

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI**



**ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NIN MİKROBİYAL
BİYOÇEŞİTLİLİĞİNİN METAGENOMİK ANALİZİ**

Yüksek Lisans Tezi

Miraç Ercan GÜRSOY

Danışman

Doç. Dr. Hilal AY

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.FEN.1904.22.016 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Miraç Ercan GÜRSOY tarafından, Doç. Dr. Hilal AY danışmanlığında hazırlanan “ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NIN MİKROBİYAL BİYOÇEŞİTLİLİĞİNİN METAGENOMİK ANALİZİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 1.3.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Doç. Dr. Hilal AY Ondokuz Mayıs Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Halil İbrahim GÜLER Karadeniz Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Hayrettin SAYGIN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

01/03/2023

Miraç Ercan GÜRSOY

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NIN MİKROBİYAL BİYOÇEŞİTLİLİĞİNİN METAGENOMİK ANALİZİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 04.01.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : %10

Tek kaynak oranı : %3 çıkmıştır.

04/01/2023

Doç. Dr. Hilal AY

ÖZET

ANTARKTİKA HORSESHOE ADASI'NIN MİKROBİYAL BİYOÇEŞİTLİLİĞİNİN METAGENOMİK ANALİZİ

Miraç Ercan GÜRSOY
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Ocak/2023
Danışman: Doç. Dr. Hilal AY

Antarktika kıtası kurak iklimi, yükseltinin fazla olması, oldukça rüzgârlı yapısı ve düşük sıcaklık değerleri ile öne çıkan ekstrem bir habitattır. Mikroorganizmalar, kutup koşullarına adaptasyon için metabolik ve hücresel adaptasyon mekanizmalarına gereksinim duymaktadır. Bu adaptasyon mekanizmalarına sahip olan mikroorganizmalar özellikle biyoteknoloji alanında sekonder metabolitleriyle birlikte önemli bir yer tutar. Bu çalışmada Antarktika Horseshoe Adası'ndan alınan su, sediment ve toprak örneklerinin mikrobiyal biyoçeşitliliğinin metagenomik yaklaşımla ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Çevresel DNA'dan elde edilen 16S rRNA geni V3-V4 amplikonları QIIME 2 programında analiz edilerek Horseshoe Adası su, sediment ve toprak örneklerinde bulunan bakteriyal taksonlar belirlenmiştir. Su örneğinde filum düzeyinde *Pseudomonadota* ve *Bacteriodota*; sınıf düzeyinde *Gammaproteobacteria*, *Bacteroidia* ve *Alphaproteobacteria*; familya düzeyinde *Pseudoalteromonadaceae*, *Flavobacteriaceae* ve *Rhodobacterales*; cins düzeyinde *Pseudoalteromonas*, *Polaribacter*, *Sulfitobacter* ve *Psychrobacter* taksonlarının baskın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Sediment örneğinde filum düzeyinde *Bacteroidota*, *Pseudomonadota*, *Verrucomicrobiota* ve *Actinomycetota*; sınıf düzeyinde *Bacteroidia*, *Gammaproteobacteria* ve *Verrucomicrobiotae*; familya düzeyinde *Flavobacteriaceae*, *Rubritaleaceae* ve *Comamonadaceae*; cins düzeyinde *Ilumatobacter*, *Flavobacterium* ve *Maribacter* taksonları tespit edilmiştir. Toprak örneğinde filum düzeyinde *Actinomycetota*, *Bacillota*, *Bacteriodota* ve *Pseudomonadota*; sınıf düzeyinde *Bacteroidia*, *Bacili* ve *Clostridia*; familya düzeyinde *Chitinophagaceae*, *Bacteroidaceae* ve *Lachnospiraceae*; cins düzeyinde *Bacteroides*, *Lactobacillus* ve *Prevotella* taksonları tespit edilmiştir. Alfa çeşitlilik analizine göre en yüksek mikrobiyal çeşitlilik oranı toprak numunesinde görülürken, en düşük oran su numunesinde tespit edilmiştir. Numunelerin arasında mikroorganizma çeşitliliğinin karşılaştırılması beta çeşitlilik yöntemleri ile hesaplanmış ve aralarında önemli düzeyde benzerlik bulunamamıştır. Bu çalışma ile Antarktika Horseshoe Adası'ndan toplanan denizel su, sediment ve toprak örneklerinin mikrobiyal biyoçeşitliliği metagenomik olarak ilk kez ortaya çıkarılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antarktika, Horseshoe Adası, Metagenomik, Mikrobiyal biyoçeşitlilik, Alfa çeşitlilik, Beta çeşitlilik

ABSTRACT

METAGENOMIC ANALYSIS OF MICROBIAL BIODIVERSITY OF HORSESHOE ISLAND, ANTARCTICA

Miraç Ercan GÜRSOY
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Molecular Biology and Genetics
Master, January/2023
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hilal AY

The Antarctic continent is an extreme habitat that stands out with its arid climate, high altitude, very windy structure and low temperature values. The adaptation of microorganisms to polar conditions requires metabolic and cellular adaptation mechanisms especially in the field of biotechnology, together with their secondary metabolites, microorganisms with these adaptation mechanisms hold important place. In this study, it was aimed to detect microbial biodiversity of water, sediment and soil samples collected from Antarctic Horseshoe Island using a metagenomics approach. By analysing the 16S rRNA gene V3-V4 amplicons obtained from environmental DNA on QIIME 2 programme, the bacterial taxa within the water, sediment and soil samples were determined. The water sample contained *Pseudomonadota* and *Bacteriodota* at phylum-level, *Gammaproteobacteria*, *Bacteridia* and *Alphaproteobacteria* at the class-level, *Pseudoalteromonadaceae*, *Flavobacteriaceae* and *Rhodobacterales* at the family-level, and *Pseudoalteromonas*, *Polaribacter*, *Sulfitobacter* and *Psychrobacter* at the genus-level. The sediment sample contained *Bacteroidota*, *Pseudomonadota*, *Verrucomicrobiota* and *Actinomycetota* at the phylum-level, *Bacteroidia*, *Gammaproteobacteria* and *Verrucomicrobiotae* at the class-level, *Flavobacteriaceae*, *Rubritaleaceae* and *Comamonadaceae* at the family level, and *Ilumatobacter*, *Flavobacterium* and *Maribacter* at the genus-level. The soil sample contained *Bacillota*, *Bacteriodota* and *Pseudomonadota* at the phylum-level, *Bacteroidia*, *Bacili* and *Clostridia* at class-level, *Chitinophagaceae*, *Bacteroidaceae* and *Lachnospiraceae* at the family-level, and *Bacteroides*, *Lactobacillus* and *Prevotella* at the genus-level. The highest rate of alpha diversity was observed in the soil sample, while the lowest ratio was determined in the water sample. The similarity of microorganism diversity among the samples was calculated as beta diversity and no significant similarity was found between the samples. By this study, microbial biodiversity of marine water, sediment and soil samples collected from Antarctica Horseshoe Island was acquired for the first time.

Keywords: Antarctica, Horseshoe Island, Metagenomics, Microbial biodiversity, Alpha diversity, Beta diversity

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım boyunca benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli bilgi ve tecrübelerini paylaşmaktan kaçınmayan değerli tez danışmanım **Doç. Dr. Hilal Ay'** a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca hep desteklerini, sevgilerini ve sabırlarını her zaman hissettiğim bu günlere gelmemdeki en büyük katkıyı veren sevgili ailem, annem **Ülkü GÜRSOY**, babam **Mehmet GÜRSOY**, ablam **Elif GÜRSOY**, ablam **Emel GÜRSOY'**a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Yüksek lisans eğitimimim sırasında bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyen sürekli destek olan **Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN**, **Dr. Öğr. Üyesi Hayrettin SAYGIN**, **Arş. Gör. Cengiz NİGİZ**, doktora öğrencisi **Ali Tokatlı**, **Öğr. Gör. Ahmet Rıdvan TOPKARA'**ya teşekkür ederim.

Liseden beri hiç kopmadığımız kardeşim gibi gördüğüm yüksek lisans eğitimime destek olan **Halit Bahadır YAVUZ**, **Mehmet Berkay ATASOY**, **Şevval ATASOY'** a teşekkür ederim.

Tanıştığımız günden beri hep daha ileriye hep daha iyi bir noktaya gelmek için beraber çalıştığımız sevgili **Muhammet Rıdvan BEKTAŞ**, **Hakkı Onur İZMİRLİ**, **Hatice İZMİRLİ** ve **Gökberi AŞKIN'a** sarsılmaz desteklerine minnettarım.

Tez yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen tecrübesinden yararlandığım, **Mücahit KAYA** ve diğer laboratuvar çalışanlarına verdikleri destek ve anlayış için teşekkür ederim.

2210-A Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Burs Programı ve 219Z018 no'lu proje ile yüksek lisans hayatım boyunca maddi desteklerini sunan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkür ederim.

Bu çalışma T.C. Cumhurbaşkanlığı himayesinde, T.C. Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı uhdesinde ve TÜBİTAK MAM Kutup Araştırmaları Enstitüsü koordinasyonunca desteklenmiştir. Ayrıca, PYO.FEN.1904.22.016 nolu Bilimsel Araştırma Projesi ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından da desteklenmiştir.

Miraç Ercan GÜRSOY

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL ve ONAYI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPOR BEYANI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Antarktika Kıtasının Genel Özellikleri.....	1
1.2. Bitki ve Hayvan Ekosistemi.....	5
1.3. Horseshoe Adası.....	8
1.4. Kutup Ekosistemlerinin Mikrobiyal Biyoçeşitliliği.....	9
1.4.1. Kuzey Kutbu Mikrobiyal Biyoçeşitliliği.....	9
1.4.2. Antarktika Kıtası'nın Mikrobiyal Biyoçeşitliliği.....	11
1.5. Metagenomik.....	18
2. YÖNTEM.....	26
2.1. Horseshoe Adası'ndan Toprak, Sediment ve Su Örneklerinin Toplanması....	26
2.2. Metagenom Dizileme.....	26
2.3. Biyoinformatik Analiz.....	27
2.3.1. Verilerin QIIME Programına Göre Düzenlenmesi.....	27
2.3.2. Dizi Kontrolü.....	27
2.3.3. Dizilerin Taksonomik Sınıflandırılması.....	28
2.3.4. Alfa Çeşitlilik.....	29
2.3.5. Beta Çeşitlilik.....	29
3. BULGULAR.....	31
3.1. Ön İşleme.....	31
3.2. Su, Sediment ve Toprak Örneklerinin Tekrarlı Dizilemelerinin Karşılaştırılması.....	33
3.2.1. Su Örneğinin Tekrarlı Dizilerinin Karşılaştırılması.....	33
3.2.2. Sediment Örneğinin Tekrarlı Dizilerinin Karşılaştırılması.....	40
3.2.3. Toprak Örneklerinin Tekrarlı Dizilerinin Karşılaştırılması.....	48
3.3. Su, Sediment ve Toprak Örneklerinin Karşılaştırılması.....	56
3.4. Alfa çeşitlilik.....	61

3.5. Beta çeşitlilik.....	62
4. TARTIŞMA.....	72
5. SONUÇ	78
6. KAYNAKÇA.....	79
7. EK.....	86
8. ÖZ GEÇMİŞ.....	99

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Antarktika Nansen Adası	2
Şekil 1.2. Antarktika Kıtası Buzulları	4
Şekil 1.3. <i>Pygoscelis antarctica</i> türüne ait bir penguen (miğfer kayışlı penguen)	6
Şekil 1.4. Nansen Adası'nda bir penguen kolonisi	7
Şekil 1.5. Hoseshoe Adası, Gaul Körfezi	8
Şekil 1.6. Horseshoe Adası, Lystad Körfezi	9
Şekil 1.7. 16S rRNA Gen Bölgesi (https://ficusbio.com/metagenom-dizileme/ , 2022)	20
Şekil 1.8. Metagenomik çalışma aşamaları (https://diagen.com.tr , 2022)	24
Şekil 3.1. İleri yönlü okuma DADA2 paketinde belirlenen kalite skor grafiği	32
Şekil 3.2. Geri yönlü okuma DADA2 paketinde belirlenen kalite skor grafiği	32
Şekil 3.3. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyinde karşılaştırılması	33
Şekil 3.4. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyinde karşılaştırılması	34
Şekil 3.5. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyinde karşılaştırılması	35
Şekil 3.6. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyinde karşılaştırılması	36
Şekil 3.7. Su örneğindeki mikrobiyal taksonların yaygınlık oranları	39
Şekil 3.8. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyinde karşılaştırılması	40
Şekil 3.9. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyindeki dağılımı	41
Şekil 3.10. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyindeki dağılımı	42
Şekil 3.11. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyindeki dağılımı	44
Şekil 3.12. Sediment örneğindeki taksonların yaygınlık oranları	47
Şekil 3.13. Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyindeki dağılımı	49
Şekil 3.14. Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyindeki dağılımı	50
Şekil 3.15. Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyindeki dağılımı	51
Şekil 3.16. Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyindeki dağılımı	52
Şekil 3.17. Toprak örneğindeki mikrobiyal taksonların yaygınlık oranları	55
Şekil 3.18. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyinde karşılaştırılması	56
Şekil 3.19. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyinde karşılaştırılması	57
Şekil 3.20. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyinde karşılaştırılması	58
Şekil 3.21. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin cins düzeyinde karşılaştırılması	59
Şekil 3.22. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyinde karşılaştırılması	60
Şekil 3.23. Sediment, toprak ve su örneklerinin Shannon yöntemine göre alfa çeşitlilik analizi	61
Şekil 3.24. Sediment, toprak ve su örneklerinin Chao yöntemine göre alfa çeşitlilik analizi	62
Şekil 3.25. Beta çeşitlilik Bray-Curtis grafiği	63
Şekil 3.26. Bray-Curtis yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi	64
Şekil 3.27. Jaccard grafik tablosunda beta çeşitlilik grafiği	64

Şekil 3.28. Jaccard yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi	65
Şekil 3.29. Ağırlıksız-Unifrac doğruluk değeri grafiği.....	66
Şekil 3.30. Ağırlıksız-Unifrac grafiği yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi	66
Şekil 3.31. Ağırlıklı-Unifrac doğruluk değeri grafiği	67
Şekil 3.32. Ağırlıklı-Unifrac grafiği yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi	67
Şekil 3.33. PCA tablosu benzerlik sağlayan mikroorganizmaların çeşitliliğinin gösterimi.....	68
Şekil 3.34. Farklılıkları temel alarak yapılan örnekler arasındaki beta çeşitlilik analizi	69
Şekil 3.35. Jaccard yöntemi ile örneklerin beta çeşitlilik düzeylerinin karşılaştırılması	70
Şekil 3.36. Bray-Curtis yöntemi ile örneklerin beta çeşitlilik düzeylerinin karşılaştırılması	71

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Her bir örnek için ileri ve geri yönlü okuma sayıları.....	31
Tablo 3.2. Su örneğine ait 3 tekrarlı dizileme sonucunda 3 dizilemenin filum düzeyinde karşılaştırması	37
Tablo 3.3. Su örneğinin birleştirilmiş filum düzeyinde tablosu.....	38
Tablo 3.4. Sediment örneğinin tekrarlı dizi analizlerinin filum düzeyinde karşılaştırması	45
Tablo 3.5. Sediment örneğinin tekrarlı sonuçlarının birleştirilmesiyle oluşan filum oranları	46
Tablo 3.6. Toprak örneğinde tespit edilen mikroorganizmaların filum düzeyindeki dağılım oranları	53
Tablo 3.7. Toprak örneğindeki mikrobiyal filumların oranı	54

1. GİRİŞ

1.1. Antarktika Kıtasının Genel Özellikleri

Antarktika kuru vadileriyle dünyadaki en soğuk, aşırı kurak çöl sistemi olarak kabul edilir. Çok düşük sıcaklıkları, sık gerçekleşen donma-çözünme döngüleri ve düşük su miktarıyla Antarktika Kıtası, yaşamsal açıdan ciddi çevresel stres mekanizmalarına sahiptir (Cowan vd., 2014). Kıtada, iklim ve okyanus ekosistemlerinin korunumu açısından Dünya'nın en değerli kıtası sayılmaktadır. Antarktika, devasa buz tabakaları ile küresel ısınmanın etkilerine karşı koruma görevi gören bir tampon gibi durmaktadır (Cavicchioli, 2015). Kıtanın yüzölçümü 13.209.000 km² iken %98'lik kısmı buzullarla kaplıdır. Kıtada, yaklaşık olarak Avrupa Kıtası'ndan %30, Avustralya Kıtası'ndan ise %50 daha büyük alana sahiptir (Kırkinci vd., 2021). Özellikle iç kısımlarda kalan bölgelerde yaşamsal faaliyetler kıyıya yani suya yakın olan bölgelere göre daha az gözlemlenmiştir (Watt, 2022). Antarktika Kıtası ve Güney Okyanusu, Dünya yüzölçümünün yaklaşık onda birini oluşturmaktadır. Dünyanın diğer bölgelerine göre daha az çevresel etmenlere maruz kalmış, nispeten bozulmamış ve korunmuş olarak kalmıştır. On sekizinci yüzyıla kadar uzakta ve yalıtılmış olarak kalan kıtada, bundan sonraki süreçte çeşitli insan faaliyetlerinin gerçekleştiği bilinmektedir (Tin vd., 2014).

Antarktika Kıtası, Doğu Antarktika ve Batı Antarktika olmak üzere iki bölge halinde incelenir (Kırkinci vd., 2021). Antarktika Antlaşması ve diğer anlaşmalar kıtanın kendisini, çevresini ve aynı zamanda doğal hayatını korumak amacıyla alınan önlemler arasındadır (Tin vd., 2014). 1 Aralık 1959'da, 12 ülkenin katılımıyla Antarktika Antlaşması imzalanmıştır. Bu antlaşmaya göre Antarktika Kıtası'nda askeri faaliyetler yasaklanmış olup kıtada sadece bilimsel ve barışçıl amaçlar için kullanılmalıdır. Ayrıca 4 Ekim 1991'de imzalanan Madrid Protokolü ile kıtada madencilik faaliyetleri de yasaklanmıştır (Watt, 2022).



Şekil 1.1. Antarktika Nansen Adası

Antarktika'nın yüzeyinde bulunan geniş kar ve buz tabakasının altında kalan yüzey arazisi jeolojik kayıtları saklamaktadır. Kar ve buzul örtünün çok kalın olması içerilere doğru gidildikçe zorlaşan çalışma şartları, geniş uzun seferlerin muazzam maliyetli olması sebebiyle uzun bir süre Antarktika kıtasının jeolojik verilerinin elde edilmesine izin vermemiştir. Daha sonra antlaşmaya katılan ülkelerin jeologlarının yaptığı çalışmalar ve gayretleriyle Antarktika kıtasının keşif ölçeği düzeyinde de olsa jeolojik bir haritasının yapılmasına olanak sağlamıştır. Bu kıta dünyanın ortalama olarak en yüksek kıtası olma özelliğini yaklaşık 2200 m ile taşımaktadır. Arkasından gelen Asya Kıtası'nın yaklaşık üç katı yüksekliğine sahiptir. Antarktika Kıtası'ndaki buzul kütleinin olmadığını düşünürsek, Antarktika kıtasının yaklaşık ortalama yüksekliği 457 m olacaktı. Ayrıca Antarktika kıtasında bazıları hala aktif olan volkanlar bulunmaktadır (Watt, 2022).

İnsanlığın büyük bir kısmı için sadece buz kütlesi olarak görülmeyen Antarktika kıtası oligotrofik, kopiotrofik, hiper-kurak, suya doymuş, psikrofilik, termofilik topraklarında çeşitli mikrobiyal topluluklara ev sahipliği yapmaktadır. Bu topraklarda potansiyel olarak iki tehdit bulunmaktadır: iklim değişikliği ve insan etkisi. İklim değişikliğinin kıtaya olan etkisi reddedilemez boyuttadır. Antarktika kıtasının özellikle kıyı kesimlerinde yıllık ortalama sıcaklığın artışı ciddi boyutlara ulaşmış

durumdadır. Ross Denizi, sıcaklık artışının yüksek olmadığı tek bölge olarak kayıtlara geçmiştir. İnsan etkisinin sonuçları iklim değişikliği kadar net olmasa da bu konudaki endişeler ciddi boyutlardadır. Turizm ve araştırma nedeniyle kıtaya giden insan sayısının artışıyla birlikte kıtada yer alan habitatların üzerinde baskı artmıştır (Walther vd., 2002; Cowan vd., 2011).

İklim değişikliğinin yaptığı ısınma etkisiyle birlikte Güney Okyanusu habitatı değişime uğramıştır. Okyanusun bazı bölgelerindeki ısınma durumu Antarktika ve çevre kıtalardaki habitatı etkilemektedir. Güney Georgia çevresinde yazın deniz suyu sıcaklıklarının 1925'ten beri 0,5 °C, Antarktika Kıtası'nın batısında yer alan deniz suyu sıcaklığının 20. yüzyılın ikinci yarısında 1 °C derece arttığı gözlemlenmiştir (Michael vd., 2021).

Antarktika Kıtası aşırı düşük sıcaklıkların görüldüğü ekosistemlerden en önemlisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Kıtanın batısı canlı organizmaların yaşaması için diğer bölgelere göre daha elverişli sayılmaktadır. Bu daha elverişli saha bile yazın 6 °C seviyesinden yukarıya çok az çıkmaktadır. İklim değişikliğinin yaptığı ısınma etkisiyle birlikte en çok etkilenen bölge yine Antarktika Kıtası'nın batısı olmuştur. Küresel iklim değişikliğinin sonucu olarak karşımıza çıkan sıcaklık artışları bölgedeki buzulların %90'ının çekilmesine ve aynı zamanda okyanus sularının ısınmasına yol açmaktadır. Antarktika Kıtası'nın ısınması karşısında toprak mikroorganizmalarının tepkisi yeterli araştırma olmadığı için tam olarak bilinmemektedir (van Gestel vd., 2020).



Şekil 1.2. Antarktika Kıtası Buzulları

Şimdiye kadar dünya üzerinde ölçülen en düşük sıcaklık eski Sovyet döneminde kullanılan Vostok istasyonunda $-89,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir. Kış mevsiminde denizel etkilerle birlikte kıtada en yüksek sıcaklık kuzey Antarktika Yarımadası'nda nadiren $11\text{ }^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür. İç kısımlarda soğuk olan dönemlerde $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ila $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında değişkenlik gösterse de kıyı kısımlarında $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ila $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında değişmektedir. Bazı dönemlerde ise Antarktika Yarımadası'nda $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ kadar yüksek sıcaklıklar görülmektedir (Watt, 2022).

Ilıman iklimlerde yer alan nem oranı bu kıtada görülmez. Genelde kıtanın güneyinden gelen su buharı kütlesi bir süre sonra kar veya buz olarak yüzeye düşer ve buraya taşınır. Bu yüzden dünyanın en büyük çölü olarak adlandırılır. Kıtaya düşen yıllık ortalama yağış miktarı 50 mm 'dir. İklimini etkileyen en önemli faktörlerden birisi de güneşin dünya ile yaptığı geometrik düzendir. Dünya ekseninin $23,5^{\circ}$ açısı diğer kutup bölgesi ile arasında fark oluşmasına neden olur. Kutuplarda 6 ay gece olduğu bilinmektedir. Teorik olarak bu doğru olsa da bu 6 ayın yaklaşık 1 ayı alacakaranlık olarak görülmektedir (Watt, 2022).

