



Ozmotik Koruyucular ve Mikroorganizmalar

GÜLBENZER S.* ÖKMEN G.

Muğla Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla, TÜRKİYE

*Sorumlu Yazar
salihgulbenzer@gmail.com

Geliş Tarihi : 05 Ocak 2012
Kabul Tarihi : 11 Şubat 2012

Özet

Mikroorganizmaların ozmotik strese yanıtı çoğunlukla ozmotik koruyucular biriktirerek ya da ortamdan alarak veya *de novo* sentezi ile olur. Bu ozmotik olarak aktif moleküller hücre bölünmesi için gereken pozitif turgor basıncını korumaktadır. Organizmaların çoğunluğu sitoplazmik iyonik gücü çok düşük düzeylere kadar sınırlanmaktadır, çünkü çoğu hücre içi makromoleküller inorganik iyonların yüksek seviyelerine hassastır. Yüksek ozmolariteli çevrelerdeki prokaryotların hayatta kalma ve gelişim için iki genel stratejileri mevcuttur. Mikroorganizmalar arasında, sukroz, trehaloz, glukozil gliserol ve glisin betain büyük ozmotik koruyucular olarak kullanılmaktadır. Ozmotik koruyucuların çeşitliliği geniştir ancak birkaç önemli kimyasal kategoriye ayrılır; bunlar genellikle aminoasitler veya türevleri, karbonhidratlar veya türevleri gibi küçük organik moleküllerdir. Bazısı doğada yaygın olarak dağılmış iken diğerleri belli organizma gruplarında özel olarak görülmektedir. Ozmotik koruyucular kritik makromoleküllere karşı doğrudan koruyucu etki gösterirler, bu da kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi genel streslere karşı toleransın artması için bunların fonksiyonlarını açıklamaktadır. Mikrobiyal tuz toleransı ile ilgili olarak bilgi, sadece ekolojik nişlere suşun özel adaptasyonlarını karakterize etmez, biyoteknolojik amaçlar için olumsuz çevre koşullarına toleransı artmış hücreleri üretmek için de kullanılabilir. Bu derleme ozmoadaptasyon ve mikroorganizmalara genel bir bakış sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Ozmoadaptasyon, ozmotik koruyucu, mikroorganizma

Abstract

Microorganisms respond to osmotic stress mostly by accumulating compatible solutes, either by uptake from the medium or by *de novo* synthesis. These osmotically active molecules preserve the positive turgor pressure required for cell division. The majority of organisms limit the cytoplasmic ionic strength to rather low levels, because most intracellular macromolecules are sensitive to high levels of inorganic ions. Two general strategies exist for the growth and survival of prokaryotes in environments of elevated osmolarity. Among microorganisms, sucrose, trehalose, glucosylglycerol and glycine betaine are used as major compatible solutes. The diversity of compatible solutes is large but falls into a few major chemical categories; they are usually small organic molecules such as amino acids or their derivatives, and carbohydrates or their derivatives. Some are widely distributed in nature while others seem to be exclusively present in specific groups of organisms. Compatible solutes display direct protective effects towards critical macromolecules, which explains their function to achieve tolerance towards general stresses such as desiccation and high temperatures. Knowledge regarding microbial salt tolerance is not only useful to characterize strain specific adaptations to ecological niches, but it can also be used to generate cells with increased tolerance to adverse environmental conditions for biotechnological purposes. This review provides an overview of osmoadaptation and microorganisms.

Keywords: Osmoadaptation, compatible solute, microorganism

GİRİŞ

Yüksek tuz konsantrasyonları canlı sistemler için iki önemli sorun oluşturmaktadır. Bunlardan ilki, su ve turgor basıncının kaybında düşük bir su potansiyeli ile sonuçlanmakta ve ozmotik olarak aktif bileşiklerin birikimi ile telafi edilmektedir. İkincisi,

çevre ortamının yüksek iyonik gücü inorganik iyonların sürekli akını ile sonuçlanmaktadır (Na^+ ve Cl^-). Ozmoadaptasyon, düşük ve yüksek su çevrelerine adaptasyonun fizyolojik ve genetik bulguları olarak tanımlanmaktadır [34]. Preseptite, yüksek ozmolarite ile baş etmek için iki strateji geliştirilmiştir [36]. Bunlar; sitoplazmada ki tuz ve organik ozmolit tipidir.

Sitoplazmadaki tuz mekanizması

Bu mekanizma iyonların yüksek hücre içi konsantrasyonlarının birikimi olarak bilinmektedir, genelde potasyum ve ozmotik stresin üstesinden gelmek için halofilik arkeler ve halotolerant bakteriler tarafından kullanılan bir stratejidir. Bu prokaryotlar yüksek tuz çevresine adaptasyon fizyolojisine sahiptirler [36,130]. Ekstrem halofilik arkelerde, baskın olarak biriken koruyucu potasyum iyonlarıdır [11,131]. Bu halofiller sodyum iyonlarını kovma ve potasyum birikimi vasıtasıyla sodyumsuz bir sitoplazma sağlamaktadırlar. Halofil prokaryotlarda iç potasyum seviyeleri iç sodyum iyonlarından 5 kat daha fazla olabilmektedir [93]. Hücrelerde ki potasyum gradienti hem sodyum iyon/proton antiporter hem de potasyum iyon uniporter tarafından düzenlenmektedir [24].

Bu stratejiyi izleyen organizmalar, yüksek tuz konsantrasyonuna hücrenin iç protein kimyasını da adapte etmektedirler. İlk kez bu adaptasyon, *Halobacteriaceae*' de keşfedilmiş ve tipiktir [36,78]. Fermentasyon bakterileri, asetojenik anaeroplara (*Haloanaerobium*, *Halobacteroides*, *Sporohalobacter*, *Acetohalobium*), ve sülfat indirgeyenlerin de bu stratejiyi geliştirdikleri bilinmektedir [91]. Halofil arkeler, NaCl'nin bol olduğu ortamlarda sitoplazmalarını korumaktadır. *Haloferax volcanii*'de gösterildiği gibi enerjiye bağlı potasyum alımı sistemi ile hücre içinde potasyum ve karşı iyonu Cl⁻ biriktirmektedir [116].

Organik-ozmolit mekanizması (ozmotik koruyucular: uyumlu çözünenler)

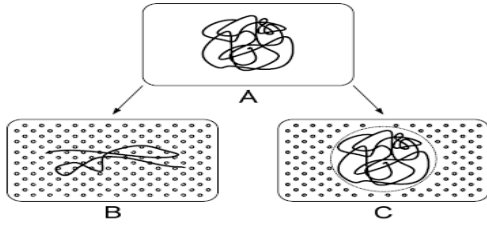
Uyumlu çözünenler, (*compatible solutes: uyumlu solutler: ozmotik koruyucular*) terimi ilk kez Brown tarafından [11] "hücre fonksiyonunu bozmadan ozmotik ayarlama için kullanılan küçük organik bileşikler" olarak tanımlamıştır. İyonik olmayan, suda çözünebilir, metabolizmayı bozmayan, yüksek sitoplazmik konsantrasyonlarda bile ozmotik koruyucular olarak kalan bileşiklerdir [10,11,82,130]. Toksik olmayan, küçük molekül ağırlıklı ve denatürasyona karşı bazı makromolekülleri koruyan moleküllerdir. Temel ozmotik koruyucular polioller ve türevleri, çeşitli şekerler, zwitterion'lardır (aminoasitler ve betainler gibi). Ozmotik koruyucular 3 kimyasal kategoriye ayrılmaktadırlar. Bunlar; zwitterionic koruyucular, yüksüz koruyucular ve anyonik solutlerdir (Şekil 1) [58].

Hücre zarında ozmotik dengeyi sağlamanın dışında proteinlerin hatta tüm hücrenin etkili stabilizörleridir (Şekil 2). Isı, kuraklık, donma, çözülme, üre ve tuz gibi denatüre edicilere karşı koruyucu olarak hareket etmektedirler [69,77,27,10,7,58,134,135]. Ozmotik işlevlerine ilaveten ozmotik koruyucular protein ve membranlar [47,74] gibi makromolekülleri denatürasyona karşı korumaktadırlar.

