeker polimerlerinin parçalanması gibi konakçı için gerekli olan metabolik dönüşümleri gerçekleştirirler. Anne sütündeki sindirilmeyen oligosakaritler her ikisinin de büyümesini desteklediğinden Bacteroidetes

ve Bifidobacterium türleri zaten bebeklerde bulunan gastrointestinalde bulunmaktadır. Böylece spesifik etkileşimler yoluyla konağın immün sistemi tarafından seçici olarak tanınır (Rajilić-Stojanović vd., 2014).

1.4.2. Firmicutes

Firmicutes çoğu gram-pozitif hücre duvarı yapısına sahip olan bir bakteri şubesini oluşturmaktadır. Bununla birlikte, Megaspheera, Pectinatus, Selenomonas ve Zymophilus gibi birkaçı, gram-negatif boyanmalarına neden olan gözenekli bir sahte dış zara sahiptir. Genellikle cocci (tekil coccus) veya çubuk benzeri formlarda (basil) hücre yapısına sahiptir. Birçok Firmicute, kurumaya dirençli olan ve aşırı koşullara dayanabilen endosporlar üretir (Ley vd., 2006-a). Çeşitli ortamlarda bulunurlar ve grupta bazı önemli patojenler bulunur. Bu aile üyelerinden heliobakteriler, anoksijenik fotosentez yoluyla enerji üretir. Firmicutes, farenin ve insan bağırsağı mikrobiyomunun en büyük bölümünü oluşturur (Ley vd., 2006-b). Bağırsak florasının bir parçası olarak Firmicutes bölümünün enerji emiliminde rol oynadığı ve potansiyel olarak diyabet ve obezite gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ley vd., 2005).

Sağlıklı yetişkin insanların bağırsaklarında, bol miktarda bulunan (toplam bağırsak mikrobiyosunun % 5'i) *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*), Firmicutes şubesinin bir üyesidir. Bu tür doğrudan obezitede düşük dereceli inflamasyonla ilişkilidir (Chakraborti, 2015). Daha yüksek Firmicute miktarları, farelerde daha fazla yağlanma ve vücut ağırlığı ile de ilişkilendirilmiştir (Turnbaugh, 2008). Spesifik olarak, obez farelerde, Mollicutes sınıfı (Firmicutes şubesi) en yaygın olanıdır. Yüksek Firmicutes bolluğuna sahip olan obez farelerin mikrobiyotası, obez olmayan farelerin bağırsaklarına nakledildiğinde, kontrol grubu mikrobiyotası nakledilenlere kıyasla önemli miktarda vücuttaki yağ oranını artmıştır (Million, 2013).

1.4.3. Proteobacteria

Proteobakteriler Gram negatif olup (bazıları pratikte Gram pozitif veya Gram değişkeni tarafından boyanabilir) esasen lipopolisakaritlerden oluşan bir dış membrana sahiptir. Flagella kullanımıyla hareket edebilirler ancak bazıları hareketsizdir. Metabolizma türlerinde geniş bir çeşitlilik mevcuttur. Çoğu üye fakültatif veya zorunlu olarak anaerobik, kemolitototopofik ve heterotrofiktir, ancak çok sayıda istisna ortaya

çıkar. "Proteobakteriler", kadınlarda alt üreme sisteminin mikrobiyota dengesizliği ve iltihap ile ilişkilidir (Bennett, 2015).

1.4.4. Aktinobacteria

Aktinobakteriler, karasal veya sucul olabilen Gram pozitif bakteri şubelerini oluşturur. (Servin vd., 2008). Toprakta, mantarlar gibi davranarak ölü organizmaların organik maddelerinin ayrışmasına yardımcı olurlar. Actinomycetales (actinomycetes), kolonilerin sıklıkla bir mantar gibi geniş miseller oluşturması bu bakteri üyelerinin uzun süre mantar olduğunu düşündürmüştür.

Bazı toprak Actinobacteria'ları (Frankia gibi), kökleri toprağı saran bitkilerle simbiyotik olarak yaşar ve bitkinin sakkaritlerine erişim karşılığında bitkiler için nitrojen sağlar. *Mycobacterium* cinsinin birçok üyesi gibi diğer türler önemli patojenlerdir. Actinobacteria'ya toprakta sağladığı faydanın dışında henüz hakkında çok fazla bilginin bulunmadığı bir gruptur. Birincil olarak toprak bakterileri olarak anlaşılmış olmasına rağmen, tatlı sularda daha fazla bulunabilirler (Ghai vd., 2011). Actinobacteria baskın bakteriyel şubelerden biridir ve en büyük bakteri cinslerinden biri olan *Streptomyces*'i içerir.

Tıbbi veya ekonomik öneme sahip çoğu Actinobacteria, Actinomycetales sınıfına ait, Actinobacteridae alt sınıfındadır. Bazıları insanlarda hastalığa neden olurken, *Streptomyces* antibiyotik kaynağı olarak dikkat çekmektedir. Actinobacteria'lar, özellikle *Streptomyces*, tıpta insanlar için faydalı olan birçok biyoaktif metabolitin üreticisi olarak tanınır. Antibakteriyeller, antifungaller, antiviraller, antitrombotikler, immüno-karıştırıcılar, antitümör ilaçlar ve enzim inhibitörleri, insektisitler, pestisitler, herbisitler, antifungal, bitki ve hayvanlar için büyümeyi teşvik edici maddeler dâhil olmak üzere tarımda birçok zirai ilaç üretiminde de kullanılmaktadır (Bressan, 2003, Atta, 2009).

1.4.5. Verrucomicrobia

Bu şube sadece birkaç tane tanımlanmış tür içerir (Örneğin; *Verrucomicrobium spinosum*). Tespit edilen türler; tatlı su, deniz ve toprak ortamlarından ve insan dışkısından izole edilmiştir. Gametlerinde yaşayan nematodların ekstrüzyon patlayıcı ektosimbiyoları ve endosimbiyomları da dâhil olmak üzere ökaryotik konaklarla birlikte yaşayan henüz laboratuvar şartlarında kültüre edilmemiş bir dizi tür tanımlanmıştır.

Genellikle ellerde ve ayaklarda bulunan siğiller için Verrucae ismi kullanılsa da, bu isim siğil nedeni olduklarından değil benzer morfolojisi nedeniyle verilmiştir (Cho vd., 2004).

1.4.6. Spirochaetes

Spirochaete, çoğu uzun, heliksel olarak sarılmış (tirbuşon şeklinde veya spiral) hücrelere sahip ayırt edici didermal (çift membranlı) bakteriler içeren Spirochaetes'in bir üyesidir (Ryan vd., 2004). Doğada kemoheterotrofik olan Spirochaetler' in uzunlukları 3 ila 500 µm arasında ve çapları yaklaşık 0,09 ila en az 3 µm arasındadır (Margulis vd., 1993). Spirochaetler, diğer bakteriyel filamanlardan, flagellalarının bakteri iç zarı ile dış zarı arasında uzunlamasına uzanan aksenal filamentler olarak konumlanmaları ile ayırt edilirler. Bu yapılar, Spirochaete'nin hareket etmesini sağlayan bükülme hareketine neden olur. Spirochaete eşeysiz enine ikili bölünmeyle çoğalır. Spirochaet'lerin çoğu serbest yaşayan ve anaerobiktir, ancak çok sayıda istisna vardır. Spirochaetes bakterileri patojenik kapasiteleri ve yaşadıkları ekolojik ortamların yanı sıra guanin-sitozin içeriği ve genom büyüklüğü gibi moleküler özelliklerde çeşitlilik gösterir (Paster, 2011).

1.4.7. Synergistia

Sinerjist'lerin iki katlı hücre zarfı olmasına rağmen, lipopolisakarit biyosentezinde yer alan çeşitli proteinlerden yola çıkılarak, normalin dışında bir dış hücre zarfına sahip olabileceklerini belirtilmektedir fakat Sinerjist'lerde henüz hücre zarfı tam olarak tespit edilmemiştir (Gupta, 2011; Sutcliffe, 2010).

Sinerjistler, hayvan gastrointestinal yolları, toprak, petrol kuyuları ve atık su arıtma tesisleri de dâhil olmak üzere anaerobik ortamların çoğunda yaşarlar ve aynı zamanda kistler, apseler ve periodontal hastalık gibi insan hastalıkları bölgelerinde de bulunurlar (Gay vd., 2007). Hastalıkla ilişkili dokularda var olmalarından dolayı, Synergistet'lerin fırsatçı patojenler olduğu öne sürülmektedir, ancak sağlıklı bireylerde umbilikusun (göbek deliği) mikrobiyomunda ve normal vajinal florada da bulunabilirler (Marchandin vd., 2010). Bu şube içindeki türler ayrıca periodontal hastalık, gastrointestinal enfeksiyonlar ve yumuşak doku enfeksiyonlarında da gösterilmiştir (Horz vd., 2006).

Şubeye ait diğer türlerin, anaerobik çürütücülerde biyogaz üretimi için organik yapıların bozulmasına önemli katkıları olduğu ve hidrojen gazı üretimi yoluyla yenilenebilir enerji üretiminde kullanım için potansiyel adaylar olduğu tespit edilmiştir (Riviere vd., 2009). Bilinen Synergistetes türlerinin ve cinslerinin tümü şu anda tek bir sınıf (Synergistia), takım (Synergistiales) ve ailesinin (Synergistaceae) bir parçasıdır (Jumas-Bilak vd., 2009).

1.4.8. Mollicutes

Mollicutes, hücre duvarının yokluğuyla ayırt edilen bir bakteri sınıfıdır. "Mollicutes" kelimesi Latin mollis ("yumuşak" veya "bükülebilir" anlamına gelir) ve cutis ("cilt" anlamına gelir) kelimesinden türemiştir. Bireyler çok küçüktür, tipik olarak sadece 0.2-0.3 µm (200-300 nm) boyutundadır ve çok küçük bir genom boyutuna sahiptir. Çoğu, hücre zarını biraz daha sert kılan sterollere sahip olmasına rağmen, formları değişmektedir. Birçoğu kayma ile hareket edebilir, ancak *Spiroplasma* cinsinin üyeleri sarmal şekilde ve bükülerek hareket ederler. Mollicutes'deki en iyi bilinen cins *Mycoplasma*'dır (Razin vd., 1998).

Mollicutes, konağın hücrelerinde veya içinde yaşayan çeşitli hayvan ve bitkilerin parazitleridir. Birçoğu insanlarda hastalıklara, solunum veya ürogenital yollardaki hücrelere, özellikle de *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* türlerine bağlanır. Fitoplazma ve Spiroplazma, böcek vektörleri ile bağlantılı bitki patojenleridir (Wolf vd., 2004).

1.4.9. Fusobacteria

Fusobacteria, zorunlu olarak anaerobik, spor yapmayan Gram-negatif basillerdir. Asakolitik yapıları ve rutin biyokimyasal testlerde genel olarak olumlu sonuçların azlığı nedeniyle Fusobacteria'ların laboratuvarında tanımlanması oldukça zordur. Bununla birlikte, yeni moleküler biyolojik tekniklerin taksonomiye uygulanması, *Fusobacterium necrophorum* ve *F. nucleatum*'un alt türleriyle birlikte bir dizi yeni tür oluşturmuş ve tanımlanması için yeni yöntemler sağlamıştır. Fusobakterilerin doku nekrozu ve septisemiye neden olan geniş bir insan enfeksiyonu spektrumuna dâhil olduğu bilinmektedir. Yakın zamanda amniyotik enfeksiyonlarda, erken doğum ve tropik ülserlerdeki önemleri bildirilmiştir. Açıklanan yeni türler arasında tropikal ülserlerden *F. ülserans* ve ağız boşluğundan birkaç türü tespit edilmiştir. *F. necrophorum* ve *F.*

nucleatum'un alt türlerinin tespiti de mümkün olmuştur. Fusobakterilerin taksonomisinin gelecekte daha da geliştirilebileceği muhtemeldir (Bennett vd., 1993).

Bu araştırmada farklı habitatlarda yayılış gösteren *Rattus rattus* türünde tespit edilen mikrobiyal farklılıklar, yayılış alanlarındaki çevresel kirleticilerin de etkisi dikkate alınarak incelenmiştir. Farklı beslenme ve ekolojik faktörlerde yaşayan bu üç grubun bağırsak mikrobiyotaları tanımlanarak karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Hayvan Örneklerinin Hazırlanması

Bu araştırmada iki farklı habitattan (kentsel ve kırsal) yakalanan *Rattus rattus* türüne ait yabancı bireyler ve laboratuvar ratlarının bağırsak mikrobiyotası 16S rRNA yeni nesil dizileme tekniği ile tespit edilerek karşılaştırılmıştır. Çevresel faktörlerin mikrobiyota üzerine etkisini belirleyebilmek için oluşturulan kentsel yaşam alanı grubunu (RH1) Bilecik ilinin sanayi bölgesinden alınan örnekler, kırsal yaşam alanı grubunu (RH2) tahıl ambarları ve hayvan çiftliklerinden alınan örnekler oluşturmaktadır (Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, izin no: 21264211-288.04-E.3311026). Laboratuvar ratları grubu (RL) ise Aydın Adnan Menderes Üniversitesi TPF17040 proje numaralı çalışmadan temin edilmiştir.

Mikrobiyal analizler 3 gruptan (RH1, RH2, RL) 4♂'er bireyin anüs ve rektum yolu üzerinden alınan taze dışkı örneği ve epitel süprüntüsü örneklerinden yapılmıştır. Toplam 12 mikrobiyota örneği steril falkonlarda moleküler analizler için -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Mikrobiyotada eşeyssel varyasyonları önlemek için dişi bireyler araştırmaya dâhil edilmemiştir. 16S rRNA yeni nesil dizileme aşamaları Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi tarafından desteklenen 2019-01.BŞEÜ.01-01 no'lu projede hizmet alımı ile (Ficus Biyoteknoloji) gerçekleştirilmiştir.

2.2. DNA İzolasyonu

Zymo Research firmasına ait "Quick-DNA TM Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit, Cat. No.: D6010" kullanılarak yapılmıştır. İzole edilmiş DNA'nın miktar ve saflığı florometrik olarak Qubit ile tayin edilmiştir.

Optimum performans için, genomik Lizis Tamponuna beta-merkaptotanol (kullanıcı tarafından sağlanan) ilave edilerek % 0,5 (h / h), yani 100 ml başına 500 ul nihai dilüsyona eklenmiştir.

1. Bir ZR BashingBead™ Lizis Tüpüne (0,1 ve 0,5 mm) 150 mg dışkı örneği eklendi, Tüp 1'e 750 µl BashingBead™ Tampon eklendi.
2. ZR BashingBead™ Lizis Tüpünü (0,1 ve 0,5 mm) 1 dakika boyunca $\geq 10,000$ x g'de bir santrifüjlendi.
3. Bir Toplama Tüpündeki Zymo-Spin™ III-F Filtresine 400 µl süpernatant aktarıldı ve 1 dakika boyunca 8000 x g'de santrifüjlendi.

4. Toplama Tüpündeki süzüntüye 1.200 ul Genomik Lizis Tamponu eklendi.
5. Karışımın 800 ul'sini bir Toplama Tüpünde Adım 5'ten Zymo-Spin™ IICR Sütun 4'e aktarıldı ve 1 dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüjlendi.
6. Toplama Tüpünden geçen sıvı atıldı ve 5. Adım tekrarlandı.
7. Yeni bir Toplama Tüpünde Zymo-Spin™ IICR Kolonuna 200 µl DNA Ön Yıkama Tamponu eklendi ve 1 dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüjlendi.
8. Zymo-Spin™ IICR Kolonuna 500 µl g-DNA Yıkama Tamponu eklendi ve 1 dakika boyunca 10.000 x g'de santrifüjlendi.
9. Zymo-Spin™ IICR Kolonunu temiz bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve doğrudan sütun matrisine 100 µl (minimum 50 µl) DNA Elüsyon Tamponu eklendi. DNA'yı elüt etmek için 10,000 x g'de 30 saniye santrifüjlendi.
10. Temiz bir Toplama Tüpüne bir Zymo-Spin™ III-HRC Filtre yerleştirildi ve 600 µl Prep Solüsyonu eklendi. 3 dakika 8,000 x g'de santrifüjlendi.
11. Elute edilmiş DNA hazır bir Zymo-Spin™ III-HRC Filtresine temiz bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve tam olarak 16.000 x g'de 3 dakika santrifüjlendi.

2.3. 16S rRNA V3-V4 Bölgesinin Amplifikasyonu

Tür tayininde kullanılacak olan 16S rRNA genine ait V3-V4 bölgeleri 341F-805R primer dizileri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi kullanılarak yapılmıştır; Reaksiyon karışım oranları her bir örnek için toplam 25 µl olacak şekilde aşağıdaki gibi hazırlanmış ve tüpler termal cyclus cihazına yerleştirilerek programlanmıştır.

Çizelge 1 Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan bileşenler ve miktarları.

PCR bileşenleri	Miktar (µl)
10x tampon	2.5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	0.65 µl
dNTP (10 mM)	0.5 µl
İleri primer	0.5 µl
Geri primer	0.5 µl
Taq polimeraz enzimi	0.4 µl.
dH ₂ O	18.35 µl
DNA	1 µl

2.4. Kütüphane Hazırlama Ve Dizileme İşlemi

16S rRNA V3-V4 amplicon ürünleri dizileme işleminden önce ABMGood firmasına ait “Column -Pure PCR Clean-Up Kit, Cat. No.: D509” ile saflaştırıldı. 16S rRNA V3-V4 amplicon ürünleri için kütüphane hazırlama Illumina'nın “Nextera XT DNA Library Prep Kit, Cat. No.: FC-131-1096” ile index işlemi ise “TG Nextera XT Index Kit v2 Set A (96 Indices, 384 Samples), Cat. No.: TG-131-2001” ile yapıldı. Dizileme işlemi Illumina Miseq platformu ile paired-end (PE) 2x150 olarak yapıldı.