Antarktika, genel olarak dünya üzerindeki ekstrem ortamlardan biri olarak bilinmektedir. Makroçevre ve mikroçevrede yaşayan organizmalar için aşırı soğuk, kuraklık, toprak tuzluluğu, düşük besin seviyesi, yüksek UV ve rüzgar, organizmalar için dezavantajlı bir ortam sağlamaktadır. Bu tip dezavantajlar kıtadaki organizmaların yaşamsal döngülerini zora soksa da kıtanın steril kalmasındaki en büyük sebep olarak karşımıza çıkmaktadır (Cowan, 2009).

1.2. Bitki ve Hayvan Ekosistemi

Antarktika bitki vejetasyonu sadece iki angiosperm türü (*Colobanthus quitensis* (Kunth. Bartl. ve *Deschampsia antarctica* Desv.), çok sayıda liken ve yosundan oluşmaktadır (Green vd., 2007). Antarktika'da karanlık ve uzun süreler boyunca hayatta kalabilen dayanıklı, karada yaşayan bitki türlerinin yaşamsal faaliyetlerinin devam etmesini sağlamıştır. Bitkilerin büyümesi mevsimsel koşullar, kar fırtınaları ve soğuklar yüzünden kıtada birkaç günden 1 veya 2 aya kadar devam eden yaz mevsiminde yer alan sıcaklıklarla sağlanmaktadır. Sıcaklık burada yaşayan bitkiler için optimum seviyeye gelse bile kuraklık yüzünden gelişimler tam olarak sağlanmayabilir. Genelde su ihtiyacı, eriyen buzlar ve karlardan sağlanmaktadır. Çevresinde Atlas, Hint ve Pasifik okyanusları bulunan Antarktika Kıta ekosistemi oldukça karmaşıktır. Kıtanın barındırdığı buz, tatlı su, tuzlu su göllerinin yanı sıra kurak kutup çölleri ve yeşillikle çevrelenmiş otlakları bünyesinde bulundurduğu için kıtada pek çok çeşitli ekosistemi görmek mümkündür (Barrett, 2004; Thomas, 2008). Son yapılan çalışmalara göre Antarktika habitatında yaşayan canlıların köklerinin çok eskiden geldiği bazılarının milyonlarca yıldır dünyanın geri kalanından izole bir şekilde kıtada yaşadığı tespit edilmiştir. Şu anda bilinen karasal biyota Son Maksimum Buzul'dan bu yana yerleşik düzene geçen türleri kapsamaktadır. 1960'ların başından itibaren yapılan çalışmalarla birlikte özellikle Transantarktika Dağları ve Antarktika Yarımadası'ndaki biyolojik çeşitliliğin büyük bir kısmı tanımlanmıştır (Convey vd., 2014).



Şekil 1.3. *Pygoscelis antarctica* türüne ait bir penguen (miğfer kayışlı penguen)

Kara faunası ise eklembacaklılar, kuşlar ve foklardan oluşmaktadır. Eklembacaklılar grubu içerisinde *Acarina* (akarlar), *Mallophaga* (ısırıcı bitler), *Collembola* (bahar kuyrukları), *Anoplura* (emici bitler), *Diptera* (tatarcıklar) ve *Siphonaptera* (pire) cinsleri bulunmaktadır (Watt, 2022). Kıta çevresinde yaşayan balıkların ise antifriz gibi davranan glikoproteinlere sahip olduklarından dolayı sıcaklığın 0 °C'nin altında olmasına rağmen yaşamlarını sürdürdükleri belirlenmiştir (Gilbert vd., 2004).



Şekil 1.4. Nansen Adası'nda bir penguen kolonisi

Antarktika'nın güneyinde yaklaşık 45 kuş türü tespit edilmiştir. Antarktika kıtasında, çevresel adalarda karada yaşayan avcılarının olmaması, denizin getirmiş olduğu zengin besin, ayrıca çok çeşitli tür olmaması, burada yaşayan kuşları avantajlı konuma getirmiştir. Penguenler, bilinenin aksine sadece kıyı şeridinde yaşamalarına rağmen tüm kıtanın sembolü haline gelmiştir. En büyükleri 0,9 ila 1,2 m boyunda olan imparator penguenlerdir (Watt, 2022).

Dünyadaki çok hücreli doğal hayvan türlerinden biri olan krillerin 300-500 milyon ton biyokütle içerdiği tahmin edilmektedir. Bu yönüyle kriller, iklim ve okyanus verimini etkilemesi ile biyojeokimyasal döngülerin vazgeçilmez parçası olmuştur (Meyer vd., 2022). Yosunlar ve likenler, bitki örtüsünü oluşturan en büyük gruplardır. Kıtada yaklaşık 111 yosun ve 273 liken türü bulunmaktadır. Kıtanın kıyı bölgeleri bitki örtüsü olarak daha gelişmiş olsa da iç kısımlara doğru gidildikçe birincil üretim düşük kalmaktadır. Kıtada 170 tanesi endemik olmak üzere 520 karasal omurgasız canlı çeşidi bulunmaktadır (Nielsen vd., 2013).

Karasal omurgalıların olmaması, heterotrofik organizmaların omurgasızlar, protozoa, mantarlar, bakteriler ve arkelerden oluştuğu anlamına gelmektedir. Buna bağlı olarak, Antarktika toprakları mikrobiyal biyoçeşitlilik açısından öne çıkmaktadır (Hogg vd., 2006; Vincent, 2002).

1.3. Horseshoe Adası

Antarktika'nın batısında yer alan Horseshoe Adası, Marguerite Körfezi'nin içerisinde yer almaktadır. Adanın jeolojik yapıdan incelendiğinde karmaşık bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Buzdan yoksun bölgelerde granit ve gabrodan oluşan plütonik kayaç ve gnayslar yer almaktadır. Adada yer alan 537 m yüksekliğindeki Searie ve 879 m yükseltiyeye sahip Breaker Dağı ise adanın kuzeyinde yer alan volkanik dağlardır. Adanın en önemli doğal alanı ise yaklaşık 6,5 km² alana sahip olan Shoemith Buzludur. Buzul, adanın doğu-batı doğrultusu boyunca uzanmış halde bulunmaktadır (Yıldırım, 2019).



Şekil 1.5. Horseshoe Adası, Marguerite Körfezi

Antarktika Horseshoe Adası, kıtanın en buzlu bölgelerinden birisidir. Marguerite Körfezi içerisinde yer alan ada, yaklaşık 20 bin yıl öncesinde tamamen buzullarla kaplı idi. Daha sonra 14,2 bin yıl önce buz tabakasının kalkması ve ardından 10,6 bin yıl önce körfezin içerisinde yer alan bölgelerin sular altında kalmasıyla birlikte ada ortaya çıkmıştır (Cofaigh vd., 2008). Horseshoe Adasının toplam yüzölçümü 60 km² iken adanın yaklaşık %66'sı buzun altında kalmıştır (Matteheews, 1983). Adanın güneyinde yer alan kısımları daha yüksek, kuzey ve orta kesimlerinde kalan kısımlarına göre ise daha engebeli bir araziye sahiptir (Yıldırım, 2019).



Şekil 1.6. Horseshoe Adası, Lystad Körfezi

1.4. Kutup Ekosistemlerinin Mikrobiyal Biyoçeşitliliği

1.4.1. Kuzey Kutbu Mikrobiyal Biyoçeşitliliği

Polar kriyosfer, Dünya yüzeyinde yaklaşık %14'lük bir yer kaplamaktadır. Bu tip bölgelerde yaşamsal faaliyetlerini sürdüren mikroorganizmalar aşırı soğuklara, değişken sıcaklıklara, donma-çözülme olaylarına, düşük besin miktarına, sıvı haldeki suyun azlığına ve mevsimsel olarak değişkenlik gösteren UV miktarına karşı dirençli olmalıdır. Bütün bu elverişsiz fizikokimyasal koşullara karşın kutup bölgesinde çok çeşitli mikroorganizmaların hava, tatlı su, deniz, tundra, tayga, kar gibi ortamlarda varlığı bilinmektedir (Malard vd., 2018).

Kuzey Kutbu tundrası, Dünya yüzeyinde %8'lik bir alana sahiptir ve toprağın alt kısımlarının donmuş olmasıyla birlikte, Dünya yüzeyinin %25'ini kaplayacak kadar donmuş toprak (permafrost) bulundurulur (Negermut vd., 2005; Steven vd., 2006; Lee vd., 2013).

Kuzey Kutbu'ndaki mikroorganizmalar çevresel olarak elverişsiz bir ortama sahip olmalarına rağmen biyojeokimyasal döngülerde önemli derecede rol oynamaktadır. Donmuş toprak tabakasının 500 Pg karbon, Arktik permafrostunun

yaklaşık olarak 1000 Pg karbon bulundurduğu tahmin ediliyor. Bu verilere bakıldığında toplamda 1500 Pg karbon ihtiva ettiği tahmin edilmektedir. Yaz aylarında sıcaklığın artması ve toprağın çözünmesiyle birlikte mikrobiyal aktivitede net bir artış ve mikrobiyal aktivitenin artmasına bağlı olarak atmosfere karbondioksit, metan, azot oksit gibi iklim-aktif gazların salınımında artış gözlenmektedir (Malard vd., 2018).

Kuzey Kutbu topraklarının üst kısımları, kuvvetli rüzgarlar, aşırı düşük sıcaklıklar, yüksek UV radyasyonu ve düşük yağış miktarıyla karakterize olup, bu habitatta yaşayan mikroorganizmalar besin döngüsünde önemli rollere sahiptir. Bu mikroorganizmalar arasında *Rhizobiales* (*Alphaproteobacteria*), *Burkholderiales* (*Betaproteobacteria*) *Xanthomonadales* (*Gammaproteobacteria*) ve *Myxococcales* (*Deltaproteobacteria*) Kuzey Kutbu'na egemen olmuş mikroorganizmalardır. Büyük ölçekte *Acidobacteriota*, *Bacteroidota* ve *Actinomycetota* üyeleri ise Kuzey Kutbu'nda daha az miktarda görülen diğer filumları temsil etmektedir (Malard vd., 2018).

Siyanobakteriler, tundra topraklarında yaşayabilmeleri için elverişli bir ortama sahiptir. Fakat *Oscillatoriales* ve *Nostocales* takımlarına ait olan mikroorganizmalar genel olarak biyofilmlerde veya toprak kabuklarından tanımlanmıştır (Steven vd., 2006; Zakhia vd., 2006). *Synechococcales*, *Nostocales* ve *Oscillatoriales* takımları, Kuzey Kutbu topraklarında siyanobakterileri temsil etmektedir. Azot inaktivitasyonundan korunmak için 'heterosistler' adı verilen daha kalın hücre duvarlarına sahip özel hücreleri üretirler. Kuzey Kutbu topraklarında bol miktarda bulunan ve tanımlanmış başlıca azot-sabitleyicilerinden olan bu takımlar azot gazını bitkiler ve mikroorganizmaların kullanabileceği hale (N) dönüştürürler (Zakhia vd., 2006; Steven vd., 2006; Pushkareva vd., 2015; Kumar vd., 2010; Dodds vd., 1995).

Genelde deniz ve tatlı su habitatlarında bol miktarda bulunan *Planctomycetota* üyeleri, tüm Kuzey Kutbu topraklarına dağılmış halde bulunmaktadır. Azot döngüsünde önemli bir yer tutan bu mikroorganizma grubu, amonyumun anaerobik oksidasyonunda görev alır (Humbert vd., 2010).

Hazen Gölü, Kuzey Kutup Dairesi'nin kuzeyindeki Ellesmere Adası, Nunavut, Kanada'nın kuzey kesiminde bulunan bir tatlı su gölüdür. Hacim olarak Kuzey Kutup Dairesi'nin en büyük gölüdür. Hazen Gölü'nden alınan örnekler incelendiğinde *Pseudomonadota*, *Bacteroidota* ve *Actinomycetota* filumlarına rastlanmıştır. Gölün kıyı şeridinde bulunan sulara göre, buzul nehrindeki *Elusimicrobia* ve *Chloroflexota*

miktarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca buzul nehrinden alınan örneklerde *Xanthmonadales*, *Verrucomicrobiales*, *Flavomicrobiales* ve *Burkholderiales* takımının üyelerine rastlanmıştır (Cavaco vd., 2019).

Kutup ekosistemleri gibi ekstrem habitatlarda yer alan mikroorganizmaları tanımlamak, mikrobiyal biyoçeşitliliği tanımlamanın yanı sıra, ekstrem koşullara adapte olan mikroorganizmaların bu adaptasyon mekanizmalarının anlaşılması konusunda da yardımcı olur. İklim, mikroorganizmaların tür çeşitliliğini ve işlevsel mekanizmalarını etkileyen en önemli faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Svalbard'ın kuzeybatısından kaya ve toprak numuneleri incelenmiştir. Toplam 28 bakteri filumu tanımlanmıştır. En fazla bulunan filum *Pseudomonadota* olmuştur. Ayrıca *Actinomycetota*, *Acidobacteriota*, *Cyanobacteriota*, *Chloroflexota* filumları belirlenmiştir. Sınıf düzeyinde *Alphaproteobacteria*, *Bacteroidia*, *Thermoleophilia*, *Gammaproteobacteria*, *Blastocatellia*, *Planctomycetacia* ve *Actinomycetota* belirlenmiştir (Choe vd., 2021).

1.4.2. Antarktika Kıtası'nın Mikrobiyal Biyoçeşitliliği

Antarktika kıtasına yapılan keşifler ve çalışmalar neticesinde kıtaya olan merak günden güne artmıştır. Kıtada yer alan iklim şartları neticesinde kültüre dayanan çalışmalar, kıtanın mikrobiyal biyoçeşitliliğinin tam olarak ortaya çıkarılamadığını göstermiştir (Wynn-Williams, 1983).

Son yıllarda kullanımı yaygınlaşan metagenomik çalışmalar sonucunda ise bu çeşitliliğin daha yüksek olduğu ve buradaki mikroorganizmaların potansiyel işlevlerinin oldukça önemli olduğu anlaşılmıştır (Convey, 2001).

Kutup okyanuslarını diğer okyanuslardan ayıran en önemli özellik, deniz buzunun çeşitli habitat oluşumuna katkı sağlamasıdır. Okyanusun yüzeyinde kalan deniz buzulu, ışığın okyanus derinlerine geçmesine izin vermeyerek mikrobiyal toplulukları etkiler. Denizin yüzeyindeki buz, fitoplankton veya prokaryotlar da dahil olmak üzere çeşitli bakteriyel topluluklar için destek görevi görür. Bu destek ilişkisi, mikroalglerin gelişimini ve dolaylı yoldan karbon bakımından zenginleşmeyi sağlar (Hollibaugh vd., 2007).

Üretkenlikleriyle ve karbon döngüsü sayesinde dikkatleri üzerine çeken Güney Okyanusu bu konudaki çalışmalar için bilim insanlarının uğrak noktası olmuştur (Grzymiski vd., 2012).

Atmosferde yer alan CO₂ yoğunluğunun düzenlenmesi için bir kontrol noktası olan bu okyanus, aynı zamanda içeriğinde yüksek nitrat yoğunluğu olmasına rağmen demir, silika ve ışığın zaman içerisinde değişimlerinden dolayı birincil üretkenlik olarak sınırlı ve düşük kalmaktadır (Coale vd., 2004).

Güney sularda oluşmaya başlayan deniz buzu nedeniyle içeriye giren ışık miktarı azalmakta; bu da fitoplanktonların yok olmasına yol açmıştır. Bu sırada derinlerde yer alan fotoototrofiklerden az miktarda birincil üretim ürünleri ortamda kalır. Bu durumda, kutup karasına yakın yerlerde canlıların beslenmesi için karbon döngüsüne katkı sağlayan bakteriler, fitoplanktonun ürettiği az miktardaki organik maddelerle birlikte kemoototrofik yöntemleri kullanarak katkı sağlamıştır (Manganelli vd., 2009).

Antarktika karasal ekosistemleri soğuk ve kuru iklim koşulları, düşük besin oranı, geniş sıcaklık dalgalanmaları, düşük su miktarıyla ekstrem ekosistemler arasında yer alır. Bu tür ekstrem ortamlarda yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilen organizmalar stresli ortam koşullarını tolere etmek için özel kabiliyetlere ihtiyaç duyarlar. Bu tür özel yeteneklere sahip olan mikroorganizmalar buzun içinde kalsalar bile burada yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilirler. Bu tür ortamlardaki mikroorganizma çeşitliliği, optimum değerlere yakın diğer ekosistemlerde yer alan çeşitliliğe göre az olduğu için, rekabet oranının daha düşük olmasına bağlı olarak bu tür ortamlardaki mikroorganizmaların avantajlı olduğu söylenebilir. Psikrofiller -20 °C ila 20 °C arasında değişen sıcaklıklar arasında büyüyen organizmalardır. Ayrıca psikrotolerant organizmalar ise düşük sıcaklıkları tolere edebilen organizmalardır; ancak daha yüksek sıcaklıkları tercih ederler. Bu tür bakteriler bulundukları ortamda mineralizasyon süreçlerini yürütmekle görevlidir. Psikrofillerin azalmış enzim aktivitesi, azalmış membran akışkanlığı, hücre içi buz oluşumu ve proteinlerin soğuk denatürasyonuna karşı geliştirilen mekanizmalarla soğuk habitatlardaki zorlukların üstesinden geldikleri düşünülmektedir (Pearce, 2008).

Dünyanın en kurak çöl sistemi olarak kabul edilen Antarktika Kuru Vadileri çok düşük sıcaklıklar, sık sık donma-çözünme olaylarının yaşanması, az miktarda su içeriğinin neden olduğu çevresel stres, yaşamsal döngülerini devam ettirmeye çalışan canlılar için kısıtlamalar getirmektedir. Ancak, bu habitat özellikle biyojeokimyasal döngüleri sağlayan mikroorganizmalar olmak üzere çeşitli mikroorganizma topluluklarına ev sahipliği yapmaktadır. Nitrojen ve karbon döngüsü, polimer

bozunması ve diğer bazı döngülerde görev yapan hipolitler ve endolitler bu tür mikroorganizmalara örnek olarak verilebilir (Cary vd., 2010).

Antarktika Kıtası sert ve hızlı rüzgarları, çok düşük sıcaklık seviyeleri, yaz kış mevsimi arasındaki UV radyasyon miktarındaki değişimler ve çok düşük yağış miktarı (Cuba-Diaz vd., 2020) gibi fizikokimyasal özelliklerine rağmen nispeten zengin bir mikrobiyolojik çeşitliliğe sahip olmasıyla dikkat çekmektedir (Yergeau vd., 2007; Dennis vd., 2012). Bu özelliğe sahip olmasında kıtada yer alan biyolojik unsurların katkısı bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar çevresel etmenlere rağmen az miktarda kendi aktivitelerini göstermelerine karşın besin döngüsünde, besin temel ağının oluşmasında, biyojeokimyasal aktivitelerde ve biyoçözünürlük gibi pek çok konuda önemli bir yer tutarlar (Jakosky vd., 2003; Vincent, 2000).

Coğrafik zorlukları, ulaşılabilirlik sorunları, sistematik çalışmaların yapılmamasından dolayı kıtadaki mikrobiyal çeşitlilik hakkında çok miktarda veri bulunmamaktadır (Freidmann vd., 1993). Yeni gelişen teknoloji ve çalışmalar bu konuda araştırmaların artmasına olanak sağlamıştır (Simmons vd., 2009).

Pearce ve arkadaşlarının (2012) yaptığı bir çalışmada örnek alınan bölgede yer alan mikroorganizma çeşitliliğinin belirlenmesi ve bu mikroorganizmaların potansiyel biyoteknolojik kullanım olanaklarının araştırılması hedeflenmiştir. Göl ve toprak kimyasal analizlerinin yapılarak örneklem alanlarında yer alan döngülerin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Güney Antarktika Denizi olarak ifade edilebilen George VI buz rafı ve Alexander Adası arasında yer alan bölgeden alınan örnekler metagenomik analizle incelenmiştir. Analiz sonuçları *Nocardioides* sp., *Actinomycetota*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Halobacterium* sp., halofilik arke, *Chromohalobacter salexigens*, *Phytophthora sojae* ve bir bitki patojeni gibi fototroflar ve halotolerant organizmalarla eşleşme vermiştir. Ayrıca analiz sonuçlarına göre *Pseudomonadota* 320 cins (%48,7) *Actinomycetota* 78 cins (%10,6), *Bacillota* 85 cins (%7,9) *Bacteroidota* 21 cins (%5,9) *Planctomycetota* 3 cins (%4,7) *Acidobacteriota* 2 cins (%4,0), *Cyanobacteriota* 26 cins (%3,4), *Verrucomicrobiota* 2 cins (%3,1), *Chloflexota* 9 cins (%2,3) ile temsil edilmiştir. (Pearce vd., 2012).

Mikrobiyal toplulukların analizi üzerine yapılan araştırmalar sonucunda dünya üzerindeki bakterilerin büyük çoğunluğunun henüz kültürlenmemiş olduğu

düşünülmektedir. Bu nedenle kültürden bağımsız bakteri tanımlanmasını sağlayan metagenomik alanı çok büyük önem kazanmıştır. Waschulin vd. (2021) tarafından Antarktika Mars Oasis bölgesinden alınan toprak örneklerinde yapılan çalışmada *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota* ve *Gemmatimonadota* gibi büyük oranda kültürlenmemiş ve tanımlanması az yapılmış olan filumların temsilcileri tespit edilmiştir. Ayrıca bu habitatta tespit edilen biyosentetik gen kümelerinin yaklaşık %60'ının *Actinomycetota*, *Pseudomonadota* ve *Bacteroidota* üyeleri ile temsil edildiği belirlenmiştir. Bununla birlikte %7 oranında özel metabolitlerle ilişkisi olmayan biyosentetik gen kümelerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, küçük çaplı çalışmalarda dahi pek çok yeni, tanımlanmamış biyosentetik gen kümesinin keşfedilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte yeni tanımlanacak olan cins/türlerin biyosentetik gen kümelerinin daha değerli olacağı aşikardır. Ayrıca Mars Oasis bölgesinin ihtiva ettiği büyük mikroorganizma çeşitliliğinin, okyanus sıcaklığının artmasıyla birlikte ortaya çıktığı düşünülmektedir. Ayrıca bu değişiklik, ortamda bulunan bazı mikroorganizmaların kaybolmasına da yol açabilmektedir (Waschulin vd., 2021).

Ayrıca, kıtada yer alan çeşitli göllerin karbon, metanol ve azot kaynakları içermesi ve bunları biyolojik aktiviteleri için kullanan bakterilerin var olması, kıtada yer alan biyoçeşitlilik adına iyi bir örnek olur (Shivaji, 2017; Laybourn-Parry vd., 2002). Kurak bir bölgedeki kayalıklarda tespit edilen *Gloeocapsa* cinsi ile yine kurak vadilerden izole edilen *Arthrobacter*, *Brevibacterium* ve *Corynebacterium* aktinobakterilerinin, 'Kuzey Victoria Land'de belirlenen bölgede ise termofilik bakterilerin varlığı bilinmektedir (Cary vd., 2010; Vyverman vd., 2010).

Ayrıca Antarktika'da, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria* ve *Pseudomonas* cinslerine ait bakterilere rastlanılmıştır (Adams vd., 2006).