Organik ozmolit mekanizması bakterilerde, ökaryotlarda ve bazı metanojenik arkeler de yaygındır [61,108]. Ozmotik strese

Zwitterionik iyonlar	Yüksüz çözünenler	Anyonik çözünenler (Karboksilatlar)	Anyonik çözünenler (Fosfat, Sülfat)
<p>Betain</p>	<p>α-glukozilgiserol</p>	<p>L-α-glutamat</p>	<p>α-digliserol fosfat</p>
<p>Ektoin</p>	<p>α-mannozilgiseramid</p>	<p>β-glutamat hidroksibutirat</p>	<p>di-miyoinositol 1,1 fosfat</p>
<p>Hidroksiektoin</p>	<p>Trehaloz</p>	<p>Hidroksibutirat</p>	<p>Mannozil-DP</p>
<p>N-asetildiaminbutirat</p>	<p>Sukroz</p>	<p>Poli-β-hidroksibutirat</p>	<p>inositol mannozil</p>
<p>N-asetil β-lizin</p>	<p>N-α-karbonil-L-glutamin-L-amid</p>	<p>α-glukozilgiserat</p>	<p>β-siklik-2,3-difosfogliserat</p>
<p>β-glutamat</p>	<p>N-asetilglutaminilglutamin amid</p>	<p>α-mannozilgiserat</p>	<p>Sulfonehaloz</p>

Şekil 1. Bazı uyumlu solutlerin yapıları [109]



Şekil 2. Protein şekillenmesi ve stabilitesi üzerinde denatüre solutlerin veya uyumlu solutlerin etkisi (A: Proteinin doğal hali; B: üre varlığında ki denatüre protein; C: uyumlu solut varlığında ki stabil protein) [34].

yanıt olarak, bu organizmalar *de novo* senteziyle veya ortamdan şeker, poliol, aminoasit/aminoasit türevleri gibi organik bileşikler alma yolu ile biriktirmektedirler. Polioller, mantarlar ve algler arasında yaygın olarak biriktirilir ancak bakterilerde çok nadirdir, arkelerde ise henüz bilinmemektedir. Ektoin ve hidroksi ektoin sadece bakterilerde bulunan koruyuculara örneklerdir [60].

Ozmotik Koruyucuların Sentezi

Bakterilere [22], siyanobakterilere [133], algere [12], funguslara [50] ve yüksek bitkilere [4] ait çoğu organizma çevrenin yüksek ozmolaritesine karşı sitoplazmalarının ozmotik dengesini sağlamak için ozmotik koruyucular olarak adlandırılan hücre içi bir veya daha fazla düşük molekül ağırlıklı organik bileşik biriktirmektedirler.

Halofilik mikroorganizmalar genelde azot-içeren glisin betain ve ektoin gibi bileşikler sentezlerken [36], tuz toleransı sınırlı organizmalar ise trehaloz (Tre, 1-a-glukopiranozil-1-a-glikopiranozid) veya sukroz gibi şekerleri biriktirmektedirler. Polioller (gliserol ve glukozilgliserol), serbest aminoasitler (prolin ve glutamat) ve türevleri, kuaterner amin ve sulfonium analogları (karnitin ve dimetilsulfoniopropionat), sülfat esterleri (kolin-O-sülfat), N-asetillenmiş diamino asitler ve küçük peptitler (N-asetil glutaminil glutamin amid ve N-asetil ornitin) gibi diğer solutler, halofilik mikroorganizmalarda identifiye edilmiştir [53].

Organizmalar tarafından sentezlenen bu solutler farklı çevresel şartların indüksiyonu sonucu sentezlenmektedir. Bunlardan trehalozun sentezin de çok sayıda çevresel faktör rol oynamaktadır ve bu faktörler organizmadan organizmaya farklılık göstermektedir. Tablo 1'de trehalozun farklı organizmalarda sentezini indükleyen çevresel faktörler özetlenmiştir.

Tablo 1. Trehaloz sentezini indükleyen faktörler [134]

İndükleyici şartlar	Organizma
Ozmotik stres	Heterotrofik bakteriler, Siyanobakteriler, Fototrofik bakteri, Funguslar, Mayalar, Aktinomisetler
Kuraklık	Mayalar
Düşük oksijen	<i>Rhizobia</i>
Kimyasal stres (CuSO ₄ , etanol, H ₂ O ₂)	Mayalar, Funguslar
Isı şoku	Funguslar, Mayalar, <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)
Açlık	Mayalar
Durgun faz gelişimi	Mayalar, Funguslar, <i>E. coli</i>
Sporlanma	Aktinomisetler, Mayalar, Funguslar

Glisin betain doğrudan glisin metilasyonu yoluyla sınırlı sayıda bakteri tarafından sentezlenmektedir [36]. *E. coli*'de glisin betain sentezi, öncüsü olarak kolin ve glisin betain aldehit yoluyla 2 basamaklı oksidasyon yolu ile sentezlenmektedir [64]. Glisinden sarkosine metilasyon üç adımda gerçekleşmiş ve ekstrem halofilik bakteri *Actinopolyspora halophila*'da, *Ectothiorhodospira halochloris*'de ve halotolerant siyanobakteri *Aphanothece halophytica*'da gösterilmiştir [89,132]. Bu basamaklar metil transferazlar tarafından katalizlenmektedir. Arkelerde, glisin betain sadece halofilik metanoarke *Methanohalophilus portucalensis* tarafından glisin, sarkosin ve dimetilglisin metilasyonu yoluyla sentezlendiği bilinmektedir [62,63,108]. Ektoin heterotrofik halofil bakteriler tarafından aspartik-semialdehit kullanılan farklı bir yol ile sentezlenmektedir [95].

Taşıyıcı Sistemleri

Birçok mikroorganizma uyumlu solut taşıma sistemine sahip olup bunların transkripsiyonu veya aktive olmasında turgor basıncı, sitoplazmik potasyum iyonları ve makromoleküller gibi farklı uyarıcılar rol oynamaktadır [6,21,44,98,104]. Uyumlu solutleri taşıyan sistemlerin bazıları solute özgüdür. Taşıyıcı sistemlerin bazıları ozmosensör ve düzenleyici olarak fonksiyon yapmaktadırlar [101].

Birçok heterotrofik bakteri betain taşıma sistemlerine sahip olmasına rağmen glisin betain sentezleyemez ve bu bakterilerde gelişim ortamından glisin betain alımı endojen ozmotik koruyucular sentezini de baskılamaktadır [6,21,44,104,98]. Bazı bakterilerde, glisin betain taşıma sistemleri diğer ozmotik koruyucuların birikiminde işlev yapabilir. Örneğin, *E. coli*'de ozmotik stres sırasında ektoinin alımında glisin betain taşıma sistemlerinin kodladığı proP ve proU'a bağlı olduğu gösterilmiştir [49].

ABC-tip taşıyıcılar

ABC-taşıma sistemleri, transmembran ünitesi olup sitoplazmik bir proteindir ve periplazmik substrat bağlayıcı olarak etki göstermektedir. ABC tipi taşıyıcılar *E. coli*, *Corynebacterium glutamicum* ve *Bacillus subtilis* gibi diğer halotolerant mikroorganizmalarda rapor edilmiştir [2,52,53,127,140,112]. Metanojenler hücre içine glisin betaini bu sistemle taşıyabilirler [101].

Betain kolin karnitin taşıyıcılar (BCCT)

Bu grup taşıyıcılar glisin betain, kolin, karnitin ve prolin gibi kuaterner amonyum grubu içeren membran proteinlerini taşımaktadır. Bu tip taşıyıcılar proton motiv güç tarafından üretilen elektrokimyasal gradienti kullanmaktadır. *E. coli*'den ProP ve *C. glutamicum*'dan BetP taşıyıcıları ozmotik değişikliklere sensör olarak fonksiyon yapmaktadır [94,102,112].

Asidik aminoasitler

Halobakteriler ekstrem tuzlulukta yaşamlarını sürdürmek için sitoplazma içinde potasyum veya solut birikimine izin vermekte bunun sonucu olarak ta sitoplazma iyonik güçte artışa maruz kalmaktadır. Halofilik arkelerde ise hücre içindeki değişikliklere adapte olmak için aşırı asidik aminoasitler biriktirmektedir [32, 66, 103]. Bu bileşikler, yüksek tuzluluğa dirençli ancak düşük tuzda kararsızdırlar. Asidik aminoasitler yüzeyde negatif yüklüdür ve halofilik proteinlerin denatürasyonunu önlemek için gereklidirler [101].

