

Termotolerant *Komagataeibacter melomenus* AAB2'nin karşılaştırmalı filogenetik ve tüm genoma dayalı identifikasyonu ile karbonhidrat aktif enzimlerinin *in silico* analizi

Kadriye TOKLU¹, Asiye Esra EREN EROĞLU², İhsan YAŞA^{2*}

¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Bornova, İzmir

²Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bornova, İzmir

*Yazışma Yazarı: İhsan YAŞA

E-mail: ihsan.yasa@ege.edu.tr

Makale gönderimi: 30.09.2025

Online kabul: 04.12.2025

Online basım: 30.03.2026

Özet: Ana bileşeni asetik asit olan sirke ve ilgili biyoürünler, organoleptik özellikleri ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle başta Avrupa ve Asya olmak üzere dünya genelinde yaygın olarak tüketilen gıda maddeleri arasında yer almaktadır. Artan fonksiyonel gıda talebi ve sürdürülebilir biyoproses arayışları, asetik asit bakterilerinin genomik düzeyde daha derinlemesine karakterizasyonunu gerekli kılmaktadır. Endüstriyel ölçekte asetik asit üretimi, ağırlıklı olarak *Acetobacter* ve *Komagataeibacter* cinslerine dayanmaktadır. Bu çalışmada, daha önce elma sirkesinden izole edilen termotolerant bir asetik asit bakterisi olan *Komagataeibacter* sp. AAB2 suşunun tüm genom dizilimi gerçekleştirilmiş, genotaksonomik konumu belirlenmiştir. Suşun potansiyel endüstriyel uygulamalarını incelemek amacıyla karbonhidrat-aktif enzim (CAZyme) profili analiz edilmiştir. 16S rRNA gen dizisi analizleri, AAB2'nin *K. nataicola* ile %98,90, recA aminoasit dizisi analizleri ise *K. medellinensis* ile %99,42 oranında homoloji gösterdiğini ortaya koymuştur. Illumina NovaSeq 6000 platformu ile elde edilen genom verisine göre, AAB2'nin genom uzunluğu 3.471.305 baz çifti olup, tüm genom analizleri sonucunda elde edilen ortalama nükleotid benzerliği (ANI) %99,01 ve dijital DNA-DNA hibridizasyon (dDDH) skoru %91,10 olarak bulunmuştur. Bu veriler, AAB2 suşunun *K. melomenus* türüne ait olduğunu güçlü biçimde desteklemektedir. Fonksiyonel anotasyon sonucunda toplam 69 CAZyme kodlayan gen tanımlanmış olup, bunların büyük çoğunluğu glikoziltransferazlar (GT) ve glikozit hidrolazlar (GH) sınıfına aittir. Ayrıca karbonhidrat esterazları (CE), yardımcı aktiviterler (AA) ve karbonhidrat bağlayıcı modüller (CBM) ile ilişkili genler de tespit edilmiştir. Bu bulgular, AAB2 suşunun karbonhidrat metabolizmasının geniş bir genetik kapasiteye sahip olduğunu ve potansiyel biyoteknolojik uygulamalar için değerli bir kaynak olabileceğini işaret etmektedir. Sonuç olarak, genomik ve diğer omik tabanlı yaklaşımlar, asetik asit bakterilerinin hem tür düzeyinde taksonomik sınıflandırılmasında hem de fermentatif kapasitelerinin değerlendirilmesinde altın standart olarak önemini sürdürmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Komagataeibacter* spp., termotolerant AAB, Filogenomik analiz, CAZymes.

Comparative phylogenetic and whole-genome-based identification of thermotolerant *Komagataeibacter melomenus* AAB2 and *in silico* analysis of carbohydrate-active enzymes

Abstract: Vinegar and related bio-products, whose main component is acetic acid, are widely consumed worldwide, particularly in Europe and Asia, due to their organoleptic properties and health-promoting effects. Increasing demand for functional foods and the pursuit of sustainable bioprocesses necessitate a more in-depth genomic characterization of acetic acid bacteria. Industrial production of acetic acid primarily relies on bacteria of the *Acetobacter* and *Komagataeibacter* genera. In this study, the complete genome of a thermotolerant acetic acid bacterium, *Komagataeibacter* sp. AAB2, previously isolated from apple vinegar, was sequenced, its genotaxonomic position was determined, and its carbohydrate-active enzyme (CAZyme) profile was analyzed to evaluate its potential industrial applications. Analysis of the 16S rRNA gene indicated 98.90% homology with *K. nataicola*, whereas recA amino acid sequence analysis revealed 99.42% similarity with *K. medellinensis*. Genome sequencing on the Illumina NovaSeq 6000 platform revealed that AAB2 has a genome of 3,471,305 base pairs. Comparative genomic analyses yielded an average nucleotide identity (ANI) of 99.01% and a digital DNA-DNA hybridization (dDDH) score of 91.10%, strongly supporting the classification of AAB2 as *K. melomenus*. Functional annotation identified 69 CAZyme-encoding genes, predominantly glycosyltransferases (GT) and glycoside hydrolases (GH), with additional genes associated with carbohydrate esterases (CE), auxiliary activities (AA), and carbohydrate-binding modules (CBM). These findings indicate that AAB2 harbors a diverse genetic capacity for carbohydrate metabolism and represents a valuable resource for potential biotechnological applications. In conclusion, genomic and other omics-based approaches continue to serve as the gold standard for both species-level taxonomic classification and evaluation of fermentative capabilities in acetic acid bacteria.

Keywords: *Komagataeibacter* spp., thermotolerant AAB, Phylogenomic analysis, CAZymes.

Araştırma makalesi

Referans: Toklu, K., Eren Eroğlu, A. E., & Yaşa, İ. (2026). Termotolerant *Komagataeibacter melomenus* AAB2'nin karşılaştırmalı filogenetik ve tüm genoma dayalı identifikasyonu ile karbonhidrat aktif enzimlerinin *in silico* analizi. *ITU Journal of Food Science and Technology*, 4(1), 16–22.