Yapılan çalışmalar sonucunda; *Acinetobacter* spp., *Alicyclobacillus*, *Acidocaldarius*, *Aquaspirillum* spp., *Arthrobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Bacillus fumarioli*, *Bacillus thermoantarcticus*, *Bizonia argentinensis*, *Brevibacterium* spp., *Brevibacterium antarcticum*, *Brevundimonas* spp., *Chryseobacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Flavobacterium* spp., *Gloeocapsa* spp., *Hymenobacter roseosalivarius*, *Leptolyngbya frigida*, *Massilia* spp., *Micrococcus* spp., *Modestobacter multiseptatus*, *Neisseria* spp., *Nocardia* spp., *Nostoc*

commune, *Paenibacillus* spp., *Planococcus* spp., *Pseudonocardia antarctica*, *Pseudomonas* spp., *Psychrobacter* spp., *Sphingobacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Streptococcus* spp.ve *Streptomyces* spp türleri tanımlanmıştır (Cary vd., 2010).

Bu organizmaların içerisinde pek çok özelliği bulunan türler de bulunmaktadır. Azot döngüsüne katkı veren, literatürde ilk defa olmak üzere belirlenen pestisitleri parçalayan *Psychrobacter* sp. TaeBurcu001 (NCBI GenBank erişim numarası MN061637.1) ve *Psychrobacter* sp. TaeBurcu002 mikroorganizmaları izole edilmiştir (Kırkinci vd., 2021).

Bu tip soğuklara karşı aktivitesi olan organizmalar biyoyakıt, gıda ve tekstil gibi önemli sektörlerde yardımcı olarak kullanılan ve bunun üstüne bilimsel araştırmalar için önemli bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Ekstrem fizikokimyasal özellikleriyle ön plana çıkan kutup bölgeleri, potansiyel olarak bu tür mikroorganizmaları barındıran habitatlar olarak öne çıkmaktadır (Gerday vd., 2000: Margesin vd., 2007: Pascale vd., 2012). Günümüze kadar kutuplardaki mikrobiyal biyoçeşitlilik çalışmaları kültürlenebilir olanlar üzerine yoğunlaşmış olup kültüre edilemeyen organizmaların tespiti konusunda çok az veri elde edilmiştir (Baeza vd., 2017).

Bu bağlamda metagenomik çalışmalar, mikroorganizmaların incelenmesi ve potansiyel alanlarla ilgili olan kısımların ortaya çıkarılması için önemli ve güçlü bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Cowan vd., 2015).

Antarktika Kıtası'nda yer alan yaklaşık 400 kadar buzul altı göllerin içinde en büyük göl olan Vostok Gölü yaklaşık olarak 15 bin km² alanı kaplarken derinliği 510 m'ye kadar ulaşmaktadır. Bu göl son 15 milyon yıldır buzullarla kaplı halde bulunmaktadır. Bu buzul gölünün kuzeyinden alınan örnekler incelendiğinde yüksek konsantrasyonda iyonlar, organizmalar, nükleik asitlere rastlanmasına karşın güney tarafından alınan yığılma buz örneklerinde düşük konsantrasyonda iyonlar, organizmalar ve nükleik asitlere rastlanmıştır. Gölde bulunan buz çekirdeklerinden alınan örnekler incelendiğinde ise çok sayıda bakteri ve mantar cinslerine ait bulgulara rastlanılmıştır.

Genellikle gölün yüzeye yakın bölgelerinde bulunan buz çekirdeklerinde derinlerde yer alan buz çekirdeklerine oranla daha yüksek miktarda bakteri toplulukları tespit edilmiştir. Bunların yanı sıra, sözü geçen bölgelerde tanımlanmamış

mikroorganizma örneklerine rastlanmıştır. Gölün bazı kesimlerinde tuz miktarının orta seviyelerde olması ve aynı zamanda yapılan analizler sonucunda denizde yaşayan organizmaların varlığına ait deliller bulunması gölün gizemini daha karmaşık hale getirmektedir. Vostok Gölü mikrobiyal biyoçeşitliliğinin metagenomik olarak analiz edildiği bir çalışmada, örneklem noktalarının birinde benzersiz dizilerin yaklaşık %94'ünün diğer örneklem noktasında ise %85'inin ototrof ve heterotrof bakterilere ait olduğu anlaşılmıştır. İlgili çalışmada sadece iki arke taksonu elde edilirken pek çok fungal taksonun temsilcilerinin de bu noktalarda bulunduğu bildirilmiştir. Tespit edilen taksonomik birimlerin çoğunluğunun psikrofilik veya psikrotolerant mikroorganizmalarla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca *Psychrobacter* türlerine yakın olarak 33 benzersiz dizi tespit edilmiştir. Ayrıca *Actinomycetota*, *Archaea*, *Bacteroidota*, *Bacillota*, *Chromalveolata* taksonomik gruplarına ait diziler bulunarak literatüre kazandırılmıştır. Analiz yapılırken sadece türleri ve işlevleri tam olarak açıklanmış ve analiz edilmiş diziler dikkate alındığında elde edilen dizilerde glikoliz, TCA gibi önemli yolların ve pek çok aminoasidin sentezi için gerekli olan gen bölgelerinin varlığı belirlenmiştir. Bazı dizilerin işlevsel olarak belirlenememesi arjinin, histidin ve prolin gibi sentez yollarında eksik gen bölgelerinin yerine alternatif gen bölgelerinin işlevsel olarak yer alabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca azot fiksasyonu yapabilen ve azot döngüsüne katkıda bulunabilen bakterilerin varlığı da belirlenmiştir (Rogers vd., 2013).

Antarktika topraklarındaki mikrobiyal çeşitlilik ile ilgili bilgilerimiz son yıllarda büyük bir revizyon geçirmiştir. Kültüre bağlı çalışmalar Antarktika Kıtası'nda bir dereceye kadar mikrobiyal bir endemizmin hakim olduğunu göstermektedir. Bu dar mikrobiyal çeşitlilikte Gram-pozitif özelliği olan *Bacillota* yaygın olarak belirlenmiştir. Topraktaki mikrobiyal biyoçeşitliliği ortaya çıkarmak amacıyla yapılan metagenomik çalışmalar, bu tür ortamlardan yapılan kültüre edilen mikroorganizmalara kıyasla daha fazla mikroorganizma çeşitliliği bulunduğunu göstermiştir (Chan vd., 2013).

Metagenomik çalışmalar sonucunda psikrofilik olmayan *Acidobacteriota* ve *Verrucomicrobiota* gibi gruplar tanımlanmıştır. Diğer bir sonuç ise diğer toprak habitatlarında olduğu gibi Antarktika topraklarında da *Actinomycetota* ve *Pseudomonadota* gibi taksonlarla karşılaşmıştır (Babalola vd., 2009; Makhallanyane vd., 2013).

Bu bölgedeki mikrobiyal toplulukların biyoteknolojik açıdan önemli bir yer tutması, bölgede tespit edilen aktinobakterilerin pek çok kültürlenmemiş temsilcisinin bulunmasıdır. Bunun sebebi bu bakteri grubunun tıpta kullanılan antibiyotik gruplarının pek çoğunun kaynağı olarak kullanılmasıdır. Mikroorganizmaların soğuk koşullara adapte olmaları için soğuk şok proteinlerinin ekspresyonu, uyumlu çözünenlerin biyosentezi, buz çekirdeklenme proteinlerinin kullanımı, membran lipid termo-adaptasyonu ve protein aminoasit bileşimindeki değişiklikleriyle gerçekleşmiştir (Rao vd., 2011).

Antarktika Kıtası'nda yer alan Vostok Gölü'nden buzulların alt kısmından alınan örneklerin metagenomik analizleri sonucunda *Ascomycota* ve *Basidiomycota* filumlarına ait mantar türleri tespit edilmiştir. Ayrıca Alexander Adası'nda yer alan Mars Vahası örneklerine yapılan metagenomik analizler sonucu *Pseudomonadota* ve *Actinomycetota* filumlarına ait cinsler tespit edildi. Doğu Antarktika'daki Rus istasyonlarına yakın yüzeylerde ise *Flavobacterium* cinsine ait kanıtlar elde edildi. Antarktika'da ayrıca bir raportör gen olarak adlandırılan promotör belirlenmesi için önerilen metiladenozin fosforilaz, hidrokarbon azaltıcı, ekzopolisakkarit, soğuk şok proteinleri, çevresel strese karşı koyabilen membran proteinlerinden olan lipaz, esteraz, amilaz, proteaz ve selüloz potansiyelli aynı zamanda endüstriyel kullanım alanlarına sahip olan yeni genler tespit edilmiştir. Bu yapılan çalışmada güneyde yer alan Shetland Takım Adaları ve Enion Buzulu'ndan alınan örneklerle metagenomik çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda Antarktika Kıtası'nda en çok görülen *Lecanoromycetes* ve *Eurotiomycetes* mantarlarına rastlanmıştır. Ayrıca daha önce kültürle bağımlı çalışmalarda bulunamayan 37 yeni mantar cinsine bu çalışmalar sonucunda rastlanmıştır. Alınan örneklerin incelenmesi sırasında tespit edilen mantar türlerinin %54'ünün *Ascomycota*, %14'ünün *Basidiomycota* üyeleri olduğu görülmüştür. Bunların yaklaşık yarısı likenleşmiş mantarlara aitken, *Basidiomycetes* oranının %68 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ilgili çalışmada tanımlanmış olan mayalar dışındaki mantar türlerinin ABD, Çin ve Arjantin'de daha önceden literatüre kazandırılmış likenleşmemiş mantar türlerine yakın oldukları tespit edilmiştir. Likenleşmiş mantarların ise İsveç, ABD, Birleşik Krallık'ta tanımlanmış olan türlere yakın olduğu belirlenmiştir (Baeza vd., 2017).

1.5. Metagenomik

Mikroorganizmaların bilimsel olarak incelenmesi ve bunların literatüre kazandırılması Leeuwenhoek'a kadar yani 1676'lı yıllara kadar dayanmaktadır (Schierbeek, 1959). Bilim insanlarının çabaları doğrultusunda, mikroorganizmalar önceleri patates dilimleri ve jelatin gibi maddelerin üzerinde geliştirilerek, mikroorganizmaların fizyolojik olarak incelenmesi sağlanmıştır (Blevins vd., 2010). Daha sonra mikroskopla yapılan incelemelerde görülen mikroorganizmalar, kültüre edilen mikroorganizmalarla örtüşmemiş; mikroskopta incelenen mikroorganizmaların sayısının her zaman daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Buna dayanarak bilim insanları gözlemledikleri her bir mikroorganizma için özel bir kültür ortamına ihtiyaçları olduğu sonucuna varmışlardır. Winogradsky (1931), bu durum karşısında 'mikrobiyal ekoloji' adı verilen bir kavramın ortaya çıkmasına öncülük etmiştir (Zepeda vd., 2015). Bu kavram mikroorganizmaların ve çevresinde yer alan ortamın incelenmesini kapsamaktadır. Bundan sonraki süreçte henüz teknolojinin yeteri kadar gelişmediği zamanlarda uzun bir süre bilim insanları mikroorganizmaları morfolojik özelliklerine, büyüme şekillerine ve biyokimyasal profillerine göre ayırmaya devam etmişlerdir. Diğer taraftan Carl Woese (1977), sınıflandırma için ribozomal RNA'nın moleküler bir belirteç olarak kullanılmasını önermiştir (Woese vd., 1977).

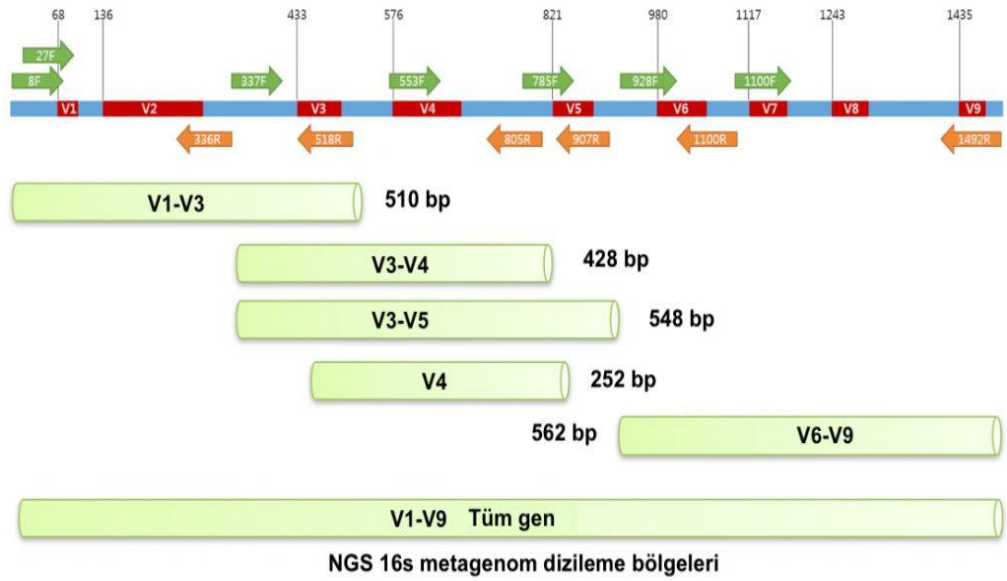
Daha sonrasında ortaya çıkan Sanger dizileme metodu ile bu iş, bilim camiasında büyük bir fark yaratarak bu konuda yeni bir çağ başlatmıştır (Sanger vd., 1977). Bunun yanı sıra polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), rRNA genlerinin üzerinde yapılan çalışmalar doğrultusunda klonlanma ve dizileme işlemleri, floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) gibi teknik gelişmeler, bu alana çok büyük katkı sağlamıştır. Buna rağmen mikroorganizmaların metabolik ve bulunduğu çevre ile ilgili ekolojik rolü hakkında pek fazla bilgi elde edilememiştir (Zepeda vd., 2015).

Geçmişte bakterilerin izole edilerek kültüre edilmesine dayanan yöntemler, mikroorganizmalar için önemli bilgiler elde etmemize yarasa da izole etmeden, kültüre bağlı kalmadan yapılan çalışmalar sayesinde henüz izole edilmemiş mikroorganizmaların varlığı tespit edilmiştir (Gürsoy vd., 2017).

Belirli bir çevredeki mikroorganizmaların üstlendiği rol, onların genomlarında bulunan fonksiyonel genlerle ifade edilebilir. Bu tür fonksiyonların belirlenmesi için gen ekspresyon teknikleri geliştirilmiş ve literatüre kazandırılarak kullanıma sunulmuştur. Bu alanda yapılan yenilikler ve gelişen teknoloji sayesinde yeni genler,

fonksiyonlar ve metabolik ürünlerin keşfedilmesini sağlamış; bununla birlikte biyoteknoloji alanının ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu bilgiler ve gelişen yöntemler ışığında, belirli bir çevreden alınan örneğin içerdiği tüm mikroorganizmaların genomlarının incelenerek teorik olarak toplanması anlamına gelen ‘metagenomik analiz’ kavramı ortaya çıkmıştır. Bu kavram ile birlikte yeni mikroorganizmaların keşfi ve metabolitlerinin tanımlanmasına büyük katkı sağlanmıştır (Gürsoy vd., 2017). Belirli bir bölgede yaşıyan biyolojik topluluğa tür çeşitliliği adı verilir. Bu tür çeşitliliğinin saptanmasında kullanılan yöntemler önemli bir yer tutar. Bu yöntemlerin başında metagenomik analiz gelmektedir (Zepeda vd., 2015). Belirli bir çevreden kültüre edilmeye çalışılan mikroorganizmalardan daha çok doğrudan çevresel örneklerden DNA izolasyonu yapılarak mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi, biyoçeşitlilik çalışmaları açısından etkili bir yaklaşımdır (Morgan vd., 2012). Gelişen teknolojinin ürünü olarak kültürden bağımsız mikroorganizma tespiti ve incelenmesi, mikroorganizmaların DNA veya RNA gibi her bir tür için spesifik özelliklere sahip olan genetik materyalin tespit edilmesine dayanmakta ve kültüre edilmesi mümkün olmayan mikroorganizmalar için büyük bir avantaj sağlamaktadır (Morgan vd., 2012; Zukerkandl vd., 1965). İlk denenen yollar arasında özel gen bölgelerine bağlaması için tasarlanan proplarla hibridizasyon yöntemleri ve yine hedeflenen gen bölgeleri için özel tasarlanan PCR altyapılı denemeler gelmektedir. Bunun için genelde ribozom küçük alt birim olarak adlandırılan 16S rRNA gen bölgesi karşılaştırılarak mikrobiyal biyoçeşitlilik hakkında çıkarım yapılabilmektedir. Ribozomal RNA’lar bütün canlılarda bulunan, evrimsel açıdan korunmuş evrensel molekül olmalarının yanı sıra, mikrobiyal türleri ayırt etmek için kullanılabilecek değişken bölgeleri de içermektedirler (Fraher vd., 2012; Morgan vd., 2012).

Prokaryotlarda üç tip RNA bulunmaktadır; 5S, 16S ve 23S. 16S rRNA gen bölgesinin, PCR çalışmasında kullanılan primerler için daha uygun olması, içerdiği 9 adet korunmuş bölge sayesinde mikroorganizmanın cins veya tür düzeyinde tespit edilebilmesine, diğer ribozomal RNA’lara göre hücre içerisindeki kopya sayısının daha fazla olması, sınıflandırma çalışmalarında kullanılma nedenleri arasında gösterilmektedir (Rajendhran vd., 2011; Clarridge, 2004; Gürsoy vd., 2017).



Şekil 1.7. 16S rRNA Gen Bölgesi (<https://ficusbio.com/metagenom-dizileme/>, 2022)

Kültürü elde edilemeyen mikroorganizmalar için tespit çalışmalarında ilk olarak floresan ile işaretlenmiş probler kullanılmıştır. Hedef genlere göre tasarlanan spesifik özellikteki bu probler DNA izolasyonu yapılmadan mikroorganizma topluluğunda gerçekleştirilir. İlk olarak bakteriyolojide rRNA'ya uyumlu, onun komplementeri olarak radyoaktif özellikli oligonükleotidli probler ile mikroskopik tespit yapılmıştır (Amann vd., 1995).

Daha sonrasında geliştirilen yöntemle filogenetik, ekolojik, çevresel ve tanısal mikrobiyoloji konulu çalışmalar da son derece güçlü ve hızlı bir yöntem olarak yer almıştır (Amman vd., 1990). Bu yöntemin en büyük dezavantajı, bilinen türlerin genomik materyallerine göre yapıldığından dolayı henüz tespit edilmemiş mikroorganizmaların gözden kaçmasına sebep olmasıdır. Bu yöntemin diğer dezavantajları ise şunlardır: mikroorganizmanın kendisinden dolayı yanlış pozitif sonuç vermesi, seçilmiş olan bölgenin tasarlanan proba göre yanlış anlamlı pozitif sonuç vermesi, mikroorganizmanın hücre duvarına bağlı olarak yanlış negatif sonuç vermesi, bakterinin eğer bölünme döneminde ise düşük sayıda kalan 16S rRNA kopya sayısı veya türüne özel olarak genel 16S rRNA kopya sayısının düşük olması sonucunda ortaya çıkan düşük duyarlılık gibi kısıtlamaları olsa da gelişen teknoloji ve yöntemler sayesinde özellikle kullanıcı hatasının önüne büyük oranda geçilmiştir (Moter vd., 2000).

Bununla birlikte bu yöntemle şubeden türe kadar bütün taksonomik grupların ortaya çıkarılması sağlanmaya çalışılmıştır. Başlangıçta 16S rRNA geni yüzünden pek

çok sınırlanmalarla karşı karşıya kalsa da günümüz teknolojisi ile birlikte mikroorganizma toplulukları arasında en az sayıda görülen nadir enzimlerin tanımlanması ve üzerinde çalışılması için olanak sağlamıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu, geliştirildiği zamandan başlamak üzere, mikroorganizma topluluklarını çalışmak için de kullanılmaktadır (Handelsman, 2004).

Biyolojik olarak karmaşık, içerisinde pek çok sayıda ve çeşitte tür barındıran çevresel örneklerin mikroorganizmalarını tespit edip ayırmak mikrobiyolojinin en çok zorlandığı ve sıkça karşısına çıkan sorunların başında gelmiştir. Genomik verilerin dizilenmesini ve analiz edilmesini sağlayan yöntemlerin ortaya çıkışına kadar bilim insanları yapımı zor ve uzun süreçlere ihtiyaç duyan analizleri yapmışlardır. Metagenomik analizlerin uygulanabilir hale gelmesinin ardından mikrobiyolojik çalışmaları son derece hızlandırmış; tür tespiti, yeni türlerin literatüre kazandırılması, ayrıca kültürlere bağımlılığı azaltma yolunda çok önemli mesafe kat edilmiştir. Bu tür yeni geliştirilen teknolojiler sayesinde tür tayini ve insan sağlığı için uygulanabilirliği konusunda kabul almıştır. Metagenomik analizde tek bir türe ait genomik materyalin yerine, ortamda bulunan tüm mikroorganizmalara ait olan genomik ürünleri incelediği için karşımıza çıkan en büyük engel örnek alınan bölgede bulunan tüm türlerin tanımlanması hakkında olmuştur (Wintzingerode vd., 1997; Bartlett vd., 2003). Bu zorluklardan birisi, yüksek verimli dizileme yöntemlerinin çok sayıda kısa diziler oluşturması ve bu dizilerin kısa süre içerisinde analizlerinin ve sınıflandırmasının yapılmasının zor olmasıdır. BLAST bu konuda gen dizisinin ait olduğu organizmanın bulunmasına yarayan, çok önemli ve değerli bir araştırma aracı olsa da bu kadar fazla verinin incelenmesi karşısında yetersiz kalmıştır. Yapılan her araştırma sonucunda literatüre kazandırılan mikroorganizma sayısı arttıkça BLAST programının karşılaştırma yapması gereken dizi miktarı sürekli olarak artmaktadır. Metagenomik verilerin analiz edilmesi ve bu verilerin sınıflandırılmasının doğru, hızlı ve güvenilir şekilde yapılabilmesi için birkaç yöntem ve program geliştirilmiştir. Bu sınıflama araçlarının karşılaştırılması gerekmektedir (Sanger vd., 1977; Zepeda vd., 2015; Gürsoy vd., 2017).

Hızlı olması ve düşük maliyetleriyle öne çıkan yeni nesil dizileme yöntemleri arasında Pirodizileme (Pyrosequencing) (Roche Diagnostics GMBH Ltd, Mannheim, Almanya), Illumina (Illumina, San Diego, CA, Amerika Birleşik Devletleri) gibi çeşitleri geliştirilmiştir. Bu yeni nesil dizilime yöntemlerinde amplikon yerine direkt

DNA amplikonu veya toplam topluluk DNA'sı kullanılır. Pirodizileme, tek seferinde yaklaşık olarak 500 milyon bazı dizileyebilmektedir. Bunu yaparken doğruluk oranı %99'un üzerine çıkmaktadır. Sanger dizileme ile karşılaştırıldığında, aralarında yaklaşık olarak 2000 kat fark olduğu görülmektedir. Yöntemin avantajları arasında, filogenetik tanımlama, henüz tanılanmamış bakteriyel toplulukların tanımlanması ve tespit edilmesi, kısa sürede gerçekleşmesi, nicel olarak analiz yapması bulunmaktadır. Pirodizileme yöntemi yaygın olarak, hastalık durumundaki mikrobiyaya çalışmalarında, antibiyotiklerin mikrobiyota üzerinde bıraktığı etki çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu bilgiler göz önüne alındığında çevresel genomik veya topluluk genomu olarak adlandırılan metagenomik, mikroorganizma çeşitliliği ve tanımlanması amacıyla kullanılabilecek en kapsamlı yöntemdir (Fraher vd., 2012).