Tablo 2. Uyumlu koruyucu sentezleyen organizmalar

Bileşik	Bakteriler	Referans
Aminoasitler		
N-Asetil- lizin	Metanojenik arkelere özgü	[96,108]
N-Asetil-ornitin	<i>Bacillus</i> spp., <i>Planococcus citreus</i> , <i>Sporosarcina halophila</i>	[139]
Alanin	<i>Streptomyces</i>	[55]
Ektoin ve Hidroksiektoin	Halofilik/halotolerant <i>Bacillus</i> suşları, <i>Ectothiorhodospira halochloris</i> , aerobik heterotrofik bakteriler, çoğu halofilik proteobacteria, <i>Micrococcus</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Marinococcus</i> spp., <i>Halobacillus halophilus</i>	[33,34,116]
a- Glutamat	Bazı metanojenik arkeler, <i>Petrotoga miotherma</i> , <i>P. mobilis</i> , <i>Aquifex pyrophilus</i> , <i>Halobacillus halophilus</i>	[51,65,80,110,117]
a- Glutamin	<i>Streptomyces</i> , <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Halobacillus halophilus</i>	[34,55,117]
b-Glutamin	Halofilik methanojenler	[108]
Glisin betain	Bakteriler, Arkeler	[114]
Prolin	<i>Streptomyces</i> , halofilik/halotolerant <i>Bacillus</i> suşları, <i>B. subtilis</i> (bazı halofilik olmayan)	[34,55]
Şekerler		
Sukroz	<i>Anabaena</i> , <i>Synechocystis</i> , <i>Nitrosomonas europaea</i>	[23,73,99]
Trehaloz	<i>Corynebacterium glutamicum</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Thermus thermophilus</i> , <i>Rubrobacter xylanophilus</i>	[26,28,121]
Fosfodiesterler		
Di-myo-inositol fosfat	<i>Pyrococcus woesei</i> , <i>Aeropyrum</i> , <i>Aquifex</i> , <i>Archaeoglobus</i> , <i>Pyrodictium</i> , <i>Pyrolobus</i> , <i>Stetteria</i> , <i>Thermococcus</i> , <i>Thermotoga</i> , <i>Rubrobacter xylanophilus</i> , <i>Persephonella marina</i>	[28,115,118]
Di-mannosil-di-myo-inositol fosfat	<i>Thermotoga</i> spp.	[79]
Gliseril-myo-inositol fosfat	<i>Aquifex pyrophilus</i> , <i>Archaeoglobus fulgidus</i>	[65,79]
Gliserik asit ve türevleri		
Siklik-2,3-bisfosfogliserat	<i>Methanothermus fervidus</i> , <i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> , <i>Methanopyrus kandleri</i>	[40,67,120]
Mannozil gliserat	<i>Thermus thermophilus</i> , <i>Rhodothermus marinus</i> , <i>Rubrobacter xylanophilus</i> , <i>Pyrococcus</i> , <i>Palaeococcus</i> , <i>Thermococcus</i> , <i>Archaeoglobus</i> , <i>Aeropyrum</i> , <i>Stetteria</i>	[28,88,114]
Mannozil gliseramid	<i>Rhodothermus marinus</i>	[122]
Glukozil gliserat	<i>Agmenellum quadruplicatum</i> , <i>Erwinia chrysanthemi</i> , <i>Persephonella marina</i>	[41,115]
Glukozil-(1,6)-glukozil gliserat	<i>Persephonella marina</i>	[115]
Mannozil-(1,2)-glukozil gliserat	<i>Petrotoga miotherma</i>	[51]
Polioller		
Sorbitol	<i>Zymomonas mobilis</i>	[70]
Mannitol	<i>Pseudomonas putida</i>	[54]
Glukozil gliserol	<i>Pseudomonas mendocina</i> , <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> , <i>Synechocystis</i>	[42,83,84,111]

Lipit membranlar

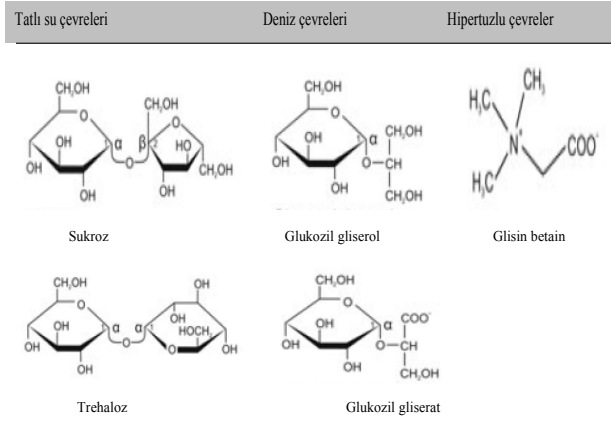
Lipid membran kompozisyonu özellikle tuz çevrelerine adapte olmuş halofilik arkelerin karakteristik özelliğidir. Ekstrem halofilik arkelerin zarları diasidik fosfolipid, arketidigliserol metil fosfatın (PGM-Me) bol olması ile karakterize edilmiştir. Bu lipid ile 5M NaCl'de bile stabilitesini korumaktadır. Orta halofil veya halofil olmayanların zarlarında bu lipid yoktur veya diğer lipidlerle yer değiştirmiştir [125]. Son yıllarda yapılan çalışmada, *Haloarcula* suşlarının yüksek tuz konsantrasyonların da geliştiğinde PGP-Me lipid düzeyinin membranda arttığı rapor edilmiştir [128].

Ozmotik Koruyucu Sentezleyen Mikroorganizmalar

Bakteriler ozmotik koruyucular denilen organik bileşikler biriktirmektedirler. Glisin betain arkelerin üyelerinde olduğu gibi Gram negatif ve pozitif bakterilerde de etkili bir ozmotik koruyucu olduğu rapor edilmiştir [98,134]. Çölde bulunan siyanobakteriyal türlerde kuraklığın zararlı etkilerini telafi etmek amacı ile trehaloz birikimi olduğu rapor edilmiştir [43]. Mikroorganizmalar tarafından çok sayıda koruyucu sentezlenmektedir. Bunların bazıları Tablo 2'de özetlenmiştir.

Siyanobakteriler geniş habitatlara yayılmış prokaryotik fotootroflar olup özellikle sel basmış pirinç alanlarının doğal bileşenleridir. Havadaki serbest azotu fiks ettikleri için biyogübre çalışmalarında kullanılmaktadırlar. Genelde bakterilerde, tuzluluk ve ozmotik stres birbirine benzerdir [21, 138] ancak siyanobakteriler de farklı olduğu rapor edilmiştir [5,31]. Serbest yaşayan formlar tuzluluk/su durumunun farklı olduğu habitatlarda sıklıkla bol bulunmaktadır. Ozmotik ve tuzluluk stresine siyanobakterilerin adaptasyonu üzerine çalışmalar Borowitzka [8] tarafından başlatılmıştır. Bundan sonraki çalışmalar tatlı su, deniz ve acı su habitatlarının karakteristik farklı siyanobakterilerinin tuz stresi ve ozmotik stres direncinin fizyolojik mekanizmasına yönelmiştir [5,75,133].

Bu habitatlar altında gelişmeye adapte olmuş siyanobakterilerde farklı ozmotik koruyucular sentezlenmektedir. Tatlı su suşları (az ozmotolerant) dominant olarak sukroz ve trehaloz gibi disakkaritleri, deniz suşları (orta ozmotolerant) glukozil-gliserol ve hipertuzlu suşları



Şekil 3. Farklı çevresel habitatlarda gelişen siyanobakterilerde sentezlenen ozmotik koruyucular

(ekstrem ozmotolerant) glisin betain gibi kuaterner amonyum bileşiklerini biriktirdikleri görülmüştür (Şekil 3 ve Tablo 3) [75,76,105,106,107,133].

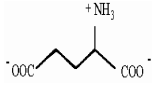
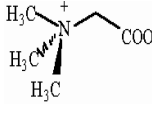
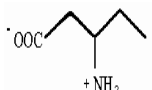
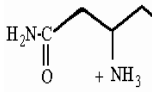
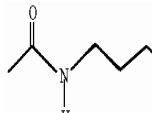
Synechocystis sp. PCC6803 *de novo* senteziyle glukozil-gliserol ürettiği gibi çevresinde hazırca bunu alır [84]. Birkaç deniz siyanobakterisinde glukozil-gliserol en büyük ozmolit olarak bulunmuştur [30], oysaki tuzlu göllerden izole edilmiş *Aphanothece halophytica* [126] ve *Plectonema tomasianarum*' da ozmoadaptasyondan sorumlu farklı aminoasitlerin hücresel içeriğinin arttığı rapor edilmiştir [8]. Sukroz diazotroflarda ozmoregülatör olarak fonksiyon yapmaktadır.

Glisin betain ilk kez halotolerant siyanobakteri *Synechocystis* DUN52'ta en büyük koruyucu olduğu gösterilmiştir [85]. Tek hücreli, *Aphanothece halophytica* yüksek halotolerant organizma olup, 3M NaCl konsantrasyonuna kadar gelişebilmektedir [38,106]. Tuzların yüksek konsantrasyonu hem ökaryotik ve hem de prokaryotik kökenli birçok enzimin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi yaptığı bilinmektedir. *A. halophytica*'dan RuBisCo enzim aktivitesi üzerine tuz inhibe edici etki göstermektedir ancak glisin betain tuz inhibisyonuna karşı enzimi korur hatta yüksek konsantrasyonda bile hücrelerin metabolik faaliyetlerine zarar vermemektedir [48].

Tablo 3. Siyanobakteriler tarafından sentezlenen ozmotik koruyucular [56]