2.5. Ham Verinin Biyoinformatik Analizi

Ham veri okumaları (FASTQ), Kraken Metagenomik sistemi ile OTU sınıflarına ayrılmıştır. Kraken uygulaması, yüksek hassasiyet ve hızda kısa DNA sekanslarına taksonomik etiketler atar (Wood, D. E., & Salzberg, S. L. 2014).

2.6. Raporlama ve Grafiğe Dönüştürme

Örneklerdeki bakteriyal dağılım ve çeşitlilik çizelge ve grafikler halinde sunulmuştur. Ayrıca, OTU sınıflarından elde edilen veriler GraphPad Prism 7 programı ile istatistiksel analizleri yapılarak düzenlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen veriler grafik formatına dönüştürülerek incelenmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Bakteriyal Çeşitlilik Analizleri

Kentsel yaşam alanından alınan *Rattus rattus* (RH1), Kırsal yaşam alanından alınan *Rattus rattus* (RH2) ve Laboratuvar ratları (RL) olmak üzere tüm gruplar arasındaki bağırsak mikrobiyotasında belirlenen bakteriyal tür çeşitliliği (diversity index) analiz edilmiştir (Çizelge 1). Mikrobiyota çalışmalarında tür çeşitliliği, mikrobiyal topluluk içerisindeki türlerin miktarları ile tanımlanmaktadır. Toplulukta bir türün veya türlerin baskın olarak bulunması o topluluğun toplam çeşitliliğini azaltmaktadır. Bakteriyal topluluğu oluşturan türlerin eşit miktarlarda bulunması durumunda ise tür çeşitliliği artmaktadır. Öte yandan tür zenginliği; tür miktarları önemsenmeden bir mikrobiyal toplulukta toplam kaç farklı türün olduğunu ifade etmektedir. Bu tanımlara göre araştırma sonuçlarından elde edilen tür çeşitliliği ve tür zenginliği değerleri, habitat farklılıklarına bağlı olarak gruplar arasında değişkenlik göstermektedir. Örneklerdeki toplam OTU'ların minimum, ortalama ve maksimum sayısı (Çeşitlilik Eğrisi), örnekler arasındaki benzerlik ve farklılıklar (PCoA plot), örneklerdeki tür zenginliği (richness), sırasıyla Şekil 1, 2 ve 3'de incelenmiştir.

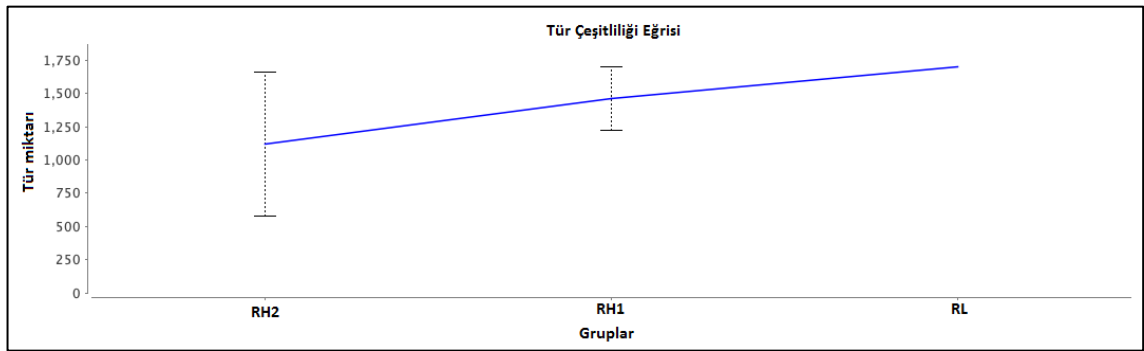
Çizelge 2: Gruplardaki tür seviyesinde çeşitliliği gösteren Shannon ve Simpsons hesaplamalarının değerleri (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

TÜR SEVİYESİNDE ÇEŞİTLİLİK

Grup	Shannon Index (H) / (H / LN (N))*	Simpsons Index (D-1)*
RH1	3.841 / 0.5631	0.9485
RH2	3.766 / 0.5159	0.9223
RL	4.592 / 0.6749	0.9791

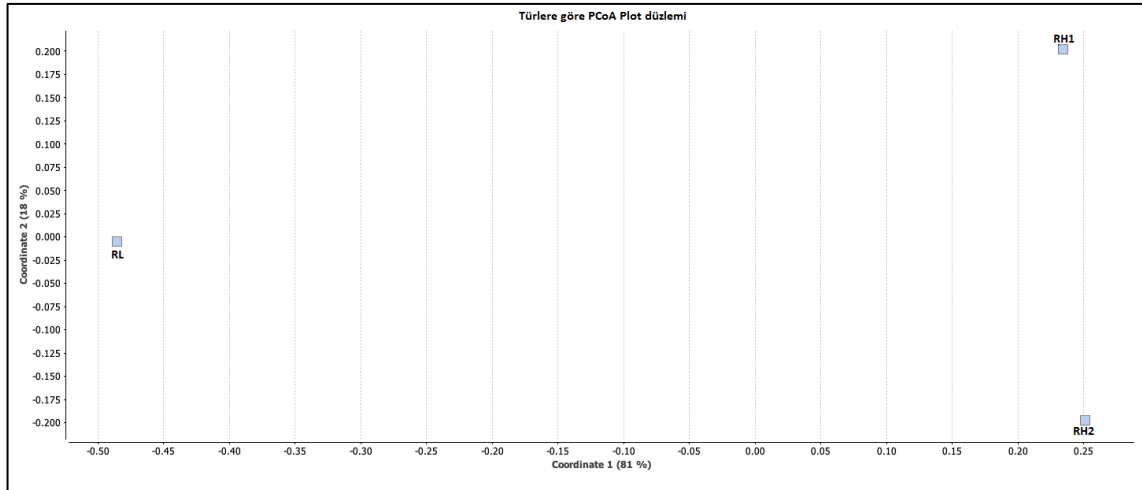
*Örneklerdeki tür çeşitliliğini gösterir. Simpsons indeksi 0-1 arasında bir değer alır. 1 çeşitliliği, 0 ise çeşitlilik yok anlamına gelir. Shannon indeksi genellikle 1,5-3,5 arasında bir değer alır ve bu indeks arttıkça çeşitlilik de artar.

Tür seviyesinde tespit edilen tür çeşitliliği istatistiksel olarak anlamlandırabilmek için tüm bakteri türlerinde Shannon ve Simpsons değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 1). Bu değerler herhangi bir popülasyondaki tür çeşitliliğini yansıtır (Feng vd., 2017). Bu verilere bakılarak RL (Laboratuvar ratları) grubu (Shannon index: 4.592), RH1 ve RH2 gurubuna (yabani ratlar) göre daha farklı türdeki popülasyonları içererek en yüksek tür çeşitliliğine sahiptir. Kentsel yaşam alanlarındaki örnekleri içeren RH1 grubu (Shannon index: 3.841) ile kırsal yaşam alanlarındaki örnekleri içeren RH2 grubunda (Shannon index: 3.766) yakın değerler tespit edilmiştir.



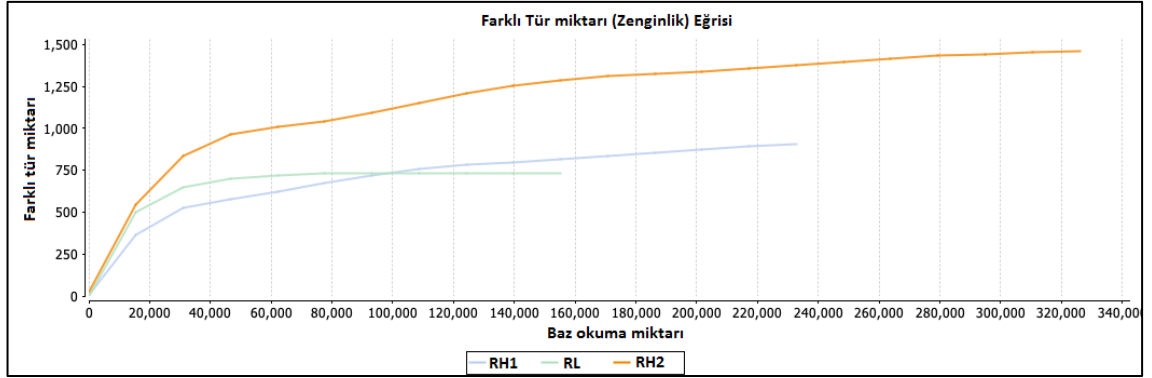
Şekil 1: Gruplar arasındaki mikrobiyotada tür popülasyonlarının dağılımı hesaplanarak elde edilen tür çeşitliliği (diversity indeks) eğrisi.

Tür çeşitliliği eğrisine göre mikrobiyotayı oluşturan bakteri türleri ve popülasyon içerisindeki yüzdeleri göz önüne alındığında laboratuvar ratlarında çok sayıda türün yüksek miktarlarda bulunması Shannon ve Simpsons değerleri ile desteklenmektedir. Laboratuvar ratlarında bakteri türlerinin popülasyon içerisindeki dağılımına göre tam bir baskın türün olmadığı, çeşitliliğin diğer deney gruplarına göre oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. (Şekil 1).



Şekil 2: Gruplardaki tür çeşitliliğini anlamlandırarak pCoA Plot tekniği ile oluşturulan benzerlik düzlemi.

Şekil 2’ de yer alan pCoA plot tekniği ile karşılaştırılan mikrobiyota profilleri RH1 ve RH2 grubu için benzer bir düzeydedir. Yabani örnekler koordinat 1 eksenine göre pozitif değerler alırken, laboratuvar ratlarına ait mikrobiyota profili negatif değer almaktadır. Ancak RH1 ve RH2 gruplarının birbirinden çok uzak bölgelerde yer aldığı görülmektedir. Koordinat 2 eksenine bakıldığında ise RL ve RH2 grubunun negatif değerler aldığı, RH1 grubunun ise pozitif değer aldığı tespit edilmiştir. RL ve RH2 grupları negatif değerler almasına rağmen, bu değerler birbirine uzak noktalardadır. Mikrobiyotayı oluşturan türler ve bu türlere ait bakteri popülasyonları farklı habitatlara sahip gruplarda değişkenlik göstermiştir.



Şekil 3: OTU'ların okunma sayısına göre farklı türlerin (popülasyon miktarları önemsenmeden) sayısını gösteren tür zenginliği (richness) eğrisi (Eğer, bu eğri platoya ulaşırsa, örneklerdeki tür çeşitliliğinin nadir türler ile birlikte temsil edildiğini gösterir).

Tür zenginliği eğrisi mikrobiyotada bulunan bütün bakteri türlerinin sayısını temsil etmektedir (Şekil 3). Bu verilere göre, RH2 grubunda ≈ 1200 farklı tür, RH1 grubunda ≈ 750 farklı tür, RL grubunda ise ≈ 600 farklı tür olduğu belirlenmiştir. Gruplar arasındaki tür zenginliği karşılaştırıldığında; RH2'nin tür bakımından en zengin grup olmasının yanı sıra RH1 grubundaki tür zenginliğinin daha az olduğu ve en düşük zenginlik içeren grubun RL olduğu tespit edilmiştir.

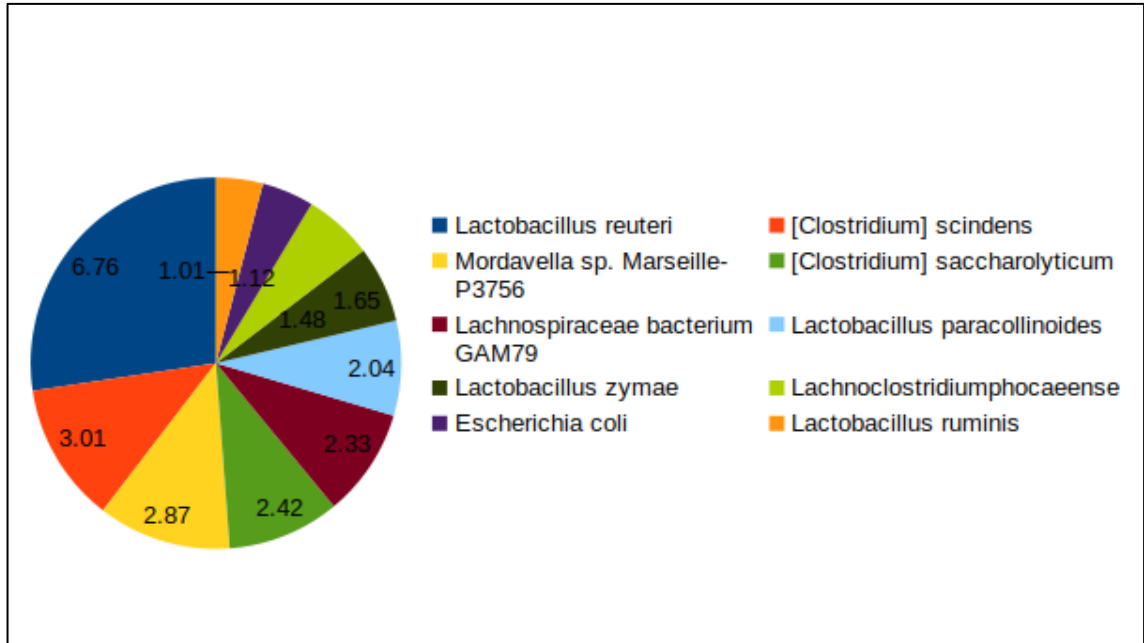
3.2. Tür Seviyesinde Taksonomik Dağılımlar

Ekolojik faktörlerin bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklere olan etkisi kentsel (RH1) ve kırsal (RH2) yaşam alanlarından alınan örnekler ile laboratuvar ratları (RL) örneklerinde karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında belirlenen, tür seviyesinde en yüksek okuma dizisi bulunan 10 türe ait bakteriyel dağılım Çizelge ve dairesel grafikler hazırlanarak gösterilmiştir (Çizelge 2, Şekil 4-7).

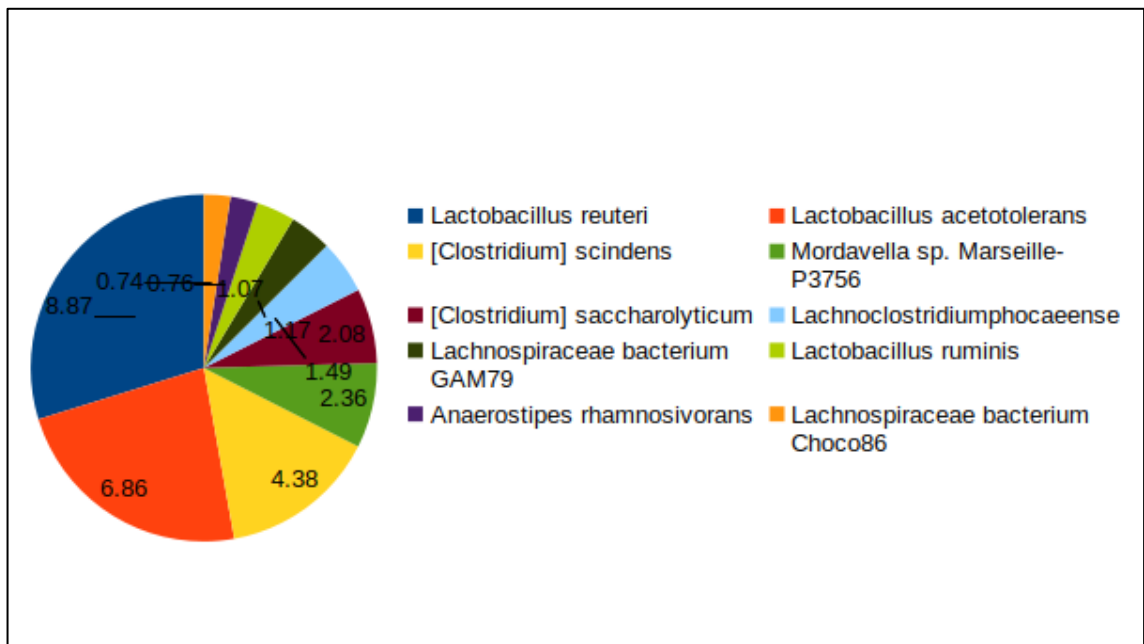
Çizelge 3 : Tür düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

Tür	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
<i>Lactobacillus reuteri</i>	37973	6.76	65633	8.87	-	-
[<i>Clostridium</i>] <i>scindens</i>	16898	3.01	32435	4.38	-	-
<i>Mordavella sp. Marseille P3756</i>	16131	2.87	17463	2.36	-	-
[<i>Clostridium</i>] <i>saccharolyticum</i>	13600	2.42	15399	2.08	-	-
<i>Lachnospiraceae bacterium GAM79</i>	13090	2.33	8639	1.17	4732	1.26
<i>Lactobacillus paracollinoides</i>	11480	2.04	-	-	-	-
<i>Lactobacillus zymae</i>	9280	1.65	-	-	-	-
<i>Lachnoclostridium hocaense</i>	8301	1.48	11052	1.49	-	-
<i>Escherichia coli</i>	6315	1.12	-	-	-	-
<i>Lactobacillus ruminis</i>	5685	1.01	7929	1.07	-	-
<i>Lactobacillus acetotolerans</i>	-	-	50722	6.86	-	-
<i>Anaerostipes rhamnosivorans</i>	-	-	5657	0.76	-	-
<i>Lachnospiraceae bacterium Choco86</i>	-	-	5485	0.74	-	-
<i>Duncaniella sp. B8</i>	-	-	-	-	8283	2.2
<i>Flavonifractor plautii</i>	-	-	-	-	7565	2.01
<i>Muribaculum intestinale</i>	-	-	-	-	7420	1.97
<i>Intestinimonas butyriciproducens</i>	-	-	-	-	6225	1.66
<i>Candidatus Saccharimonas aalborgensis</i>	-	-	-	-	5841	1.55
<i>Clostridiales bacterium CCNA10</i>	-	-	-	-	5757	1.53
<i>Marinilactibacillus sp. 15R</i>	-	-	-	-	5739	1.53
<i>Oscillibacter valericigenes</i>	-	-	-	-	4782	1.27
<i>Faecalibaculum rodentium</i>	-	-	-	-	4438	1.18

Yabanıl yaşam alanından alınan rat (RH1 ve RH2) örneklerinin mikrobiyotası tür düzeyinde benzer profiller göstermektedir. *Lactobacillus reuteri* türü RH1 grubu için % 6.76 ve RH2 grubu % 8.87 oranlarıyla yabanıl yaşam örneklerinde tür düzeyinde en yoğun bulunan bakteri çeşididir. Benzer şekilde [*Clostridium*] *scindens*, *Mordavella sp. Marseille P3756*, [*Clostridium*] *saccharolyticum*, *Lachnospiraceae bacterium GAM79* cinsleri de her iki grup için en yüksek yüzdeliğe sahip ilk 5 bakteri türüdür. Bu türler arasında sadece *Lachnospiraceae bacterium GAM79* türü, laboratuvar hayvanları grubu için (RL) en yüksek yoğunluklara sahip on bakteri türünde ortak olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4: Kentsel yaşam alanından alınan *Rattus rattus* (RH1) grubuna ait en yüksek 10 bakteri türünün yüzdeleri dağılım grafiği.