Metagenomik analizler, spesifik bir genin varlığını ve bolluğunun tespiti için (Amann vd., 1995) ve gen işlevini açıklamak ve anlamak için kullanılmaya başladığından beri belirlenmiş (Hyatt vd., 2010) ve literatüre kazandırılmış dizilerin sayısında ciddi boyutlarda artış gözlemlenmiştir (Tringe vd., 2005; Yooseph vd., 2007).

Metagenomik analizler web-temelli veya açık-kaynaklı programlar vasıtasıyla yapılabilmektedir. Gen bölgelerinin bilinen genlere hizalanmasıyla birlikte potansiyel biyoteknolojik gen kümeleri veya tür tanımlaması yapılabilir. Analiz yapabilmek için analiz programları ve biyoinformatikte hakim olmak gerekir; fakat, web-temelli programlar sayesinde tüm araştırmacıların erişebileceği duruma gelmiştir. (Sunagawa vd., 2015; Mitchell vd., 2018; Taş vd., 2021).

Standart shotgun metagenomik çalışmada çalışma sıralaması basitçe şu şekilde olur: numune toplama, dizileme, dizi verilerinin analizleri, dizilerin ön işleme, dizi analizleri, son işleme ve doğrulama şeklinde olmaktadır (Saheb Kashaf vd., 2021).

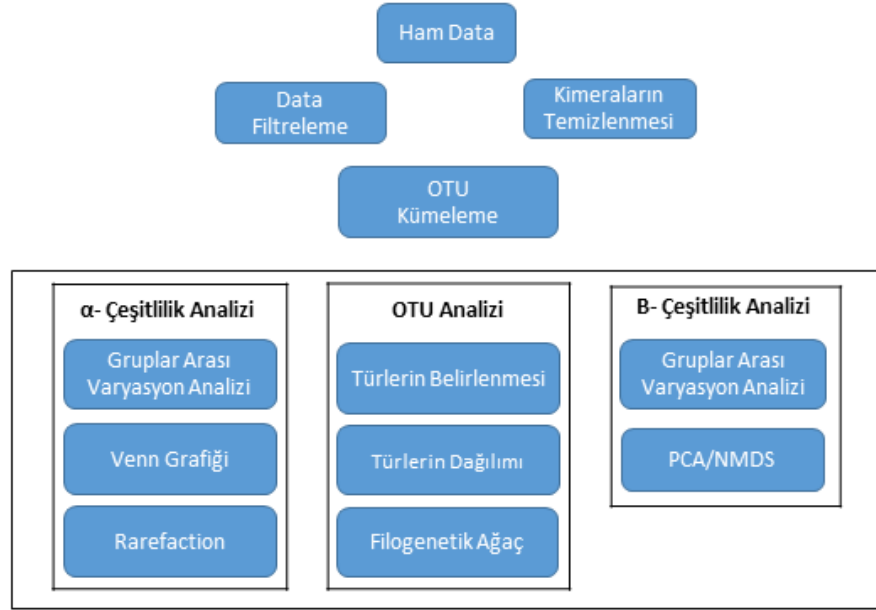
Yüksek verimli dizileme platformları birden çok örneğin dizilenmesi amacıyla kütüphane hazırlığı aşamasında dizilere çift dizinli barkodlar ekler. Metagenomik prosedürleri sırasında oluşan dizi hataları, aşırı temsil edilen diziler gibi hatalar genelde kütüphane oluşturma sırasında meydana gelmektedir. Çevresel ortamdan alınan örnekler, DNA izolasyonu, kütüphane oluşturulması, dizilenme aşamasında çevresel ortamlardan, insanlardan veya numune alınan bölgeye ait olmayan mikroorganizmalar tarafında kontaminasyona uğrayabilir. Bu sebeplerden dolayı ön

işleme ve kalite kontrol aşaması önemlidir. Bu kısımlarda yapılacak hata veya kontaminasyon ileriki aşamalarda yapılacak analizlerin sonucunu etkileyebilmektedir (Bolger vd., 2014).

Metagenomik analiz yöntemlerinin üzerinde yapılan çalışmalar doğrultusunda hesaplama algoritmaları gelişmiş ve daha kullanışlı hale getirilmiştir. Bu '*de novo*' dizileme yöntemlerinin ve algoritmalarının gelişmesine yol açmıştır (Li vd., 2015; Nurk vd., 2017). Ancak düşük dizileme derinliği, metagenomik yöntemlerin sınırlı kalmasına yol açmıştır (Tringe vd., 2005; Kunin vd., 2008). Daha sonrasında geliştirilen metodlarla birlikte geliştirilen dizileme kalitesi ve maliyetteki azalma, yüksek sıralama derinliğine sahip metagenomik ürünlerin oluşmasını sağlamıştır. Bu gelişmeler aynı zamanda daha karmaşık durumdaki mikrobiyal toplulukların tanımlanması ve literatüre kazandırılmasını sağlamıştır (Wrighton vd., 2012; Yeok vd., 2015).

Bir metagenomik analizde dizilemeden sonraki önemli basamaklardan birisi dizi okumalarının ön işlenmesidir. Bu ön işleme kısmı, okumalardan düşük kalitedeki bazların çıkartılması, kontaminasyonların uzaklaştırılması iken, '*de novo*' metagenomik çalışmada ise yüksek kalitede elde edilmiş olan kısa okuma parçaları birleştirilerek daha uzun parçaların (kontigler) elde edilmesi işlemidir. Genom gruplaması ise aynı mikroorganizmaya ait olan parçaların belirlenmesi ve bunların aynı grup içinde toplanmasıdır. Genom gruplama işlemi, hem analiz kısmının en kritik hem de en karmaşık basamağıdır. Mikroorganizmalar arasındaki bu dizi benzerliklerini belirlemek için çok sayıda algoritma geliştirilmiştir (Kayani vd., 2021).

Ham verilerin okunması 'FASTQ' dosya formatında yapılır (Cock vd., 2010). Bu ham verilerin kalitesinin kontrolü 'PHRED' puanı olarak belirlenir ve 'Q' ile belirtilir. Illumina sıralama sisteminde Q10, her 10'da 1 yanlış baz olma olasılığını gösterirken Q30 her 1000 bazda 1 baz yanlış okuma olasılığını değerlendirir (Illumina, 2011). Dizileme sistemlerinde yanlış baz ve baz ekleme/çıkarma gibi hatalar olabilmektedir (Nakamura vd., 2011; Dai vd., 2010). Başka bir hata ise adaptörlerin yanlış bağlanması sonucu adaptör dizilerinin de ham verilerde görülebilmesidir (Gomez-Alvarez vd., 2009; Aird vd., 2011). Ham verilerde görülebilen bu tür hatalar, hatalı sonuçlar olarak karşımıza çıkabilmektedir (del Fabbro vd., 2013).



Şekil 1.8. Metagenomik çalışma aşamaları (<https://diagen.com.tr>, 2022)

Fabbro ve arkadaşları (2013) yaptığı bir çalışmada farklı kırılma ve ön işleme algoritmalarının sonuçlarını karşılaştırdı. Düşük kalitede olan parçaların ortamdaki uzaklaştırıldığında genom düzeneyinin iyileştiğini ve analizlerin çok daha hızlı yapıldığını farketmişlerdir. Buna rağmen dizilenen genom miktarı ve gen sayısının değişmediğini ortaya koymuşlardır (del Fabbro vd., 2013; Yang vd., 2019).

16S rRNA geninin ampikon dizilemesi çevresel örneklerin mikroorganizma topluluğunu tanımlamak için kullanılır. Tüm bakterilerde bulunan 16S rRNA geni, bazı istisnalar dışında evrimsel açıdan kararlı, bir başka deyişle yatay gen transferinden nispeten korunmuştur. Bir çevreden alınan örnekteki mikroorganizma çeşitliliğini belirlemek için on binlerce dizi yeterlidir. Örnek sayısı ve çeşitine bağlı olarak, gelişmeler devam ettikçe maliyet düşecek ve daha ulaşılabilir hale gelecektir. Bu analizlerin yapılması için QIIME2, UCHIME2, Mothur ve DADA2 gibi algoritmalar geliştirilmiş ve bu algoritmalar araştırmacı-yanlı olarak geliştirilmeye devam etmektedir (New vd., 2020).

Analiz kısmında örnek içerisindeki tüm genomlar ortamda olan bakteriye ait olup olmamasına bakılmadan dizilenir; kütüphaneler oluşturulur; uygun olan platformlarda dizilenir. Son zamanlardaki gelişmelerle birlikte, DNA dizileme ve kütüphane oluşturma maliyetleri azaldığından dolayı çalışmaların kapsamı genişletilmiştir (New vd., 2020).

Birleştirme işleminden sonra yapılan işlemlerin çıktılarının kalite kontrolü yapılmalıdır. Çevreden alınmış örneklerde yapılan çalışmalarda dizileme kalitesi boyut, bitişik ve maksimum bitişik uzunluk gibi istatistiksel verilerden yararlanılarak yapılmaktadır. Bütünlük ve kontaminasyon, araştırmacılar için önemli iki husus olarak ortaya çıkmaktadır. Bütünlük, işaretleyici gen parçalarının tanımlanmasına dayanırken; bu, tür heterojenliğini gözden kaçırmaya neden olabilir (New vd., 2020).

Metagenomik genom düzeneği alınan örnekteki tüm mikroorganizmaların tanımlanmasını ve tespit edilmesini yapamayabilir. Az miktardaki mikroorganizmaların genomik parçalarını tespit etmek için derin dizilemeler yapılmalıdır (Hillmann vd., 2018).

Metagenomik dizilemenin ampikon dizilemeye göre en büyük avantajı, mikroorganizma topluluklarının işlevsel profillemesini gerçekleştirme kabiliyetidir. Bu durum, mikroorganizma içerisindeki gen miktarına ve gen işlevine göre belirlemek için ‘*de novo*’ birleştirilmiş genlere göre okunmaları, hizalanmalarını gerektirmektedir. Bu sebeple taksonomik bir profil oluşturma aksine, bu yöntemler işaretleyici gen setlerine gerek duymamaktadır. Bu basamaklar için çeşitli algoritmalar geliştirilmiştir (Huson vd., 2007; Franzosa vd., 2018).

Metagenomik veriler tek başına fenotipik özellikleri belirlemek açısından yeterli kadar başarılı değildir (Visconti vd., 2019). Fenotipik farklılıklar transkripsiyon miktarına göre değişiklik gösterebilir. Örneğin *Verrucomicrobiota* üyelerinin toprak örneklerinde bol miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Bu bol bulunan mikroorganizma grubunun, topraktaki düzeni ve işleyişi bakımından çok önemli bir yerde olduğu varsayılmıştır. Ancak yapılan metatranskriptomik analizler sonucunda *Verrucomicrobiota*’nın toprakta metabolik olarak hiçbir etkisinin olmadığı ortaya konmuştur (New vd., 2020).

Bu tez çalışmasında, Antarktika Horseshoe Adası mikrobiyal biyoçeşitliliğinin metagenomik yaklaşımla ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Altıncı Ulusal Antarktika Bilim Seferi kapsamında Horseshoe Adası’ndan toplanan toprak, kıyı sedimenti ve deniz suyu örneklerinin prokaryotik biyoçeşitliliğinin tespiti için 16S rRNA geni V3-V4 bölgelerinin amplifikasyonu, ampikonların yeni nesil dizileme platformlarında dizilenmesi ve mikrobiyal biyoçeşitliliğin biyoinformatik analizi hedeflenmiştir.

2. YÖNTEM

2.1. Horseshoe Adası'ndan Toprak, Sediment ve Su Örneklerinin Toplanması

Altıncı Ulusal Antarktika Bilim Seferi (TAE-6) kapsamında 2022 Şubat ayı boyunca Horseshoe Adası'ndan toprak, sediment ve su örnekleme yapılmıştır. Toprak örneği, Shoesmith Buzulu yakınlarında bulunan bir murein örneğinden (67° 50' 3,4'' G, 67° 13' 41,0'' B) steril bir spatula kullanılarak 50 ml hacmindeki steril falkon tüp içerisine alınmıştır. Sediment örneği Base Y olarak bilinen eski İngiliz üssü önündeki kıyıdan (67° 48' 31,5'' G, 67° 17' 43,3'' B) alınarak steril falkon tüp içerisinde muhafaza edilmiştir. Su örnekleme için Horseshoe Adası Türk Bilimsel Araştırma Kampı önünden (67° 50' 19,3'' G, 67° 14' 32,9'' B) kıyı suyu toplanarak 0,4 µm çapındaki membran filtre kullanılarak 4 lt su süzölmüştür.

2.2. Metagenom Dizileme

Toprak, su ve sediment örneklerinden çevresel DNA'nın izolasyonu ve metagenom dizileme, hizmet alımı kapsamında BMLabosis firması tarafından yapılmıştır. DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Tissue ve Bacterial DNA Pürifikasyon kiti (EURx Ltd., Polonya) kullanılmıştır. DNA konsantrasyonu Qubit 3 florometre cihazında ölçöldükten sonra 16S rRNA geni V3-V4 bölgesinin PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon için ileri yönlü 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3' ve geri yönlü 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATC C-3' primerleri kullanılmıştır. PCR için 5 ng/µl genomik DNA (2,5 µl), 1 µM ileri primer (5 µl), 1 µM geri primer (5 µl) ve 2X KAPA HotStart PCR Mix (12,5 µl) kullanılmıştır. PCR koşulları 95°C'de 3 dk, takip eden 25 döngü için 95°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn ve son olarak 72°C'de 5 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. PCR ampliconları dizileme işlemine kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. PCR ampliconları AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar yardımıyla temizlendikten sonra indeks PCR işlemine geçilmiştir. Nextera XT indeks kiti kullanılarak ampliconlara indeks barkodlar ve adaptör dizileri eklenmiştir. Hazırlanan kütüphanelerin dizi okumaları Illumina NovaSeq 6000 cihazında gerçekleştirilmiştir.

2.3. Biyoinformatik Analiz

Biyoinformatik analizler, dizilemeden sonra elde edilen ham FASTQ formatında olan verilerin QIIME 2 yazılımı ile analizinden oluşmaktadır. Biyoinformatik analizler için 'Intel Alder Lake Core' i5-1235U işletim sistemli 16GB (2*8gb) DDR4 3200MHz, 512GB M.2SSD özellikli bilgisayarda QIIME2 yazılımı ve DADA2 paket programları kullanılmıştır.

2.3.1. Verilerin QIIME Programına Göre Düzenlenmesi

16S dizileme verileri QIIME 2 programında kullanmak için '.qza' formatına çevrilmiştir. Bunun için;

```
--type 'SampleData[PairedEndSequencesWithQuality]'
```

```
--input-path pe-33-manifest.txt
```

```
--output-path paired-end-demux.qza
```

--input-format PairedEndFastqManifestPhred33V2 komutları kullanılarak her bir örnek için üç tekrarlı ileri ve geri yönlü okumaların dosyaları QIIME 2 programı için .qza formatına uygun hale getirilmiştir.

2.3.2. Dizi Kontrolü

Ham veri halinde elde edilen verilerin kalite kontrolü DADA2 paketiyle yapılmıştır. Ham veriler DADA2 paketi içerisinde düşük kaliteli okumaları, tekrar okumaları ve kimeraları kaldırır; ayrıca birden fazla okumaları aynı küme içerisinde toplamaktadır. Benzer DNA dizilerini bir arada gruplandırmış, düşük kaliteli verileri kaldırmak için de bu adım kullanılmıştır. Program, sıralama hatalarının sonucu olarak farklı olan dizileri kaldırmak için hata frekanslarını hesaplamıştır. İleri ve geri yönlü dizilerin kaliteleri demux.qzv dosyası incelenerek sol ve sağ uçtan ne kadar kesileceğine karar verilmiştir. DADA2 paketini çalıştırmak için;

```
qiime DADA2 denoise-paired
```

```
--i-demultiplexed-seqs paired-end-demux.qza
```

```
--p-trim-left-f (kesilme noktası)
```

```
--p-trim-right-f (kesilme noktası)
```

```
--p-trunc-len-f (kesilme noktası)
```

```
--p-trunc-len-r (kesilme noktası)
```

```
--o-table table.qza
```

--p-n-threads 4
--o-representative-sequences rep-seqs.qza
--o-denoising-stats denoising-stats.qza
--verbose\ komutları kullanılmıştır.

2.3.3. Dizilerin Taksonomik Sınıflandırılması

QIIME 2 programı sınıflandırmada taksonomi ve dizi dosyalarını veri tabanından alır ve bunun için programa tanımlama yapılması gerekmez. Bu çalışmadaki 16S rRNA gen bölgesine ait bilgileri içeren bir dosya, SILVA kullanılarak programa yüklenmiştir. SILVA'dan dosyayı -O "silva-138-99-515-806-nb-classifier.qza" (<https://data.qiime2.org/2021.8/common/silva-138-99-515-806-nb-classifier.qza>) komutunu uygun şekilde kullanarak QIIME 2 programına yüklemiştir. QIIME 2 programına 16S rRNA gen bölgesini tanımladıktan sonra sınıflandırma işlemi yapılmıştır. Sınıflandırma işlemi şu komutlar kullanılarak yapılmıştır:

```
qiime feature-classifier classify-sklearn  
--i-classifier silva-?-?-?-nb-classifier.qza  
--i-reads rep-seqs.qza  
--o-classification taxonomy.qza  
--p-n-jobs 4  
qiime metadata tabulate  
--m-input-file taxonomy.qza  
--o-visualization taxonomy.qzv
```

İşlemler bittikten sonra taksonomik bileşimleri görselleştirmek için çubuk grafikleri oluşturulmuştur. Çubuk grafiği oluşturmak için kullanılan komut;

```
qiime taxa barplot  
--i-table table.qza  
--i-taxonomy taxonomy.qza  
--m-metadata-file sample-metadata.tsv  
--o-visualization taxa-bar-plots.qzv
```

Veriler 'view.qiime2' web sayfasında açılmış ve taksonomik düzeyler olan üst alem, filum, sınıf, takım, aile, cins, tür olarak çeşitli tablolar oluşturulmuştur.

2.3.4. Alfa Çeşitlilik

Alfa çeşitliliğin belirlenmesinde Shannon ve Chao hesaplamaları kullanılmıştır. Shannon, örnekleme taksonların zenginliğini ve göreceli bolluğunu ifade eder.

Chao, ortak parametrik olmayan toplam zenginliği ifade eder. Alfa çeşitliliğin saptanması için programda;

qiime diversity alpha

--i-table table-filtered-no-mitochondria-no-chloroplast.qza

--p-metric shannon

--o-alpha-diversity ALPHA-shannon-vector.qza

Sonuçların çıktısı için;

qiime diversity alpha-group-significance

--i-alpha-diversity ALPHA-shannon-vector.qza

--m-metadata-file sample-metadata.tsv

--o-visualization ALPHA-shannon-group-significance.qzv komutları kullanılmıştır.

2.3.5. Beta Çeşitlilik

Beta çeşitliliğinin tanımlanması için ağırlıklı ve ağırlıksız UniFrac metrikleri kullanılmıştır. PCoA (temel koordinatlar analizi) ile aralarındaki uzaklıklar hesaplanmıştır. Ağırlıklı UniFrac, örnekler arasındaki mikrobiyal farklılıkları gösterirken aynı zamanda miktarı hakkında fikir vermiştir. Ağırlıksız UniFrac örnekler arasındaki mikrobiyal farklılıkları göstermiştir. Beta çeşitliliği belirlemek için kullanılan komutlar;

qiime diversity beta-group-significance

--i-distance-matrix BETA-frequency-jaccard-distance-matrix.qza

--m-metadata-file sample-metadata.tsv

--m-metadata-column Sulfide_Treatment_nucleic_acid_time_point

--p-method permanova

--p-pairwise

--o-visualization

BETA-frequency-jaccard-group-significance

Sulfide_Treatment_nucleic_acid_time_point.qzv

qiime diversity beta-phylogenetic

--i-table table-filtered-no-mitochondria-no-chloroplast-frequency.qza

--i-phylogeny rooted-tree.qza

```
--p-metric Ağrılıksız_unifrac
--o-distance-matrix BETA-frequency-Ağrılıksız-unifrac-distance-matrix.qza
qiime diversity beta-group-significance
--i-distance-matrix BETA-frequency-Ağrılıksız-unifrac-distance-matrix.qza
--m-metadata-file sample-metadata.tsv
--m-metadata-column Sulfide_Treatment_nucleic_acid_time_point
--p-method permanova
--p-pairwise
--o-visualization BETA-frequency-Ağrılıksız-unifrac-distance-matrix-
Sulfide_Treatment_nucleic_acid_time_point.qzv
qiime diversity pcoa
--i-distance-matrix BETA-frequency-jaccard-distance-matrix.qza
--o-pcoa BETA-frequency-jaccard-pcoa-matrix.qza olmuştur.
İşlemleri yapılarak istenilen analizler yapılmış olup sonuçlar
görselleştirilmiştir.
```