Bileşik	Siyanobakteri
Trehaloz	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC29413, <i>Cyanothece</i> sp. PCC7424, <i>Cyanothece</i> sp. PCC8801, <i>Nostoc</i> sp. PCC7120, <i>Crocospaera watsonii</i> WH8501, <i>Microcoleus chthonoplastes</i> PCC7420, <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> NIES-39, <i>Arthrospira maxima</i> CS-328, <i>Nodularia spumigena</i> CCY9414, <i>Lyngbya</i> sp. PCC8106, <i>Synechococcus</i> sp. JA-3-3Ab, <i>Synechococcus</i> sp. JA-2-3B'a (2-13), <i>Nostoc punctiforme</i> PCC73102
Glukozil-gliserol	<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803, <i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017, <i>Cyanothece</i> sp. ATCC 51142 (N-Fix), <i>Microcoleus chthonoplastes</i> PCC7420, <i>Synechococcus</i> sp. PCC7002, <i>Synechococcus</i> sp. WH8102, <i>Synechococcus</i> sp. WH7803, <i>Arthrospira maxima</i> CS-328, <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> NIES-39
Sukroz	<i>Anabaena variabilis</i> ATCC29413, <i>Cyanothece</i> sp. PCC7424, <i>Cyanothece</i> sp. PCC7425, <i>Microcystis aeruginosa</i> PCC7806, <i>Synechococcus elongatus</i> PCC7942, <i>Synechococcus elongatus</i> PCC6301, <i>Synechocystis</i> sp. PCC6803, <i>Microcoleus chthonoplastes</i> PCC7420, <i>Prochlorococcus</i> sp. NATL2A, <i>Prochlorococcus</i> sp. SS120, <i>Prochlorococcus</i> sp. MIT9313, <i>Synechococcus</i> sp. PCC7002, <i>Synechococcus</i> sp. WH7803, <i>Arthrospira maxima</i> CS-328, <i>Nodularia spumigena</i> CCY9414, <i>Gloeobacter violaceus</i> PCC7421, <i>Nostoc punctiforme</i> PCC73102, <i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1
Glukozil-gliserat	<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017, <i>Microcoleus chthonoplastes</i> PCC7420, <i>Prochlorococcus</i> sp. NATL2A, <i>Prochlorococcus</i> sp. SS120, <i>Synechococcus</i> sp. PCC7002, <i>Arthrospira maxima</i> CS-328, <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> NIES-39, <i>Lyngbya</i> sp. PCC8106
Glisin betain	<i>Prochlorococcus</i> sp. MIT9313, <i>Synechococcus</i> sp. WH8102, <i>Synechococcus</i> sp. WH7803, <i>Lyngbya</i> sp. PCC8106

Tablo 4. Arkelerde ozmotik koruyucu olarak kullanılan aminoasitler ve türevleri [78]

α- aminoasitler		
α-Glutamat		<i>Halomonas elongata</i> <i>Methanococcus</i> sp. <i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> <i>Natronococcus occultus</i>
Glisin betain		<i>Methanohalophilus portucalensis</i> <i>Methanosarcina thermophila</i>
β- aminoasitler		
B-glutamat		<i>Methanococcus thermolithotrophicus</i> <i>Methanococcus igneus</i> <i>Methanococcus jannaschii</i> (diğer metanojenler)
B- glutamin		<i>Methanohalophilus portucalensis</i>
N- asetil β- lizin		<i>Methanosarcina thermophila</i> <i>Methanogenium cariaci</i> <i>Methanohalophilus</i> sp. <i>Methanococcus thermolithotrophicus</i>

Ekstrem ortamlarda ki (çöl alanları, kaplıcalar, erime suyundan oluşmuş göletler) siyanobakteriler kuraklık veya yüksek sıcaklığın yanı sıra düşük sıcaklıklar gibi sert ve değişen çevre şartları koşullarına da maruz kalmaktadırlar. Örneğin, karasal siyanobakteri *Nostoc commune*'nin kurumuş hücreleri 100 yılı aşkın bir süre hücre gelişim kapasitesini korumaktadır [13,68]. Doğal habitatlarda, *N. commune* görünür koloniler oluşturur, yapısal olarak kompleks ekzopolisakaritleri (EPS) üretir, bu da hücre filamentlerinin kuraklık toleransı için temel oluşturmaktadır [45]. EPS kılıfa ilaveten, kuraklık-toleranslı *Nostoc* suşları, hücre içi su potansiyelini ve/veya membran stabilizasyonunu düzenlenmek için trehaloz ve sukroz içermektedir [45,46].

Termofilik organizmalar genellikle termokoruyucu olarak özel, düşük moleküler-ağırlıkta bileşikler biriktirmektedirler. Ancak, sıcak ortamlarda yaşayan siyanobakteriler için sadece bir kaç veri bulunmaktadır. Di-miyo-inositol-1,1'-fosfat (DIP) veya mannozil gliserat (MG) termofilik arke ve bakterilerin karakteristik koruyucularıdır [114]. Genelde MG'ın, tuz aklimasyonunda birincil bir role sahip olduğu görülmektedir, çünkü termofilik organizmalarda bunun birikimi tuz vasıtasıyla düzenlenmektedir. Buna karşın, DIP gerçek bir termokoruyucu olarak işlev görür ve optimum-altı büyüme sıcaklıklarında özellikle biriktirmektedir. Termospesifik çözünenlere ilaveten, trehaloz gibi ozmotik koruyucular da ısıya toleranslı prokaryotlarda bulunmuştur [114].

Siyanobakteriler erimiş su göletleri gibi soğuk habitatlarda da bulunmaktadır. Bu psikrofil suşlar 15°C altında optimal

gelişme göstermektedirler [87]. Düşük sıcaklıklarda veya donmaya alışma sırasında ozmotik koruyucular önemli bir rol oynamaktadır, psikrofilik siyanobakterilerde sıcaklık veya strese bağlı birikimler olabilir, ancak konu üzerinde araştırmalar halen devam etmektedir.

Arkeler sıklıkla yüksek sıcaklık ortamlarında bulunabildiği gibi yüksek tuz çevrelerinde de bulunabilmektedirler. Arkeler, Eubacteria ve ökaryotik organizmalar gibi benzer stratejileri kullanarak ozmodaptasyon göstermektedirler. Tablo 4'de arkelerin ozmolit olarak kullandığı aminoasit ve türevleri özetlenmiştir.

Mannozil gliserat, digliserol fosfat, di-myo-inositol fosfat ve türevleri sıcak çevrelerde gelişen arke ve bakterilerin koruyucularıdır [80]. MG ve DIP (hiper) termofiller arasında yaygındır, oysaki digliserol fosfat şimdiki kadar sadece *Archaeoglobus* cinsinin suşlarında bulunmuştur [39].

Ozmotik Koruyucuların Ekolojik Önemi

Ozmotik koruyucuların çok yüksek oranda biriktirildikleri için hücre total karbon ve azotunun önemli bir kısmını oluştururlar. Bu nedenle, özellikle hiper tuzlu çevrelerde bu koruyucuların yüksek konsantrasyonları biriktirilmektedir, bundan başka ozmotik koruyucular ekosistem içinde karbon ve azotun önemli bir kaynağını temsil ettiği rapor edilmiştir. Bakteriyofaj, virüs veya parazitik bakteriler tarafından hücrenin lizisi sırasında veya hücre ölümü sonucu pasif difüzyon ile çevreye ayrılan bu koruyucular ayrıca ozmotik koruyucu olarak da görev yaptıklarından ekolojik anlamda çok önemlidirler [134].

Çevredeki karbon, azot ve enerji kaynağı olarak

Ozmotik koruyucular karbon ve azotun hücre içi stoklarını temsil eder ve sitoplazma da molal seviyede bulunmakta olup, besin ve enerjinin hücre içi rezervi olarak rol oynamaktadırlar. Bu hem karbonhidrat ve hem de azot içeren solutlerin karışımını biriktirebilen organizmalar için geçerlidir. Örneğin, haloalkofilik fototrofik bakteri *Ectothiorhodospira halochloris* büyük ozmotik koruyucular olarak glisinbetain sentezler, ancak ikincil ozmotik koruyucu olarak ta hem trehaloz ve hem de ektoini biriktirebilmektedir [35,7].

Karbon ve azotun önemli stokları olan bu solutler çevreye bırakıldıklarında mikrofloranın diğer üyeleri tarafından kullanılmaktadırlar. Bu, hiper tuzlu ve deniz mikrobiyal ekosistemleri için özellikle doğrudur, yüksek bakteriyel biyokütle varlığı sırasında ve özellikle şekerlerin yüksek konsantrasyonlarında (trehaloz ve sukroz), glukozil-gliserol ve glisin betain mikrobiyal mat sistemlerinde rapor edilmiştir [92,124].

Gliserol, glukozil-gliserol, trehaloz ve sukroz gibi karbonhidrat koruyucular hem aerobik hem de anaerobik heterotrofik bakterilerin son derece geniş karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu koruyucuların mikrobiyal mat sistemlerindeki heterotroflar için önemli karbon kaynağını temsil edebileceği daha önceleri ileri sürülmüştür [16,92]. Aminoasit, prolin, glutamat ve alanin Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler, aktinomiset ve mikroalglerde yaygın olarak biriktirilmektedir, heterotrofik ve fototrofik mikroorganizmaların geniş bir yelpazesi tarafından karbon, azot ve enerji kaynağı olarak yararlanılmaktadır [1,21, 55,81]. Buna karşılık, glisin betain katabolizması, çoğu siyanobakteriler ve anaerobik fototrofik bakteriler tarafından sentezlenen bu koruyucu, çok nadirdir [37,75,86,90,119,135].