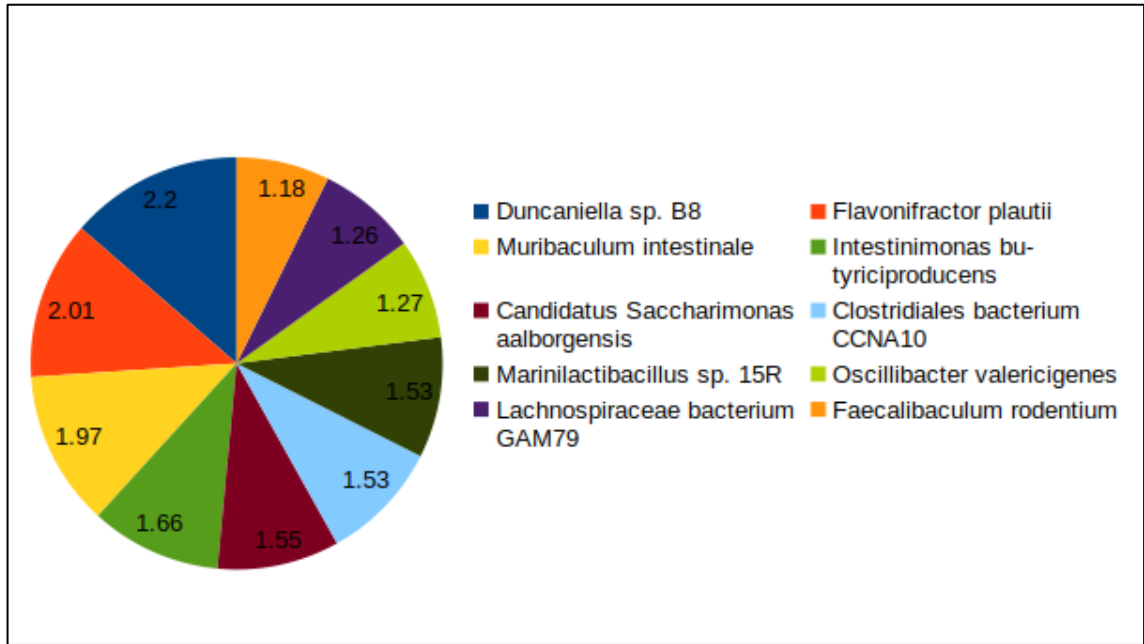


Şekil 5: Kırsal yaşam alanından alınan *Rattus rattus* (RH2) grubuna ait en yüksek 10 bakteri türünün yüzdeleri dağılım grafiği

Ekolojik farklılığa bağlı olarak mikrobiyotadaki değişimler dikkate alındığında, RH1 (Kentsel yaşam) grubu için *Lactobacillus reuteri* türünün RH2 (Kırsal yaşam alanı) grubuna göre daha az bulunmuştur (sırasıyla, 6.76, 8.87). Aynı zamanda RH1 grubu için *Lactobacillus paracollinoides*, *Lactobacillus zymae*, *Escherichia coli*

türlerini diğer bakteri türlerine kıyasla daha yüksek düzeyde barındırdığı kaydedilmiştir (Şekil 4, Şekil 5). Mikrobiyotada bulunan en yoğun bakteri popülasyonlarına bakılarak doğal yaşam gruplarının (RH1 ve RH2) % 8-10 düzeylerinde *Lactobacillus sp.* türlerini ve % 4 düzeyinde *Clostridium sp.* türlerini bulundurduğu gözlenmiştir (Şekil 4, Şekil 5).

Laboratuvar ratları (RL) grubuna bakıldığında en yüksek yoğunluğa sahip *Duncaniella sp. B8* (% 2.2), *Flavonifractor plautii* (% 2.01) bakterileri bulunmaktadır. Bu türlerin dışında *Muribaculum intestinale*, *Intestinimonas butyriciproducens*, *Candidatus Saccharimonas aalborgensis*, *Clostridiales bacterium CCNA10*, *Marinilactibacillus sp. 15R*, *Oscillibacter valericigenes*, *Faecalibaculum rodentium* türleri RL grubu için mikrobiyotayı oluşturan ilk on bakteri türü olarak görülmüştür. *Duncaniella sp. B8* % 2.2 ile en yüksek popülasyonu oluştururken diğer türler %1-2 arasında çeşitlilik göstermiştir. Bu grup için mikrobiyotada tam bir baskın tür bulunmamaktadır (Şekil 6).



Şekil 6: Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait en yüksek 10 bakteri türünün yüzdeleri dağılım grafiği.

3.3. Diğer Taksonomik Dağılımlar

16S yeni nesil metagenomik sekanslama analizinde tespit edilen mikrobiyota içerisindeki bakteriyal dağılım gruplar arasında Alem, Şube, Sınıf, Takım, Aile, Cins düzeylerinde belirlenerek karşılaştırılmıştır. Örneklerdeki bakteriyal dağılım en yüksek okuma dizisi bulunan 10 taksonomik birimin verileri çizelge hazırlanarak gösterilmiştir.

Çizelge 4: Alem düzeyindeki mikrobiyota içeriğinin taksonomik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

Alem	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
Bacteria	541014	96.27	718363	97.1	338382	90.02
Eukaryota	108	0.02	41	0.01	32	0.01
Archaea	23	0.0	4	0.0	11	0.0
Viruses	4	0.0	2	0.0	-	-

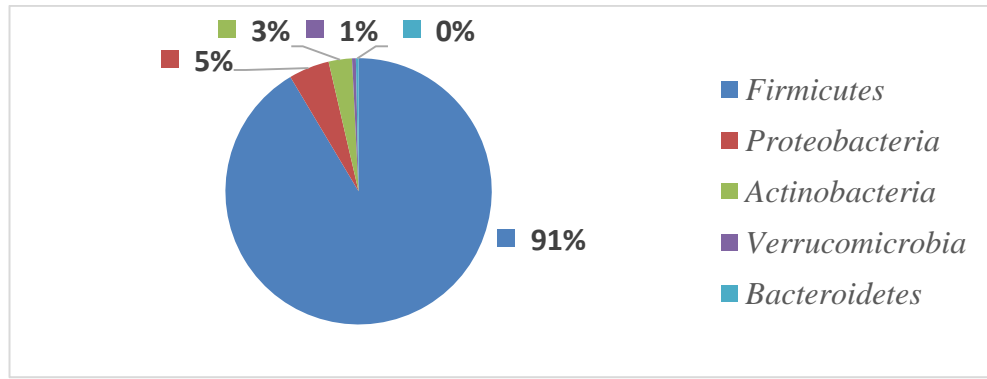
Yeni nesil metagenomik sekanslama analizi kullanılarak belirlenen mikrobiyota, RH1 grubunda % 96.29, RH2 grubunda % 98.2, RL grubunda % 90' ı olmak üzere büyük bir kısmı tanımlanarak taksonomik birimlere ayrılmıştır. Yabancı gruplarda (RH1, RH2) laboratuvar ratlarından farklı olarak Viral rRNA bulunmuştur.

Çizelge 5: Şube düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

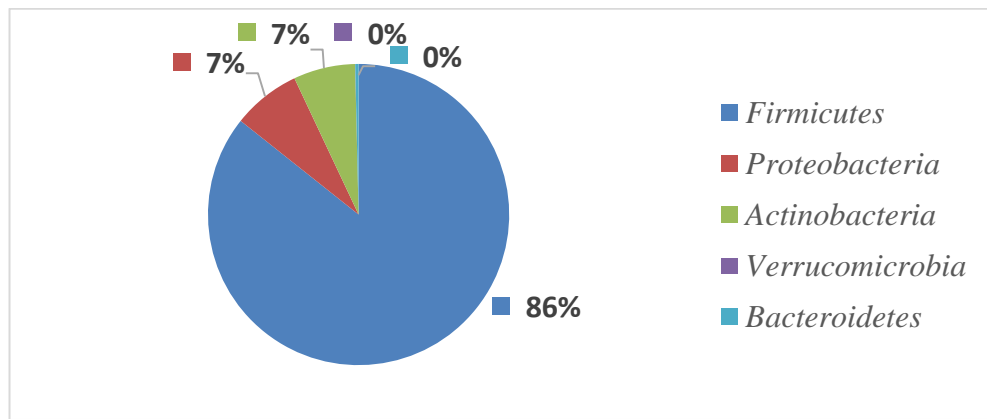
Şube	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
Firmicutes	471304	83.87	590863	79.86	234248	62.32
Proteobacteria	25475	4.53	50446	6.82	16657	4.43
Actinobacteria	14630	2.6	45720	6.18	6689	1.78
Verrucomicrobia	2362	0.42	-	-	-	-
Bacteroidetes	1686	0.3	2464	0.33	47063	12.52
Deinococcus-Thermus	1553	0.28	1876	0.25	-	-
Candidatus Saccharibacteria	919	0.16	2020	0.27	6785	1.8
Tenericutes	819	0.15	927	0.13	3678	0.98
Chloroflexi	333	0.06	3547	0.48	509	0.14
Cyanobacteria	170	0.03	-	-	-	-
Planctomycetes	-	-	1044	0.14	-	-
Chlamydiae	-	-	900	0.12	-	-
Thermotogae	-	-	-	-	1559	0.41
Ignavibacteriae	-	-	-	-	939	0.25

Farklı habitatlardaki ekolojik çevrenin şube düzeyindeki etkisine bakıldığında Firmicutes'lar RH1 grubunda % 83,87 iken, RH2 grubunda % 79,86 olarak bulunmuştur. Ayrıca sadece RH1 grubunda, türleri ve mikrobiyotadaki işlevleri çok net bilinmeyen Verrucomicrobia bakterileri % 0.42 oranı ile artış göstermiştir. Bu değişim ekolojik kirleticilerle birlikte Firmicutes ve Verrucomicrobia türlerinin arttığını göstermektedir. Bunun aksine Proteobacteria, Actinobacteria, ve Chloroflexi türlerinin azalış gösterdiği bulunmuştur (Şekil 7-8).

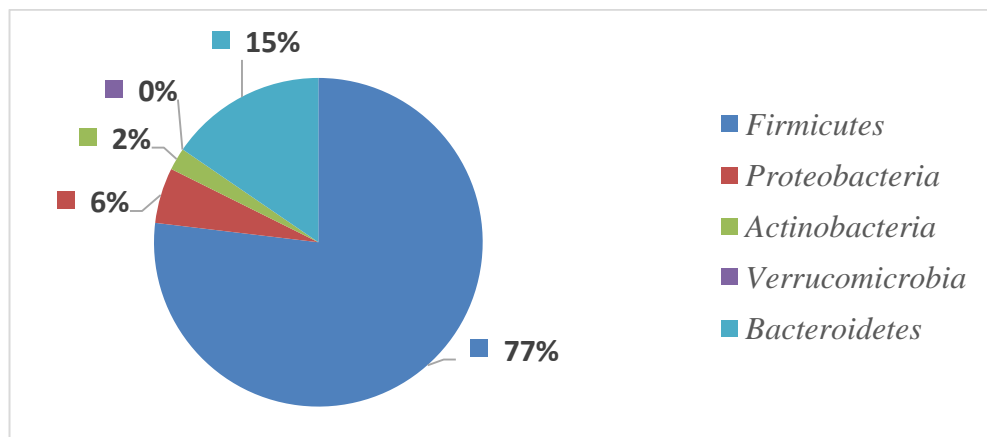
Laboratuvar rat örneklerinin mikrobiyotası, yabanıl örneklerle (RH1; % 83, RH2; % 79) karşılaştırıldığında daha az Firmicutes (% 62.32) türü bulundurmaktadır. Benzer şekilde Actinobacteria türleri diğer gruplarda baskın bakteri türler (RH1: % 2.6, RH2: % 6.1) olarak bulunmasına rağmen, RL grubunda bu türler daha az oranlara (% 1.7) sahiptir. Ayrıca RL grubunda Bacteroidetes'lerin (% 12.52) dağılımı yabanıl gruplara (yaklaşık olarak % 0,3) göre oldukça yüksek bir popülasyona sahiptir (Şekil 9).



Şekil 7: Kentsel yaşam alanından alınan *Rattus rattus* grubuna ait Şube düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.



Şekil 8: Kırsal yaşam alanından alınan *Rattus rattus* grubuna ait Şube düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.

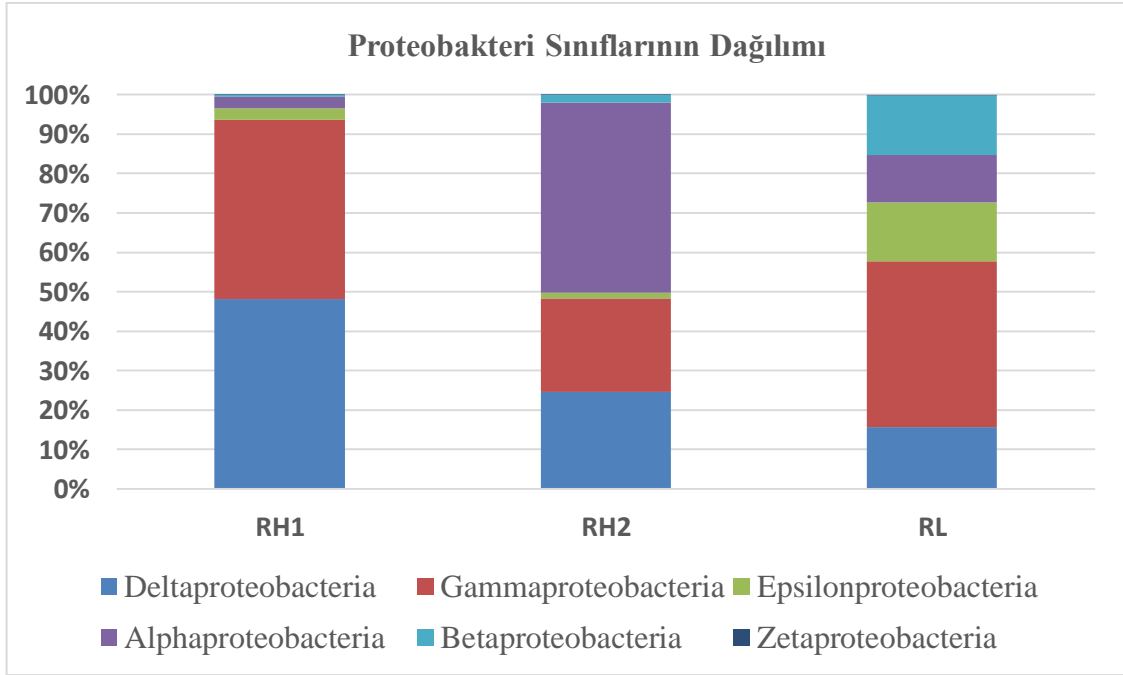


Şekil 9: Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait şube düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzde dağılım grafiği.

Çizelge 6: Sınıf düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

Sınıf	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
Bacilli	242699	43.19	333543	45.08	53331	14.19
Clostridia	222474	39.59	246048	33.26	160484	42.69
Alphaproteobacteria	-	-	23645	3.2	-	-
Betaproteobacteria	-	-	-	-	2161	0.57
Gammaproteobacteria	10993	1.96	11590	1.57	6047	1.61
Deltaproteobacteria	11637	2.07	12075	1.63	2246	0.6
Actinobacteria	8835	1.57	38368	5.19	-	-
Coriobacteriia	5027	0.89	5175	0.7	4287	1.14
Verrucomicrobiae	2339	0.42	-	-	-	-
Negativicutes	2066	0.37	3601	0.49	4757	1.27
Deinococci	1553	0.28	1876	0.25	-	-
Bacteroidia	1459	0.26	1796	0.24	41223	10.97
Erysipelotrichia	-	-	-	-	7217	1.92
Mollicutes	-	-	-	-	2223	0.59

Sınıf düzeyinde incelendiğinde yabancı rat örnekleri (RH1, RH2) ile laboratuvar ratları (RL) arasında önemli ölçüde farklar tespit edilmiştir. RH1 ve RH2 grupları için Bacilli sınıfı büyük bir popülasyona sahipken (ortalama olarak % 45), RL grubunda % 14.19 gibi düşük bir oranda bulunmuştur. Clostridia bakterileri ise RH1 ve RH2 gruplarında ortalama olarak % 35 düzeyinde bulunurken, RL grubunda % 42.69 gibi daha yüksek bir oranda bulunmaktadır. Şube düzeyine benzer bir şekilde Verrucomicrobiae türü RH1 grubu için diğer gruplardan daha yüksektir. Özellikle % 2 lik bir orana sahip Erysipelotrichia türü olmak üzere Betaproteobacteria, Mollicutes türleri RL grubu için önemli bir topluluğu oluştururken, diğer gruplarda bu türler için anlamlı düzeyde (ilk 10 tür düzeyi) bir popülasyon yoktur (Çizelge 5).