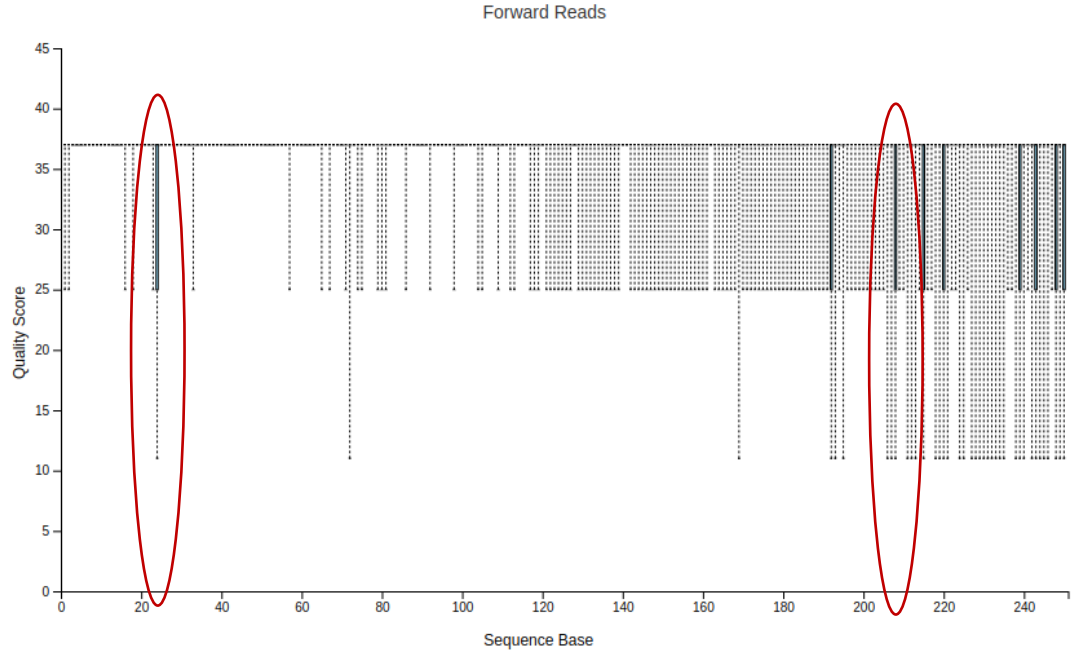
3. BULGULAR

3.1. Ön İşleme

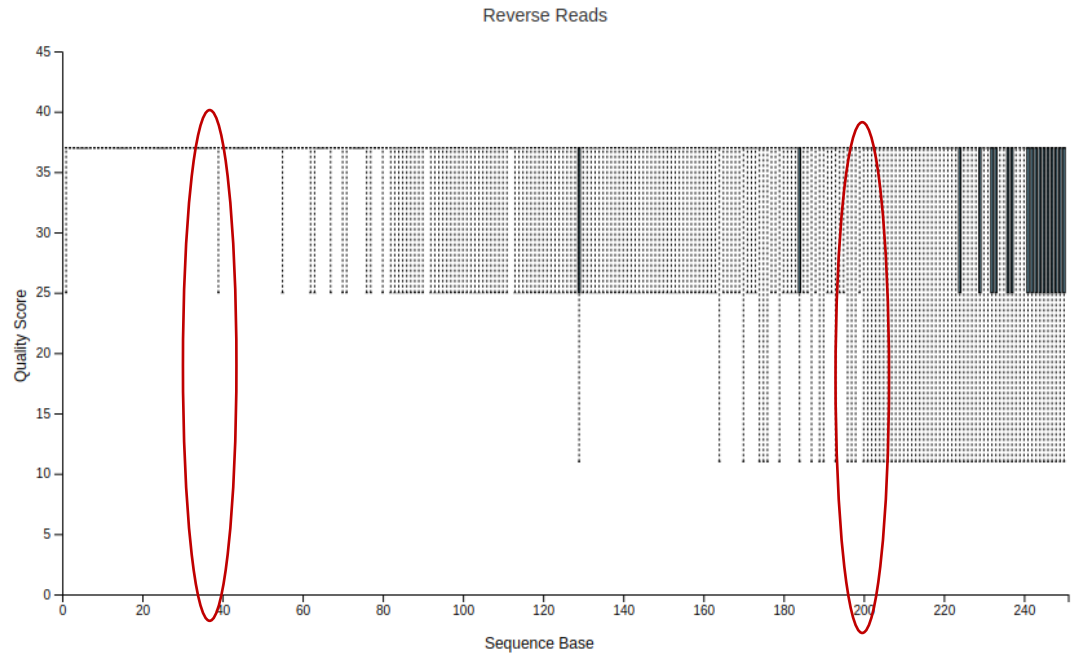
Su, sediment ve toprak örneklerinden üçer defa tekrar edilerek dizileme yapılmıştır. Her bir dizilemede dizi sayısı ortalama 70.502; toplam sayı ise 1.269.036 olarak belirlenmiştir. Dizi sayıları Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Alınan örneklerin dizileme işlemi yapıldıktan sonra ham verilerin işlenmesi için QIIME 2 programı kullanılmıştır. Su örneklerine ait ham dizi verileri SRR23614278, SRR23614277 ve SRR23614276 erişim numaraları ile NCBI GenBank SRA veri tabanına yüklenmiştir. Sediment örneklerine ait ham dizi verileri SRR23604161, SRR23604160 ve SRR23604159 erişim numaraları ile kaydedilmiştir. Toprak örneklerine ait ham dizi verileri ise SRR23614252, SRR23614251 ve SRR23614250 erişim numaraları ile kaydedilmiştir. Su, sediment ve toprak örneklerinin ham verilerinin kalite skorları incelenerek 16S ileri yönlü okuma dizisi (Şekil 3.1’de hata miktarının artışı görülmektedir) için baştan 30 ve 200; geri yönlü okuma dizisi (Şekil 3.2’de hata miktarının artışı görülmektedir) için baştan 30 ve 200 bç’den ‘DADA2’ paketi ile kesim yapılarak ham verilerin analizlerine başlanmıştır. DADA2 yazılım paketi düşük kaliteli okumaları ve birden fazla hatalı birleştirilmiş DNA dizilerini kaldırmak, kısa DNA parçalarını birleştirmek ve aynı mikroorganizmaya ait olan genomları bir gruba toplamak amacıyla kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Her bir örnek için ileri ve geri yönlü okuma sayıları

Örnek No	İleri yönlü dizi sayısı	Geri yönlü dizi sayısı
Toprak_1	81639	81639
Toprak_2	67567	67567
Toprak_3	68247	68247
Sediment_1	65252	65252
Sediment_2	77236	77236
Sediment_3	61990	61990
Su_1	70036	70036
Su_2	62099	62099
Su_3	80452	80452



Şekil 3.1. İleri yönlü okuma DADA2 paketinde belirlenen kalite skor grafiği

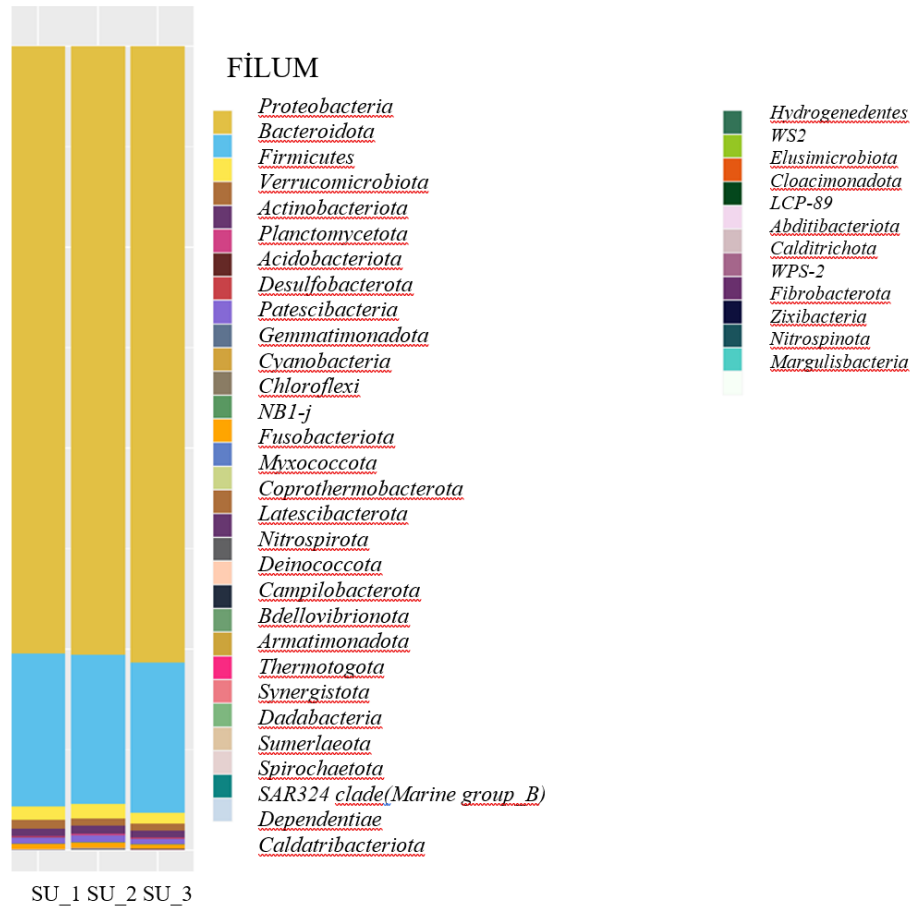


Şekil 3.2. Geri yönlü okuma DADA2 paketinde belirlenen kalite skor grafiği

3.2. Su, Sediment ve Toprak Örneklerinin Tekrarlı Dizilemelerinin Karşılaştırılması

3.2.1. Su Örneğinin Tekrarlı Dizilerinin Karşılaştırılması

Su örneklerinin tekrarlı dizileme sonuçları karşılaştırıldığında her bir dizilemenin analiz sonuçları arasında bariz bir fark görülmemiştir. Üç dizileme sonuçları birleştirilerek diğer analizler yapılmıştır. Filumlar Şekil 3.3'te taksonomik dağılım görüntüsü EK'te gösterilmiştir.

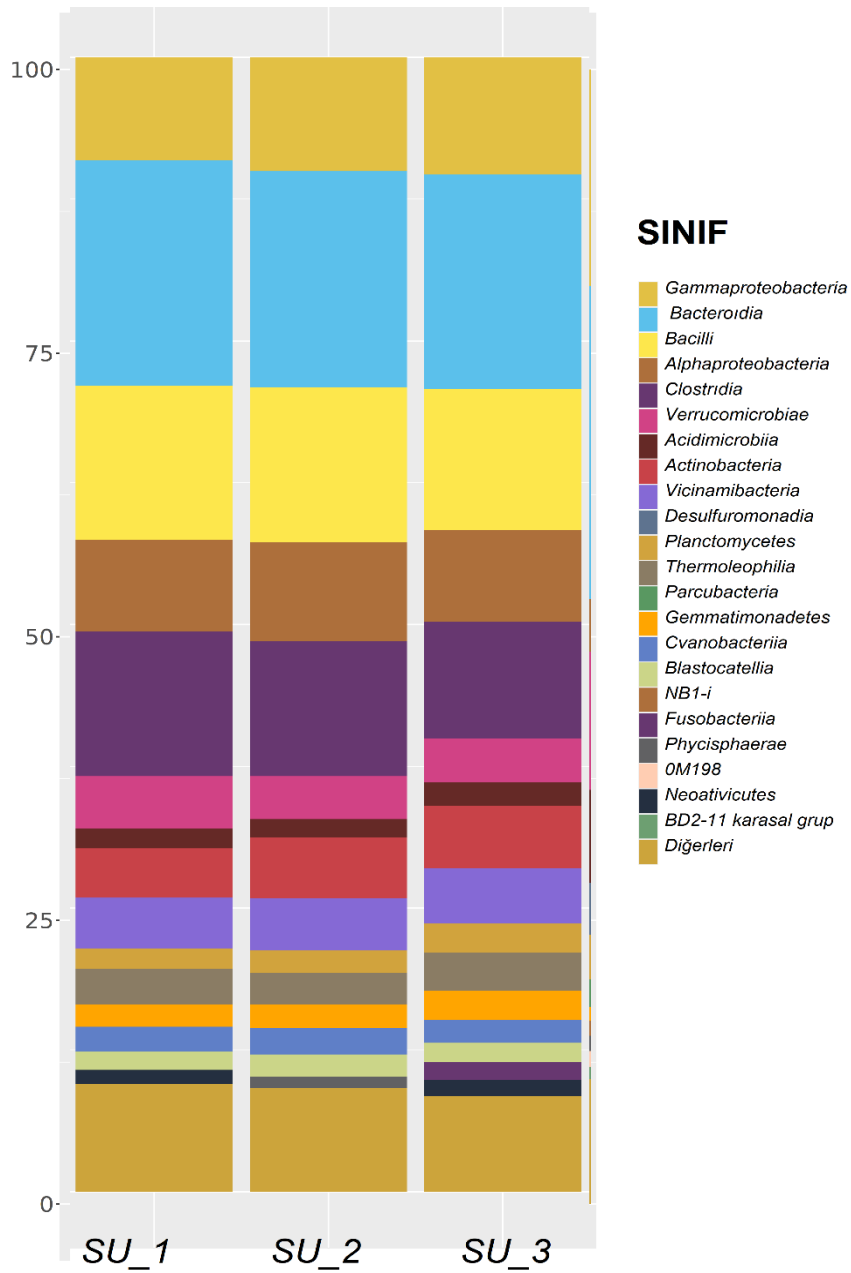


Şekil 3.3. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyinde karşılaştırılması

Su örneğinde *Pseudomonadota*, %76,03 oranıyla en baskın bulunan filum olmuştur. İkinci sırada %18,74 oranıyla *Bacteroidota* filumu gelmektedir. *Pseudomonadota* filumunu *Gammaproteobacteria* (%83) ve *Alphaproteobacteria* (%17) oluşturmaktadır. *Bacteroidota* filumunu sadece *Bacteroidia* temsil etmektedir.

Su örneğinde toplam 46 sınıf tanımlanmıştır. En çok *Gammaproteobacteria* (%63,14) *Bacteroidia* (%18,74) ve *Alphaproteobacteria* (%12,88) sınıfları

tanımlanmıştır. Su örneğinde toplam 208 cins tespit edilmiştir. Sınıfların dağılımı Şekil 3.4'te, taksonomik dağılım görüntüsü EK'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyinde karşılaştırması

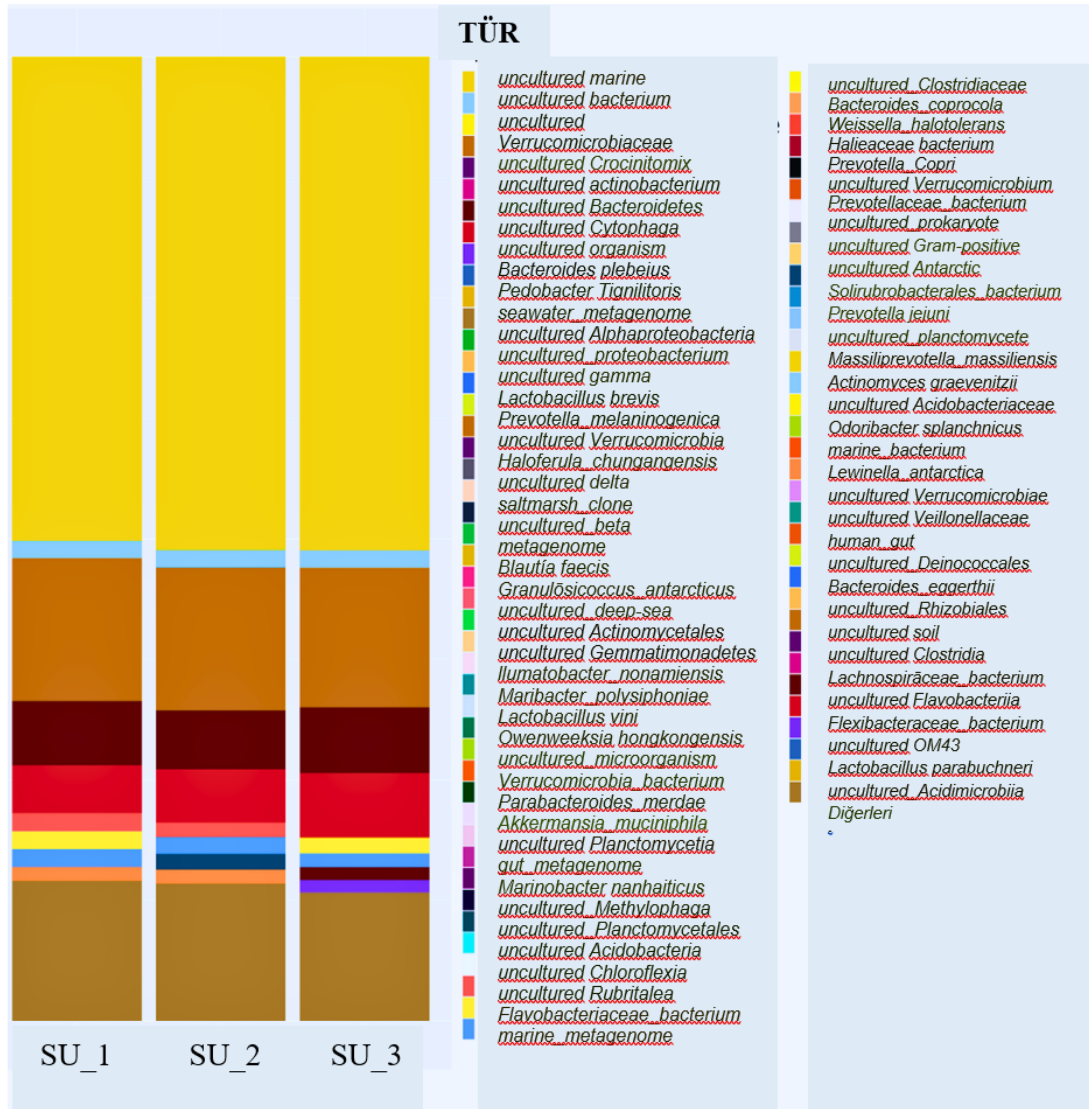
Su örneğinin tekrarlı dizilerinin familya düzeyinde karşılaştırılmasında Şekil 3.5'te görüldüğü gibi en çok *Pseudoalteromonadaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Rhodobacterales* tespit edilmiştir. Toplamda 173 familya üyesi tespit edilmiştir. En çok *Pseudoalteromonadaceae* (%48,30) olduğu belirlenmiştir. Sonrasında sırayla *Flavobacteriaceae* (%14,96), *Rhodobacterales* (%11,55) temsilcileri tespit edilmiştir.



Şekil 3.5. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyinde karşılaştırması

En çok tespit edilen cinsler ise *Pseudoalteromonas* (%55,12), *Polaribacter* (%10,76), *Sulfotobacter* (%6,80), *Psychrobacter* (%5,7) olmuştur. Su örneğinde %51,64 oranında kültüre edilmemiş deniz bakterileri tespit edilmiştir.

Tür düzeyinde tespit edilen mikroorganizmalar ise *uncultured_marine* (%51,64), *uncultured_Crocinitomix* (%14,70), *uncultured_Cytophaga* (%6,56), *uncultured_organism* (%6,14) ve *Lewinella antarctica* (%1,2) olmuştur. Su örneğinden elde edilen tekrarlı ölçümlerin tür düzeyinde karşılaştırılması Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Su örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyinde karşılaştırması

Su örneğinde yapılan tekrarlı dizilemenin filumları arasında bariz bir fark görülmemiştir. Su örneğine ait tekrarlı dizilemenin filum düzeyinde karşılaştırması Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Su örneğine ait 3 tekrarlı dizileme sonucunda 3 dizilemenin filum düzeyinde karşılaştırması

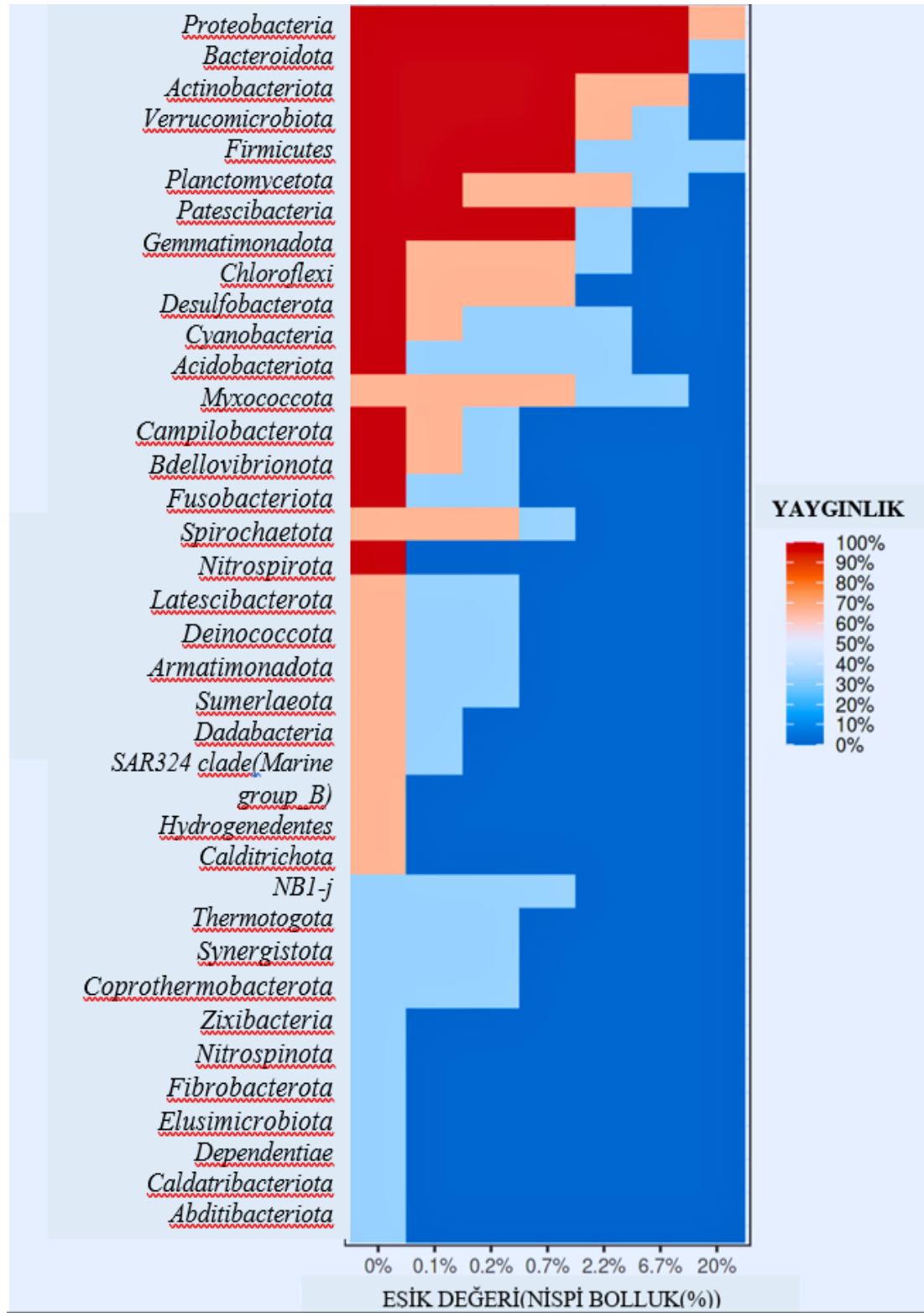
SU_1	%	SU_2	%	SU_3	%
<i>Actinobacteriota</i>	0,905	<i>Actinobacteriota</i>	1,029	<i>Actinobacteriota</i>	0,84
<i>Bacteroidota</i>	19,028	<i>Bacteroidota</i>	18,54	<i>Bacteroidota</i>	18,65
<i>Bdellovibrionota</i>	0,046	<i>Bdellovibrionota</i>	0,121	<i>Bdellovibrionota</i>	0,06
<i>Campilobacterota</i>	0,078	<i>Campilobacterota</i>	0,124	<i>Campilobacterota</i>	0,09
<i>Chloroflexota</i>	0,024	<i>Chloroflexota</i>	0,023	<i>Chloroflexota</i>	0,01
<i>Cyanobacteriota</i>	0,03	<i>Cyanobacteriota</i>	0,009	<i>Cyanobacteriota</i>	0,034
<i>Fusobacteriota</i>	0,632	<i>Fusobacteriota</i>	0,666	<i>Fusobacteriota</i>	0,508
<i>Bacillota</i>	1,689	<i>Bacillota</i>	1,791	<i>Bacillota</i>	1,363
<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,016	<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,039	<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,039
<i>Myxococcota</i>	0,006	<i>Coprothermobacterota</i>	0,007	<i>Coprothermobacterota</i>	0,009
<i>Gemmatimonadota</i>	0,004	<i>Cloacimonadota</i>	0,009	<i>Margulisbacteria</i>	0,004
<i>Patescibacteria</i>	0,758	<i>Patescibacteria</i>	0,855	<i>Patescibacteria</i>	0,673
<i>Planctomycetota</i>	0,12	<i>Planctomycetota</i>	0,114	<i>Planctomycetota</i>	0,094
<i>Pseudomonadota</i>	75,547	<i>Pseudomonadota</i>	75,72	<i>Pseudomonadota</i>	76,70
<i>Spirochaetota</i>	0,008	<i>Gemmatimonadota</i>	0,005	<i>Spirochaetota</i>	0,027
<i>Verrucomicrobiota</i>	1,109	<i>Latescibacterota</i>	0,005	<i>Verrucomicrobiota</i>	0,866

Yapılan tekrarlı dizilemelerin sonuçları birleştirilerek diğer taksonomik analizler yapılmıştır. Filumların oransal dağılımı Tablo 3.3'teki gibidir.