Ozmoadaptif strateji gelişiminde

Bu spesifik koruyucuların kimyasal özellikleri ve biyolojik makromoleküller ile etkileşimi sonucunda mikroorganizmaların tolerans yetenekleri de artmaktadır. Bu ozmotik koruyucuların diğer bir yararı da sporadik veya sıklıkla stresin olduğu çevrelerde mikroorganizmaların ozmoadaptif stratejilerinin gelişiminde önemli rol oynamasıdır [134].

a) Termotolerans

Genelde aktinomisetler, mayalar ve funguslar tarafından üretilen çeşitli spor tipleri çevresel streslere karşı çok dirençlidir ve yüksek trehaloz biriktirdikleri bilinmektedir [9,29, 129]. *Streptomyces griseus* ile yapılan bir çalışmada trehaloz içeriği incelenmiş ve kuru ağırlığının %1-25'i theralozun oluşturduğu saptanmıştır [83].

b) Donma toleransı

Ozmotik koruyuculardan sukroz ve gliserol rutin olarak yıllardır dondurarak saklamak veya dondurarak kurutma tekniklerinde mikrobiyal örneklerde katkı sağlamıştır [3,123] ve süt endüstrisinde kullanılan *Lactobacillus bulgaricus* kültürlerinin 0.3M trehaloz konsantrasyonunda asidifikasyon özelliğini koruduğu ve canlılığını artırdığı bildirilmiştir [25].

c) Kuraklık toleransı

Çok sayıda organizma kuraklık durumunda uzun süre yaşamını sürdürebilmektedir [19,100]. Ortam şartları tekrar nemlendiğinde ise organizmalar hızla şişer ve sadece birkaç

dakika içinde metabolizmaları aktif hale geçebilmektedir [19]. Benzer şekilde bazı mikroorganizmalarda kuraklık toleransı indirgenmemiş disakkaritlerin birikimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir, özellikle trehaloz ve sukroz [100]. *E. coli*'nin bazı suşlarında kuraklık toleransını artırmada hidroksiektoin ve ektoin biriktirdiği rapor edilmiştir [71].

d) Çevresel strese karşı trehaloz ve sukroz

Trehaloz bakterilerden arkelere, funguslara, bitkilere ve omurgasızlara kadar geniş organizma çeşitliliğinde meydana gelmektedir. Trehalozun ozmatik rolüne ilaveten trehaloz ısıyıya, donmaya, kuraklığa ve diğer çevresel streslere karşı hücrelere koruma sağlar. Buna ilaveten trehaloz karbon ve enerji kaynağı olarak ve spesifik metabolik yollarda sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır [26]. Trehalozun enzimleri, antikorları, doğla ve yapay membranları kuraklığa, yüksek ve düşük sıcaklığa ayrıca bazı kimyasalların inhibitör konsantrasyonlarına karşı koruduğu bildirilmiştir [14,15,17,18,20,100,113]. Sukroz ise bazı *Proteobacteria*'da, tatlı su ve deniz siyanobakterilerinde biriktirilmektedir [73].

Tatlı su habitatlarından izole edilmiş organizmalar iyonik gücü oldukça düşük bir ortama adapte olmaktadır, bu nedenle standart koşullar altında ozmotik koruyucuların birikimi az önemlidir ya da önemsizdir ve bu hücreler inorganik iyonların aktif alım sistemlerine ihtiyaç duymaktadır, örneğin K⁺.

Birçok siyanobakteriyel cinsin taranmasında genel eğilim şudur, tatlı su izolatları ağırlıklı olarak sukroz biriktirir (Suc), tuzlu koşullar altında birincil ozmotik koruyucu olarak ta [106]. Sukroza ilaveten, trehaloz (Tre) kıyı sularında ve karasal habitatlarda baskındır, tatlı su siyanobakterilerin de ise tuz-üklenebilir ozmolittir. Trehaloz biriktiren siyanobakteriler çoğunlukla filamentli suşlardır. Tre-birikimi ile birlikte EPS kılıflarının kuraklığa karşı siyanobakterileri koruduğu belgelenmiş olmasına karşın, tuza alışma için bu kılıfların rolü henüz tam açıklığa kavuşmamıştır [100]. Genelde, temel ozmotik koruyucu olarak, sukroz ve trehaloz birikimi oldukça düşük tuz toleransı (stenohalin davranış) ile ilişkilidir [105]. Son zamanlarda, *Prochlorococcus* suşlarında temel ozmotik koruyucu olarak sukroz tespit edilmiştir [57]. Glukozil-gliserol (GG), ağırlıklı olarak deniz ortamlarından izole edilen suşlarda meydana gelmektedir ancak *Synechocystis* sp. PCC6803 gibi tatlı su izolatlarında da bulunmuştur. Genelde, GG-biriktiren suşlar euryhalin'dir çünkü bunlar geniş tuz aralığında (üst limiti 1.8M NaCl) gelişebilmektedir [105]. Ancak, deniz pikoplanktonik *Synechococcus* suşları da GG biriktirmektedir [72]. Siyanobakteriyel suşlarda ilk ozmotik koruyucu olarak GG tespit edilmiştir [8]. Başlangıçta, GG sentezi ve birikiminin siyanobakterilerde sınırlı olduğu düşünülmekte idi. Aynı zamanda farklı *Pseudomonas* ve *Stenotrophomonas* suşları gibi birçok heterotrof bakterilerde de ozmotik-koruyucu işlevi gösterilmiştir [83,97,111].

Son yıllarda, sukroza ilaveten ayrıca negatif yüklü bir bileşik glukozil gliserat[GGA,O-a-D glukoprinozil-(1→2) gliserat] tespit edilmiş olup GG'ye yapısal olarak çok benzemektedir, ozmotik konsantrasyonlarda birkaç *Prochlorococcus* suşunda saptanmıştır. GGA aynı zamanda euryhalin, kıyı suşu *Synechococcus* sp. PCC7002 küçükmiktarlarda bulunmuştur [57,59]. İlginç olan GGA birikimi, N-yüksek tuz koşulları altındaki hücrelerde artmaktadır. Bu koşullar altında GGA birikimi, *Prochlorococcus* SS120 ve pikoplanktonik *Synechococcus* WH7803 ve WH8102 suşlarında saptanmıştır [57].

e) Hipertuzlu ekosistemler ve betainlerin rolü

Uygun bir koruyucu olarak glisin betainin rolü tartışılmazdır. Bu çok yönlü koruyucu birçok organizma tarafından tuz stresi ile baş etmek için kullanılmaktadır. Siyanobakteriler hipertuzlu ortamlarda da yaygındır, ortam NaCl konsantrasyonuna doydugu için çok düşük ozmotik potansiyel ve yüksek iyonik güç ile bakteri başa çıkmak zorundadır. Kuaterner amonyum bileşigi glisin betain (N,N,N-trimetilglisin) hipertuzlu siyanobakterilerde tipik büyük ozmotik koruyucudur [75,107]. Betainler özellikle glisin betain, yaygın olarak siyanobakteriler ve fototrofik bakteriler tarafından sentezlenmektedir. Glisin betain birikimi halotolerant siyanobakteriler ve fototrofik bakterilerin en önemli karakteristik özelliklerinden biridir [16,134,75,86,90,119,135]. Glisin betainin sentezi aslında bakterilerde nadir görülen ancak olağanüstü bir olaydır, ancak yüksek tuz toleransına uyum sağlamada etkin olduğundan fototrofik bakteriler, halofilik bakteriler, metanojenik arkelerde de bulunmuştur (Şekil 3).