1. Giriş

Asetik asit bakterileri (AAB), sıcak ve nemli ekosistemlerde yaygın olarak bulunan; meyvelerden, çiçeklerden, meyve sineklerinin bağırsak mikrobiyotasından ve çeşitli fermente gıdalardan sıklıkla izole edilen bir bakteri grubunu temsil etmektedir (Sengun ve Karabiyikli, 2011). Taksonomik açıdan Alphaproteobacteria sınıfı, Rhodospirillales takımı ve Acetobacteraceae ailesi içerisinde yer alan bu bakteriler, zorunlu aerobik ve Gram-negatif mikroorganizmalardır (Kerstens, 2006). AAB'nin taksonomik sınıflandırması tarihsel süreçte önemli değişiklikler geçirmiştir. Başlangıçta fenotipik özelliklere dayalı olarak tanımlanan bu grup, daha sonra fenotipik, kimyasal ve genetik kriterleri bir araya getiren polifazik yaklaşımla yeniden değerlendirilmiştir. Moleküler biyolojik tekniklerin yaygınlaşmasıyla birlikte ise AAB'nin sınıflandırması daha güvenilir ve kapsamlı bir hale gelmiştir (Lisdianti vd., 2006). Endüstriyel açıdan büyük öneme sahip olan AAB, özellikle fermantasyon süreçlerinde aktif rol oynamaktadır. Sirke, özel bira çeşitleri, fermente kakao ve kahve çekirdekleri, kefir, kombuça ve ekşi maya üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sirke üretiminde ise başlıca *Acetobacter* ve *Komagataeibacter* türleri öne çıkmaktadır (Sengun, 2015; Gomes vd., 2018).

Sirke, insanlık tarihindeki en eski fermente ürünlerden biri olup, beslenmenin yanı sıra koruyucu, çeşni ve tatlandırıcı katkı maddesi olarak da yaygın biçimde kullanılmaktadır (Luzon-Quintana vd., 2021). Geleneksel kullanım alanlarının ötesinde, içerdiği asetik asit sayesinde karaciğer ve gastrointestinal sistem üzerinde sağlık açısından olumlu etkiler gösterdiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Ali vd., 2016). Geleneksel yöntemlerle üretilen sirkeler yüksek kaliteli son ürün elde edilmesini sağlasa da düşük verimlilik, uzun süren fermantasyon süreci ve üretim koşullarının kontrol edilememesi gibi önemli dezavantajlara sahiptir (Gullo vd., 2014). Özellikle katı hal fermantasyonunda sınırlı soğutma kapasitesi nedeniyle ısı birikimi meydana gelmekte ve sıcaklık çoğunlukla 40 °C'nin üzerine çıkmaktadır. Ancak çoğu AAB 34 °C'nin üzerinde gelişim gösterememekte, bu da sirke üretiminde kritik bir sınırlayıcı faktör oluşturmaktadır. Yüksek sıcaklık, proteinlerin yanlış katlanmasına, agregasyonlara ve hücre zarı hasarına yol açarak hücre ölümüne sebep olmaktadır (Saichana vd., 2015). Ayrıca, yüksek sıcaklıkların gözlemlendiği üretim koşullarında kullanılan soğutma sistemleri çoğunlukla yetersiz kalmakta; bu durum AAB ölümlerine ve üreticiler açısından önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Dolayısıyla, soğutma maliyetlerini azaltmak ve üretim verimliliğini artırmak için termotolerant AAB türlerinin izolasyonu kritik bir öneme sahiptir (Barten vd., 2022).

Tüm genom dizilemesi (Whole Genome Sequencing, WGS), bir mikroorganizmanın genomunun eksiksiz olarak dizilenmesini sağlayan, hızlı, maliyet açısından görece uygun ve yüksek verimliliğe sahip üçüncü nesil dizileme teknolojilerinden biridir. Aynı cins içerisindeki türler arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesinde önemli bir araç olarak kullanılan WGS, çevrimiçi veritabanları aracılığıyla gerçekleştirilen gen anotasyonları sayesinde ayrıntılı karşılaştırmalara olanak tanımaktadır (McDermott vd., 2016). Günümüzde WGS, mikrobiyal filogenetik ve fonksiyonel genomik araştırmalarında yaygın biçimde kullanılmakta olup, bağırsak mikrobiyotası, farklı fermantasyon sistemleri, toprak mikroorganizmaları ve mantar gibi biyolojik materyallerin incelenmesinde önemli katkılar sunmaktadır (Tyler vd., 2018).

WGS, bir mikroorganizmanın tüm genlerinin tanımlanmasına ve işlevsel genomik düzeyde incelenmesine olanak tanıyarak, bilinmeyen mikrobiyal grupların çeşitliliğinin ve biyolojik özelliklerinin anlaşılmasına önemli katkılar sağlamaktadır (Ronholm vd., 2016). Mikrobiyal genomik alanındaki hızlı gelişmeler, mikroorganizmaların genom bilgilerinin kapsamlı

biçimde analiz edilmesini mümkün kılmakta; böylece biyolojik özelliklerinin, metabolik kapasitelerinin ve potansiyel biyoteknolojik uygulamalarının ortaya çıkarılması için güçlü bir araştırma aracı sunmaktadır (Harirchi vd., 2022).