Şekil 10: Mikrobiyotadaki Proteobakteri alt sınıflarının yüzdelik dağılım grafiği (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

Proteobakteri çeşitliliği sınıf düzeyinde gruplar arasında belirgin farklılıklar göstermektedir. 6 farklı sınıfta incelenen proteobakteriler her grup için farklı bir profil sergilemektedir.

Mikrobiyotanın Proteobakteri dağılımı gruplar arasında karşılaştırıldığında RH1 grubu, diğer gruplara göre en yüksek Deltaproteobacteria (% 50) içeriğine sahiptir. Gammaproteobacteria'lar ise RH1 ve RL gruplarında yaklaşık % 40 değerlerde bulunmuştur. Alphaproteobacteria'lar en yüksek RH2 grubunda (\approx % 55) bulunurken, diğer gruplarda eser miktarlarda (\leq % 10) tespit edilmiştir. Diğer gruplarda oldukça düşük düzeyde bulunan Betaproteobacteria ve Epsilonproteobakteria (RH1 ve RH2 < %5), RL grubunda daha yüksek bir popülasyona (%15) sahiptir. Zetaproteobacteria'lar ise bütün gruplarda çok küçük (<%1) bir popülasyonu oluşturmaktadır (Şekil 10).

Tespit edilen mikrobiyota profilleri her grup için takım ve aile düzeyinde incelenmiştir. Bağırsak inflamatuvarı ile doğrudan ilişkisi bulunan Enterobacteriaceae laboratuvar ratlarında bulunmamakla birlikte (ilk 10 taksonomik birimde yer almayan) RH1 grubunda RH2 grubuna göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Desulfovibrionales, Micrococcales', Streptosporangiales sadece yabani gruplarda (RH1, RH2), Bacteroidales, Erysipelotrichales, Chromatiales, Campylobacterales ise sadece laboratuvar ratlarında (RL) anlamlı düzeyde bulunmuştur (Çizelge 6). Aile düzeyinde Eubacteriaceae, Staphylococcaceae, Leuconostocaceae türleri sadece RH1 grubunda anlamlı düzeyde bir popülasyona (ilk 10 taksonomik birim içerisinde) sahipken, yabani gruplarda (RH1 ve RH2) anlamlı bir popülasyonu bulunmayan Muribaculaceae, Hungateiclostridiaceae, Oscillospiraceae, Carnobacteriaceae türleri RL gurubunun mikrobiyotasında yer alan ve bu grup için spesifik olan bakterilerdir (Çizelge 7).

Çizelge 7: Takım düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

Takım	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
Lactobacillales	231909	41.27	311963	42.17	46454	12.36
Clostridiales	220219	39.19	243285	32.88	157886	42.0
Desulfovibrionales	10882	1.94	10871	1.47	-	-
Enterobacterales	9001	1.6	6772	0.92	-	-
Bacillales	7467	1.33	14650	1.98	6190	1.65
Bacteroidales	-	-	-	-	35169	9.36
Micrococcales	3220	0.57	16079	2.17	-	-
Eggerthellales	2842	0.51	-	-	2282	0.61
Verrucomicrobiales	2339	0.42	-	-	-	-
Veillonellales	1869	0.33	2858	0.39	3555	0.95
Streptosporangiales	1839	0.33	3598	0.49	-	-
Rhizobiales	-	-	11327	1.53	-	-
Rhodobacterales	-	-	7032	0.95	-	-
Erysipelotrichales	-	-	-	-	7217	1.92
Chromatiales	-	-	-	-	2114	0.56
Campylobacterales	-	-	-	-	2089	0.56

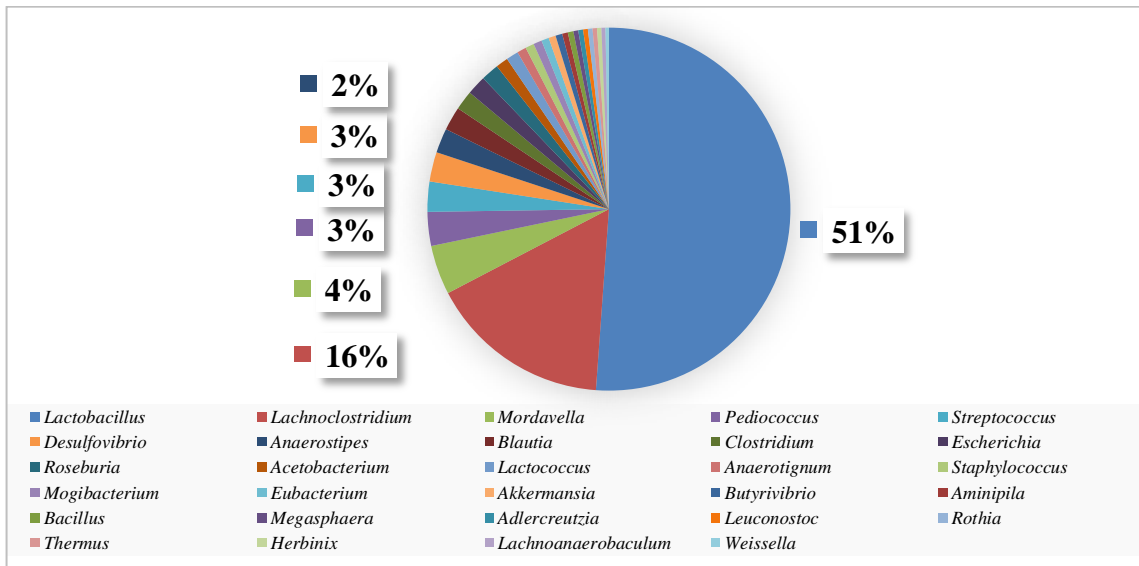
Çizelge 8: Aile düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

Aile	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
Lactobacillaceae	204448	36.38	277795	37.55	37348	9.94
Lachnospiraceae	148854	26.49	159871	21.61	54471	14.49
Clostridiaceae	22733	4.05	21440	2.9	13063	3.48
Streptococcaceae	15046	2.68	18152	2.45	-	-
Desulfovibrionaceae	10534	1.87	10452	1.41	-	-
Enterobacteriaceae	8885	1.58	6551	0.89	-	-
Eubacteriaceae	6570	1.17	-	-	-	-
Clostridiales Family XIII	4620	0.82	7417	1.0		
Staphylococcaceae	3093	0.55	-	-	-	-
Leuconostocaceae	2947	0.52	-	-	-	-
Micrococcaceae	-	-	8036	1.09	-	-
Rhodobacteraceae	-	-	6897	0.93	-	-
Ruminococcaceae	-	-	6149	0.83	22568	6.0
Muribaculaceae	-	-	-	-	19453	5.17
Hungateiclostridiaceae	-	-	-	-	8575	2.28
Oscillospiraceae	-	-	-	-	8172	2.17
Carnobacteriaceae	-	-	-	-	5745	1.53
Peptococcaceae	-	-	-	-	5389	1.43

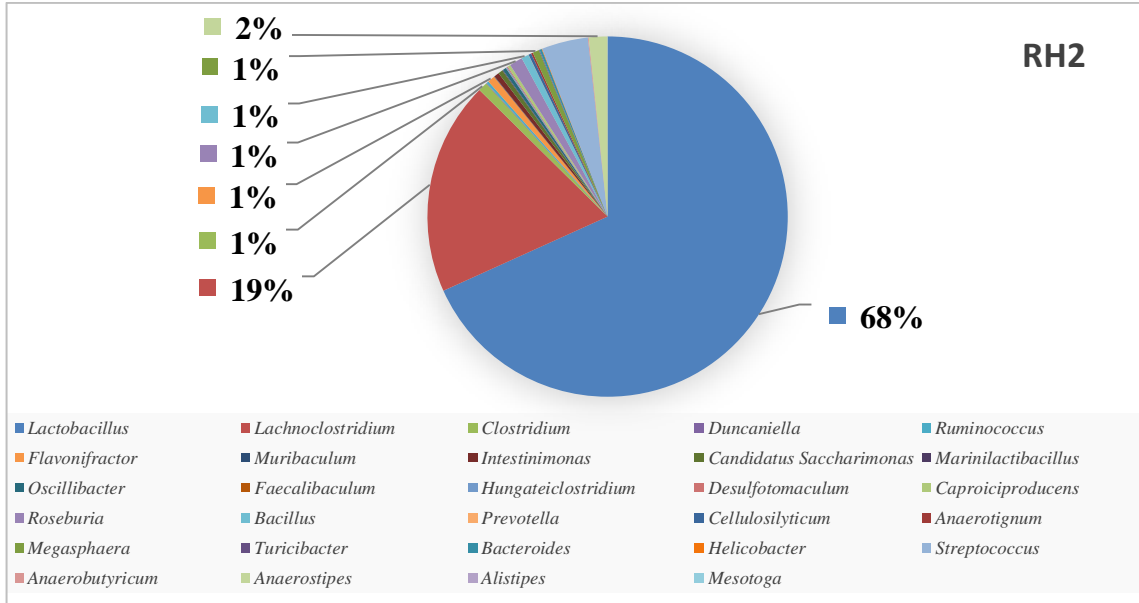
Çizelge 9: Cins düzeyinde mikrobiyota içeriğinin en yüksek ilk 10 taksonomik birimi ve yüzdelik dağılımı (RH1: Kentsel yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RH2: Kırsal yaşam alanına ait *Rattus rattus* örnekleri, RL: Laboratuvar rat örnekleri).

<i>Cins</i>	RH1		RH2		RL	
	Okuma	%	Okuma	%	Okuma	%
<i>Lactobacillus</i>	187768	33.41	272079	36.78	37253	9.91
<i>Lachnospirillum</i>	59485	10.59	76364	10.32	13321	3.54
<i>Clostridium</i>	-	-	-	-	10315	2.74
<i>Mordavella</i>	16131	2.87	17463	2.36	-	-
<i>Pediococcus</i>	11076	1.97	-	-	-	-
<i>Streptococcus</i>	9860	1.75	16598	2.24	-	-
<i>Desulfovibrio</i>	9653	1.72	9931	1.34	-	-
<i>Anaerostipes</i>	8026	1.43	6619	0.89	-	-
<i>Blautia</i>	7734	1.38	6179	0.84	-	-
<i>Clostridium</i>	6340	1.13	-	-	-	-
<i>Escherichia</i>	6325	1.13	4664	0.63	-	-
<i>Herbinix</i>	-	-	4751	0.64	-	-
<i>Roseburia</i>	-	-	4718	0.64	-	-
<i>Duncaniella</i>	-	-	-	-	8283	2.2
<i>Ruminococcus</i>	-	-	-	-	7962	2.12
<i>Flavonifractor</i>	-	-	-	-	7565	2.01
<i>Muribaculum</i>	-	-	-	-	7420	1.97
<i>Intestinimonas</i>	-	-	-	-	6225	1.66
<i>Candidatus</i>	-	-	-	-	5841	1.55
<i>Saccharimonas</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Marinilactibacillus</i>	-	-	-	-	5739	1.53

RH1 örneklerinin mikrobiyotasında cins düzeyinde en baskın tür *Lactobacillus*'tur (%51). En yüksek ikinci tür ise *Lachnoclostridium*'dur (% 16). RH1 popülasyonunun çoğunluğunu oluşturan *Lactobacillus* (% 51) ve *Lachnoclostridium* (%16) RH2 grubuna göre azalma (sırasıyla; % 68, %19) göstermektedir (Şekil 11, 12). Benzer bir şekilde *Streptococcus*, *Desulfovibrio* cinsleri RH1 gurubunda azalma gösterirken, *Mordavella*, *Anaerostipes*, *Blautia*, *Escherichia* cinsleri RH2 grubuna göre artış göstermiştir. Ayrıca *Pediococcus* ve *Clostridium* ait bir cins iki yabancı grubu ayırt edici olarak sadece RH1 gurubunda anlamlı olarak değerlendirilmiştir (Şekil 11, Çizelge 8).

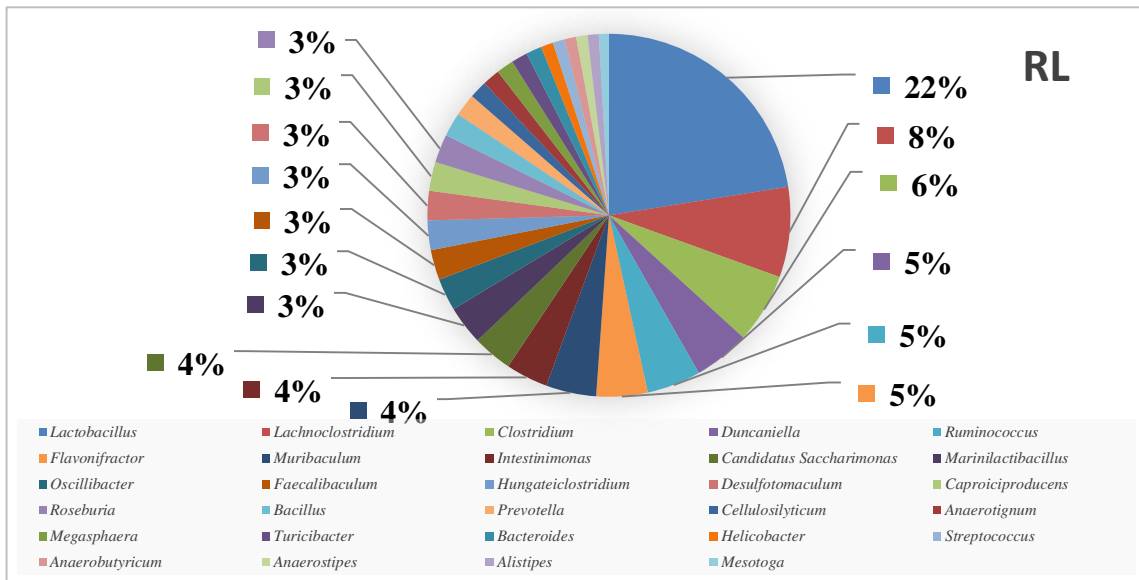


Şekil 11: Kentsel yaşam alanından alınan *Rattus rattus* (RH1) grubuna ait cins düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.



Şekil 12: Kırsal yaşam alanından alınan *Rattus rattus* (RH2) grubuna ait Cins düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzdelik dağılım grafiği.

Diğer gruplardan farklı olarak RH2 grubunda % 0.6'lık oranlarda *Herbinix* ve *Roseburia* cinslerinin bulunduğu görülmüştür (Şekil 12).



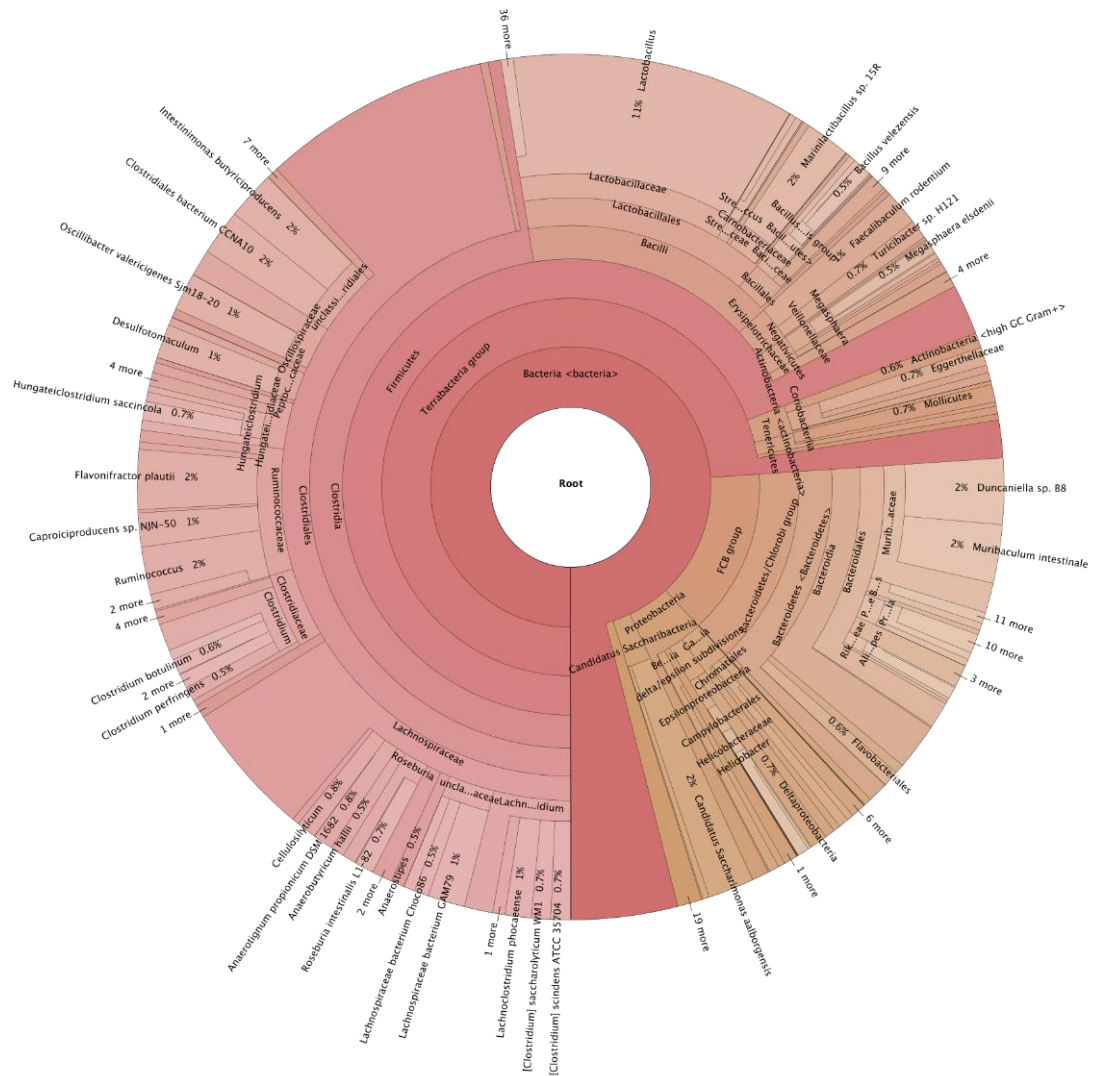
Şekil 13: Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait Cins düzeyindeki taksonomik birimlere göre yüzde dağılım grafiği.