KAYNAKLAR

- [1] Ahmad I, Hellebust JA. 1984. Osmoregulation in the extremely euryhaline marine microalga *Chlorella autotrophica*. *Plant Physiol*, 74: 1010-1015. and sucrose on the hydration and dipole potential of lipid bilayers. *Biophys. J.* 78:2452-2458.
- [2] Baliarda A, Robert H, Jebbar M, Blanco C, Marrec CL. 2003. Isolation and characterization of ButA, a secondary glycine betaine transport system operating in *Tetragenococcus halophilus*. *Current Microbiology*. 47:347-351.
- [3] Barbour EA, Priest, FG. 1986. The preservation of lactobacilli: A comparison of three methods. *Lett. Appl. Microbiol.* 2:68-71.
- [4] Bartels D, Nelson D. 1994. Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant, Cell and Environment*. 17:659-667.
- [5] Blumwald E, Tel-Or E. 1982. Osmoregulation and cell composition in salt adaptation of *Nostoc muscorum*. *Archives of Microbiology*. 132:168-172.
- [6] Booth IR, Higgins CF. 1990. Enteric bacteria and osmotic stress: intracellular potassium glutamate as a secondary signal of osmotic stress. *FEMS Microbiol. Rev.* 75:125-142.
- [7] Borges N, Ramos A, Raven ND, Sharp RJ, Santos H. 2002. Comparative study of the thermostabilizing properties of mannosylglycerate and other compatible solutes on model enzymes. *Extremophiles*. 6:209-216.
- [8] Borowitzka LJ, Denmark S, Mackay MA, Norton P. 1980. Carbon-13 NMR study of osmoregulation in a blue-green alga. *Science*. 210:650-651.
- [9] Brana AF, Mendez C, Diaz A, Manzanal MB, Hardisson C. 1986. Glycogen and trehalose accumulation during colony development in *Streptomyces antibioticus*. *J. Gen. Microbiol.* 132:319-326.
- [10] Brown AD. 1976. Microbial water stress. *Bacteriol. Rev.* 40:803-846.
- [11] Brown AD. 1990. Microbial water stress physiology: principles and perspectives. New York: John Wiley and Sons, Chicester.
- [12] Brown LM, Hellebust JA. 1980. The contribution of organic solutes to osmotic balance in some green and eustigmatophyte algae. *Journal of Phycology*. 16:265-270.
- [13] Cameron RE. 1962. Species of *Nostoc* vaucher occurring in the Sonoran Desert in Arizona. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 81:379-384.
- [14] Carpenter JF. 1993. Stabilization of proteins during freezing and dehydration: application of lessons from nature. *Cryobiology*. 30:220-221.
- [15] Carpenter JF, Hand SC, Crowe LM, Crowe JH. 1986. Cryoprotection of phosphofructokinase with organic solutes: characterisation of enhanced protection in the presence of divalent cations. *Arch. Biochem. Biophys.* 250:505-512.
- [16] Caumette P, Matheron R, Welsh DT, Herbert RA, de Wit R. 1999. Ecology and osmoadaptation of halophilic Chromatiaceae species. In: *The Phototrophic Prokaryotes* (ed. Peschek GA, Loelhardt W and Schmetterer G), pp. 707-713. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- [17] Crowe JH, Crowe LM, Jackson SA. 1983. Preservation of structural and functional activity in lyophilized sarcoplasmic reticulum. *Arch. Biochem. Biophys.* 220:477-484.
- [18] Crowe JH, Crowe LM, Carpenter JF, Aurell WC. 1987. Stabilisation of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars. *Biochem. J.* 242:1-10.
- [19] Crowe JH, Hoekstra FA, Crowe LM. 1992. Anhydrobiosis. *Annu. Rev. Physiol.* 54:579-599.
- [20] Crowe LM, Womersley C, Crowe JH, Reid D, Appel L, Rudolph A. 1986. Prevention of fusion and leakage in freeze-dried liposomes by carbohydrates. *Biochim. Biophys. Acta.* 861:131-140.
- [21] Csonka LN. 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiological Reviews*. 53:121-147.
- [22] Csonka LN, Hanson AD. 1991. Prokaryotic osmoregulation: Genetics and physiology. *Annual Reviews of Microbiology*. 45:569-606.
- [23] Curatti L, Porchia AC, Herrera-Estrella L, Salerno GL. 2000. A prokaryotic sucrose synthase gene (*susA*) isolated from a filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium encodes a protein similar to those of plants. *Planta*. 21:729-735.
- [24] Das Sarma S, Fleischmann EM and Rodriguez-Valera F. 1995. Halophiles. In *Archaea: A Laboratory Manual* (ed. Rob FT), pp. 225-230. Cold Spring Harbour, USA: CSHL Press.
- [25] De Antoni GL, Perez P, Abraham A, Anton MC. 1989. Trehalose, a cryoprotectant for *Lactobacillus bulgaricus*. *Cryobiology*. 26:149-153.
- [26] Elbein AD, Pan Y, Pastuszak I, Carroll D. 2003. New insight on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiology*. 13:17R-27R.
- [27] Eleutherio EC, Araujo PS, Panek AD. 1993. Protective role of trehalose during heat stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cryobiology*. 30: 591-596.
- [28] Empadinhas N, Mendes V, Simoes C, Santos MS, Mingote A, Lamosa P, Santos H, da Costa MS. 2007. Organic solutes in *Rubrobacter xylanophilus*: the first example of di-myoinositol-phosphate in a thermophile. *Extremophiles*. 11:667-673.
- [29] Ensign JC. 1978. Formation, properties and germination

- of actinomycete spores. *Annu. Rev. Microbiol.* 32: 185-219.
- [30] Erdmann N, Fulda S, Hagemann M. 1992. Glucosylglycerol accumulation during salt acclimation of two unicellular cyanobacteria. *Journal of General Microbiology.* 138:363-368.
- [31] Fernandes TA, Iyer V, Apte SK. 1993. Differential responses of nitrogen fixing cyanobacteria to salinity and osmotic stresses. *Applied and Environmental Microbiology.* 59:899-904.
- [32] Fukuchi S, Yoshimune K, Wakayama M, Moriguchi M, Nishikawa K. 2003. Unique Amino Acid Composition of Proteins in Halophilic Bacteria. *J Mol Biol.* 327:347-357.
- [33] Galinski EA, Pfeiffer HP, Trüper HG. 1985. 1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid. A novel cyclic amino acid from halophilic phototrophic bacteria of the genus *Ectothiorhodospira*. *Eur J Biochem.* 149:135-139.
- [34] Galinski EA. 1995. Osmoadaptation in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 37:272-328.
- [35] Galinski EA, Herzog RM. 1990. The role of trehalose as a substitute for nitrogen-containing compatible solutes (*Ectothiorhodospira halochloris*). *Arch. Microbiol.* 153:607-613.
- [36] Galinski EA, Truper HG. 1994. Microbial behaviour in salt stressed ecosystems. *FEMS Microbiol. Rev.* 15: 95-108.
- [37] Galinski EA, Trüper HG. 1982. Betaine, a compatible solute in the extremely halophilic phototrophic bacterium *Ectothiorhodospira halochloris*. *FEMS Microbiol. Lett.* 13:357-360.
- [38] Garlick S, Oven A, Padan A. 1997. Occurrence of facultative anoxygenic photosynthesis among filamentous and unicellular cyanobacteria. *J. Bacteriol.* 129:623 - 629.
- [39] Gonçalves LG, Huber R, da Costa MS, Santos H. 2003. A variant of the hyperthermophiles *Archaeoglobus fulgidus* adapted to grow at high salinity. *FEMS Microbiol. Lett.* 218:239-244.
- [40] Gorkovenko A, Roberts MF. 1993. Cyclic 2,3-diphosphoglycerate as a component of a new branch in gluconeogenesis in *Methanobacterium thermoautotrophicum* ΔH. *J Bacteriol.* 175:4087-4095
- [41] Goude R, Renaud S, Bonnassie S, Bernard T, Blanco C. 2004. Glutamine, glutamate, and α-glucosylglycerate are the major osmotic solutes accumulated by *Erwinia chrysanthemi* strain 3937. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6535-6541.
- [42] Hagemann M, Effmert U, Kerstan T, Schoor A, Erdmann N. 2001. Biochemical characterization of glucosylglycerol-phosphate synthase of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: comparison of crude, purified, and recombinant enzymes. *Curr Microbiol.* 43:278-283.
- [43] Hershkovitz N, Oren A, Cohen Y. 1991. Accumulation of trehalose and sucrose in cyanobacteria exposed to matrix water stress. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:645-648.
- [44] Higgins CF, Cairney J, Stirling DA, Sutherland L, Booth IR. 1987. Osmotic regulation of gene expression: ionic strength as an intracellular signal. *Trends Biochem. Sci.* 12:339-344.
- [45] Hill DR, Peat A, Potts M. 1994. Biochemistry and structure of the glycan secreted by desiccation-tolerant *Nostoc commune* (Cyanobacteria). *Protoplasma.* 182:126-148.
- [46] Hill DR, Keenan TW, Helm RF, Potts M, Crowe LM, Crowe JH. 1997. Extracellular polysaccharide of *Nostoc commune* (Cyanobacteria) inhibits fusion of membrane vesicles during desiccation. *J. Appl. Phycol.* 9:237- 248.
- [47] Hinch DK, Hagemann M. 2004. Stabilization of model membranes during drying by compatible solutes involved in the stress tolerance of plants and microorganisms. *Biochem. J.* 383:277-283.
- [48] Incharoensakdi A, Takabe T, Akazawa T. 1986. Effect of betaine on enzyme activity and subunit interaction of ribulose 1, 5-biphosphate carboxylase/oxygenase from *Aphanotech halophytica*. *Plant Physiol.* 81:1044 - 1049.
- [49] Jebbar M, Talibart R, Gloux K, Bernard T, Blanco C. 1992. Osmoprotection of *Escherichia coli* by ectoine: Uptake and accumulation characteristics. *J. Bacteriol.* 174:5027-5035.
- [50] Jennings DH, Burke RM. 1990. Compatible solute - The mycological dimension and their role as physiological buffering agents. *New Phytologist.* 116:277-283.
- [51] Jorge CD, Lamosa P, Santos H. 2007. α-D-Mannopyranosyl-(1→2)-α-D-glucopyranosyl-(1→2)-glycerate in the thermophilic bacterium *Petrogala miotherma*-Structure, cellular content and function. *FEBS J.* 274:3120-3127.
- [52] Kapfhammer D, Karatan E, Pflughoeft KJ, Watnick PI. 2005. Role of Glycine betaine transport in *Vibrio cholerae* Osmoadaptation and biofilm formation within microbial communities. *App Environ Microbiol.* 71:3840-3847.
- [53] Kempf B, Bremer E. 1998. Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. *Arch Microbiol. Min. Rev.* 170:319-330.
- [54] Kets EP, Galinski EA, de Wit M, de Bont JA, Heipieper HJ. 1996. Mannitol, a novel bacterial compatible solute in *Pseudomonas putida* S12. *J. Bacteriol.* 178:6665-6670.
- [55] Killham K, Firestone MK. 1984. Salt stress control of intracellular solutes in streptomycetes indigenous to saline soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:301-306.
- [56] Klähn S, Hagemann M. 2011. Compatible solute biosynthesis in cyanobacteria *Environmental Microbiology.* 13(3):551-562.
- [57] Klähn S, Steglich C, Hess WR, Hagemann M. 2010. Glucosylglycerate: a secondary compatible solute common to marine cyanobacteria from nitrogen-poor environments. *Environ. Microbiol.* 12:83-94.
- [58] Ko R, Smith LT, Smith GM. 1994. Glycine betaine confers enhanced osmotolerance and cryotolerance on *Listeria monocytogenes*. *J. Bacteriol.* 176:426-431.
- [59] Kollman VH, Hanners JL, London RE, Adame EG, Walker TE. 1979. Photosynthetic preparation and characterization of ¹³C-labeled carbohydrates in *Agmenellum quadruplicatum*. *Carbohydrate Res.* 73:193-202.
- [60] Kunte HJ. 2004. Transport and Accumulation of Osmoregulatory Solutes in Bacteria: Characterization of Transport- Systems and Their Regulatory Mechanisms in *Halomonas Elongata*, *Marinococcus Halophilus*, and *Escherichia coli*. Bonn, Germany: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität.
- [61] Lai MC, Gunsalus RP. 1992. Glycine betaine and potassium ions are the compatible solutes in the extremely