Karbonhidrat aktif enzimler (CAZymes), başlıca glikozidik bağları hedef alarak şekerlerin biyosentezinden metabolizmasına kadar geniş bir yelpazede biyotransformasyon süreçlerinde görev alan enzimlerdir (Plouhinec vd., 2023). Bu enzimler; glikozit hidrolazlar (GH), polisakkarit liyazlar (PL), karbonhidrat esterazlar (CE), glikozil transferazlar (GT), karbonhidrat bağlayıcı modüller (CBM) ve yardımcı aktiviteler (AA) olmak üzere altı ana grupta sınıflandırılmaktadır. Gıda endüstrisinde CAZymes; meyve ve sebzelerin korunması, fermantasyon süreçleri, bira üretimi ve nutrasötiklerin geliştirilmesi gibi farklı uygulamalarda kritik öneme sahiptir (Shi vd., 2018). Fermente gıdalardan izole edilen AAB'lere ait metagenom analizleri, özellikle kefir ve kombuçadan üretilen örneklerde GH ve GT ailelerinin karbonhidrat metabolizmasında baskın rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca, CAZymes dağılımlarındaki varyasyonların fermente gıdalara özgü mikrobiyal adaptasyonları ve farklı karbonhidrat kullanım stratejilerini yansıttığı bildirilmiştir (Zhang vd., 2025).

Bu çalışmada, geleneksel yöntemlerle üretilmiş üzüm sirkesinden izole edilen ve etanol ile asetik aside yüksek toleranslı özellikleriyle öne çıkan termotolerant *Komagataeibacter* spp. suşu AAB2'nin, *K. melomenus* ile yüksek düzeyde genetik homoloji gösterdiği, Average Nucleotide Identity (ANI) ve dijital DNA-DNA hibridizasyon (dDDH) analizleriyle doğrulanmıştır. Ayrıca gerçekleştirilen CAZymes analizi, bu suşun karbonhidrat metabolizmasındaki enzimatik kapasitesine ilişkin önemli veriler sunarak potansiyel postbiyotik özelliklerine işaret etmektedir. Elde edilen bulgular, gıda mikrobiyolojisi açısından umut vadeden AAB suşlarının belirlenmesinde CAZymes profillerinin incelenmesinin, özellikle gıda substratlarının fermantasyon süreçlerinin daha iyi anlaşılması ve yönlendirilmesinde kritik bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Özetle bu çalışma, yalnızca filogenetik yakınlıkları değil, aynı zamanda fonksiyonel genom özelliklerini de dahil ederek, geleneksel sirkelerden izole edilen AAB'lerin biyoteknolojik potansiyelini ortaya koyan öncü bir yaklaşım sunmaktadır.

2. Materyal ve Metot

2.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan AAB2 suşu, ev yapımı üzüm sirkesinden izole edilen bir *Komagataeibacter* sp. üyesidir. Yüksek etanol ve asetik asit konsantrasyonlarında gelişim gösterebilmekte ve 41 °C'ye kadar yaşamını sürdürebilmektedir (Toklu vd., 2023).

2.2 Metot

2.2.1 Suş ve kültür koşulları

Çalışmada kullanılan bakteri kültürü, %10 (w/v) yağsız süt içerisinde liyofilize edilerek -20 °C'de saklanmıştır. AAB2 suşunun aktivasyonu için, 20 g/L glikoz, 20 g/L mannitol, 10 g/L maya ekstraktı, 5 mL/L asetik asit ve 20 mL/L etanol içeren Yeast extract–Glucose–Mannitol (YGM) besiyeri kullanılmıştır. Liyofilize kültür, bu besiyerine inoküle edilerek 30 °C'de 3–4 gün inkübe edilmiştir.

2.2.2 Filogenetik İdentifikasyon

Genomik DNA, üretici talimatları doğrultusunda High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Applied Science, Mannheim, Almanya) kullanılarak AAB2 suşunun taze

kültüründen elde edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi için evrensel bakteriyel primerler 27F ve 1492R [Reaksiyon koşulları; 95 °C (5 dk), 32 x [95 °C (30 sn), 58 °C (30 sn), 72 °C (40 sn)], 72 °C (10 dk)]. recA gen bölgesi için ise RecAF ve RecAR [Reaksiyon koşulları; 95 °C (5 dk), 30 x [95 °C (30 sn), 56 °C (30 sn), 72 °C (40 sn)], 72 °C (10 dk)] primerleri kullanılmıştır (Eren Eroğlu vd., 2024). PCR ürünleri, Letgen Biyoteknoloji (İzmir, Türkiye) tarafından Sanger dizilemesine tabi tutulmuştur. Elde edilen diziler, taksonomik ilişki ve dizi benzerliğini belirlemek amacıyla National Center for Biotechnology Information (NCBI) tarafından sağlanan BLASTn aracı kullanılarak analiz edilmiştir. Filogenetik ağaçlar MEGA v11.3 yazılımında Neighbor Joining yöntemiyle oluşturulmuş, referans diziler ise GenBank veri tabanından temin edilmiştir.

2.2. Tüm genom dizileme

AAB2 suşunun genomik DNA'sı (>50 ng/μL), Refgen Biotechnology Inc. (Ankara, Türkiye) tarafından Illumina NovaSeq 6000 platformu ile dizilenmiştir. Elde edilen ham veriler, Shovill v1.0.4 yazılımı kullanılarak varsayılan parametrelerle de novo birleştirilmiştir. Genom anotasyonu, NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Dizilenen genom verileri BioProject ID: PRJNA1255437 kapsamında erişime açıktır ve GenBank erişim numaraları JBRGME000000000 arasında yer almaktadır.