RL grubunda mikrobiyota profili cins düzeyinde yabancı örneklerle (RH1, RH2) benzerlik gösterse de mikrobiyotayı oluşturan bazı cinslerin populasyon yoğunluğu diğer gruplardan oldukça farklıdır. Örneğin RH1 ve RH2 gruplarında ortalama % 35 oranında bulunan *Lactobacillus*, RL grubunda % 9.91 oranıyla azalma göstermiş fakat yine de en büyük popülasyona sahip cinstir (Çizelge 8). Benzer şekilde *Lachnospirillum* cinsi % 3.54 oranla RL grubunda 3 kat daha az bulunmaktadır. RL grubu için cins düzeyinde *Lactobacillus* mikrobiyotadaki baskın popülasyonu (% 22) oluşturmaktadır. Diğer cinsler ise oranları %3-6 arasında değişen toplam 29 cins ile önemli ölçüde mikrobiyota çeşitliliğini artırmıştır (Şekil 13).

3.4. Hayvan Gruplarında Belirlenen Mikrobiyota Profilleri

Tespit edilen mikrobiyota profilleri belirgin türler ve taksonomik birimlerin yüzdelerine göre her grup için OmicsBox Kraken Metagenomics yazılımı ile hazırlanarak kladogramlar halinde aşağıda verilmiştir (Şekil 14-16).

RL grubunun mikrobiyota içeriğini gösteren kladogramda yabancı yaşam gruplarından (RH1 ve RH2) farklı olarak, belirgin bir Firmicutes payının yanında Actinobacteria ve Bacteroidetes kladları yer almaktadır. Diğer gruplara göre takım ve aile çeşitliliğinin daha çok olduğu RL grubu mikrobiyotasında en yüksek oranda bulunan türler; *Duncaniella* sp. B8 (% 2,2), *Clostridiales bacterium* (%2), *İntestinimonas butyriciproducens* (%2), *Muribaculum intestinale* (%2)'dir (Şekil 16).



Şekil 16: Laboratuvar ratları grubunda (RL) mikrobiyota üyelerini taksonomik birimlerini gösteren kladogram.

TARTIŞMA

3.5. Mikrobiyotadaki Tür Çeşitliliği (Diversity) ve Tür Zenginliği (Richness)

Mikrobiyotadaki türlerin tüm popülasyon içerisindeki dağılımlarını belirlemek üzere yapılan Simpsons ve Shannon indekslerine bakıldığında laboratuvar ratları grubunun en yüksek değere sahip olması mikrobiyotadaki tür çeşitliliğini ifade etmektedir (Şekil 1). Laboratuvar ratlarının mikrobiyotalarında diğer gruplarla karşılaştırıldığında birçok cins ortak olmasına rağmen bu cinslerin yabanıl yaşam örneklerine göre daha yüksek oranlarda bulunması tür çeşitliliğini arttırmıştır. Laboratuvar ratlarının mikrobiyotasında çok sayıda bakteri cinsi (*Lactobacillus*, *Lachnoclostridium*, *Clostridium*, *Duncaniella*, *Ruminococcus*, *Flavonifractor*, *Muribaculum*, *Intestinimonas*) eşit dağılım göstermiştir. Yabanıl yaşam örneklerinde ise bakteri popülasyonunun çoğunluğunu iki farklı cinsin (*Lactobacillus*, *Lachnoclostridium*) oluşturmasından dolayı tür çeşitliliğinin az olduğu görülmektedir. Bu farklar göz önüne alındığında çevresel kirleticiler ve besin kaynakları tür çeşitliliğini etkileyen faktörlerdir (Şekil 1, Çizelge 1). Sertbest yaşam ve çok çeşitli beslenme yabanıl yaşam örneklerinin mikrobiyotasında tür çeşitliliğini azaltmıştır.

Mikrobiyota profillerinin ortak ve benzer noktaları pCoA plot tekniği ile karşılaştırıldığında mikrobiyota profili yabanıl yaşam grupları (RH1 ve RH2) için pozitif bölgede yer alırken, laboratuvar ratlarında negatif bölgede yer almaktadır. Bu verilere göre yabanıl yaşam örnekleri ile laboratuvar örneklerinden alınan mikrobiyota birbirinden çok farklı profiller sergilemiştir. Cins düzeyindeki veriler bu farklılığı desteklemektedir. Farklı yaşam koşullarına adaptasyon, yabanıl ratlar ve laboratuvar ratlarının mikrobiyota içeriklerinin farklı bir şekilde düzenlenmesine neden olmuştur. Ancak RH1 ve RH2 gruplarının pozitif bölgede yer almasına rağmen grupların birbirinden çok uzak değerlerde yer aldığı görülmektedir. Bu uzaklığın doğal popülasyonları temsil eden iki grup arasında da habitat farklılığından kaynaklanan farklı beslenme şekli ve çevresel kirleticilere maruz kalmanın bir sonucu olduğu görülmektedir. Koordinat 2 eksenine bakıldığında RH1 grubunun pozitif, RL ve RH2 gruplarının birbirine uzak noktalarda negatif değerler aldığı görülmüştür. Dolayısıyla mikrobiyotayı oluşturan türlerin farklı yaşam alanlarında yaşayan iki grupta benzer değerler alması, beslenme tercihlerinde RH1'den farklı olarak bitkisel besin kaynaklarını bol miktarda tüketmesiyle açıklanabilir.

Mikrobiyotadaki toplam tür sayısı (türlerin popülasyonları göz önüne alınmadan) hesaplandığında tür zenginliği değerleri elde edilmiştir. Kırsal yaşam alanlarından alınan örneklerde tür zenginliği en yüksek değere sahiptir (Şekil 3). Besin çeşitliliği diğer gruplardan daha fazla olan kırsal yaşam alanlarındaki ratlar, mikrobiyota profillerinde oldukça küçük popülasyonlarda 1200'den fazla farklı bakteri türü içermektedir. Kentsel yaşam alanından alınan örneklerde ise bu sayı 750-800 farklı tür olarak bulunmuştur. Kentsel yaşam alanı ratları, kırsal yaşam alanı ratları gibi çok çeşitli besin imkânına sahip olmalarına rağmen, habitatlarında genellikle insan atıklarıyla karşılaşmaktadır. Laboratuvar ratlarında yaklaşık olarak 600 farklı tür tanımlanmıştır. Laboratuvar ratlarında birçok bakteri cinsinin bir arada dengede olduğu görülse de farklı türler bakımından yabanıl yaşam örneklerine göre daha az tür zenginliği görülmüştür. Bu sonuçlara bakılarak doğal yaşam örneklerinin birçok bakteri türü barındırmasına rağmen bu türlerin mikrobiyotadaki popülasyonları oldukça düşüktür. Mikrobiyotada baskın bir türün bulunması diğer bakteri türlerinin mikrobiyota içerisinde aktif olarak görev alamamasına neden olabilmektedir.

3.6. Türlerle Göre Mikrobiyotadaki Değişimler

3.6.1. Kentsel alanlarda yaşayan *Rattus rattus*'da bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi

Kentsel yaşam grubunda (RH1) diğer gruplara göre oldukça yüksek oranda bulunan ve aynı zamanda en yüksek popülasyonu oluşturan *Lactobacillus zymae* ilk olarak bir buğday türünün ekşi hamurundan izole edilen bir bakteri türüdür (Ganzle vd., 1998). Laktik asit bakterileri (LAB) arasında olan *L. zymae* ekşi mayalı ekmek, klasik ekmek, atıştırmalıklar, pizza ve tatlı pişmiş ürünlerin üretimi için kullanılan yiyecekleri küf ve bakteri bozulmasından koruyan bir türdür (Vuysta vd., 2007). Bu türün mikrobiyotadaki varlığı buğday, çavdar, pirinç gibi un içerikli besinlerden kaynaklanmaktadır (De Vuyst ve Ganzle, 2005). Kentsel yaşam alanlarındaki ratların mikrobiyotasında *Lactobacillus zymae*'nin yüksek miktarda olması, insan besin artıklarında bulunan unlu gıda tüketimi ile açıklanabilir. *Pediococcus pentosaceus* ise diğer gruplarla karşılaştırıldığında RH1 grubunda 40 kat daha fazla tespit edilmiştir. *P. pentosaceus* bitki materyallerinde, olgunlaşmış peynirlerde ve çeşitli işlenmiş etlerde bulunabilmektedir (Osmanagaoglu vd., 2001). Ayrıca çeşitli etler, sebzeler ve peynirler gibi yiyecekleri mayalayabilen bir başlangıç kültürü olması nedeniyle endüstriyel olarak

önemli bir tür olduğu bilinmektedir (Hu vd., 2006). Kentsel yaşam grubunun beslenme diyetlerinde işlenmiş et, peynir ürünlerinin yer aldığı ve mikrobiyotadaki bu şekillenmenin alınan besinlerden kaynaklandığı ön görülmüştür.

RH1 grubunda yüksek yoğunlukta bulunan bakteri popülasyonlarından biri de *Lactococcus garvieae*' dir. Bu tür vasküler endotelde lezyonlara neden olarak iç organların yüzeyinde kanamalara yol açmaktadır. Ayrıca immünoşüpresyon veya karaciğer sirozunu neden olduğu düşünülmektedir (Wilbring, 2011). Genellikle suda yaşayan türler olmakla birlikte birçok çiftlik hayvanı için patojen etki gösterdiği ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olduğu bildirilmiştir. *L. garvieae* kanatlı eti, çiğ inek sütü, çiğ et ürünleri, endüstriyel mezbahalarda, kedi ve köpeklerde bulunmuştur (Zuily, 2011) .

Beslenme tercihlerinde kuşlar gibi küçük omurgalılar da olan ratların bu ve benzeri bakteri türlerini mikrobiyota içerisinde taşımaları olasıdır. Kırsal yaşam alanları ve laboratuvar ratlarına göre *L. garvieae*'nin 10 kat daha yüksek oranda bulunması, kentsel yaşam grubundaki ratların daha fazla çiğ et ve süt ürünü ile beslenmeleri veya yaşadıkları bölgedeki diğer evcil memeliler (kedi, köpek vb.) ile aynı ekolojik çevrede yaşamalarından kaynaklanmış olabilir. Kentsel yaşam grubunda artış gösteren *Kurthia zopfii* ise Planococcaceae familyasından bir bakteri türüdür. *Kurthia sp.* gram-pozitif, spor yapmayan, çubuk benzeri bir bakteridir. Çeşitli et, süt ve topraklarda da bulunmuştur (Mei, 2009). *Kurthia zopfii*'nin patojen olmamakla birlikte ishale neden olduğu bilinmektedir. (Keddie, 1981). Beslenme tercihlerinde çiğ et ve süt ürünlerinin bulunması muhtemel olan RH1 grubu mikrobiyotasında yer alan *Kurthia zopfii* zararsız olmasına rağmen bu grupta metabolizmayı etkileyebilecek diğer türlerin popülasyonunun artmasına neden olabilmektedir. *Kurthia zopfii*'nin yanı sıra RH1 mikrobiyotasında farklı patojen türler de tespit edilmiştir.

Yukarıda tespit edilen türlerin yanı sıra kentsel yaşam grubunda 4 kata kadar artış gösteren *Lactobacillus brevis*, fermente gıdalar gibi birçok farklı ortamda ve normal mikrobiyotada bulunabilir. *L. brevis*'in başlıca metabolitleri arasında laktik asit ve etanol bulunur. Böylece probiyotiklerde ve gıda korunmasında kullanılmaktadır (Sami vd., 1997; Schmalreck vd., 1975). *L. brevis*'in çoğunlukla çikolatalarda ve balıklarda da fermentasyon sonucu oluşan tiraminini ürettiği bulunmuştur. Ayrıca *L. brevis*, kefir yapımında kullanılan başlıca *Lactobacillus* türlerinden biridir (Pidoux,

1989). Bu tür üzerine yapılan birçok çalışmada insan bağışıklık fonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir. RH1 grubunda bu türün artması alınan besinlerin toksik etkilerini azaltıcı, bağışıklık sistemini destekleyici bakteri türlerinin artmasına yardımcı olduğu ve diğer gruplara göre mikrobiyotasında farklı probiyotik türlerini taşımasında önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Kentsel yaşam grubunda diğer gruplara göre 100 kat daha fazla bulunan *Weissella paramesenteroides* ve *Weissella ceti* iki benzer tür olup Leuconostocaceae familyasına ait gram-pozitif bakteri cinsleridir (Woese, 1987). Bu cinse ait birçok suş probiyotik potansiyeli ve anti-inflamatuar etkinlik gibi çeşitli yararlı özellikler göstermektedir (Björkroth vd., 2002). *Weissella ceti* türü toprak, taze sebzeler, fermente gıdalar veya et ve et ürünleri gibi çok çeşitli endüstriyel ürünlerden izole edilmiştir. Bu türün özellikle RH1 grubunda arttığı gözlemlenmiş ve bu gruptaki proteobakteri çeşitliliğini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Farklı endüstriyel ürünlerle beslenebilen kentsel yaşam alanlarında yaşayan ratlar diğer gruplara göre önemli ölçüde farklı probiyotik türlerine sahip olsa da toplam probiyotik miktarı diğer gruplardan daha azdır. Benzer bir şekilde *Anaerostipes hadrus* insan dışkısından izole edilmiş *Anaerostipes* cinsinden Gram pozitif bir bakteridir. Bu türlerin butirat ürettiği gösterilmiştir. Butiratın, bağırsak epitel hücrelerinin büyümesini arttırdığı ve anti-inflamatuar bir ajan olarak etki ettiği için gastrointestinal sistem homeostazı üzerinde olumlu bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Vercoe vd., 2012). *Anaerostipes hadrus* kentsel yaşam grubundaki artışı, çevresel ekolojik kirleticilere karşı bir savunma adaptasyonu olarak düşünülebilir. Çünkü kentsel yaşam ratları diğer gruplara göre birçok kirleticiye maruz kalmakta ve mikrobiyotasında kirleticilerin emilimini azaltmak için bu bakteri türlerinin varlığına ihtiyaç duymaktadır.

Birçok bakteri türünden taksonomik olarak çok ayrı özellikler taşıyan ve kentsel yaşam grubunda belirgin bir şekilde 400 kat artışı görülen *Akkermansia muciniphila*, 2004 yılında Muriel Derrien vd. tarafından önerilen, insan bağırsağının münin bozundurucu bakteri türüdür (Vos vd., 2017, Derrien vd., 2004). Obezite, diyabet ve iltihaplanma ile olan ilişkisini anlamak için kapsamlı araştırmalar yapılmıştır (Everard vd., 2013; Caesar vd., 2015). *A. muciniphila*'nın insanlarda anti-inflamatuar etkilere sahip olduğuna inanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda *A. muciniphila* kolonizasyonu,

apandisit veya enflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) gibi enflamatuvar durumlar arasında negatif korelasyon olduğu kaydedilmiştir. (Dao vd., 2015; Derrien vd., 2016).

Son olarak proteobakteri sınıfında yer alan iki farklı tür *Lactobacillus mucosae* ve *Lactobacillus reuteri* RH1 grubunda benzer bir şekilde 5 kat artış göstermiştir. *Lactobacillus mucosae* çubuk şeklinde bir laktik asit bakterisi türüdür. Mukus bağlama aktivitesine sahiptir (Lee vd., 2012). *Lactobacillus mucosae* dahil birçok *Lactobacillus* türü, intestinal mukusdaki bileşenlere bağlanan mub olarak bilinen bir hücre yüzeyi mukus bağlayıcı proteini kodlayan bir gene sahiptir. Bu yapışma proteininin, bakterilerin gastrointestinal sistem gibi açık akışlı bir ortamda hayatta kalmasını sağladığı belirtilmiştir (Roos vd., 2000). *Lactobacillus mucosae* epitel geçirgenliğini azalttığı ve epitelyal bariyer fonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu mikroorganizmanın varlığı, patojenik organizmaların çoğuna karşı rekabetçi bir dışlama sağlar ve yeni probiyotik gıda ürünlerinin geliştirilmesine yardımcı olur. Artmış epitelyal aktivite aynı zamanda birçok bağırsak hastalığına neden olan faktörlerden biridir (Watanabe vd., 2010). Kentsel yaşam alanlarından alınan örneklerin mikrobiyota birleşenlerinde daha çok endüstriyel gıdalarda bulunan bakteri türlerinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca birçok tür diğer gruplara göre farklı probiyotik işlevleri olan türlerdir. Bu farklılıklar çevresel etkenlere maruz kalma sonucu mikrobiyotanın şekillenerek konakçı için koruma sağladığını desteklemektedir.