Tablo 3.3. Su örneğinin birleştirilmiş filum düzeyinde tablosu

Filum	Filum %
<i>Actinobacteriota</i>	0,91
<i>Bacteroidota</i>	18,7
<i>Bdellovibrionota</i>	0,0
<i>Campilobacterota</i>	0,09
<i>Chloroflexota</i>	0,02
<i>Cloacimonadota</i>	0,003
<i>Coprothermobacterota</i>	0,005
<i>Cyanobacteriota</i>	0,03
<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,03
<i>Bacillota</i>	1,60
<i>Fusobacteriota</i>	0,59
<i>Gemmatimonadota</i>	0,003
<i>Latescibacterota</i>	0,001
<i>Margulisbacteria</i>	0,001
<i>Myxococcota</i>	0,002
<i>Patescibacteria</i>	0,75
<i>Planctomycetota</i>	0,11
<i>Pseudomonadota</i>	76,03
<i>Spirochaetota</i>	0,02
<i>Synergistota</i>	0,002
<i>Verrucomicrobiota</i>	0,96

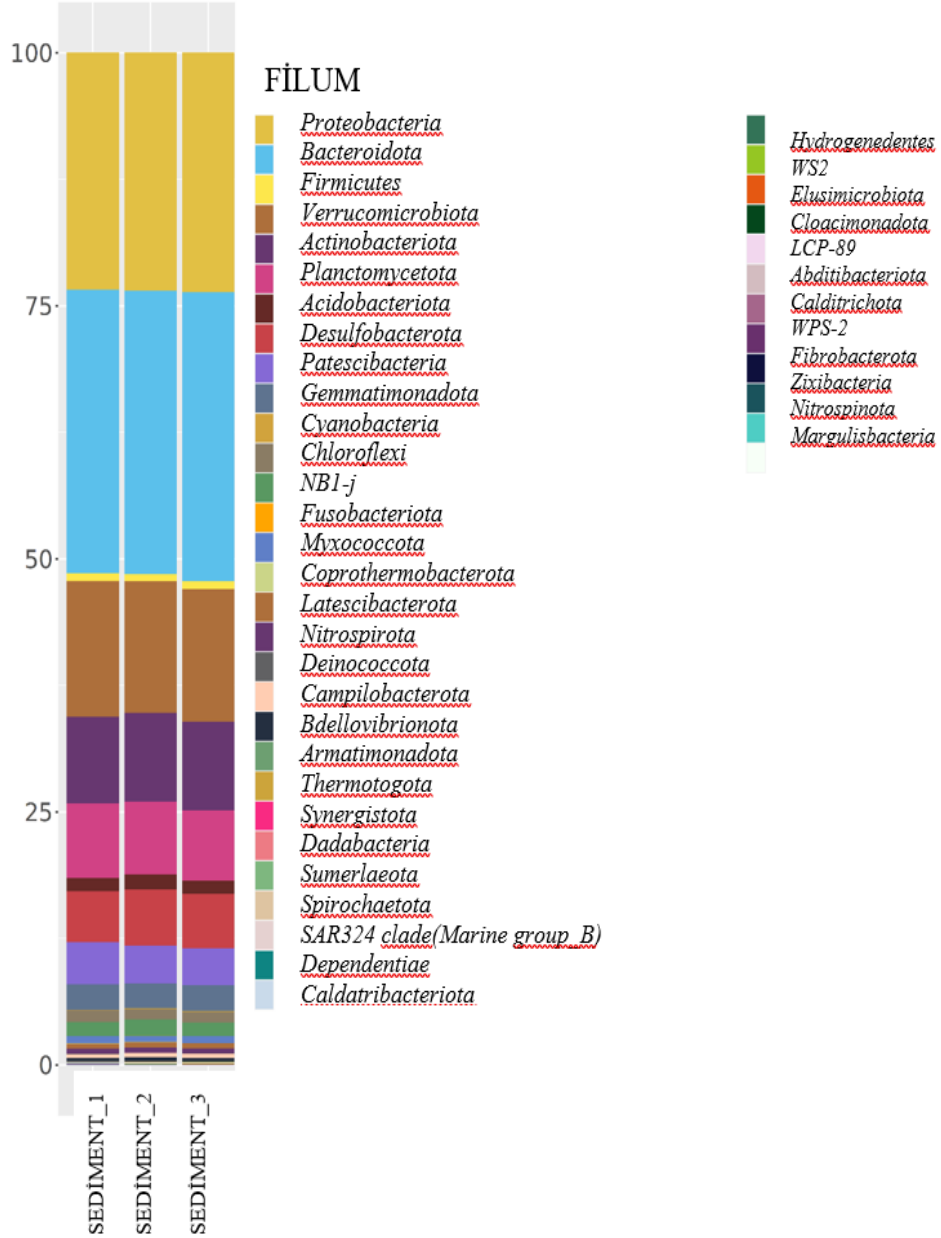
Su örneğinde bulunan filumların yoğunluk dereceleri Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. Su örneğindeki mikrobiyal taksonların yaygınlık oranları

3.2.2. Sediment Örneğinin Tekrarlı Dizilerinin Karşılaştırılması

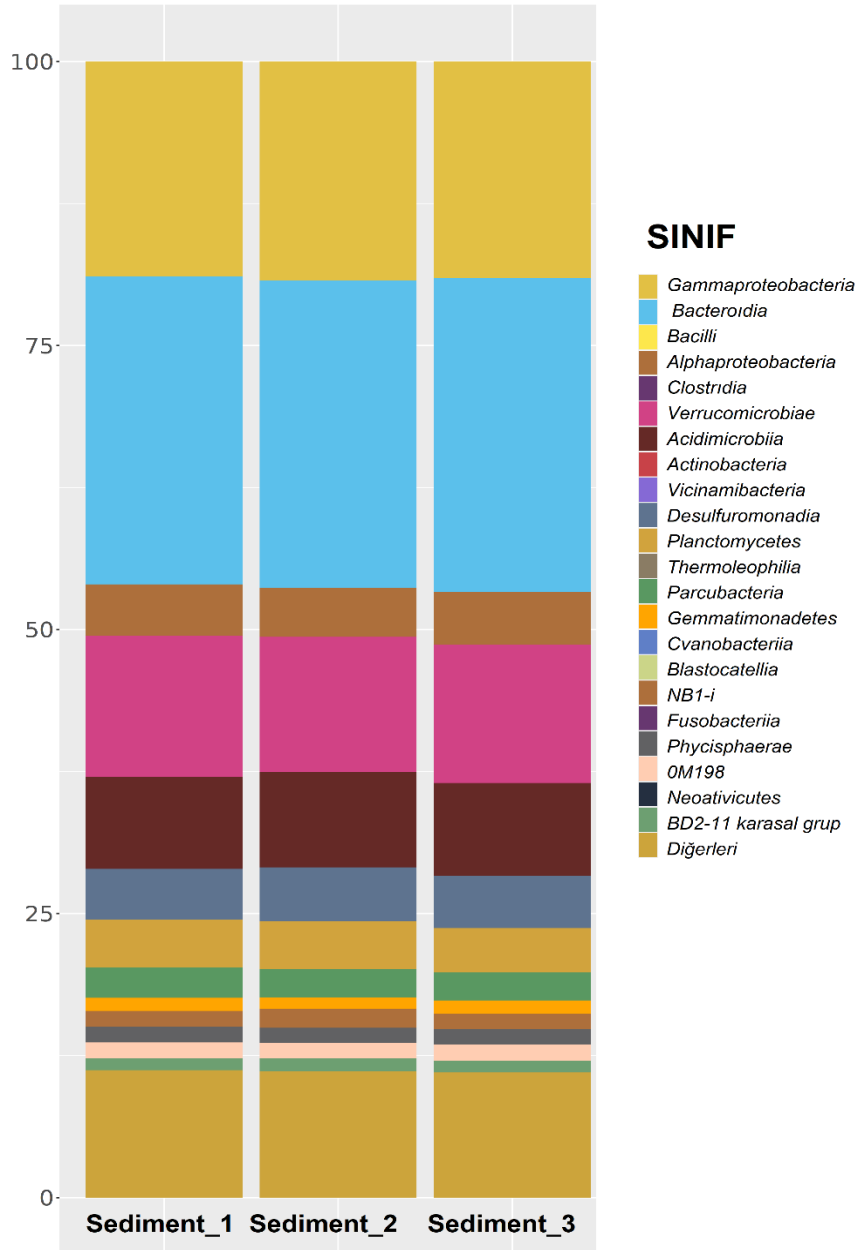
Sediment örneğinde üç tekrarlı dizileme yapılmıştır. Filum düzeyinde dağılım grafiği Şekil 3.8’de gösterilmektedir. Üç tekrarlı yapılan sediment örneği dizilemesinde her bir dizilemenin analiz sonuçları arasında bariz bir fark görülmemiştir. Üç dizileme sonuçları birleştirilmiş ve diğer analizler yapılmıştır.



Şekil 3.8. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyinde karşılaştırılması

En çok görülen filumlar *Bacteroidota* (%28,17), *Pseudomonadota* (%23,52), *Verrucomicrobiota* (%13,1) ve *Actinomycetota* (%8,71) olarak tespit edilmiştir.

Sediment örneğinde 86 sınıf tespit edilmiştir. En çok üyesi bulunan sınıflar *Bacteroidia* (%27,28), *Gammaproteobacteria* (%19,07), *Verrucomicrobiotae* (%12,19), *Desulfuromonadia* (%4,62), *Alphaproteobacteria* (%4,44), *Planctomycetota* (%4,10) olmuştur. Sınıf düzeyinde dağılım grafiği Şekil 3.9'da gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyindeki dağılımı

Sediment örneğinin familya karşılaştırılması Şekil 3.10'da gösterilmiştir.

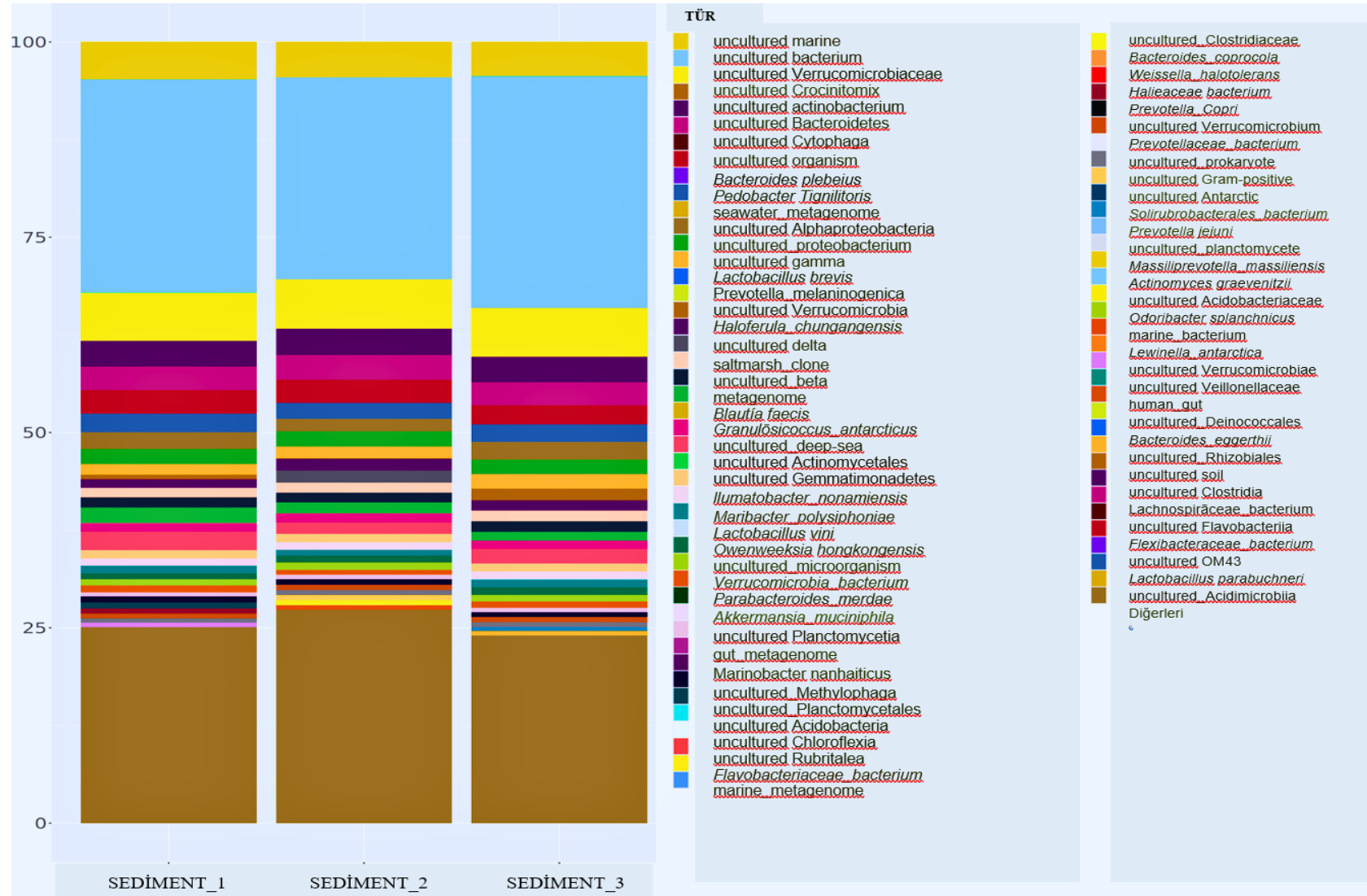


Şekil 3.10. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyindeki dağılımı

Sediment örneğinde 264 familya tespit edilmiştir. En çok üyesi bulunan familyalar şunlardır: *Flavobacteriaceae* (%20,37), *Rubritaleaceae* (%8,17), *Comamonadaceae* (%4,01), *Ilumatobacteraceae* (%3,79), *Halieaceae* (3,44), *Rhodobacteraceae* (%3,31), *Pirellulaceae* (%2,63).

Sediment örneğinde 332 cins tespit edilmiştir. Bu cinsler arasında en çok üyesi bulunan cinsler şunlardır: *Ilumatobacter* (%4,94), *Flavobacterium* (%3,36), *Maribacter* (%3,18), *Luteolibacter* (%2,94). En çok tespit edilen cins ise %16,17 oranıyla kültüre edilmemiş bakteri cinsleridir.

Sediment örneğinde toplam 122 adet tür düzeyinde belirleme yapılmıştır: *uncultured_bacterium* (%34,5), *uncultured_Verrucomicrobiotaceae* (%6,24), *uncultured_marine* (%5,59), *uncultured_organism* (%4,32), *uncultured_deep-sea* (%3,4), *uncultured_Bacteroidota* (%3,38), *uncultured_actinobacterium* (%3,31), *uncultured_Alphaproteobacteria* (%2,42), *uncultured_proteobacterium* (%2,37), *Pedobacter_lignilitoris* (%2,25). Sediment örneğinin tür düzeyindeki karşılaştırma tablosu Şekil 3.11’de gösterilmektedir.



Şekil 3.11. Sediment örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyindeki dağılımı

Sediment örneğinin üç tekrarlı dizilemesi sonucundaki filumlarının karşılaştırılması Tablo 3.4'teki gibidir.

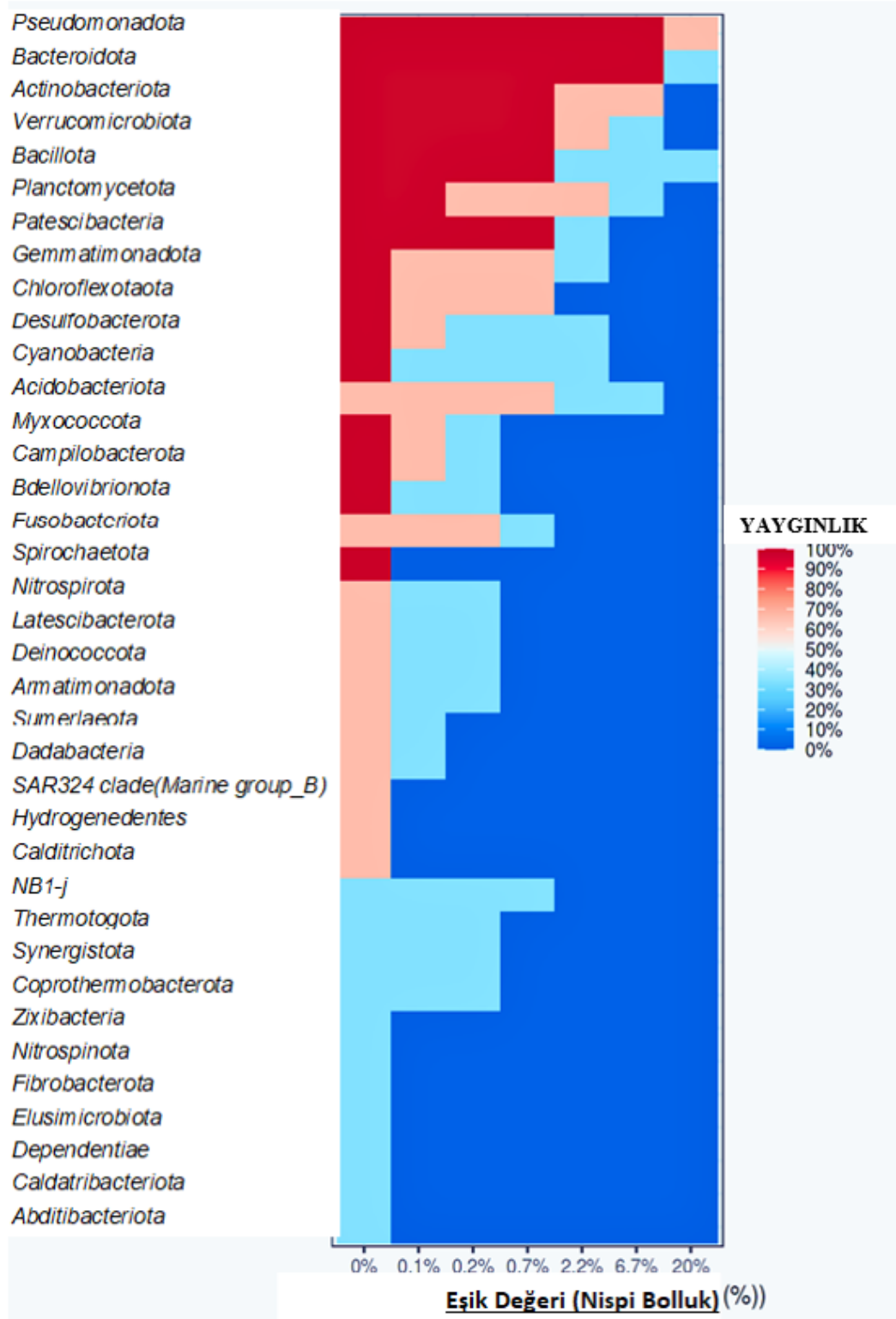
Tablo 3.4. Sediment örneğinin tekrarlı dizi analizlerinin filum düzeyinde karşılaştırması

SEDİMENT_1	%	SEDİMENT_2	%	SEDİMENT_3	%
<i>Acidobacteriota</i>	1,32	<i>Acidobacteriota</i>	1,48	<i>Acidobacteriota</i>	1,28
<i>Actinobacteriota</i>	8,57	<i>Actinobacteriota</i>	8,81	<i>Actinobacteriota</i>	8,73
<i>Caldatibacteriota</i>	0,004	<i>Armatimonadota</i>	0,004	<i>Armatimonadota</i>	0,0
<i>Bacteroidota</i>	28,0	<i>Bacteroidota</i>	28,0	<i>Bacteroidota</i>	28,5
<i>Bdellovibrionota</i>	0,32	<i>Bdellovibrionota</i>	0,42	<i>Bdellovibrionota</i>	0,42
<i>Calditrichota</i>	0,04			<i>Calditrichota</i>	0,03
<i>Campilobacterota</i>	0,42	<i>Campilobacterota</i>	0,44	<i>Campilobacterota</i>	0,39
<i>Chloroflexota</i>	1,19	<i>Chloroflexota</i>	1,00	<i>Chloroflexota</i>	1,05
<i>Cyanobacteriota</i>	0,04	<i>Cyanobacteriota</i>	0,06	<i>Cyanobacteriota</i>	0,06
<i>Dadabacteria</i>	0,004	<i>Dadabacteria</i>	0,01	<i>Dadabacteria</i>	0,01
<i>Deinococcota</i>	0,02	<i>Deinococcota</i>	0,01	<i>Deinococcota</i>	0,02
<i>Thermodesulfobacteriota</i>	5,07	<i>Thermodesulfobacteriota</i>	5,59	<i>Thermodesulfobacteriota</i>	5,41
<i>Elusimicrobiota</i>	0,02	<i>Elusimicrobiota</i>	0,047	<i>Elusimicrobiota</i>	0,04
<i>Fibrobacterota</i>	0,03	<i>Fibrobacterota</i>	0,02	<i>Fibrobacterota</i>	0,01
<i>Bacillota</i>	0,72	<i>Bacillota</i>	0,71	<i>Bacillota</i>	0,78
<i>Gemmatimonadota</i>	2,48	<i>Gemmatimonadota</i>	2,45	<i>Gemmatimonadota</i>	2,52
<i>Hydrogenedentes</i>	0,06	<i>Hydrogenedentes</i>	0,04	<i>Hydrogenedentes</i>	0,0
<i>Latescibacterota</i>	0,49	<i>Latescibacterota</i>	0,54	<i>Latescibacterota</i>	0,55
<i>Myxococcota</i>	0,72	<i>Myxococcota</i>	0,6	<i>Myxococcota</i>	0,67
				<i>Nitrospinota</i>	0,007
<i>Nitrospirota</i>	0,51	<i>Nitrospirota</i>	0,52	<i>Nitrospirota</i>	0,46
<i>Planctomycetota</i>	7,33	<i>Planctomycetota</i>	7,13	<i>Planctomycetota</i>	6,91
<i>Patescibacteria</i>	4,14	<i>Patescibacteria</i>	3,72	<i>Patescibacteria</i>	3,67
<i>Pseudomonadota</i>	23,41	<i>Pseudomonadota</i>	23,50	<i>Pseudomonadota</i>	23,64
<i>Spirochaetota</i>	0,09	<i>Spirochaetota</i>	0,08	<i>Spirochaetota</i>	0,06
<i>Sumerlaeota</i>	0,004			<i>Sumerlaeota</i>	0,007
<i>Verrucomicrobiota</i>	13,46	<i>Verrucomicrobiota</i>	12,98	<i>Verrucomicrobiota</i>	13,14
<i>Zixibacteria</i>	0,02	<i>Zixibacteria</i>	0,02	<i>Zixibacteria</i>	0,02

Sediment örneğine yapılan tekrarlı dizileme sonuçları birleştirilerek diğer analizler yapılmıştır. Sediment örneğindeki filum sonuçları Tablo 3.5'teki gibidir. Sediment örneğinde en çok belirlenen filum *Bacteroidota* (%28,17), ikinci sırada *Pseudomonadota* (%23,52), üçüncü sırada *Verrucomicrobiota* (%13,18), *Actinomycetota* (%8,71) olarak tespit edilmiştir. *Bacteroidota* filumunu, *Bacteroidia* (%97), *Rhodothermia* (%3) oluşturmaktadır. *Pseudomonadota* filumunu, *Gammaproteobacteria* (%81), *Alphaproteobacteria* (%19) oluşturmaktadır. *Verrucomicrobiota* filumunu, *Verrucomicrobiotae* (%92) *Kiritimatiellae* (%4), *Lentisphaeria* (%2) ve *Chlamydiales* (%2) temsil etmektedir. *Actinomycetota*, *Acidimicrobiia* (%94), *Actinomycetota* (%3) ve *Thermoleophilia* (%2) ile temsil edilmektedir.