Taksonomik karşılaştırmalar için yakın akraba türlere ait tam genom dizileri EzBioCloud ve NCBI veri tabanlarından elde

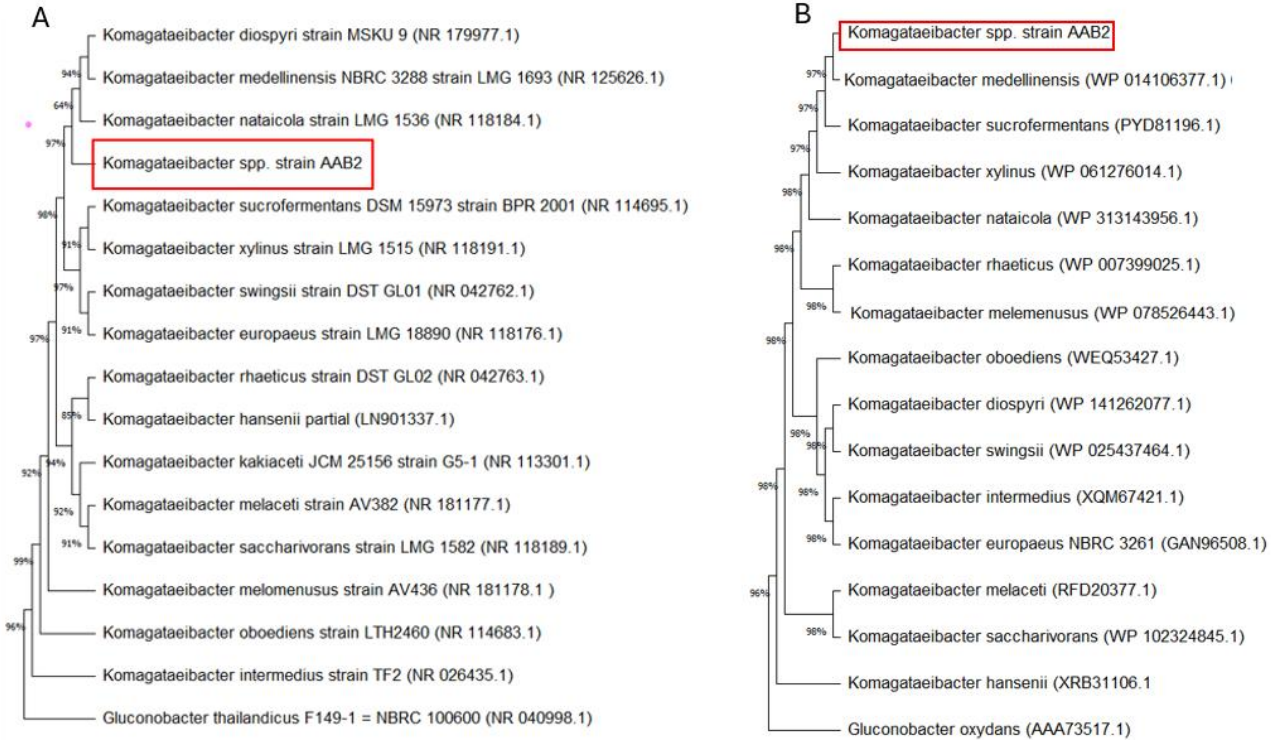
edilmiştir. ANI analizleri, çevrimiçi OrthoANI algoritması (USEARCH tabanlı) ile gerçekleştirilmiştir (Lee vd., 2016). dDDH değerleri ise Genom-Genom Mesafe Hesaplayıcısı (GGDC v3.0; <http://ggdc.dsmz.de/distcalc2.php>) üzerinden Formül 2 kullanılarak hesaplanmıştır. Ayrıca taksonomik konumlandırma, Tip Suş Genom Sunucusu (TYGS; <http://tygs.dsmz.de/> erişim tarihi; Eylül, 2025) aracılığıyla varsayılan parametreler altında doğrulanmıştır (Grant vd., 2023).

CAZymes ile ilişkili genlerin belirlenmesi amacıyla AAB2 suşunun tüm genom dizileri dbCAN2 meta sunucusuna (<http://cys.bios.niu.edu/dbCAN2>) gönderilmiştir. Fonksiyonel anotasyon, CAZy, dbCAN ve PPR veri tabanlarını kullanan DIAMOND, HMMER ve Hotpep araçları entegre edilerek yapılmıştır (Ghimire vd., 2021). HMMER için E-value < 1e-15 ve coverage > 0.35, DIAMOND için E-value < 1e-102, Hotpep için ise frequency > 2.6 ve hits > 6 eşik değerleri kullanılmıştır. Bir CAZymes tahmini, yalnızca bu üç yöntemden en az ikisi tarafından desteklendiğinde güvenilir kabul edilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1 AAB2 suşunun 16S rDNA ve recA filogenisi

AAB2 suşunun 16S rRNA gen dizisi, NCBI nükleotid veri tabanında BLASTn analizi ile incelendiğinde, %98,90 homoloji ile *K. nataicola* ile benzerlik göstermiştir. Öte yandan, recA genine ait aminoasit dizisi, %99,42 oranında *K. medellinensis* ile homoloji sergilemiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Neighbor-Joining yöntemi kullanılarak oluşturulan filogenetik analizler A) 16S rRNA gen bölgesi, B) *RecA* gen bölgesi temel alınmıştır. Çoklu dizi hizalamaları ClustalW ile yapılmış, filogenetik ağaçlar MEGA11.3 yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur. Dal güvenilirliğini değerlendirmek için 1.000 tekrar ile bootstrap analizi gerçekleştirilmiştir.