3.6.2. Kırsal alanlarda yaşayan *Rattus rattus*'da bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi

Kırsal yaşam grubunda (RH2) diğer gruplara kıyasla önemli miktarda artan *Anaerostipes rhamnosivorans*, zorunlu anaerobik, spor oluşturan, bütirat üreten çubuk şeklinde bir bakteridir (Bui vd., 2014). Bu tür şekerlerden ziyade asetik ve laktik asitlerden bütirat üretebilen bağırsak mikrobiyotasının başlıca temsilcileridir (Flint vd., 2012a). Bütiratın kansere ve ülseratif kolite karşı koruma sağlayabildiği belirtilmiştir (Hague vd., 1997). Ayrıca farelerde insülin direnci ve obezite gelişiminin önlenmesi ile ilişkilendirilmiştir (Flint vd., 2012b). RH2 grubunda artış gösteren ve *A. rhamnosivorans* ile benzer metabolik işleve sahip *Herbinix luporum*, karbon kaynağı olarak glikoz, mannoz, arabinoz, çözünen nişasta, galaktoz, selobiyoz ve selüloz kullanabilen bir bakteridir. Bu substratlardan elde edilen başlıca fermantasyon ürünleri etanol, asetik asit, bütirik asit ve hidrojenidir (Bui vd., 2014).

RH2 grubundaki artışı ile dikkat çeken *Micropruina glikojenika*, aktif çamurdan izole edilen *Micropruina* cinsinden Gram pozitif ve spor oluşturmeyen bir bakteridir (Shintani vd., 2000). Bu türler substratları hücre içi glikojen olarak depolayabilir. Hücreler anaerobik koşullar altında nitratı nitrite indirgemekle birlikte, nitriti nitrojene indirgeyemez. *Streptomyces koyangensis*, turp ekim arazilerinden izole edilen *Streptomyces* cinsinden bir bakteri türüdür. Diğer türlerden farklı olarak mantarlar üzerinde beslendiği bilinmektedir (Lee vd., 2005). Kırsal yaşam alanlarındaki ratların mikrobiyotasında bu türlerin bulunması, kentsel yaşam grubundakilere göre daha çok bitkisel ve mantar kökenli besinler tükettiğine işaret etmektedir.

Kırsal yaşam grubunun ekolojik çevreleriyle de uyum gösteren iki farklı bakteri türünden *Clostridium cellulosi*, inek gübresi içeriğinde ve bir mandıra toprağından izole edilmiştir. Aynı ekolojik çevrelerde bulunan bir diğer tür *Staphylococcus muscae*'nin ise hastalık ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu tür ilk olarak inek çiftliklerinde yakalanan sineklerden izole edilmiştir (Hájek vd.). Bu bakteri türlerinin kırsal yaşam alanlarındaki rat bağırsak mikrobiyotasındaki artışı, mikrobiyota bileşenlerinin çevresel faktörlerden doğrudan etkilendiği yönünde önemli bir göstergedir. Bunların dışında RH2 grubunda yer alan *Actinomyces viscosus*, yetişkin insanların % 70'inin ağızında kolonize olan insan ve hayvan patojeni / patobiontudur (Eng vd., 1981) *A. viskozus* düşük bir virülans seviyesine sahip olup hayvanlarda periodontal hastalığa neden olurken insanlarda endokardite neden olduğu gösterilmiştir (Mardis vd., 2001).

3.6.3. Laboratuvar ratlarının bağırsak mikrobiyotasının değerlendirilmesi

Laboratuvar ratları (RL) grubuna ait mikrobiyotada tespit edilen türler arasında 3 tür, dikkat çekici şekilde *Candidatus* cinsinde sınıflandırılmıştır. Bu cins henüz kültürlenmemiş mikroorganizmalar için geçici bir taksonomik kategoridir. *Candidatus Saccharimonas aalborgensis*, *Candidatus Cyclonatronum proteinivorum*, *Candidatus Tachikawaea gelatinosa* metabolik özellikleri tam olarak bilinmeyen türler arasındadır. Bu türlerin yabanıl rat mikrobiyotasındaki (RH1, RH2) popülasyonları oldukça düşük olmasına rağmen, laboratuvar ratları grubunda ortalama olarak 5-8 kat daha fazladır. *Candidatus Saccharimonas aalborgensis* daha önce sadece laboratuvar hayvanı gruplarına uygulanan düşük insektisit uygulamalarında rapor edilmiştir (Fanga vd., 2018).

Yabani rat gruplarıyla (RH1, RH2) karşılaştırıldığında laboratuvar ratları grubunda (RL) 3 kat daha yüksek olan bir diğer bakteri *Oscillibacter valericigenes*, bir glikoz ortamında büyütüldüğünde baskın olarak valerat üreterek fermantatif olarak büyümektedir. İnsan bağırsak mikrobiyotası üzerine yapılan çalışmalarda, *O. valericigenes* türü, Crohn (Bağırsak iltihabı) hastalığı tanısı olan hastalara göre sağlıklı kontrol gruplarında anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur (Mondot vd., 2011). RL grubunda bu türün daha yüksek olması daha sağlıklı bir mikrobiyotayı ifade etmektedir. Yabani rat örneklerinde daha az olması mikrobiyotaya bağlı hastalıklara yatkınlığın bir göstergesi olarak düşünülebilir. Benzer bir şekilde birçok hastalıkla ters orantılı olduğu düşünülen *Ruminococcus albus* ve *Ruthenibacterium lactatiformans* türleri laboratuvar ratları grubunda 3 kat daha fazla miktarda bulunmaktadır. Bu türler *Ruminococcus* cinsine ait keşfedilen çeşitli türlerden olup ilk olarak insan bağırsağında bulunduğu bildirilmiştir (Rajilić-Stojanović vd., 2014). İnsan ve hayvan konakçılarından dışkı, rumen ve bağırsak içeriğinden elde edilmiştir (Rainey, 2009). Bağırsak içeriğindeki besinlerdeki bitki hücre duvarı yıkımında rol oynayabilirler. *Ruminococcus albus*' un enflamatuvar bağırsak hastalığı olan kişilerde daha az olduğu bulunmuştur (Nagao-Kitamoto vd., 2017; Henke vd., 2019).

Laboratuvar ratlarının (RL) besinleri bitkisel kökenli işlenmiş hayvansal yem statüsünde olduğundan, yabani rat gruplarına göre çok farklı bir beslenme diyetleri vardır. Beslenme, mikrobiyotayı doğrudan etkileyen bir faktör olarak görülmektedir. Örneğin doğada toprak, hava ve suda bolca bulunan *Brevibacillus brevis* türü daha çok çürüten bitkisel kaynaklarda yaygın olarak bulunan Gram pozitif, aerobik, spor oluşturan bir basildir. Nadiren bulaşıcı hastalıklarla ilişkilidir. Laboratuvar hayvanı grubunda 10 kat daha fazla bulunan bu tür beslenmeye bağlı olarak mikrobiyotada yer aldığı düşünülmektedir. RL grubunda diğer gruplara göre 4 kat daha büyük bir popülasyona sahip *Bacteroides cellulosilyticus* türü ise *Bacteroides* cinsinde yer alan bir bakteridir. Bu bakterilerin, mikrobiyotadaki selülozun (selülitik) bozunmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Selüloz, bitki hücre duvarlarında bulunan ve önemli bir diyet lifi kaynağı olan bir polisakkarittir. Bağırsaktaki çoğu bakteri bitki polisakkaritlerini parçalayamaz (Flint, 2008). Selülozun *Bacteroides cellulosilyticus* tarafından bozunması asetat, propionat ve süksinat üretimiyle sonuçlanır (Robert, 2007). RL grubunda artış gösteren diğer bir tür ise *Pseudomonas koreensis*' tir. *P. Koreensis*,

Pseudomonas cinsinin tarımsal topraklarda yaygın olarak bulunan bir türüdür. Organik maddelerin ayrışması ve bitki büyümesinin desteklenmesi ile ilgili çeşitli işlevlere sahip oldukları ve ayrıca patojenik etkiler gösterebildikleri bildirilmiştir (Palleroni, 1993).

3.7. Diğer Taksonomik Birimlere Göre Mikrobiyotadaki Değişimler

Mikrobiyotadaki tür bazındaki değişikliklerin yanı sıra şube, sınıf, aile ve cins düzeyinde karşılaştırmalar yapılmıştır. Kentsel yaşam grubu (RH1) mikrobiyotası şube düzeyinde incelendiğinde Firmicutes bakterilerindeki artışa karşı Proteobacteria, Actinobacteria'larda azalmalar görülmüştür. Literatürdeki birçok pestisitlerin oral olarak deneysel uygulamasında Firmicutes'ların arttığı tespit edilmiştir (Breton vd., 2013; Breton vd., 2013). Bağırsak mikrobiyotasındaki Firmicutes'lar besinlerin sindirilmesi ve enerji dönüşümleri ile ilişkilendirilerek obezite ile ilgili çalışmalarda Firmicutes'un arttığı bildirilmiştir (Ley vd., 2005).

Bu araştırmada kentsel yaşam ratlarındaki Firmicutes bakterilerindeki artışı, insan besin atıklarına kolay bir şekilde ulaşabilmeleri ile besinlerini daha çok un, şeker gibi yüksek enerjili gıdaların oluşturmasına bağlı olarak hızlı bir metabolizma gereksinimi ile ilişkilendirilebilir. Mikrobiyota değişikliğinde besinin yanı sıra çevresel kirleticiler de etkili bir faktördür. Bu nedenler sanayi alanından alınan RH1 örneklerinde Firmicutes türlerinin artışı çevresel toksiklere karşı geliştirilen bir mikrobiyal savunma sisteminin gelişimi ile de açıklanabilir. Toksik maddelerin mikrobiyotadaki değişikliklerini inceleyen birçok araştırmada ağır metallerin mikrobiyota içerisindeki Proteobacteria'leri pestisitlerin ise Actinobacteria'ları azalttığı gösterilmiştir (Wu vd., 2017). Kentsel yaşam grubundaki rat mikrobiyotasındaki Proteobacteria ve Actinobacteria türlerinin azalması, diğer gruplara göre çevresel kirleticilere daha çok maruz kaldığını göstermektedir.

Sınıf düzeyindeki değişimlerin de besin-mikrobiyota arasındaki ilişkiyi destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Kentsel yaşam grubunda artış gösteren Clostridiales, Desulfovibrionales, Enterobacterales türleri, diğer araştırmalarda da uygulanan çevresel kirleticiler ile mikrobiyota içerisinde arttığı bildirilmiştir (Jaeggi vd., 2015).

Aile düzeyinde önemli işlevlere sahip Lactobacillaceae, Lachnospiraceae, başta olmak üzere mikrobiyotada önemli azalmalar tespit edilmiştir. Bu aileler; Streptococcaceae, Ruminococcaceae, Bacillaceae, Micrococcaceae, Thermomonosporaceae, Actinomycetaceae, Oscillospiraceae, Peptostreptococcaceae,

Mycobacteriaceae, Erysipelotrichaceae, Carnobacteriaceae, Aerococcaceae, Planococcaceae, Microbacteriaceae, Nocardioideaceae'dir. Ancak bağırsak bariyer bütünlüğünü destekleyici görevi olduğu bilinen Akkermansiaceae başta olmak üzere zararlı etkilerinin de olduğu bilinen Leuconostocaceae, Eubacteriaceae, Staphylococcaceae, Leuconostocaceae, Eggerthellaceae, Prevotellaceae popülasyonlarında diğer gruplara göre artış görülmüştür.

Tüm gruplardaki mikrobiyota profilleri genel olarak incelendiğinde, belirlenen 3 şubenin popülasyon büyüklükleri arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Mikrobiyotanın büyük bir kısmını oluşturan bu 3 Şube; Firmicutes, Proteobacteria ve Actinobacteria yabanıl rat örneklerine göre laboratuvar ratlarında oldukça düşük düzeydedir. Laboratuvar ratları grubundaki mikrobiyota içeriği yabanıl gruplarınkine zıt bir şekilde cins düzeyinde birbirine yakın büyüklükteki popülasyonlardan oluşmaktadır. Yabanıl ratların mikrobiyotasında %80 oranında Firmicutes bulunurken, laboratuvar ratlarında bu oran %60'tır. Aile ve cins düzeyindeki sonuçlara bakıldığında laboratuvar ratlarının mikrobiyotasında türlerin popülasyon yüzdeliğinin diğer gruplara göre daha az olduğu görülmüştür. Örneğin birçok türünün probiyotik olduğu bilinen Lactobacillales, yabanıl rat gruplarında ortalama %40 iken, laboratuvar ratları grubunda %12 oranına sahiptir.

Ayrıca Bacillales, Lachnospirillum türlerinin de laboratuvar ratlarında daha düşük oranlarda olduğu görülmüştür. Laboratuvar hayvanlarının steril temiz ve ekolojik kirleticilerden daha uzak bir ortamda yaşadıkları göz önüne alındığında mikrobiyotanın işlevsel olarak bu etkenlere karşı bir bariyer görme işlevi serbest yaşayan rat örneklerine göre daha azdır. Bu yüzden yabanıl rat grupları (RH1,RH2) ile karşılaştırıldığında birçok patojen ve inflamatuvar etkiye sahip bakterilerin de bulunduğu çok sayıda cins laboratuvar ratları (RL) gurubunda düşük oranda bulunmaktadır.

Genellikle işlenmiş gıdalar, çiğ et ve süt ürünlerinde bulunan *Streptococcaceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Eubacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, *Micrococcaceae*, *Thermomonosporaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Aerococcaceae*, *Planococcaceae*, *Microbacteriaceae*, *Nocardioideaceae*, *Ardenticatenaceae*, *Streptomyetaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Dermabacteraceae*, *Parachlamydiaceae* cinslerinin laboratuvar ratlarında diğer gruplara göre oldukça düşük popülasyonlarda bulunduğu görülmüştür. Mikrobiyotada azalan bu

popülasyonların laboratuvar ratlarının bitkisel besinlerle beslenmesi, steril bir ortamda büyümeleri ve birçok ekolojik faktörden uzak bir yaşam geçirmeleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Mikrobiyotanın konakçının ihtiyaçlarına ve beslenmesine göre şekillenmesi öngörülen bir hipotezdir. Bu araştırmada laboratuvar ratlarının mikrobiyotasında şube, sınıf ve cins düzeyinde artış gösteren bakteriler bu hipotezi desteklemektedir. Laboratuvar ratlarında özellikle bitkisel polisakaritleri ve besin kaynaklarını sindirmeye yardımcı olduğu düşünülen Bacteroidetes sınıfı başta olmak üzere, Lachnospiraceae ve Verrucomicrobiae’de, cins düzeyinde ise Bacteroidia ve Clostridiales’lerde artış olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca RL grubu, diğer gruplarda çok az (%1-5) bulunan probiyotik görevi olan proteabakteri sınıfına dâhil Epsilonproteobacteria (%15) Alphaproteobacteria (%10) ve Deltaproteobacteria (%15) türlerini oldukça yüksek oranlarda barındırmaktadır. Cins düzeyinde incelendiğinde de farklı proteabakteri cinslerini diğer gruplardan daha yüksek oranlarda bulundurmaktadır. Laboratuvar hayvanları gurubunda daha yüksek oranda bulunan diğer bakteri cinsleri *Eggerthellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Hungateiclostridiaceae*, *Oscillospiraceae*, *Peptococcaceae*, *Muribaculaceae*, *Mycoplasmataceae*, *Prevotellaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Helicobacteraceae*, *Acholeplasmataceae*, *Sporomusaceae*, *Bacteroidaceae*, *Rikenellaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Paludibacteraceae*, *Planctomycetaceae*’dir. Bu grupta birçok farklı metabolizmaya sahip ve konak ile simbiyoz olarak yaşayabilen bakteri türleride görülmektedir.

Mikrobiyotada belirlenen bakterilerin popülasyon büyüklüğü açısından gruplar arasında farklılıklar olmasına rağmen, birçok tür her grupta ortak olarak tespit edilmiştir. Ancak gruplara spesifik olan bakteri türleri de bulunmuştur. Kentsel yaşam grubunda; *Verrucomicrobiales*, *Eubacteriaceae*, *Leuconostocaceae* ve *Pediococcus* cinsleri, Kırsal yaşam grubunda *Rhodobacterales* ve *Rhizobiales* cinsleri, Laboratuvar ratları grubunda ise *Erysipelotrichales*, *Chromatiales*, *Campylobacterales*, *Flavobacteriales*, *Duncaniella*, *Ruminococcus*, *Flavonifractor*, *Muribaculum*, *Intestinimonas*, *Candidatus Saccharimonas* ve *Marinilactibacillus* cinsleri gruplar arası ayırt edici bakterial florayı oluşturmaktadır.

4. SONUÇ

Mikrobiyotayı etkileyen beslenme, yaşam alanı ve çevresel kirleticiler gibi ekolojik faktörler, rat bağırsak mikrobiyotasında bazı bakterilerin popülasyonunu artırarak ya da baskılayarak mikrobiyal kompozisyonu etkilemektedir. Tür çeşitliliği çevresel kirleticiler ve farklı beslenme şeklinin etkisiyle azalırken, tür zenginliği artmaktadır. Özellikle besinlerden kaynaklandığı düşünülen bakteri türleri besin ve yaşam alanları ile ayrılan gruplar arasında çeşitlilik göstermektedir. Laboratuvar ratlarının bitkisel besinlerle beslendiği göz önüne alındığında birçok bitkisel besin sindirimi yapan türlerdeki artış, beslenmeyle mikrobiyotanın ilişkisini desteklemektedir. Kentsel yaşam alanından yakalanan örnekleri içeren grupta, mikrobiyotadaki bakteri türleri daha çok un, şeker, işlenmiş et ve süt ürünlerinde yüksek miktarda bulunan bakteri türleri olması, beslenmenin doğrudan mikrobiyota üzerinde etkisi olduğunu ve alınan besinlere göre mikrobiyotanın düzenlendiğini göstermiştir.