- halophilic methanogen *Methanohalophilus* strain Z7302. J. Bacteriol. 174:7474-7477.
- [62] Lai MC, Wang CC, Chuang MJ, Wu YC, Lee YC. 2006. Effects of substrate and potassium on the betaine-synthesizing enzyme glycine sarcosine dimethylglycine N-methyltransferase from a halophilic methanoarchaeon *Methanohalophilus portucalensis*. Res. Microbiol. 157:948-955.
- [63] Lai MC, Yang DR, Chuang MJ. 1999. Regulatory factors associated with synthesis of the osmolyte glycine betaine in the halophilic methanoarchaeon *Methanohalophilus portucalensis*. Appl. Environ. Microbiol. 65:828-833.
- [64] Lamark T, Eshoo IKMW, Falkenberg P, McDougall J. and Strom AR. 1991. DNA sequence and analysis of the bet genes encoding the osmoregulatory choline-glycine betaine pathway of *Escherichia coli*. Mol. Microbiol. 5:1049-1064.
- [65] Lamosa P, Gonçalves LG, Rodrigues MV, Martins LO, Raven ND, Santos H. 2006 Occurrence of 1-glyceril-1-*myo*-inosityl phosphate in hyperthermophiles. Appl. Environ. Microbiol. 72:6169-6173.
- [66] Lanyi JK. 1974. Salt dependent properties of proteins from extremely halophilic bacteria. Bacteriol. Rev. 38:272-290.
- [67] Lehmacher A, Vogt AB, Hensel R. 1990. Biosynthesis of cyclic 2,3-diphosphoglycerate. Isolation and characterization of 2-phosphoglycerate kinase and cyclic 2,3-diphosphoglycerate synthetase from *Methanothermus fervidus*. FEBS Lett. 272:94-98.
- [68] Lipman CB. 1941. The successful revival of *Nostoc commune* from a herbarium specimen eighty-seven years old. Bull Torr Bot Club. 68:664-666.
- [69] Lippert K, Galinski EA. 1992. Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying. Appl. Microbiol. Biotechnol. 37:61-5.
- [70] Loos H, Kramer R, Sahm H, Sprenger GA. 1994. Sorbitol promotes growth of *Zymomonas mobilis* in environments with high concentrations of sugar: evidence for a physiological function of glucose-fructose oxidoreductase in osmoprotection. J. Bacteriol. 176:7688-7693.
- [71] Louis P, Truper HG, Galinski EA. 1994. Survival of *Escherichia coli* during drying and storage in the presence of compatible solutes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 41:684-688.
- [72] Lu WD, Chi ZM, Su CD. 2006. Identification of glycine betaine as compatible solute in *Synechococcus* sp. WH8102 and characterization of its N-methyltransferase genes involved in betaine synthesis. Arch Microbiol. 186:495-506.
- [73] Lunn JE. 2002. Evolution of sucrose synthesis. Plant Physiol. 128:1490-500.
- [74] Luzardo MC, Amalfa F, Nunez AM, Diaz S, Biondi De Lopez AC, Disalvo EA. 2000. Effect of trehalose and sucrose on the hydration and dipole potential of lipid bilayers. Biophys. J. 78:2452-2458.
- [75] Mackay MA, Norton RS, Borowitzka LJ. 1984. Organic osmoregulatory solutes in cyanobacteria. Journal of General Microbiology. 130:2177-2191.
- [76] Mackay MA, Norton RS, Borowitzka LJ. 1983. Marine blue-green algae have a unique osmoregulatory system. Marine Biology. 73:301-307.
- [77] Malin G, Lapidot A. 1996. Induction of synthesis of tetrahydropyrimidine derivatives in *Streptomyces*. J. Bacteriol. 178:385-95.
- [78] Martin DD, Ciulla RA, Roberts MF. 1999 Osmoadaptation in archaea. Appl. Environ. Microbiol. 65:1815-1825.
- [79] Martins LO, Carreto LS, da Costa MS, Santos H. 1996. New compatible solutes related to di-*myo*-inositol-phosphate in members of the order *Thermotogales*. J. Bacteriol. 178:5644-5651.
- [80] Martins LO, Huber R, Huber H, Stetter KO, da Costa MS, Santos H. 1997. Organic solutes in hyperthermophilic Archaea. Appl. Environ. Microbiol. 63:896-902.
- [81] Measures JC. 1975. Role of amino acids in osmoregulation of nonhalophilic bacteria. Nature. 257:398-400.
- [82] Mevarech M, Eisenberg H, Neumann E. 1977. Malate dehydrogenase isolated from extremely halophilic bacteria of the Dead Sea. 1. Purification and molecular characterization. Biochemistry. 16:3781-3785.
- [83] Mikkat S, Galinski EA, Berg G, Minkwitz A, Schoor A. 2000. Salt adaptation in pseudomonads: characterization of glucosylglycerol-synthesizing isolates from brackish coastal waters and the rhizosphere. Syst. Appl. Microbiol. 23:31-40.
- [84] Mikkat S, Hagemann M, Schoor A. 1996 Active transport of glucosylglycerol is involved in salt adaptation of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. Microbiology. 142:1725-732.
- [85] Mohammad FAA, Reed RH, Stewart WDP. 1983. The halophilic cyanobacterium *Synechocystis* DUN 52 and its osmotic response. FEMS. Microbiol. Lett. 16:287-290.
- [86] Moore DJ, Reed RH, Stewart WDP. 1987. A glycine betaine transport system in *Aphanothece halophytica* and other glycine betaine synthesizing cyanobacteria. Arch. Microbiol. 147:399-405.
- [87] Nadeau TL, and Castenholz RW. 2000. Characterization of psychrophilic oscillatorians (cyanobacteria) from Antarctic meltwater ponds. J. Phycol. 36:914-923.
- [88] Nunes OC, Manaia CM, da Costa MS, Santos H. 1995. Compatible solutes in the thermophilic bacteria *Rhodothermus marinus* and *Thermus thermophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 61:2351-2357.
- [89] Nyssola A, Leisola M. 2001. *Actinopolyspora halophila* has two separate pathways to betaine synthesis. Arch. Microbiol. 176:294-300.
- [90] Ollivier B, Caumette P, Garcia JL, Mah RA. 1994. Anaerobic bacteria from hypersaline environments. Microbiol. Rev. 58:27-38.
- [91] Oren A in: Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH. (Eds.) 1991. The Prokaryotes, 2nd edn, Springer Verlag, New York, NY, pp. 1893.
- [92] Oren A, Fischel U, Aizenshtat Z, Krein EB, Reed RH. 1994. Osmotic adaptation of microbial communities in hypersaline microbial mats. In: Microbial Mats. Structure, Development and Environmental Significance (ed. Stal LJ and Caumette P), pp. 125-130. Springer-Verlag, Berlin.
- [93] Perez-Fillol M. and Rodriguez-Valera, F. 1986. Potassium ion accumulation in cells of different halobacteria. Microbiologia (Madrid). 2:73-80.
- [94] Peter H, Burkovski A, Kramer R. 1998. Osmo-sensing by N- and C-terminal Extensions of the Glycine Betaine Uptake System BetP of *Corynebacterium glutamicum*. J. Biol. Chem. 273:2567-2574.