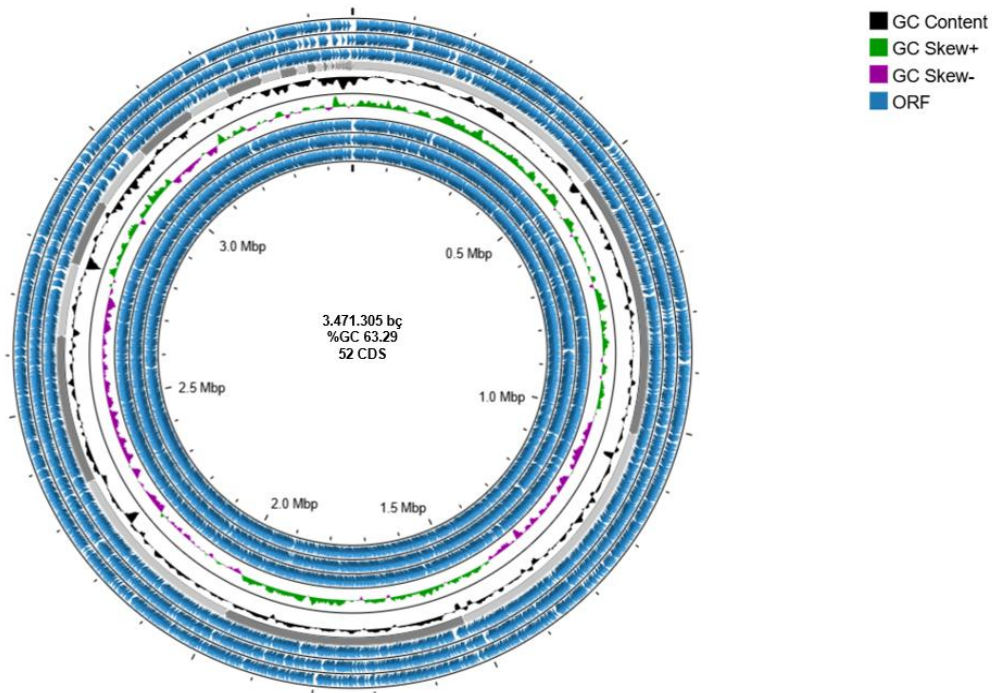
Figure 1. Phylogenetic analyses using the Neighbor-Joining method. A) 16S rRNA gene region, B) *RecA* gene region were used as the basis. Multiple sequence alignments were performed with ClustalW, and phylogenetic trees were constructed with MEGA11.3. Bootstrap analysis was performed with 1,000 replicates to assess branch reliability.

3.2 AAB2 suşunun genel genomik özellikleri ve filogenomik analizi

AAB2 suşunun genomik analizi, 52 kontigden oluşan tek bir kromozomu olduğunu ve herhangi bir plazmit taşımadığını ortaya koymuştur. Toplam genom uzunluğu 3.471.305 bp olup, G+C içeriği %63,29 olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Kromozom üzerinde 50 tRNA geni ve üç rRNA operonu saptanmıştır.

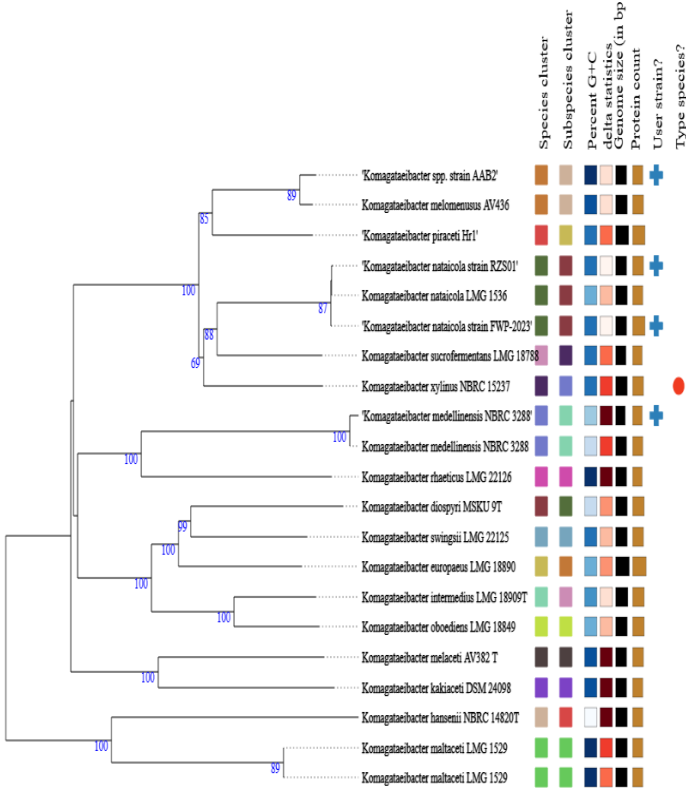
Suşun taksonomik konumunun belirlenmesi amacıyla, filogenetik olarak ilişkili *Komagataebacter* türleri ile tüm genom hizalamalarını kullanan TYGS üzerinden filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları, AAB2 suşunun *K. melomenus* ile güçlü bir şekilde kümelendiğini göstermiştir (Şekil 3).

Taksonomik konumun daha kesin olarak değerlendirilmesi için ANI ve dDDH hesaplamaları yapılmıştır. AAB2 ile *K. melomenus* suşu arasındaki ANI değeri %99,01 olarak belirlenmiş ve bu oran, tür ayrımı için önerilen %94 eşik değerinin oldukça üzerinde bulunmuştur (Richter vd., 2009). Benzer şekilde, Formül 2 kullanılarak hesaplanan in silico dDDH değeri %91,10 olup, tür tanımlaması için kabul edilen %70'lik sınırın oldukça üzerindedir (Thompson vd., 2021). Bu bulgular, AAB2 suşunun *K. melomenus* türüne ait olduğunu kuvvetle desteklemektedir.



Şekil 2. Dairesel genom haritası: *Komagataebacter* sp. AAB2. AAB2 suşunun genom haritası, 3.471.305 baz çifti uzunluğunda ve %63,29 G+C içeriğine sahip tek kromozomu göstermektedir. Haritada mavi halkalarla gösterilen açık okuma çerçevelerini (ORF'ler), siyah halka G+C içeriğini, yeşil halka G+C pozitif sapmayı ve mor halka G+C negatif sapmayı temsil etmektedir.

Figure 2. Circular genome map: *Komagataebacter* sp. AAB2. The genome map of strain AAB2 shows a single chromosome, 3,471,305 base pairs long, with a G+C content of 63.29%. On the map, the blue rings represent open reading frames (ORFs) indicated by arrows; the black ring shows the G+C content; the green ring indicates G+C-positive skew; and the purple ring indicates G+C-negative skew.