Kırsal yaşam alanlarından alınan ratlarda daha çok çiftlik hayvanlarında bulunan, kentsel yaşam alanlarından alınan ratlarda ise evcil memeli (kedi, köpek vb.) hayvanlarında bulunan bakteri türleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar rat mikrobiyotasının ekolojik yaşam alanını paylaştığı diğer memelilere ait bakteri türlerini barındırdığını göstermektedir. Ayrıca çevresel kirleticilere maruz kalmanın mikrobiyotayı fonksiyonel olarak bu kirleticilere karşı savunma oluşturacak şekilde düzenlendiği görülmektedir. Kentsel yaşam alanından alınan ratlarda birçok çevresel kirleticinin besin, solunum veya temas ile sindirim yoluna alınması mikrobiyotaya işlevsel bir fonksiyon kazandırmaktadır. Birçok bakteri türünün bağırsak bariyerini desteklediği, oluşturulan mukoza ve bakterilerin bağırsak hücrelerine bağlanma proteinleri ile tutunmaları simbiyotik bir yaşam alanı oluşturarak, hem mikroorganizmalar için hem de konakçı için avantaj sağlamaktadır. Böylece çevresel kirleticilerin etkisi bağırsak ve mikrobiyotanın oluşturduğu bir savunma sistemi ile azaltılabileceği öngörülebilir. Ek olarak kentsel yaşam gurubunda daha önceki çalışmalarda uygulanan ağır metal, pestisit ve insektisit etkenlerinin mikrobiyota üzerine etkileri benzer bir şekilde görülmektedir. Gıdalarla birlikte alınan bu ekolojik kirleticiler mikrobiyota üzerinde tür çeşitliliğini azalmakta ve disbiyosis'i oluşturmaktadır. Maruz kalınan kirleticilerin yapısı ve dozajı mikrobiyota üzerinde çok farklı etkiler gösterse de bakteri cins düzeylerinde önemli değişiklikler meydana getirmektedir. Memeli organizmaların mikrobiyota içeriğine

bakılarak bu değişikliklerin spesifik olarak belirli kriterler doğrultusunda sınıflandırılması ile mikrobiyota ve sağlık arasında kurulan ilişkilere katkı sağlanacağı dūřünölmektedir. Mikrobiyota her organizma için farklılık gösterse de aynı ekolojik çevreyi paylaşan ve beslenme tercihleri benzer olan canlılar için bir profil oluşturulabilmektedir. Bireye veya topluma özgü mikrobiyota profillerinin belirli aralıklarla takip edilmesi, bireyin veya toplumun sağlık durumu ve etkilendiği çevresel kirleticiler hakkında bilgi vereceği bu araştırmada desteklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Altındaş M., Yılmaz K. Sindirim sistemi mikrobiyotası, fekal transplantasyon. Sakarya : NOBEL MEDICUS 37, 2017. 1 : Cilt 13.
- Atta M., A Antimycin A Antibiotic Biosynthesis Produced by Streptomyces Sp. AZ AR 262: Taxonomy, Fermentation, Purification and Biological Activities. : Austral. J. Basic and Appl. Sci., 2009. 126–135 : Cilt 3.
- Bäckhed F., Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. : Cell Host Microbe, 2015. 690 703 : Cilt 17.
- Bansal T, Alaniz RC Wood TK, Jayaraman A. The bacterial signal indole increases epithelial cell tight junction resistance and attenuates indicators of inflammation.. : Proc Natl Acad Sci USA, 2010. 228–33 : Cilt 107.
- Belkaid Y., T.W. Hand Role of the microbiota in immunity and inflammation. : Cell, 2014. 121 141 : Cilt 157 .
- Bennet, M. Stuart "The Black Rat (*Rattus Rattus*)". : The Pied Piper, 2011..
- Bennett John Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. : Elsevier/Saunders, 2015. Cilt ISBN 9781455748013.
- Bennett K. W., Eley A. Fusobacteria: New taxonomy and related diseases. : Journal of Medical Microbiology, 1993. 246–254 : Cilt 39 (4).
- Björkroth K Schilinger U, Geisen R, Weiss N Hoste B, HolzappelW, Korkeala HJ, Vandamme P. Taxonomic study of Weis sella confusa and description of Weissella cibaria sp. nov.,detected in food and clinical samples.. : Int J Syst Evol Microbiol, 2002. 141 8 : Cilt 52.
- Björkstén B, Sepp E Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life.. : J Allergy Clin Immunol, 2001. 516 520 : Cilt 108.
- Bressan W Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. : Biocontrol., 2003. 233–240 : Cilt 48 (2).
- Breton J, Catherine Daniel Joëlle Dewulf, Stéphanie Pothion, Nathalie Froux, Mathieu Sauty, Patrick Thomas, Bruno Pot, Benoît Foligné, Gut microbiota limits heavy metals burden caused by chronic oral exposure. : Toxicology Letters, 2013. 132–138 : Cilt 222 .
- Breton J., Ecotoxicology inside the gut: Impact of heavy metals on the mouse microbiome.. : BMC Pharmacol. Toxicol., 2013. 62 : Cilt 14.

- Breton J., S. Massart P. Vandamme, E. D. Brandt, B. Pot, B. Foligné Ecotoxicology inside the gut: impact of heavy metals on the mouse microbiome. : BMC Pharmacology and Toxicology, 2013,. 62 : Cilt 14.
- Brinkman B.M., Hildebrand F Kubica M, Goosens D, Del Favero J, Declercq W, Raes J, Vandenabeele P Caspase deficiency alters the murine gut microbiome.. : Cell Death Dis, 2011,. e220. : Cilt 2.
- Bui TP, de Vos WM, Plugge CM Anaerostipes rhamnosivorans sp. nov., a human intestinal, butyrate forming bacterium.. : International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology., 2014. 787–93. : Cilt 64 (Pt 3): .
- Bui, Plugge Thi Phuong Nam Willem M. de Vos and Caroline M. Anaerostipes rhamnosivorans sp. nov., a human intestinal, butyrate forming bacterium. : International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014. 787–793 : Cilt 64.
- Bull MJ, Plummer NT The Human Gut Microbiome in Health and Disease.. : Integr. Med. (Encinitas), 2014. 17–22 : Cilt 13.
- Caesar Robert, Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. : Cell Metabolism., 2015. 658–668. : Cilt 22 (4): .
- Calusinska M., T. Happe B. Joris, A. Wilmotte The surprising diversity of clostridial hydrogenases: a comparati, genomic perspective. : Microbiology, 2010. 1575–1588 : Cilt 156.
- Carrier J.C., E. Aghdassi K. Jeejeebhoy, J.P. Allard Exacerbation of dextran sulfate sodium induced colitis by dietary iron supplementation: role of NF κ B,. : Int. J. Colorectal Dis., 2006. 381–387. : Cilt 21.
- Cénit MC., Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease.. : Biochim Biophys Acta, 2014. 1981 1992. : Cilt 1842:.
- Chakraborti Chandra Kanti New found link between microbiota and obesity. : World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology, 2015. 110–119 : Cilt 6 (4).
- Cho J, Vergin K Morris R, Giovannoni S Lentisphaera araneosa gen. nov., sp. nov, a transparent exopolymer producing marine bacterium, and the description of a novel bacterial phylum, Lentisphaerae. : Environ Microbiol., 2004. 611–21 : Cilt 6 (6).
- Chow J, Lee SM Shen Y, Khosravi A, Mazmanian SK. Host bacterial symbiosis in health and disease.. : Adv Immunol, 2010. 243–274 : Cilt 107.

- Clark D. A. "Foraging behavior of vertebrate omnivore (*Rattus rattus*): Meal structure, sampling, and diet breadth. : Ecology., 1981. 763–772. : Cilt 63 (3):. doi:10.2307/1936797.
- Clark, A. Deborah foraging behavior of a vertebrate omnivore (*Rattus rattus*): meal structure, sampling, and diet breadth. : Ecology, 1982. 763–772 : Cilt 63(3).
- Claus S.P., Ellero S.L., Berger, B., Krause, L., Bruttin, A., Molina, J., Paris, A., Want, E.J., de Waziers, I., Cloarec, O., Richards, S.E., Wang, Y., Dumas, M.E., Ross, A., Rezzi, S., Kochhar, S., Van Bladeren, P., Lindon, J.C., Holmes, E., Nicholson, Colonization induced host gut microbial metabolic interaction.. : mBio, 2011. 00271–310 : Cilt 2.
- Cox L.M., S. Yamanishi J. Sohn, A.V. Alekseyenko, J.M. Leung, I. Cho, I., Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. : Cell, 2014. 705–721. : Cilt 158.
- Cox MPG, Dickman CR, Cox WG Use of habitat by the black rat (*Rattus rattus*) at North Head, New South Wales: an observational and experimental study. : Austral Ecology., 2000. 375–85 : Cilt 5 (4): . doi:10.1046/j.1442-9993.2000.01050.x.
- Dada N, M. Sheth K. Liebman, J. Pinto, A. Lenhart Whole metagenome sequencing reveals links between mosquito microbiota and insecticide resistance in malaria vectors. : Sci. Rep., 2018. 2084 : Cilt 8 (1) .
- Dao Maria Carlota, Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. : Gut, 2015. 426–436 : Cilt 65 (3).
- Derrien Muriel, Belzer Clara, de Vos Willem M. Akkermansia muciniphila and its role in regulating host functions. : Microbial Pathogenesis., 2016. 171–181 : Cilt 106.
- Derrien, M. Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. : International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology., 2004. 1469–1476. : Cilt 54 (5): .
- Dong Y., R. Aguilar Z. Xi, E. Warr, E. Mongin, G. Dimopoulos Anopheles gambiae immune responses to human and rodent Plasmodium parasite species. : PLoS Pathog., 2006–2009. 52 : Cilt 2 (6).
- Dowding JE, Murphy EC "Ecology of Ship Rats (*Rattus rattus*) in a Kauri (*Agathis australis*) Forest in Northland, New Zealand. : New Zealand Journal of Ecology., 1994. 19–28. : Cilt 18 (1): .

- Eng RH, Infections caused by *Actinomyces viscosus*. : American Journal of Clinical Pathology., 1981. 113–6. : Cilt 75 (1): .
- Engels, W. Donald Classical Cats: The Rise and Fall of the Sacred Cat,. 1999. ISBN 978 0 415 21251 9, p. 16.
- Everard A., Cross talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet induced obesity. : Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013. 9066–9071 : Cilt 110 (22).
- Faith J.J., all et The long term stability of the human gut microbiota. : Science,, 2013. Cilt 341.
- Falony G., Population level analysis of gut microbiome variation. : Science, 2016. 560 564 : Cilt 352 .
- Fang S., Zhao Zhuo Xiaonan Yu, Haichao Wang, Jie Feng Oral administration of liquid iron preparation containing excess iron induces intestine and liver injury, impairs intestinal barrier function and alters the gut microbiota in rats. : Journal of Trace Elemen. in Medi. and Bio., 2018. 12–20 : Cilt 47.
- Fanga, Jin WangLia MingZhang, Fa ZhengRenaci, Guo FangPang Chronic chlorpyrifos exposure elicits diet specific effects on metabolism and the gut microbiome in rats. : Food and Chemical Toxicology, 2018. 144 152 : Cilt 111.
- Fazeli M., Hassanzadeh P., Alaei S. Cadmium chloride exhibits a profound toxic effect on bacterial microflora of the mice gastrointestinal tract.. : Hum. Exp. Toxicol, 2010,. 152–159. : Cilt 30,.
- Feng Z., Weijiang Z. Rong G., Wen Y. Effect of dietary copper level on the gut microbiota and its correlation with serum inflammatory cytokines in Sprague Dawley rats. : Journal of Microbiology, 2017. 694–702 : Cilt Vol.55, No. 9.
- Fields M Ferretti RJ, Smith JC, Jr., and Reiser S. Effect of dietary carbohydrates and copper status on blood pressure of rats.. : Life sciences, 1984.. 763 769, : Cilt 34.
- Fields M Ferretti RJ, Smith JC, Jr., and Reiser S. Impairment of glucose tolerance in copper deficient rats: dependency on the type of dietary carbohydrate.. : The Journal of nutrition, 1984.. 393 397, : Cilt 114.
- Flandroy L., T. Poutahidis G. Berg, G. Clarke, M. C. Dao, E. Decaestecker, et al. The impact of human activities and lifestyles on the interlinked microbiota and health of humans and of ecosystems. : Sci. Total Environ., 2018. 1018 1038 : Cilt 627 .
- Flint H. J., Scott K. P., Duncan, S. H., Louis, P. & Forano, E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut.. : Gut Microbes, 2012a. 289–306. : Cilt 3,.

- Flint H. J., Scott K. P., Louis, P. & Duncan, S. H. The role of the gut microbiota in nutrition and health.. : Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2012b. 577–589 : Cilt 9.
- Freeland W. J., Janzen. and D. H. strategies in herbivory by mammals: the role of plant secondary compounds.. : American Naturalist, 1974.. 269–289. : Cilt 108:.
- Ganzle M. G., Ehrmann M. & Hammes, W. P. Modeling of growth of *Lactobacillus sanfranciscensis* and *Candida milleri* in response to process parameters of sourdough fermentation.. : Appl Environ Microbiol, 1998. 2616–2623. : Cilt 64,.
- Gao B., Sex Specific Effects of Organophosphate Diazinon on the Gut Microbiome and Its Metabolic Functions.. : Environ. Health Perspect., 2017, . 198–206. : Cilt 125, .
- Gay A., *Jonquetella anthropi* gen. nov., sp. nov., the first member of the candidate phylum 'Synergistetes' isolated from man. : Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2007. 2743–2748 : Cilt 57.
- Gensollen T., How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. : Science, 2016. 539–544 : Cilt 352 .
- Ghai R, Rodriguez Valera F McMahon KD, Lopez Garcia P (ed.). Metagenomics of the water column in the pristine upper course of the Amazon river. : PLOS ONE., 2011. e23785 : Cilt 6 (8).
- Gillespie H. "*Rattus rattus* — house rat" : Animal Diversity Web., 2004.
- Grochowska M, M Wojnar, M Radkowski The gut microbiota in neuropsychiatric disorders.. : Acta Neurobiol. Exp., 2018. 69–81 : Cilt 78 .
- Gupta R. S. Origin of Diderm (Gram negative) Bacteria: Antibiotic Selection Pressure Rather than Endosymbiosis Likely led to the Evolution of Bacterial Cells with Two Membranes.. : Antonie Van Leeuwenhoek., 2011. 171–182 : Cilt 100.
- Haange S.B., A. Oberbach N. Schlichting, F. Hugenholtz, H. Smidt, M. Bergen, H. Till, J. Seifert Metaproteome Analysis and Molecular Genetics of Rat Intestinal Microbiota Reveals Section and Localization Resolved Species Distribution and Enzymatic Functionalities. : J. Proteome Res., 2012,. 5406–5417 : Cilt 11,.
- Hague A., Singh B. & Paraskeva, C. Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cells: further fuel for the in vivo versus in vitro debate.. : Gastroenterology, 1997. 1036–1040. : Cilt 112, .

- Hájek V Ludwig W, Schleifer, KH, Springer N Zitzelsberger W, Kroppenstedt RM, Kocur M *Staphylococcus muscae*, a new species Isolated from flies.. : *Int J Syst Bacteriol.* . 97 101 : Cilt 42(1).
- Halttunen T., Collado M.C., El Nezami, H., Meriluoto, J., Salminen, S., Combining strains of lactic acid bacteria may reduce their toxin and heavy metal removal efficiency from aqueous solution.. : *Letters in Applied Microbiology*, 2008. 160–165 : Cilt 46.
- Hathaway S.C., Blackmore D.K. Ecological aspects of the epidemiology of infection with leptospires of the Ballum serogroup in the black rat (*Rattus rattus*) and the brown rat (*Rattus norvegicus*) in New Zealand // Printed in Great Britain. 1981. s. 87, 427.
- Hempel S., Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic associated diarrhea: A systematic review and meta analysis.. : *JAMA*, 2012,. 1959–1969. : Cilt 307, .
- Henke Matthew T., *Ruminococcus gnavus*, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. : *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 2019. 12672– 12677. : Cilt 116 (26):.
- Horz H.P., Synergistes Group Organisms of Human Origin. : *Journal of Clinical Microbiology.*, 2006. 2914–2920 : Cilt 44 (8).
- Hu Yongjin, Xia Wenshui, and Ge, Changrong. Effect of mixed starter cultures fermentation on the characteristics of silver carp sausages. : *World J Microbiol Biotechnol*, 2006. 1 11.
- Hunter B.A., MS Johnson Food chain relationships of copper and cadmium in contaminated grassland ecosystems.. : *Oikos*, 1982. 108 177. : Cilt 38:.
- Ilett K.F., Tee L.B., Reeves, P.T., Minchin, R.F., Metabolism of drugs and other xenobiotics in the gut lumen and wall.. : *Pharmacology and Therapeutics*, 1990. 67–93 : Cilt 46.
- J.P. Zackular M.A. Rogers, M.T. Ruffin 4th, P.D. Schloss The human gut microbiome as a screening tool for colorectal cancer. : *Cancer Prev. Res.*, 2014. 1112–1121. : Cilt 7.
- Jaeggi T., G.A. Kortman D. Moretti, C. Chassard, P. Holding, A. Dostal, et al., Iron fortification adversely affects the gut microbiome: increases pathogen abundance and induces intestinal inflammation in Kenyan infants. : *Gut*, 2015. 731–742. : Cilt 64.