- [95] Peters P, Galinki EA, Truper HG. 1990. The biosynthesis of ectoine. *FEMS Microbiol Lett.* 71:157-162.
- [96] Pflüger K, Baumann S, Gottschalk G, Lin W, Santos H, Müller V. 2003. Lysine-2,3 aminomutase and β -lysine acetyltransferase genes of methanogenic archaea are salt induced and are essential for the biosynthesis of *N*-acetyl- β -lysine and growth at high salinity. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:6047-55.
- [97] Pocard JA, Smith LT, Smith GM, Le RD. 1994. A prominent role for glucosylglycerol in the adaptation of *Pseudomonas mendocina* SKB70 to osmotic stress. *J. Bacteriol.* 176:6877-6884.
- [98] Poolman B, Glaesker E. 1998. Regulation of compatible solute accumulation in bacteria. *Mol. Microbiol.* 29:397-407.
- [99] Porchia AC, Salerno GL. 1996. Sucrose biosynthesis in a prokaryotic organism: Presence of two sucrose-phosphate synthases in *Anabaena* with remarkable differences compared with the plant enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93:13600-13604.
- [100] Potts M. 1994. Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiol. Rev.* 58:755-805.
- [101] Qi Yun Goh. 2007. Osmoadaptation mechanisms of cyanobacteria and archaea from the stromatolites of Hamelin Pool, Western Australia. A Dissertation Submitted in Fulfilment of the Requirements for the degree of Doctor of Philosophy School. School of Biotechnology and Biomolecular Sciences The University of New South Wales Sydney, Australia.
- [102] Racher KI, Voegelé RT, Marshall EV, *et. al.* 1999. Purification and Reconstitution of an Osmosensor: Transporter ProP of *Escherichia coli* Senses and Responds to Osmotic Shifts. *Biochemistry.* 38:1676 - 1684.
- [103] Rao JKM, Argos P. 1981. Structural stability of halophilic proteins. *Biochemistry.* 20:6536-6543.
- [104] Record Jr, MT, Courtney ES, Cayley DS, Guttman HJ. 1998. Responses of *E. coli* to osmotic stress large changes in amounts of cytoplasmic solutes and water. *Trends Biochem. Sci.* 23:143-148.
- [105] Reed RH, Stewart WDP. 1985. Osmotic adjustment and organic solute accumulation in unicellular cyanobacteria from freshwater and marine habitats. *Marine Biology.* 88:1-9.
- [106] Reed RH, Chudek JA, Foster R, Stewart WDP. 1984a. Osmotic adjustment in cyanobacteria from hypersaline environments. *Arch. Microbiol.* 138:333-337.
- [107] Reed RH, Richardson DL, Warr SRC, Stewart WDP. 1984b. Carbohydrate accumulation and osmotic stress in cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130:1-4.
- [108] Roberts MF, Lai MC, Gunsalus RP. 1992. Biosynthetic pathways of the osmolytes *N*-acetyl- β -lysine, β -glutamine, and betaine in *Methanohalophilus* strain FDF1 suggested by nuclear magnetic resonance analyses. *J. Bacteriol.* 174:6688-6693
- [109] Roberts MF. 2005. Organic compatible solutes of halotolerant and Halophilic microorganisms. In *Saline Systems.* 10.1186/1746-1448 1:5.
- [110] Robertson DE, Roberts MF, Belay N, Stetter KO, Boone DR. 1990. Occurrence of β -glutamate, a novel osmolyte, in marine methanogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:1504-1508
- [111] Roder A, Hoffmann E, Hagemann M, Berg G. 2005. Synthesis of the compatible solutes glucosylglycerol and trehalose by salt-stressed cells of *Stenotrophomonas* strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 243:219-226.
- [112] Rubenhagen R, Ronsch H, Jung H, Kramer R, Morbach S. 2000. Osmosensor and Osmoregulator Properties of the Betaine Carrier BetP from *Corynebacterium glutamicum* in Proteoliposomes. *J. Biol. Chem.* 275:735-741.
- [113] Rudolph AS, Crowe JH, Crowe LM. 1986. Effects of three stabilising agents proline, betaine and trehalose on membrane phospholipids. *Arch. Biochem. Biophys.* 245:134-143.
- [114] Santos H, da Costa MS. 2002. Compatible solutes of organisms that live in hot saline environments. *Environ. Microbiol.* 4:501-509.
- [115] Santos H, Lamosa P, Borges N, Faria TQ, Neves C. 2007. The physiological role, biosynthesis and mode of action of compatible solutes from (hyper)thermophiles. *Physiology and biochemistry of extremophiles*, ASM Press, Washington DC (ed. Gerday C, Glandorff N), pp. 86-103.
- [116] Saum SH, Müller V. 2008. Growth phase-dependent switch in osmolyte strategy in a moderate halophile: ectoine is a minor osmolyte but major stationary phase solute in *Halobacillus halophilus*. *Environ. Microbiol.* 10:716-726.
- [117] Saum SH, Sydow JF, Palm P, Pfeiffer F, Oesterhelt D, Müller V. 2006. Biochemical and molecular characterization of the biosynthesis of glutamine and glutamate, two major compatible solutes in the moderately halophilic bacterium *Halobacillus halophilus*. *J. Bacteriol.* 188:6808-6815.
- [118] Scholz S, Sonnenbichler J, Schäfer W, Hensel R. 1992. Di-*myo*-inositol-1,1'-phosphate: a new inositol phosphate isolated from *Pyrococcus woesei*. *FEBS Lett.* 306:239-242.
- [119] Severin J, Wohlfarth A, Galinski EA. 1992. The predominant role of recently discovered tetrahydropyrimidines for the osmoadaptation of halophilic eubacteria. *J. Gen. Microbiol.* 138:1629-1638.
- [120] Shima S, Herault DA, Berkessel A, Thauer RK. 1998. Activation and thermostabilization effects of cyclic 2,3-diphosphoglycerate on enzymes from the hyperthermophilic *Methanopyrus kandleri*. *Arch. Microbiol.* 170:469-472.
- [121] Silva Z, Alarico S, Nobre A, Horlacher R, Marugg J, Boos W, Mingote AI, da Costa MS. 2003. Osmotic adaptation of *Thermus thermophilus* RQ-1: a lesson from a mutant deficient in the synthesis of trehalose. *J. Bacteriol.* 185:5943-5952.
- [122] Silva Z, Borges N, Martins LO, Wait R, da Costa MS, Santos H. 1999. Combined effect of the growth temperature and salinity of the medium on the accumulation of compatible solutes by *Rhodothermus marinus* and *Rhodothermus obamensis*. *Extremophiles.* 3:163-172.
- [123] Simione FP, Brown EM. 1991. *ATCC Preservation Methods: Freezing and Freeze Drying*, 2nd edn. American Type Culture Collection, Rockville, M.D. pp. 1-4
- [124] Stal LJ, Reed RH. 1987. Low-molecular mass carbohydrate accumulation in cyanobacteria from a marine microbial mat in response to salt. *FEMS Microbiol. Ecol.* 35:38-44.

- [125] Tenchov B, Vescio EM, Sprott GD, Zeidel ML, Mathai JC. 2006. Salt tolerance of archaeal extremely halophilic lipid membranes. *Journal of Biological Chemistry*. 281:10016-10023.
- [126] Tindall DR, Yopp JH, Schmid WE, Miller DM. 1977. Protein and amino acid composition of the obligate halophyte *Aphanothece halophytica* (cyanophyte). *Journal of Phycology*. 13:127-133.
- [127] Tondervik A, Strom AR. 2007. Membrane topology and mutational analysis of the osmotically activated BetT choline transporter of *Escherichia coli*. *Microbiology*. 153:803-813.
- [128] Usami R, Fuushima T, Mizuki T, Yoshida Y, Inoue A, Horikoshi K. 2005. Organic solvent tolerance of halophilic archaea, *Haloarcula* strains: effects of NaCl concentration on the tolerance and polar lipid composition. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 99(2):169-74
- [129] Van Laere A. 1989. Trehalose, reserve and/or stress metabolite. *FEMS Microbiol. Rev.* 63:201-210.
- [130] Ventosa A, Marquez MC, Garabito MJ, Arahall DR. 1998. Moderately halophilic Gram-positive bacterial diversity in hypersaline environments. *Extremophiles*. 2:297-304.
- [131] Vreeland RH. 1987. Mechanisms of halotolerant in microorganisms. *Crit. Rev. Microbiol.* 14:311-356.
- [132] Waditee R, Tanaka Y, Aoki K, Hibino T, Jikuya H, Takano J, Takabe T and Takabe T. 2003. Isolation and functional characterization of *N*-methyltransferases that catalyse betaine synthesis from glycine in a halotolerant photosynthetic organism *Aphanothece halophytica*. *Journal of Biological Chemistry*. 278: 4932-4942.
- [133] Warr SRC, Reed RH and Stewart WDP. 1988. The compatibility of osmotica in cyanobacteria. *Plant, Cell G. Environment*. 11:137-142.
- [134] Welsh DT. 2000. Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate. *FEMS Microbiology Reviews*. 24:263-290.
- [135] Welsh DT and Herbert RA. 1995. Glycine betaine transport in a halotolerant *Chromatium* species. *FEMS Microbiol. Lett.* 128:27-32.
- [136] Welsh DT and Herbert RA. 1999. Osmotically induced intracellular trehalose, but not glycine betaine accumulation promotes desiccation tolerance in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 174:57-63.
- [137] Welsh DT, Reed RH and Herbert RA. 1991. The role of trehalose in the osmoadaptation of *Escherichia coli* NCIB 9484: interaction of trehalose, K. and glutamate during osmoadaptation in continuous culture. *J. Gen. Microbiol.* 137:745-750.
- [138] Weretilnyk EA and Hanson AD. 1990. Molecular cloning of plant betaine-aldehyde dehydrogenase, an enzyme implicated in adaptation to salinity and drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 87:2745-2749.
- [139] Wohlfarth A, Severin J, Galinski EA. 1993. Identification of *N*-acetylornithine as a novel osmolyte in some Gram-positive halophilic eubacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 39:568-573.
- [140] Wood JM, Culham DE, Hillar A, Vernikovska YI, Liu F, Boggs JM and Keates RAB. 2005. A Structural Model for the Osmosensor, Transporter, and Osmoregulator ProP of *Escherichia coli*. *Biochemistry*. 44:5634-5646.