Şekil 3. AAB2 suşu ve yakın akrabaları *Komagataeibacter* türlerinin tüm genom tabanlı filogenetik ağacı, TYGS platformu kullanılarak oluşturulmuştur. Ağaç, FastME v2.1.6.1 ile genom BLAST mesafe filogenisine (GBDP) dayalı olarak D5 mesafe formülü kullanılarak yapılandırılmıştır.

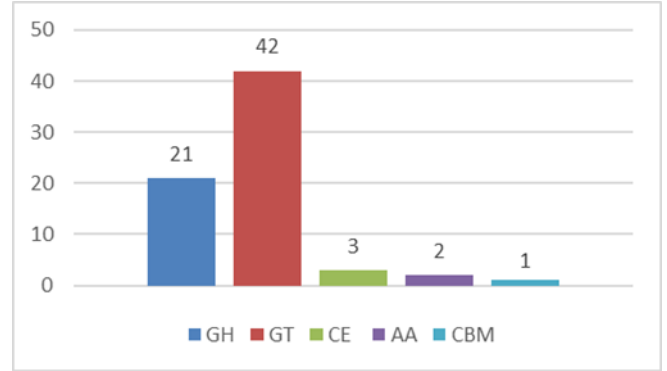
Figure 3. Whole-genome-based phylogenetic tree of strain AAB2 and closely related *Komagataeibacter* species was constructed using the TYGS platform. The tree was built using the D5 distance formula based on genome BLAST distance phylogeny (GBDP) with FastME v2.1.6.1.

3.3 AAB2 suşunun CAZymes Profili

K. melomenus AAB2 suşunun endüstriyel potansiyelinin ön değerlendirilmesi amacıyla, CAZymes genleri dbCAN2 meta sunucusu aracılığıyla analiz edilmiştir (Liang vd., 2023). Analiz sonucunda, AAB2 genomunda toplam 69 adet CAZymes kodlayan gen belirlenmiştir (Tablo 1).

Genomda en yüksek oranda temsil edilen enzim sınıfı GT olup, bunu GH'ler takip etmektedir. Fermente gıdalardan izole edilen diğer AAB suşlarıyla benzer şekilde, özellikle GT2 ve GT4 ailelerinin bolluğu dikkat çekmiştir (Zhang vd., 2025). GT ailesi içindeki bu iki grubun baskınlığı, AAB2'nin polisakkarit biyosentez kapasitesine işaret etmektedir. CE'ler üç farklı aile ile temsil edilmiş olup, bu sınıfı AA ve CBM'ler takip etmektedir. Buna karşın, PL sınıfına ait genler AAB2 genomunda tespit edilmemiştir (Şekil 4).

Fonksiyonel analizler, AAB2 genomunun çeşitli biyolojik süreçlerle ilişkili geniş bir genetik kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle, bakteriyel selüloz ve diğer polisakkaritlerin sentezi ile ilişkili GT2, GT4, GT5, GT9, GT20, GT21, GT26, GT28, GT30, GT51, GT70, GT83, GT103, GT119 ve CBM48 genleri, suşun biyopolimer üretimindeki potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu durum, *Komagataeibacter* türlerinin endüstriyel olarak değerli selüloz ve ekso polisakkarit üretiminde kullanımıyla tutarlıdır. AAB2 genomunda ayrıca, atık maddelerin biyotransformasyonu ve



Şekil 4. *K. melomenus* AAB2 suşunun CAZymes dağılımı. GH: Glikozit Hidrolazlar; GT: Glikoziltransferazlar; AA: Yardımcı Aktiviteler; CE: Karbonhidrat Esterazlar; CBM: Karbonhidrat Bağlayıcı Modüller.

Figure 4. Distribution of CAZymes of *K. melomenus* strain AAB2. GH: Glycoside Hydrolases; GT: Glycosyltransferases; AA: Auxiliary Activities; CE: Carbohydrate Esterases; CBM: Carbohydrate-Binding Modules.

yan zincir modifikasyonu ile ilişkili CE9, CE11, CE14, GH144, GH186 ve GH189 genlerinin varlığı, suşun fermente gıdalarda karmaşık karbonhidrat yapılarının işlenmesinde etkin rol oynayabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, fenolik bileşikler ve lignin benzeri yapıların bozunumu ile bağlantılı AA1 ve AA6 genleri, bu suşun polifenol metabolizmasında ve olası antioksidan özelliklerin üretiminde kullanılabileceğini işaret etmektedir. Bunlara ek olarak, nişasta, glukoz ve trehaloz metabolizmasında görev alan GH3, GH5, GH8, GH13, GH20, GH23, GH37, GH68, GH77, GH102, GH109, GH144 ve GH186 genleri, AAB2'nin karbonhidrat metabolizmasının farklı aşamalarında esnek bir enzimatik kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir (Garron vd., 2019; Drula vd., 2021).

Günümüze kadar *Komagataeibacter* cinsine ait türlerin tüm genom analizleri, bu bakterilerin biyosentetik mekanizmasının genetik temellerini, filogenetik ilişkilerini ve biyoteknolojik potansiyellerini ortaya koymuştur. Hatta filogenomik ve karşılaştırmalı genomik analizler, geleneksel fenotipik sınıflandırmalardan farklı olarak, *K. hansenii*, *K. cocois*, *K. maltacetii* ve *K. pomacetii*'nin genomik olarak ayrı bir küme oluşturduğunu göstermiş ve bu türler yeni bir cins olan *Novacetimonas* içinde yeniden sınıflandırılmıştır. Ayrıca bulgularımıza benzer şekilde CAZyme analizleri, bu bakterilerin karbonhidrat metabolizmasına uyarlanmış geniş bir GT ve GH repertuarına sahip olduğunu da göstermiştir. Bununla birlikte, mevcut araştırmalar çoğunlukla filogenomik düzeyde kalmakta olup, selüloz üretimiyle ilgili bcs operonlarının CRISPR temelli düzenlenmesi, transkriptomik analizler ve metagenomik yaklaşımlar ile bu genlerin fonksiyonel ve katalitik rollerinin daha derinlemesine incelenmesi gelecekteki çalışmalar için önemli bir araştırma yönü olarak öne çıkmaktadır (Brandão vd., 2022; Kaczmarek vd., 2022).