- Jefferies O.J., M.C. French Lead concentrations in small mammals trapped on roadside verges and field sites. : *Environ Pollut*, 1972 1976. 147 156. : Cilt 3:.
- Jin Y., Oral Exposure of Mice to Carbendazim Induces Hepatic Lipid Metabolism Disorder and Gut Microbiota Dysbiosis.. : *Toxicol. Sci.*, 2015. 116–126 : Cilt 147.
- Johnson MS, Roberts RD Hutton M, Inskip MJ Distribution of lead, zinc, and cadmium in small mammals from polluted environments.. : *Oikos*, 1978. 153 159. : Cilt 30:.
- Jumas Bilak E., Roudiere L., Marchandin H. Description of 'Synergistetes' phyl. nov. and emended description of the phylum 'Deferribacteres' and of the family Syntrophomonadaceae, phylum 'Firmicutes. : *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2009. 1028–1035 : Cilt 59.
- Kamaladevi A., Ganguli A., Balamurugan K. Lactobacillus casei stimulates phase II detoxification system and rescues malathion induced physiological impairments in *Caenorhabditis elegans*.. : *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol.*, 2016,. 19–28. : Cilt 179, .
- Kan H., Correlations of Gut Microbial Community Shift with Hepatic Damage and Growth Inhibition of *Carassius auratus* Induced by Pentachlorophenol Exposure.. : *Environ. Sci. Technol.*, 2015. 11894–11902. : Cilt 49,.
- Keddie RM The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria. : Springer Verlag Berlin Heidelberg., 1981. 1888–1893.
- Krystufek B., "*Rattus rattus*".. : The IUCN Red List of Threatened Species., 2015. doi:10.2305/IUCN.UK.2016 3.RLTS.T19360A15137085.en.
- Lambert G.P. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects.. : *J Anim Sci*, 2009. 101–108. : Cilt 87, .
- Lee J. H., Genome Sequence of *Lactobacillus mucosae* LM1, Isolated from Piglet Feces. : *Journal of Bacteriology.*, 2012. 4766 : Cilt 194 (17).
- Lee JY, *Streptomyces koyangensis* sp. nov., a novel actinomycete that produces 4 phenyl 3 butenoic acid. : *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.*, 2005. 257–62 : Cilt 55 (Pt 1).
- Lee S.H., P. Shinde J. Choi, M. Park, S. Ohh, I.K. Kwon, et al., Effects of dietary iron levels on growth performance hematological status, liver mineral concentration, fecal microflora, and diarrhea incidence in weanling pigs. : *Biol. Trace Elem. Res.*, 2008. 57–68. : Cilt 126.

- Lepage P., Häslér R Spehlmann ME, Rehman A, Zvirbliene A, Begun A, Ott S, Kupcinskis L, Doré J, Raedler A, Schreiber S Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerati, colitis.. : Gastroenterology, 2011,. 227–236. : Cilt 141(1).
- Ley R, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI (Obesity alters gut microbial ecology. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA (Research Support)., 2005. 11070–11075 : Cilt 102 (31).
- Ley R.E., Human gut microbes associated with obesity.. : Nature, 2006,. 1022–1023. : Cilt 444,.
- Ley RE,, Peterson DA Gordon JI Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. : Cell (Review), 2006. 837–848 : Cilt 124 (4).
- Liu Q., Organochloride pesticides modulated gut microbiota and influenced bile acid metabolism in mice.. : Environ. Pollut., 2017. 268–276. : Cilt 226,.
- Liu Y., Exposing to Cadmium Stress Cause Profound Toxic Effect on Microbiota of the Mice Intestinal Tract.. 23 : Cilt 9.
- Liu Y., Exposing to Cadmium Stress Cause Profound Toxic Effect on Microbiota of the Mice Intestinal Tract.. : PLoS ONE, 2014,. e85323. : Cilt 9.
- Marchandin H., Damay A., Roudiere, L., Teyssier, C., Zorgniotti, I., Dechaud, H., Jean Pierre, H., and Jumas Bilak, E. Phylogeny, diversity and host specialization in the phylum Synergistetes with emphasis on strains and clones of human origin.. : Res. Microbiol., 2010. 91–100 : Cilt 161.
- Mardis JS, Many WJ Jr Endocarditis due to *Actinomyces viscosus*. : Southern Medical Journal., 2001. 240–3. : Cilt 94 (2): .
- Margulis L., Composite, large spirochetes from microbial mats: spirochete structure review. : Proceedings of the National Academy of Sciences, 1993. 6966–6970 : Cilt 90 (15).
- Marsh, E. Rex "Roof Rats" [Kitap Bölümü] // Internet Center for Wildlife Damage Management. Prevention and Control of Wildlife Damage.. 2011.
- Maslowski KM, Vieira AT Ng A, Kranich J, Sierro F, Di Yu, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43.. : Nature, 2009. 1282–6 : Cilt 461.
- Mei Y Screening and distributing features of bacteria with hydantoinase and carbamoylase. : Microbiological Research, 2009. 322–329 : Cilt 3 (164).

- Million M. Gut bacterial microbiota and obesity. : *Cell Microbiology and Infection*, 2013. 305–313 : Cilt 19 (4).
- Monachese M., Burton J.P., Reid G. Bioremediation and Tolerance of Humans to Heavy Metals through Microbial Processes: A Potential Role for Probiotics?. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012. 6397–6404. : Cilt 78,.
- Mondot S, Highlighting new phylogenetic specificities of Crohn's disease microbiota. : *Inflammatory Bowel Diseases.*, 2011. 185–92 : Cilt 17 (1).
- Morozzi G., Cenci G., Scardazza, F., Pizzurra, M.,. Cadmium uptake by growing cells of gram positi, and gram negati, bacteria.. : *MicroBios*, 1986. 27–35 : Cilt 48.
- Nagao Kitamoto H, N Kamada Host microbial Cross talk in Inflammatory Bowel Disease. : *Immune Network.*, 2017. 1–12. : Cilt 17 (1): .
- Nasuti C., Changes on fecal microbiota in rats exposed to permethrin during postnatal development.. : *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2016. 10930–10937. : Cilt 23,.
- Osmanagaoglu O., Beyatli Y., and Gunduz, U. Isolation and Characterization of Pediocin Producing *Pediococcus pentosaceus* Pep1 from Vacuum Packed Sausages. : *Turkish Journal of Biology*, 2001. 133 143 : Cilt 25.
- Palleja A., Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure. : *Nature Microbiol.*, 2018. 1255 1265 : Cilt 3.
- Palleroni N. J. *Pseudomonas* classification. A new case history in the taxonomy of gram negati, bacteria.. : *Antonie van Leeuwenhoek*, 1993. 231–251. : Cilt 64, .
- Papanikolaou G., K. Pantopoulos Iron metabolism and toxicity. : *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005. 199–211. : Cilt 202.
- Paster BJ Phylum XV. Spirochaetes Garrity and Holt. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, [Kitap]. 2011. Cilt 471. .
- Pasteur L., Observations relatives à la note de M. Duclaux.. : *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1885. 68 : Cilt 100.
- Pengya F., Ze Y. Apurva K., Amanpreet K. V., Xiangkai L., Pu L. A Review on Gut Remediation of Selected Environmental Contaminants: Possible Roles of Probiotics and Gut Microbiota. : *Nutrients*, 2019. 22 : Cilt 11,.
- Pidoux M. The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. : *MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology.*, 1989. 223–238 : Cilt 5 (2).

- RACKHAM J. *Rattus rattus*: the introduction of the black rat into Britain. : ANTIQUITY, 1979. LIII : Cilt LIII.
- Rajilić Stojanović M, (de Vos WM The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. : FEMS Microbiology Reviews., 2014. 996–1047 : Cilt 38 (5).
- Rajilić Stojanović M., Long term monitoring of the human intestinal microbiota composition. : Environ. Microbiol., 2013 . 1146 1159 : Cilt 15 .
- Rajilić Stojanović Mirjana, de Vos Willem M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. : FEMS Microbiology Reviews, 2014. 996–1047 : Cilt 38 (5).
- Randazzo C.L., Probiotic supplementation in systemic nickel allergy syndrome patients: Study of its effects on lactic acid bacteria population and on clinical symptoms.. : J. Appl. Microbiol., 2014. 202–211. : Cilt 118,.
- Razin S., Yogeve D., Naot Y. Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas.. : Micr. and Molec. Biology Reviews., 1998. 1094–1156 : Cilt Vol. 62, No. 4.
- Riviere D., Desvignes V., Pelletier, E., Chaussonnerie, S., Guermazi, S., Weissenbach, J., Li, T., Camacho, P., and Sghir, A. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge. : ISME. J., 2009. 700–714 : Cilt 3.
- Rook G. Regulation of the immune system by biodiversity from the natural environment: an ecosystem service essential to health. : Proc. Natl. Acad. Sci., 2013. 18360 18367 : Cilt 110 .
- Roos S., *Lactobacillus mucosae* sp. nov., a new species with in vitro mucus binding activity isolated from pig intestine". : International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology., 2000. 251–258. : Cilt 50 (1): .
- Rothschild D., Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. : Nature, 2018. 210 215 : Cilt 555 .
- Ryan KJ, (editors) Ray CG Sherris Medical Microbiology (4th ed.). [Kitap]. : McGraw Hill, 2004. Cilt ISBN 978 0 8385 8529 0..
- S.C. Andrews A.K. Robinson, F. Rodriguez Quinones, Bacterial iron homeostasis,. : FEMS Microbiol. Rev., 2003. 215–237. : Cilt 27 .
- Sami M., Yamashita H., Hirono, T., Kadokura, H., Kitamoto, K., Yoda, K., & Yamasaki, M. Hop resistant *Lactobacillus brevis* contains a novel plasmid

- harboring a multidrug resistance like gene. : Journal of fermentation and bioengineering, 1997. 16 : Cilt 84(1).
- Schmalreck A. F., Teuber M., Reininger, W., & Hartl, A. Structural features determining the antibiotic potencies of natural and synthetic hop bitter resins, their precursors and derivatives.. : Canadian Journal of Microbiology, 1975. 205-212 : Cilt 21(2).
- Schwartz C., Walsh E. Reeder The Wild Mammals of Missouri,. : University of Missouri Press, 2001. 250. ISBN 978 0 8262 1359 4.
- Servin JA, Herbold CW Skophammer RG, Lake JA Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria. : Mol. Biol. Evol., 2008. 1-4 : Cilt 25 (1).
- Shintani T., *Micropruina glycogenica* gen. nov., sp. nov., a new Gram positive, glycogen accumulating bacterium isolated from activated sludge. : International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology., 2000. 201-207 : Cilt 50 (1).
- Shreiner AB, JY Kao, VB Young The gut microbiome in health and in disease.. : Curr. Opin. Gastroenterol., 2015. 69-75 : Cilt 31 .
- Siegers C.P., D. Bumann H.D. Trepkau, B. Schadwinkel, G. Baretton, Influence of dietary iron overload on cell proliferation and intestinal tumorigenesis in mice,. : Cancer Lett., 1992. 245-249. : Cilt 65.
- Smith K., McCoy K.D., Macpherson, A.J., Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota.. : Seminars in Immunology, 2007. 59-69 : Cilt 19.
- Sutcliffe I.C. A phylum level perspective, on bacterial cell envelope architecture. : Trends Microbiol., 2010. 464-470 : Cilt 18.
- Tompkins G.R., N.L. O'Dell I.T. Bryson, C.B. Pennington, The effects of dietary ferric iron and iron deprivation on the bacterial composition of the mouse intestine,. : Curr. Microbiol., 2001. 38-42. : Cilt 43.
- Trinder M., Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* reduces organophosphate pesticide absorption and toxicity to *Drosophila melanogaster*.. : Appl. Environ. Microbiol., 2016,. 6204-6213. : Cilt 82,.
- Turnbaugh Peter J. Diet Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. : Cell Host & Microbe, 2008. 213-223 : Cilt 3 (4).
- Vercoe, E. A. Daigneault M., White A., Panaccione R., Duncan S. H., Flint H. J., O'Neal L, Lawson P.A *Anaerostipes hadrus* comb. nov., a dominant species

- within the human colonic microbiota; reclassification of *Eubacterium hadrum* Moore et al. 1976. : *Anaerobe*, 2012. 523–529 : Cilt 18.
- Vos de, W.M. Microbe Profile: *Akkermansia muciniphila*: a conserved intestinal symbiont that acts as the gatekeeper of our mucosa. : *Microbiology.*, 2017. 646–648 : Cilt 1635 (5).
- Vrieze A, Holleman F Zoetendal EG, The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition.. : *Diabetologia*, 2010. 606–613 : Cilt 53.
- Vuysta L, Vancanneyt M Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria.. : *J. Food Microbiol.*, 2007. 120–127 : Cilt 24.
- Walker AW, TD. Lawley Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis.. : *Pharmacol Res*, 2013;. 75–86. : Cilt 69:.
- Wang J., H. Tang, C. Zhang, Y. Zhao, M. Derrien, E. Rocher, et al., Modulation of gut microbiota during probiotic mediated attenuation of metabolic syndrome in high fat diet fed mice,. *ISME J.*, 2015. 1–15. : Cilt 9.
- Watanabe M., Identification of a new adhesin like protein from *Lactobacillus mucosae* ME 340 with specific affinity to the human blood group A and B antigens. : *Journal of Applied Microbiology.*, 2010. 927–935 : Cilt 109 (3).
- Wilbring M. *Lactococcus garvieae* causing zoonotic prosthetic val, endocarditis. : *Clinical Research in Cardiology*, 2011. 545–546 : Cilt 100 (6).
- Woese C. R. Bacterial evolution. : *Microbiological Reviews.*, 1987. 221–271 : Cilt 51 (2).
- Wolf Matthias, Phylogeny of Firmicutes with special reference to *Mycoplasma* (Mollicutes) as inferred from phosphoglycerate kinase amino acid sequence data. : *Int J Syst Evol Microbiol.*, 2004. 871–875 : Cilt 54 (Pt 3).
- Wopereis H., R. Oozeer K. Knipping, C. Belzer, J. Knol The first thousand days – intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis *Pediatr.* : *Allergy Immunol.*, 2014. 428–438 : Cilt 25.
- Wu G., Gut remediation: A potential approach to reducing chromium accumulation using *Lactobacillus plantarum* TW1 1.. : *Sci. Rep.*, 2017,. 15000. : Cilt 7, .
- Wu J., Perinatal Lead Exposure Alters Gut Microbiota Composition and Results in Sex specific Bodyweight Increases in Adult Mice.. : *Toxicol. Sci.*, 2016. 324–333. : Cilt 151,.

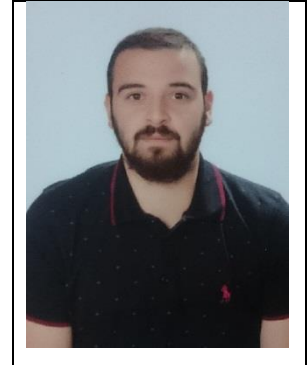
- Yi P., Li L., The germfree murine animal: an important animal model for research on the relationship between gut microbiota and the host.. : *Veterinary Microbiology*, 2012. 1–7 : Cilt 157.
- Yiğit N, ÇOLAK E. ÇOLAK R.,ÖZKURT Ş.,KANDEM İ.,KANKILIÇ T. Türkiye'deki *Rattus Fischer*, 1803 (Mammalia:Rodentia) Cinsinde Enzim Polimorfizmi, Genetik Farklılıklar [Rapor]. Ankara : Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, 2004.
- Yılmaz K., M. Altındış Sindirim Sistemi Mikrobiyotası, Fekal Transplantasyon. Sakarya : Nobel medicus, 2017.. SAYI: 1 : Cilt CILT: 13,.
- Zhai Q., Oral administration of probiotics inhibits heavy metal cadmium absorption by protecting intestinal barrier.. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 2016,. 4429–4440. : Cilt 82, .
- Zhai Q., Protecti, effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM8610 against acute cadmium toxicity in mice.. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 2013,. 1508–1515. : Cilt 79, .
- Zhai Q., Protecti, Effects of *Lactobacillus plantarum* CCFM8610 against Chronic Cadmium Toxicity in Mice Indicate Routes of Protection besides Intestinal Sequestration.. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 2014, . 4063–4071. : Cilt 80, .
- Zhang S., Subchronic exposure of mice to cadmium perturbs their hepatic energy metabolism and gut microbiome.. : *Chem. Res. Toxicol.*, 2015,. 2000–2009 : Cilt 28.
- Zimmermann M.B., C. Chassard F. Rohner, E.K. N'Goran, C. Nindjin, A. Dostal, The effects of iron fortification on the gut microbiota in African children: a randomized controlled trial in Cote Ivoire. : *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010. 1406–1415. : Cilt 92.
- Zuily S. *Lactococcus garvieae* endocarditis. : *Archives of Cardiovascular Diseases*, 2011. 138–139 : Cilt 104 (2).

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim ve Soyisim: Uygur KABAOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi: Devrek-09.04.1994



EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi:

04.09.2012 - 27.06.2016 Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

2,97 /4

YÖKDİL 2018 Sonbahar Dönemi sınavı

50.00 /100

AKADEMİK ÇALIŞMALAR

- **09/2013-07/2014** TUBİTAK 2209- A ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİ YURT İÇİ / YURT DIŞI ARAŞTIRMA PROJELERİ DESTEKLEME PROGRAMI (Proje No: 1919B011400026) kapsamında ‘Chlamydomonas reinhardtii mt (+) türünde Farklı Stres Koşullarında Isı Şoku Proteinlerinin mRNA düzeylerinin belirlenmesi’
- **09/2015-07/2016** TUBİTAK 2209-A ÜNİVERSİTE ÖĞRENCİLERİ YURT İÇİ / YURT DIŞI ARAŞTIRMA PROJELERİ DESTEKLEME PROGRAMI (Proje No: 1919B011500542) kapsamında ‘Chlorella vulgaris türünde Giberellin hormonu etkisi ve Farklı Stres Koşullarında Total lipid ve mRNA Düzeylerinin belirlenmesi’
- **06/2018-06/2019** Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, proje no: (TPF-17040) ‘Obez sıçanlarda selenyum ve n-asetil sistein’ in fertilitte/ infertilitte ve karaciğer üzerine etkisi’
- **07/2018-10/2019** Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, proje no: (2018-01.BŞEÜ.04-04) ‘Ekstrem İşitme ve Görme Fonksiyonlarının Hayvan modellerinde (Yarasa ve Körfare) Karşılaştırılmalı Transkripsiyonel Analizi’

STAJLAR

- **07/2015 – 09/2015** Gebze İleri teknoloji Enstitüsü – Kocaeli / Gebze

Pozisyon: Stajyer Moleküler Biyolog

İLETİŞİM

E Posta Adresi: uygarka.mbg@gmail.com

Adresi: Cumhuriyet mahallesi İpek sokak No:4 Kat:2 Daire:3 BİLECİK/Merkez