Tablo 3.5. Sediment örneğinin tekrarlı sonuçlarının birleştirilmesiyle oluşan filum oranları

Filum	Filum %
<i>Acidobacteriota</i>	1,37
<i>Actinobacteriota</i>	8,71
<i>Armatimonadota</i>	0,006
<i>Bacteroidota</i>	28,17
<i>Bdellovibrionota</i>	0,39
<i>Caldatribacteriota</i>	0,001
<i>Calditrichota</i>	0,02
<i>Campilobacterota</i>	0,42
<i>Chloroflexota</i>	1,08
<i>Cyanobacteriota</i>	0,05
<i>Dadabacteria</i>	0,01
<i>Deinococcota</i>	0,02
<i>Thermodesulfobacteriota</i>	5,37
<i>Elusimicrobiota</i>	0,04
<i>Fibrobacterota</i>	0,02
<i>Bacillota</i>	0,73
<i>Gemmatimonadota</i>	2,4
<i>Hydrogenedentes</i>	0,05
<i>Latescibacterota</i>	0,53
<i>Myxococcota</i>	0,66
<i>Nitrospinota</i>	0,002
<i>Nitrospirota</i>	0,502
<i>Patescibacteria</i>	3,84
<i>Planctomycetota</i>	7,13
<i>Pseudomonadota</i>	23,52
<i>Spirochaetota</i>	0,079
<i>Sumerlaeota</i>	0,004
<i>Verrucomicrobiota</i>	13,18
<i>Zixibacteria</i>	0,02

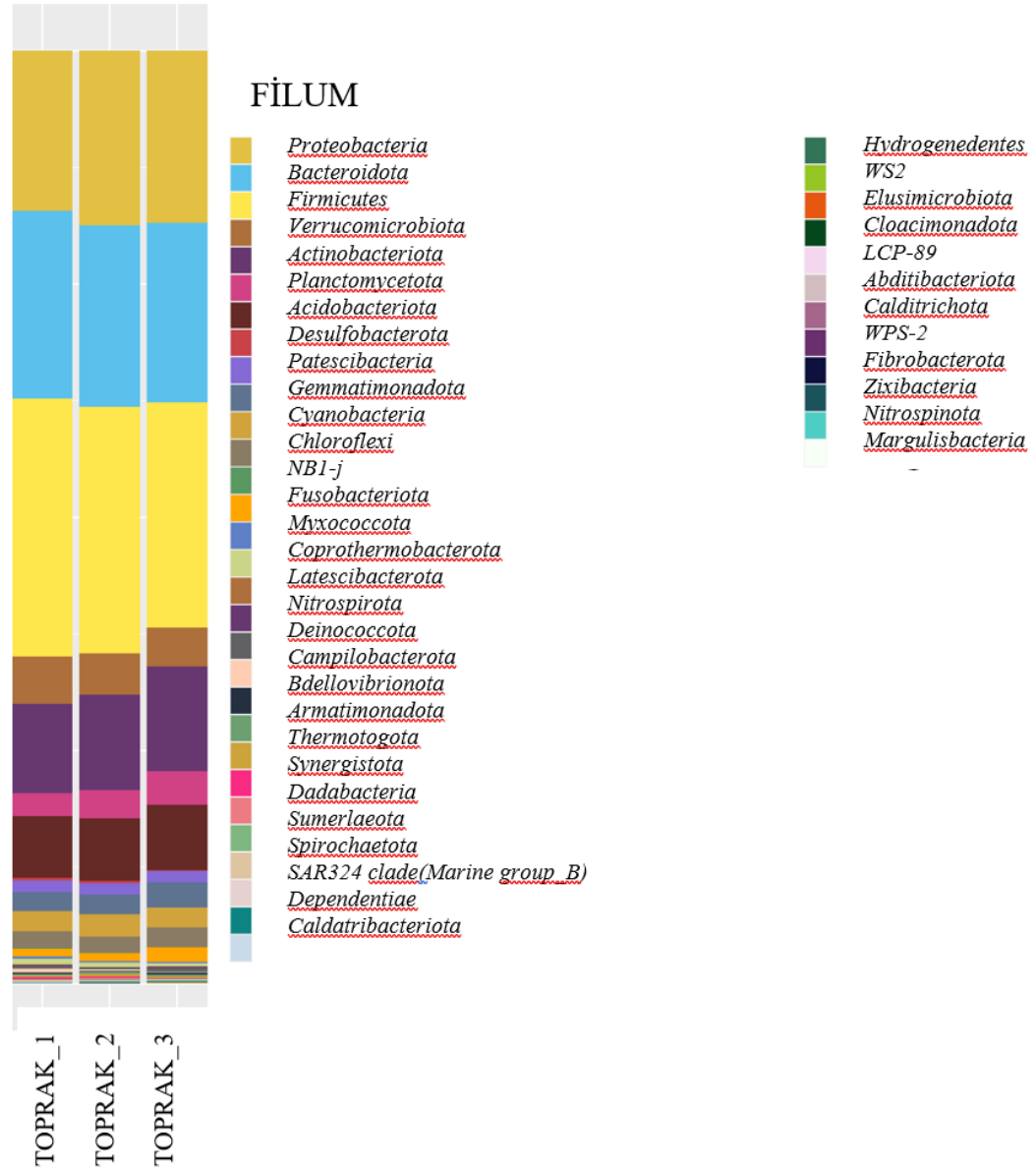


Şekil 3.12. Sediment örneğindeki taksonların yaygınlık oranları

3.2.3. Toprak Örneklerinin Tekrarlı Dizilerinin Karşılaştırılması

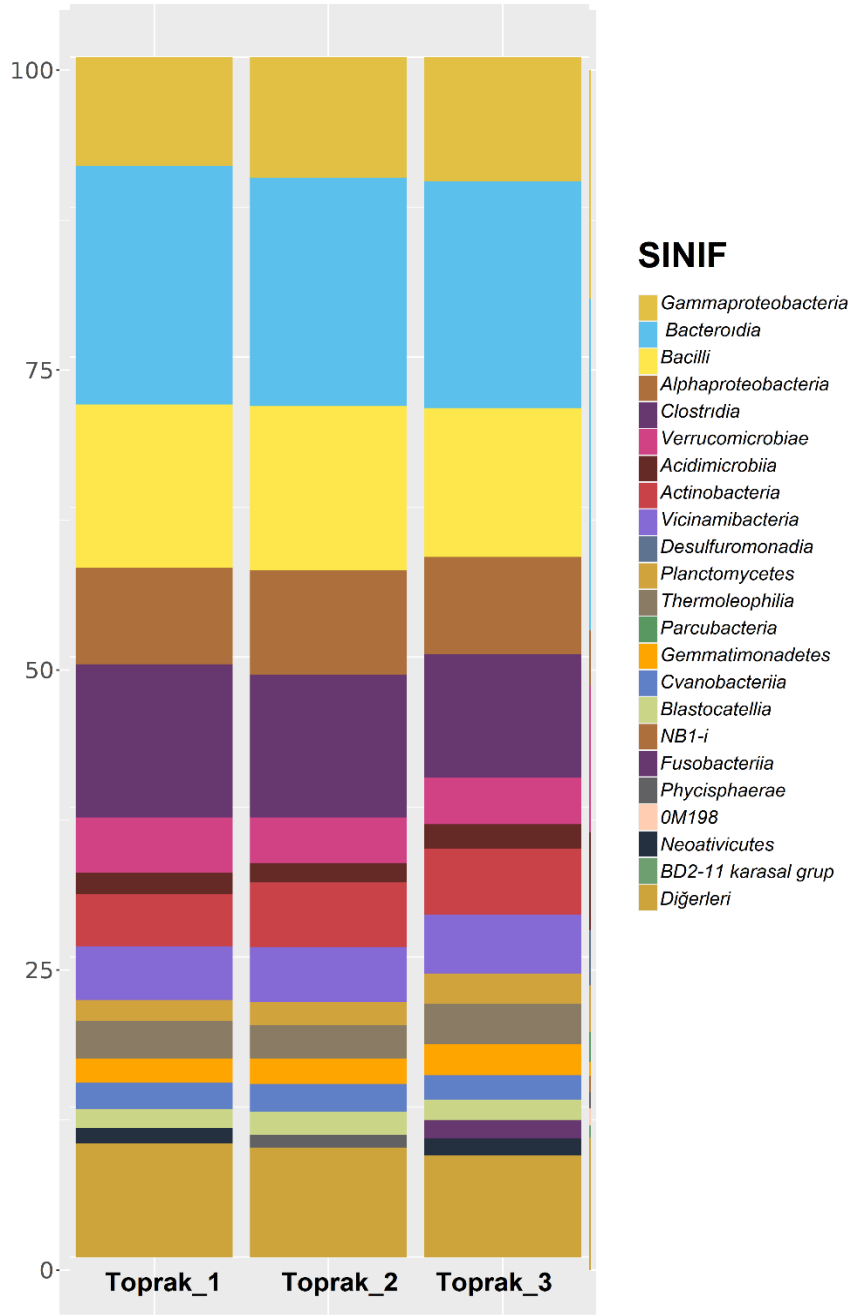
Toprak örneğinin üç tekrarlı dizilemesi sonuçları arasında bariz bir fark görülmemektedir. Üç tekrar analizleri birleştirilmiş ve mikrobiyal çeşitlilik analizleri yapılmıştır. Toprak örneklerinin tekrarlı dizileme filum karşılaştırmaları Şekil 3.13'te, taksonomik dağılım görüntüsü EK'teki gibidir.

Yapılan analizlere göre filum düzeyinde 34 filum tespit edilmiştir. En çok üyesi olan filumlar *Bacillota* (%26,17), *Bacteriodota* (%19,61), *Pseudomonadota* (18,027), *Actinomycetota* (%10,3) olmuştur. *Firmucutes* filumunu, *Clostridia* (%45), *Bacili* (%51), *Negativicutes* (%4) temsil etmektedir. *Bacteridota* filumu, *Bacteroidota* (%99) ile temsil edilmektedir. *Pseudomonadota* filumu, *Gammaproteobacteria* (%54), *Alphaproteobacteria* (%46) ile temsil edilmektedir. *Actinomycetota* ise, *Actinobacteria* (%49), *Acidimicrobiia* (%17), *Thermoleophilia* (%30) ile temsil edilmektedir.



Şekil 3.13. Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyindeki dağılımı

Toprak örneğinde, 99 adet sınıf düzeyinde tespit edilen mikroorganizma üyesi bulunmaktadır. En çok üyesi bulunan sınıflar *Bacteroidia* (%19,33), *Bacili* (%13,22), *Clostridia* (%11,71), *Gammaproteobacteria* (%9,77), *Alphaproteobacteria* (%8,25) olmuştur. Sınıf düzeyinde karşılaştırma tablosu Şekil 3.14'te gösterilmiştir.

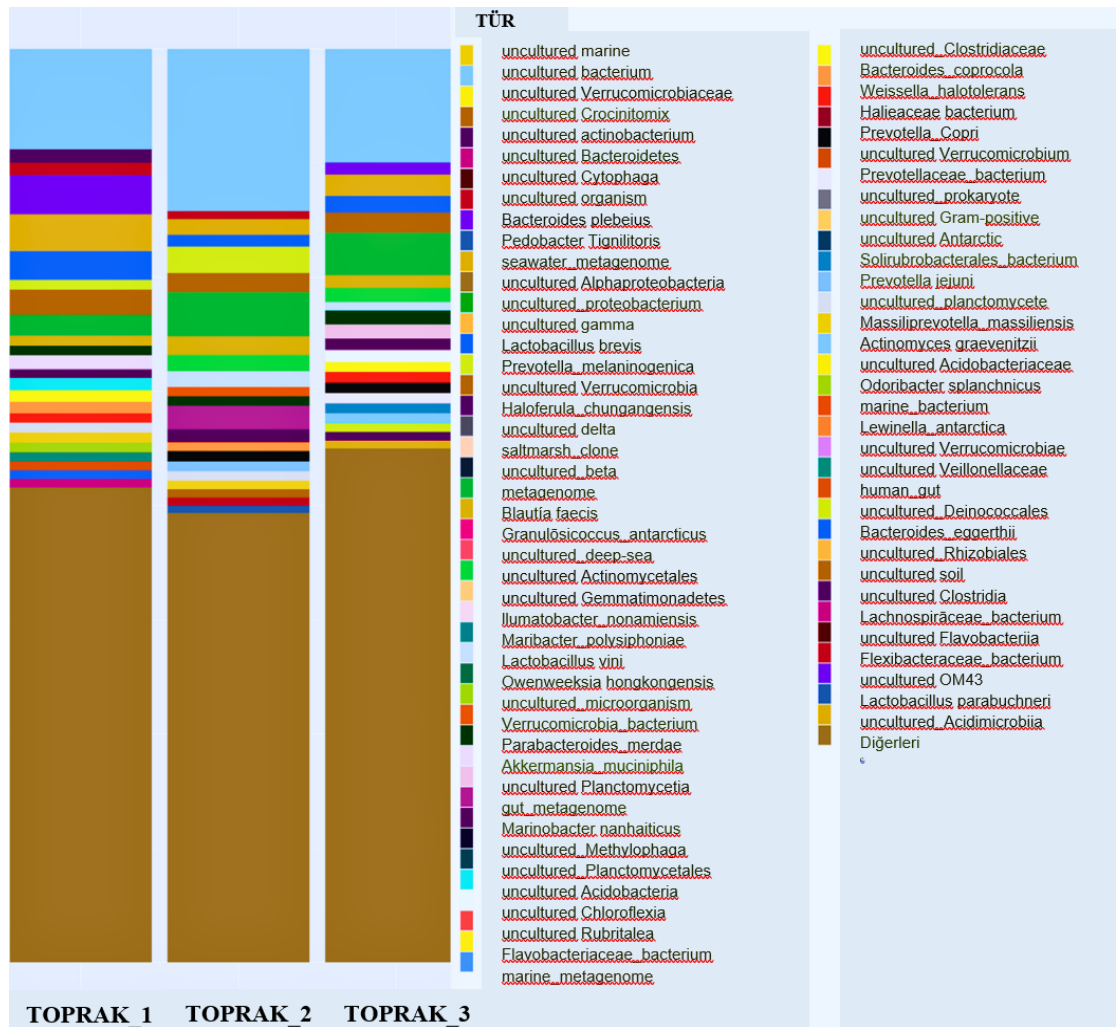


Şekil 3. 14 Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyindeki dağılımı

Toprak örneğinde 359 adet familya tespit edilmiştir. En çok üyesi görülen familyalar: *Chitinophagaceae* (%4,8), *Bacteroidaceae* (%4,74), *uncultured* (%4,67), *Lachnospiraceae* (%4,17), *Prevotellaceae* (%4,16), *Lactobacillaceae* (%4,15), *Ruminococcaceae* (%2,89), *Nocardoidaceae* (%2,71), *Leuconostocaceae* (%2,56), *Staphylococcaceae* (%2,52), *Gemmatimonadaceae* (%2,2), *Xanthomonadaceae* (%2,09). Örneklerin familya karşılaştırması Şekil 3.15'teki görülmektedir.

Toprak örneğinde toplam 545 cins tespit edilmiştir. En çok üyesi tespit edilen cinsler şu şekildedir: uncultured (%17,01), *Bacteroides* (%5,91), *Lactobacillus* (%4,834), *Prevotella* (%4,28), *Macrococcus* (%2,58), *Leuconostoc* (%2,20), *Faecalibacterium* (%2,06).

Toprak örneğinde toplam 171 tür tespit edilmiştir. En çok üyesi tespit edilen türler şunlardır: uncultured_bacterium (%27,99), metagenome (%8,06), uncultured_organism (%3,41), seawater_metagenome (%2,75), uncultured_Verrucomicrobiota (%2,72), *Bacteroides plebeius* (%2,22), *Lactobacillus brevis* (%2,12). Toprak örneklerinin tür düzeyindeki karşılaştırması Şekil 3.16'da verilmiştir.



Şekil 3.16. Toprak örneğindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyindeki dağılımı

Tablo 3.6. Toprak örneğinde tespit edilen mikroorganizmaların filum düzeyindeki dağılım oranları

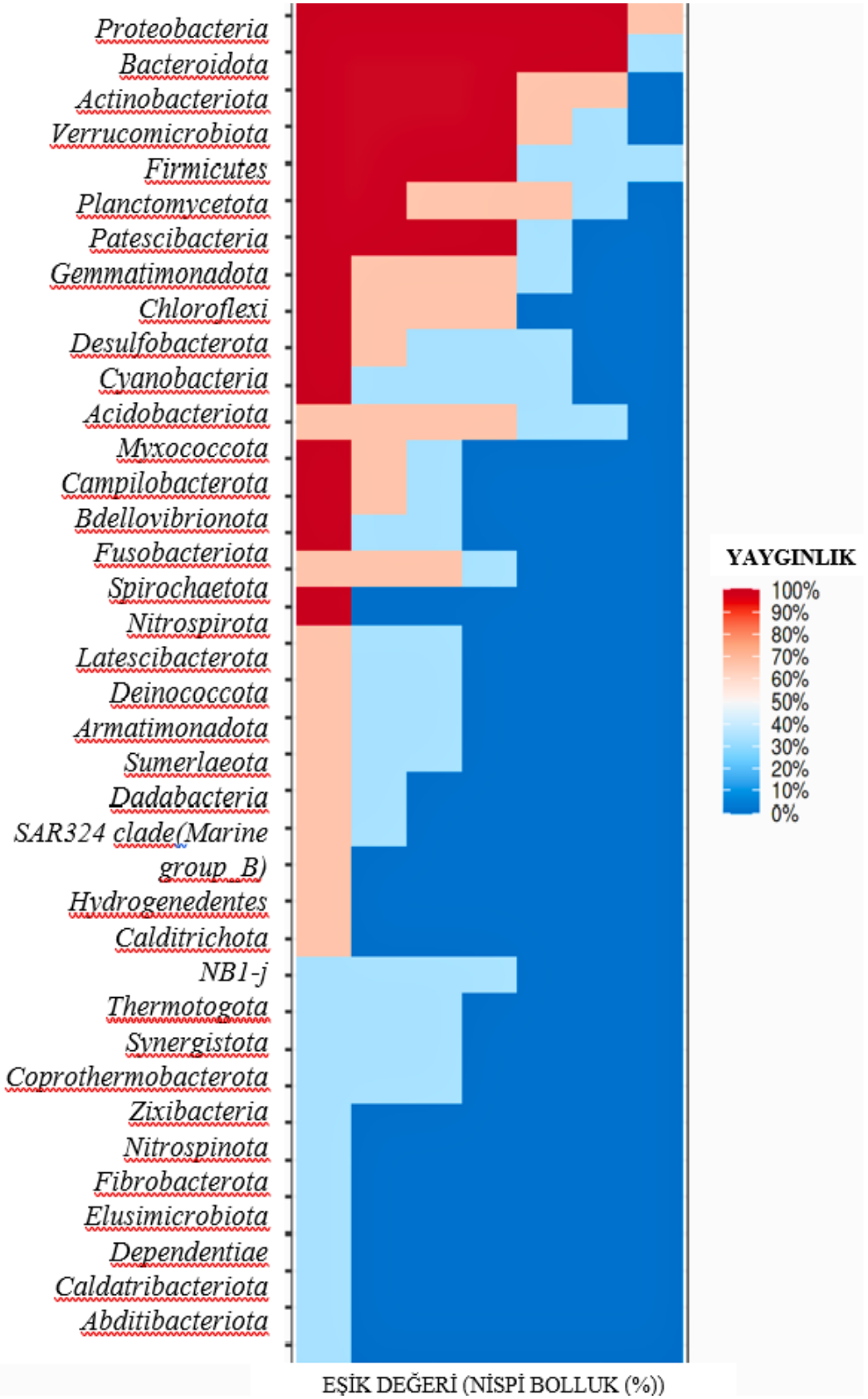
TOPRAK_1	%	TOPRAK_2	%	TOPRAK_3	%
<i>Actinobacteriota</i>	0,90	<i>Actinobacteriota</i>	1,03	<i>Actinobacteriota</i>	0,84
<i>Bacteroidota</i>	19,02	<i>Bacteroidota</i>	18,54	<i>Bacteroidota</i>	18,65
<i>Bdellovibrionota</i>	0,04	<i>Bdellovibrionota</i>	0,12	<i>Bdellovibrionota</i>	0,06
<i>Campilobacterota</i>	0,08	<i>Campilobacterota</i>	0,12	<i>Campilobacterota</i>	0,09
<i>Chloroflexota</i>	0,02	<i>Chloroflexota</i>	0,02	<i>Chloroflexota</i>	0,01
<i>Cyanobacteriota</i>	0,03	<i>Cyanobacteriota</i>	0,01	<i>Cyanobacteriota</i>	0,03
<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,02	<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,04	<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,03
<i>Bacillota</i>	1,69	<i>Bacillota</i>	1,79	<i>Bacillota</i>	1,36
<i>Fusobacteriota</i>	0,63	<i>Fusobacteriota</i>	0,66	<i>Fusobacteriota</i>	0,50
<i>Gemmatimonadota</i>	0,004	<i>Gemmatimonadota</i>	0,005		
<i>Myxococcota</i>	0,006	<i>Cloacimonadota</i>	0,01	<i>Margulisbacteria</i>	0,004
<i>Patescibacteria</i>	0,75	<i>Patescibacteria</i>	0,85	<i>Patescibacteria</i>	0,67
		<i>Latescibacterota</i>	0,005		
<i>Pseudomonadota</i>	75,54	<i>Pseudomonadota</i>	75,72	<i>Pseudomonadota</i>	76,70
<i>Planctomycetota</i>	0,12	<i>Planctomycetota</i>	0,11	<i>Planctomycetota</i>	0,09
<i>Verrucomicrobiota</i>	1,1	<i>Verrucomicrobiota</i>	0,90	<i>Verrucomicrobiota</i>	0,86
<i>Spirochaetota</i>	0,008	<i>Spirochaetota</i>	0,0	<i>Spirochaetota</i>	0,027
		<i>Synergistota</i>	0,007	<i>Coprothermobacterota</i>	0,009
		<i>Coprothermobacterota</i>	0,08		

Toprak örneğinde tespit edilen filumların birleştirilmiş hali Tablo 3.7’de belirtilmiştir.