Tablo 1. AAB2 suşunun CAZymes analizine dayalı öngörülen enzim fonksiyonları ve gen kopya sayıları.
Table 1. Predicted enzyme functions and gene copy numbers of the AAB2 strain based on CAZyme analysis.

CAZymes	ENZİM AKTİVİTESİ	SAYI
GH3	β-glukozidaz	1
GH5	β-1,4-glukanazlar	1
GH8	Endo-β-1,4-glukanaz	1
GH13	Alfa-glukozidaz	3
GH20	β-N-asetilheksozaminidaz	1
GH23	Membran bağlı litik mürein transglikozilaz	6
GH37	Alfa-trehaloz	1
GH68	Levansükraz	1
GH77	4-α-glukanotransferaz	1
GH102	Endo-α-N-asetilgalaktozaminidaz	1
GH109	α-N-asetilgalaktozaminidaz	1
GH144	Endo-β-1,3-glukanaz	1
GH186	Endo-β-1,2-glukonaz	1
GH189	β-1,2-glukon sentetaz	1
GT2	GDP-Man α-manosiltransferaz	14
GT4	UDP-glikoziltransferaz	11
GT5	α-1,4-glukan sentaz	1
GT9	β-N-asetilglukozaminiltransferaz	2
GT17	Lipopolisakkarit α-1,2-glukoziltransferaz	1
GT20	Trehaloz-6-fosfat sentaz	2
GT21	1,2-diasilgliserol 3-glukoziltransferaz	1
GT26	α-1,3-N-asetilgalaktozaminiltransferaz	1
GT28	1,2-diasilgliserol 3-glukoziltransferaz	1
GT30	α-3-deoksi-D-manno-oktoolosonik asit (KDO) transferaz	1
GT51	Peptidoglikan glikoziltransferaz	1
GT70	Glukoziltransferaz	1
GT83	4-amino-4-deoksi-β-L-arabinoziltransferaz	2
GT103	α-1,3-galaktoziltransferaz	1
GT119	Peptidoglikan polimeraz	2
CE9	N-asetilgalaktozamin-6-fosfat deasetilaz	1
CE11	UDP-3-O-asil N-asetilglukozamin deasetilaz	1
CE14	Diasetilkitobiyoz deasetilaz	1
AA1	Katekol oksidaz	1
AA6	1,4-benzoquinon redüktaz	1
CBM48	Pullulanaz	1

4. Sonuç

Bu çalışmada, AAB2 suşunun yakın akrabalarıyla yapılan 16S rRNA ve recA filogenetik analizleri ile ANI ve dDDH hesaplamaları, suşun taksonomik konumunu kesin olarak ortaya koymuştur. WGS ve CAZymes analizleri, AAB2'nin karbonhidrat metabolizması ve biyopolimer üretiminde zengin bir genetik kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir. Glikoziltransferazlar ve glikozit hidrolazların bolluğu, suşun endüstriyel selüloz ve ekzopolisakkarit üretimindeki yüksek potansiyelini desteklemektedir. Ayrıca, atık maddelerin biyotransformasyonu ve fenolik bileşik metabolizması ile ilişkili genler, AAB2'yi gıda fermentasyonu ve biyoteknolojik uygulamalarda çok yönlü bir kaynak olarak öne çıkarmaktadır. Gelecek çalışmalarda, suşun metabolik çıktıları ve enzim ekspresyon düzeylerinin pilot ölçekli üretim sistemlerinde değerlendirilmesi, ticari uygulamalara adaptasyon potansiyelini daha net bir şekilde ortaya koyacaktır.

Teşekkür ve Bilgi

Bu çalışma, 4-6 Eylül 2025 tarihlerinde İstanbul Teknik Üniversitesi'nde gerçekleştirilen Türkiye 2. Gıda Mikrobiyolojisi Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur.

Yazar Katkısı

İ.Y.: Kavramsallaştırma, Veri düzenleme ve yönetimi, Yazım – gözden geçirme ve düzenleme, Finansman sağlama, Proje yönetimi, A.E.E.E.: Araştırma, Yöntem geliştirme, Görselleştirme, Orijinal taslak yazımı, Yazım – gözden geçirme ve düzenleme, K.T.: Orijinal taslak yazımı, Biçimsel analiz, Yazım – gözden geçirme ve düzenleme

Veri Erişilebilirlik Beyanı

Bu çalışmada üretilen ve analiz edilen veri setleri, makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

Finansman Beyanı

Bu çalışma TÜBİTAK 1002-A Hızlı Destek Programı kapsamında 124Z585 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Etik Beyanı

Bu çalışma insan katılımcıları veya hayvan deneylerini içermemektedir.

Kaynaklar

- Ali, Z., Wang, Z., Amir, R. M., Younas, S., Wali, A., Adowa, N., & Ayim, I. (2016). Potential uses of vinegar as a medicine and related in vivo mechanisms. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 86(3-4), 140-151. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000440>
- Barten, R., Van Workum, D. J. M., de Bakker, E., Risse, J., Kleisman, M., Navalho, S., & Barbosa, M. J. (2022). Genetic mechanisms underlying increased microalgal thermotolerance, maximal growth rate, and yield on light following adaptive laboratory evolution. *BMC Biology*, 20(1), 242. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01431-y>
- Brandão, P. R., Crespo, M. T., & Nascimento, F. X. (2022). Phylogenomic and comparative analyses support the reclassification of several Komagataeibacter species as novel members of the Novacetimonas gen. nov. and bring new insights into the evolution of cellulose synthase genes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(2), 005252. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005252>
- Drula, E., Garron, M. L., Dogan, S., Lombard, V., Henrissat, B., & Terrapon, N. (2022). The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D571-D577. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1045>
- Eren Eroğlu, A. E., Eroğlu, V., & Yaşa, İ. (2024). Genomic insights into the symbiotic and plant growth-promoting traits of "Candidatus Phyllobacterium onerii" sp. nov. isolated from endemic Astragalus flavescens. *Microorganisms*, 12(2), 336. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020336>
- Garron, M. L., & Henrissat, B. (2019). The continuing expansion of CAZymes and their families. *Current Opinion in Chemical Biology*, 53, 82-87. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.08.004>

- Ghimire, N., Han, S. R., Kim, B., Jung, S. H., Park, H., Lee, J. H., & Oh, T. J. (2021). Complete genome sequencing and comparative CAZyme analysis of *Rhodococcus* sp. PAMC28705 and PAMC28707 provide insight into their biotechnological and phytopathogenic potential. *Archives of Microbiology*, 203(4), 1731-1742. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02177-3>
- Gomes, R. J., de Fatima Borges, M., de Freitas Rosa, M., Castro-Gómez, R. J. H., & Spinosa, W. A. (2018). Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. *Food Technology and Biotechnology*, 56(2), 139. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5593>
- Grant, J. R., Enns, E., Marinier, E., Mandal, A., Herman, E. K., Chen, C. Y., & Stothard, P. (2023). Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(W1), W484-W492. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad326>
- Gullo, M., Verzelloni, E., & Canonico, M. (2014). Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects. *Process Biochemistry*, 49(10), 1571-1579. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.07.003>
- Harirchi, S., Sar, T., Ramezani, M., Aliyu, H., Etemadifar, Z., Nojumi, S. A., & Taherzadeh, M. J. (2022). Bacillales: from taxonomy to biotechnological and industrial perspectives. *Microorganisms*, 10(12), 2355. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122355>
- Kaczmarek, M., Jędrzejczak-Krzepkowska, M., & Ludwicka, K. (2022). Comparative analysis of bacterial cellulose membranes synthesized by chosen komagataeibacter strains and their application potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6), 3391. <https://doi.org/10.3390/ijms23063391>
- Kerstens, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P., & Stackebrandt, E. R. K. O. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In *The prokaryotes* (pp. 3-37). Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_1.
- Liang, T., Jiang, T., Liang, Z., Zhang, N., Dong, B., Wu, Q., & Gu, B. (2023). Carbohydrate-active enzyme profiles of *Lactiplantibacillus plantarum* strain 84-3 contribute to flavor formation in fermented dairy and vegetable products. *Food Chemistry*, X, 20, 101036. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101036>
- Lisdiyanti, P., Navarro, R. R., Uchimura, T., & Komagata, K. (2006). Reclassification of *Gluconacetobacter hansenii* strains and proposals of *Gluconacetobacter saccharivorans* sp. nov. and *Gluconacetobacter nataicola* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(9), 2101-2111. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.63252-0>
- Luzón-Quintana, L. M., Castro, R., & Durán-Guerrero, E. (2021). Biotechnological processes in fruit vinegar production. *Foods*, 10(5), 945. <https://doi.org/10.3390/foods10050945>
- McDermott, P. F., Tyson, G. H., Kabera, C., Chen, Y., Li, C., Folster, J. P., & Zhao, S. (2016). Whole-genome sequencing for detecting antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(9), 5515-5520. <https://doi.org/10.1128/aac.01030-16b>
- Plouhinec, L., Neugnot, V., Lafond, M., & Berrin, J. G. (2023). Carbohydrate-active enzymes in animal feed. *Biotechnology Advances*, 65, 108145. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108145>
- Richter, M., & Rosselló-Móra, R. (2009). Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(45), 19126-19131. <https://doi.org/10.1073/pnas.090641210>
- Ronholm, J., Nasheri, N., Petronella, N., & Pagotto, F. (2016). Navigating microbiological food safety in the era of whole-genome sequencing. *Clinical microbiology reviews*, 29(4), 837-857. <https://doi.org/10.1128/cmr.00056-16>
- Saichana, N., Matsushita, K., Adachi, O., Frébort, I., & Frébortova, J. (2015). Acetic acid bacteria: A group of bacteria with versatile biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1260-1271. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.12.001>
- Sengun, I. Y. (2015). Acetic acid bacteria in food fermentations. *Fermented Foods: Part, 1*, 91-111. <https://doi.org/10.1201/b19872-6>
- Sengun, I. Y., & Karabiyikli, S. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22(5), 647-656. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.008>
- Shi, Y., Wang, X., & Huang, A. (2018). Proteomic analysis and food-grade enzymes of *Moringa oleifer* Lam. a Lam. flower. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 883-890. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.109>
- Thompson, C. C., Vidal, L., Salazar, V., Swings, J., & Thompson, F. L. (2021). Microbial genomic taxonomy. *Trends in The Systematics of Bacteria and Fungi*, 168-178. <https://doi.org/10.1079/9781789244984.0168>
- Toklu, K., Karahan, A., & Eroğlu, A. E. E. (2023). Investigation of the biotechnological potential of acetic acid bacteria isolated from vinegars produced by traditional methods. In *Proceedings of the I. International Black Sea Scientific Research and Innovation Congress* (pp. 1199-1209). Trabzon, Türkiye.
- Tyler, A. D., Mataseje, L., Urfano, C. J., Schmidt, L., Antonation, K. S., Mulvey, M. R., & Corbett, C. R. (2018). Evaluation of Oxford Nanopore's MinION sequencing device for microbial whole genome sequencing applications. *Scientific Reports*, 8(1), 10931. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29334-5>
- Zhang, E., Breselge, S., Carlino, N., Segata, N., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2025). A genomics-based investigation of acetic acid bacteria across a global fermented food metagenomics dataset. *iScience*, 28(4), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2025.112139>