Tablo 3.7. Toprak örneğindeki mikrobiyal filumların oranı

Filum	%
<i>Abditibacteriota</i>	0,02
<i>Acidobacteriota</i>	6,80
<i>Actinobacteriota</i>	10,33
<i>Armatimonadota</i>	0,2
<i>Bacteroidota</i>	19,61
<i>Bdellovibrionota</i>	0,15
<i>Caldatribacteriota</i>	0,03
<i>Calditrichota</i>	0,01
<i>Campilobacterota</i>	0,21
<i>Chloroflexota</i>	1,88
<i>Cloacimonadota</i>	0,03
<i>Coprothermobacterota</i>	0,52
<i>Cyanobacteriota</i>	2,25
<i>Dadabacteria</i>	0,06
<i>Deinococcota</i>	0,34
<i>Dependentiae</i>	0,05
<i>Thermodesulfobacteriota</i>	0,15
<i>Elusimicrobiota</i>	0,008
<i>Fibrobacterota</i>	0,002
<i>Bacillota</i>	26,17
<i>Fusobacteriota</i>	1,09
<i>Gemmatimonadota</i>	2,26
<i>Hydrogenedentes</i>	0,02
<i>Latescibacterota</i>	0,01
<i>Myxococcota</i>	0,16
<i>Nitrospirota</i>	0,06
<i>Patescibacteria</i>	1,24
<i>Planctomycetota</i>	2,98
<i>Pseudomonadota</i>	18,02
<i>Spirochaetota</i>	0,06
<i>Sumerlaeota</i>	0,13
<i>Synergistota</i>	0,14
<i>Thermotogota</i>	0,20
<i>Verrucomicrobiota</i>	4,57
<i>Zixibacteria</i>	0,003

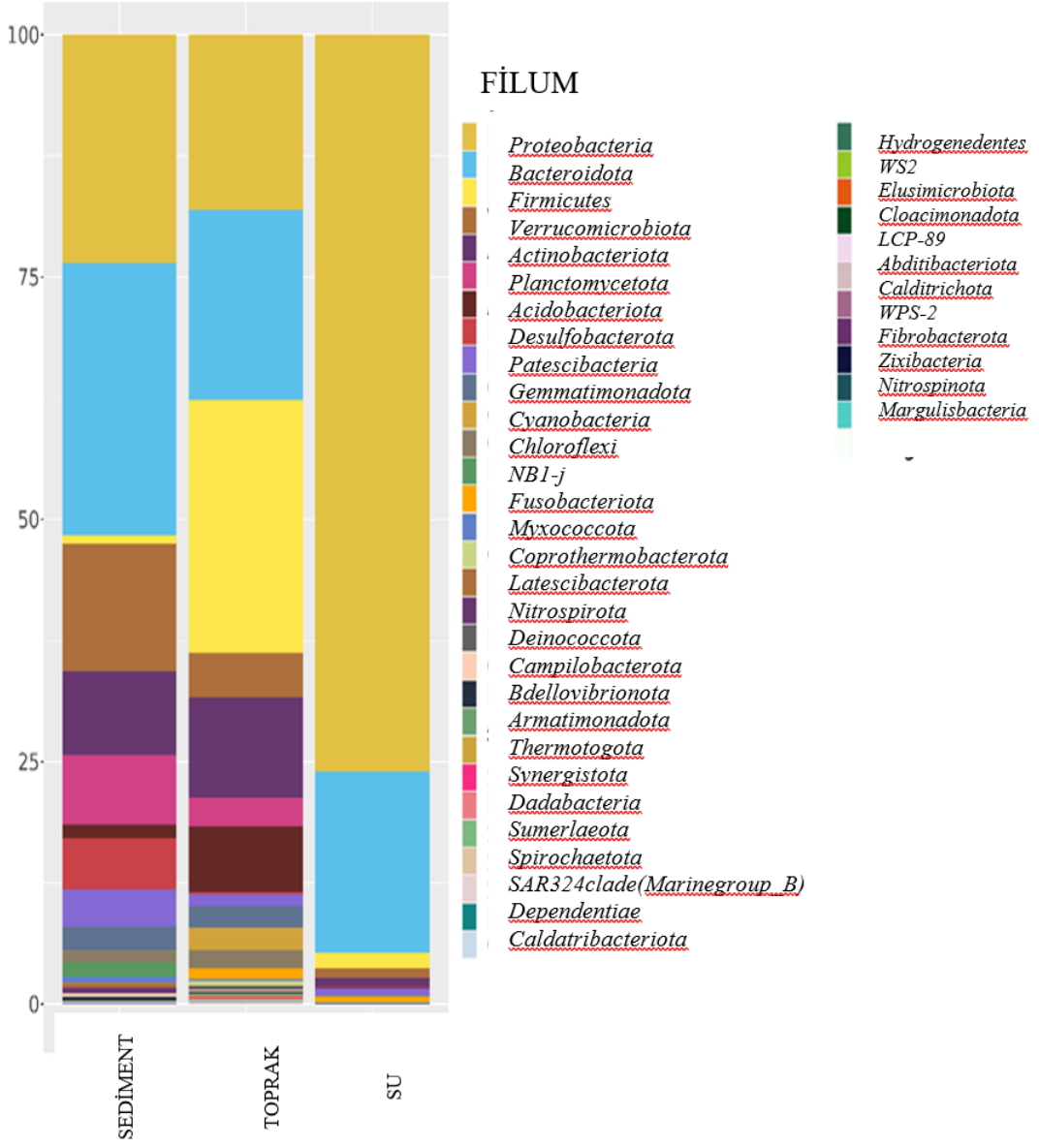
Toprak örneğinde tespit edilen filumların yaygınlık oranları Şekil 3.14'te belirtilmiştir.



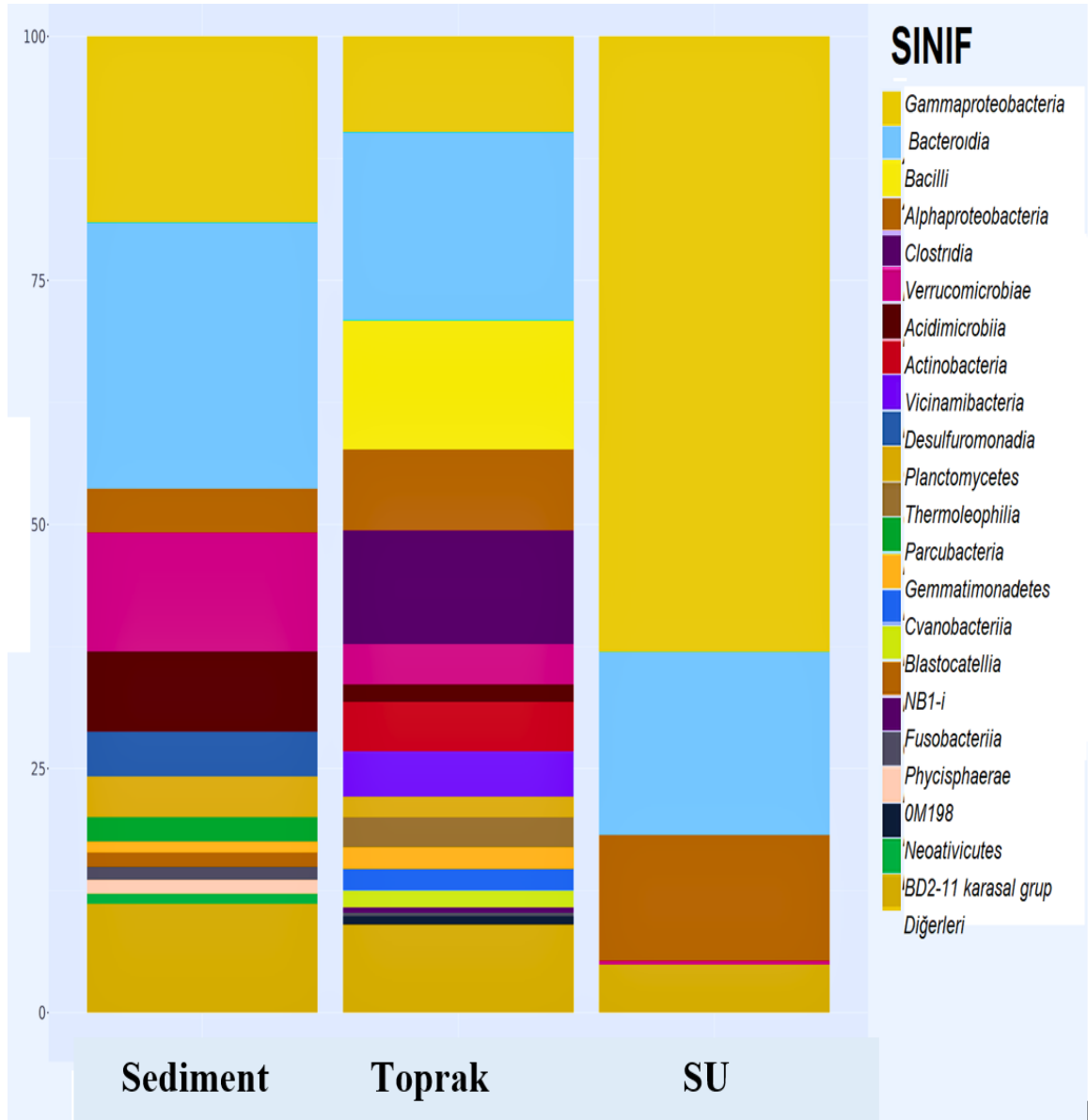
Şekil 3.17. Toprak örneğindeki mikrobiyal taksonların yaygınlık oranları

3.3. Su, Sediment ve Toprak Örneklerinin Karşılaştırılması

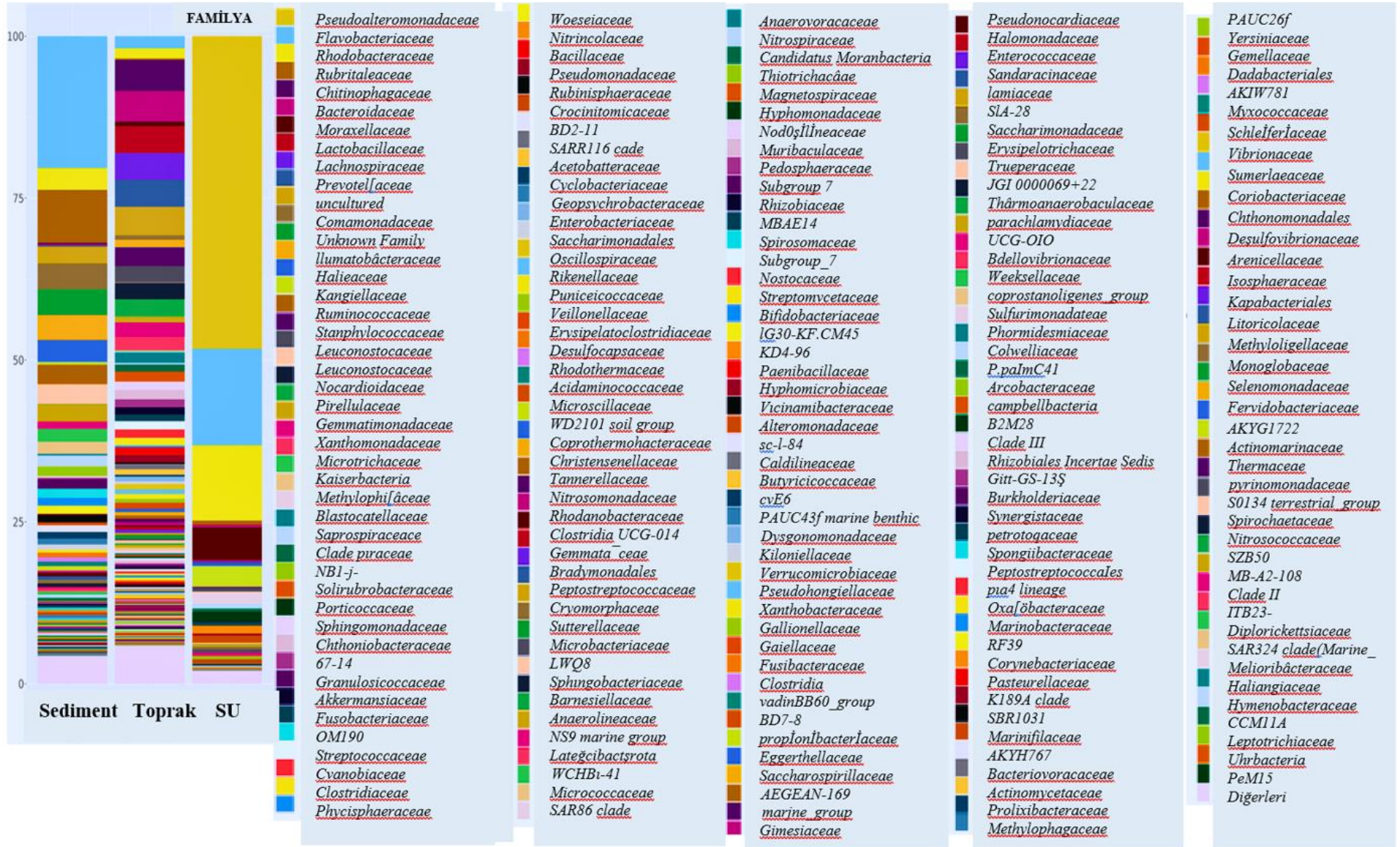
Su, sediment ve toprak örneklerinin mikrobiyal çeşitliliği filum (Şekil 3.18), sınıf (Şekil 3.19), familya (Şekil 3.20), cins (Şekil 3.21) ve tür (Şekil 3.22) düzeylerinde karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.18. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin filum düzeyinde karşılaştırılması



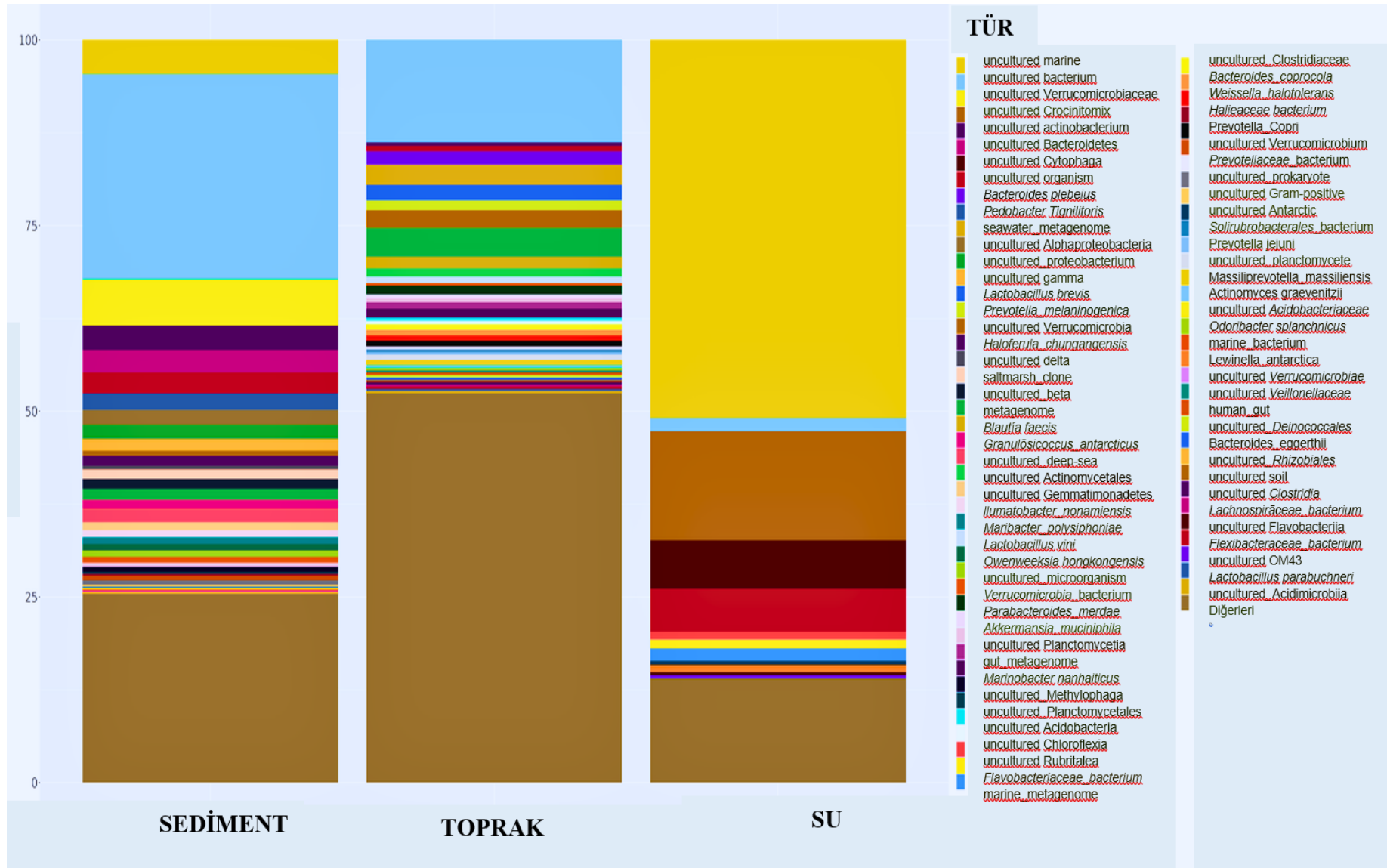
Şekil 3.19. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin sınıf düzeyinde karşılaştırılması



Şekil 3.20. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin familya düzeyinde karşılaştırılması



Şekil 3.21. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin cins düzeyinde karşılaştırılması

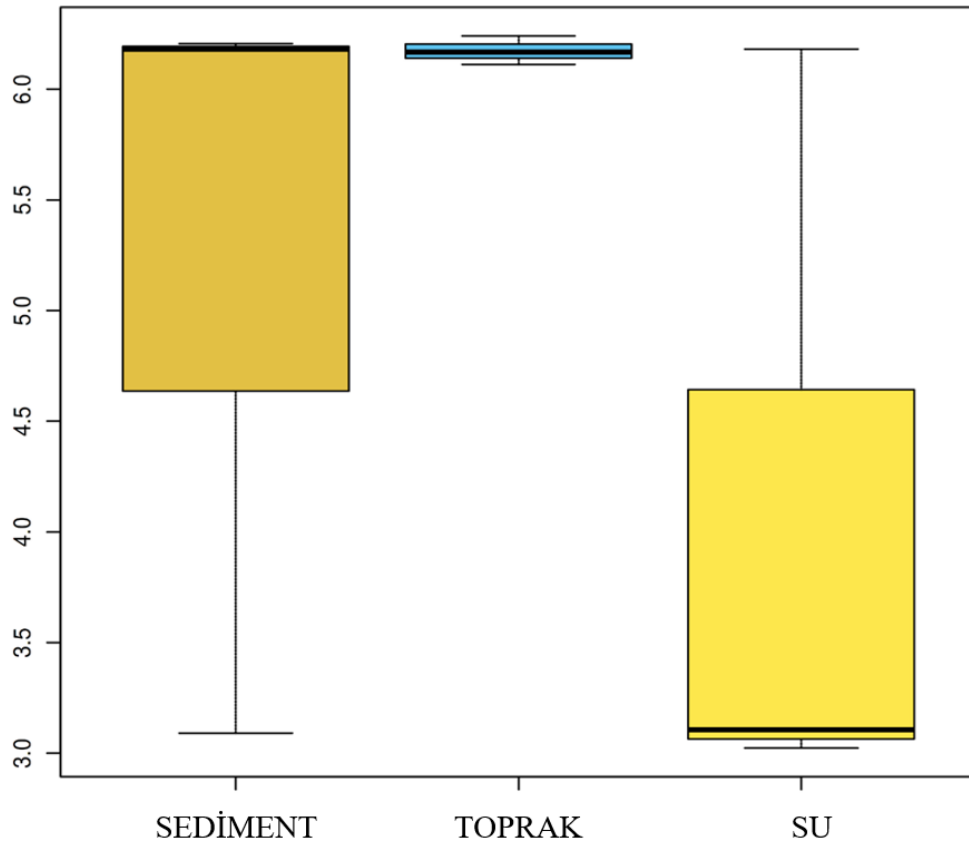


Şekil 3.22. Su, sediment ve toprak örneklerindeki mikrobiyal çeşitliliğin tür düzeyinde karşılaştırılması

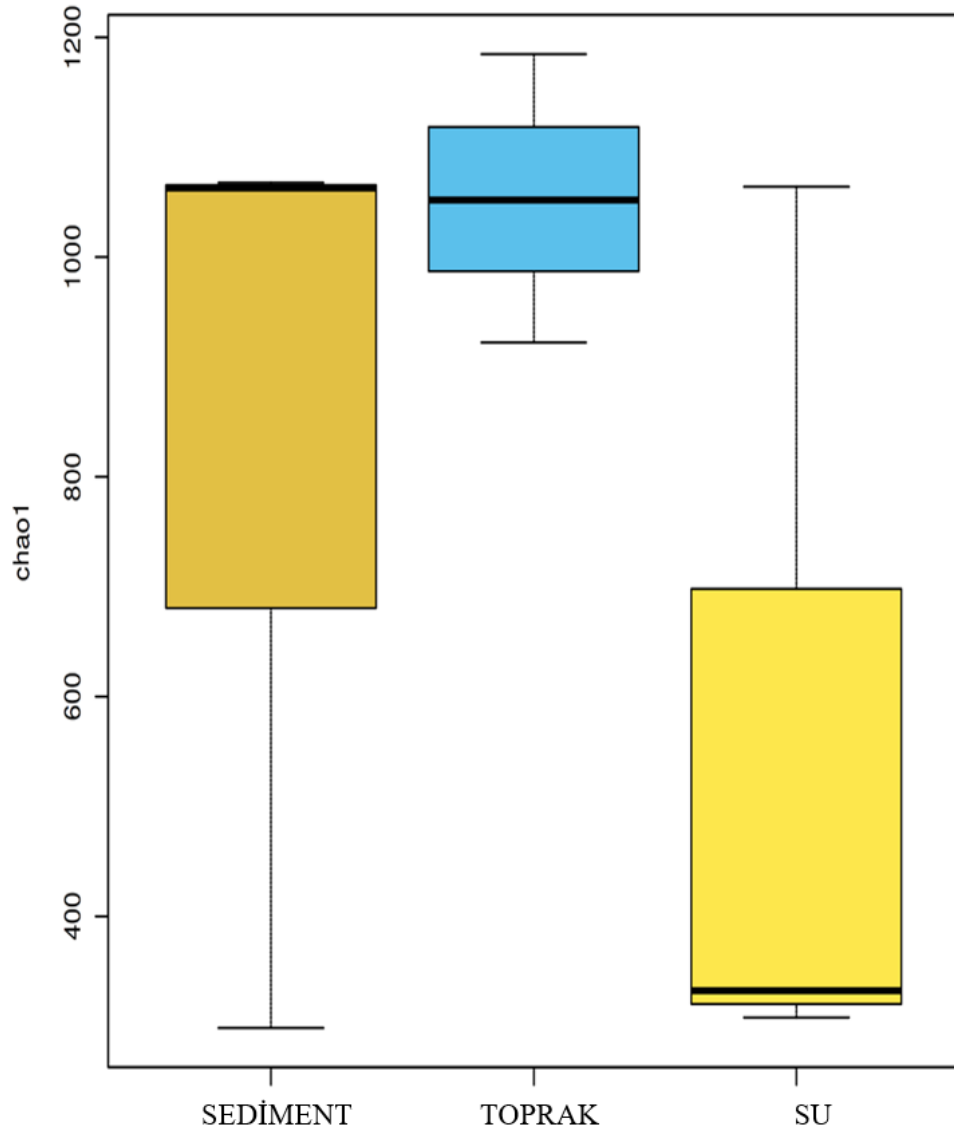
3.4. Alfa çeşitlilik

Alfa çeşitlilik, örnek içerisindeki mikroorganizma çeşitliliğini ifade eder. Shannon metoduna göre yapılan analizde, tür çeşitliliğini ve türlerin birbirleriyle olan bağlantısını görebiliriz. Shannon grafiğindeki sonucu incelediğimizde, sediment ve su örneğinin daha geniş bir şekilde tabloda yer aldığı görülmektedir. Toprak örneği ise daha dar bir şekilde tabloda yer almaktadır. Tabloda görülen kutu grafiğinde siyah kalın çizgi ile görünen çizgi, sediment ve su örneğinde hem kutunun geniş olması hem de çizginin bir kısımda olması tür çeşitliliğinin homojen olarak dağılmadığını göstermektedir.

Alfa çeşitlilik analizlerinde Chao grafiği, tür çeşitliliği miktarını belirtmektedir. Shannon (Şekil 3.23) ve Chao (Şekil 3.24) grafikleri aşağıda verilmektedir.



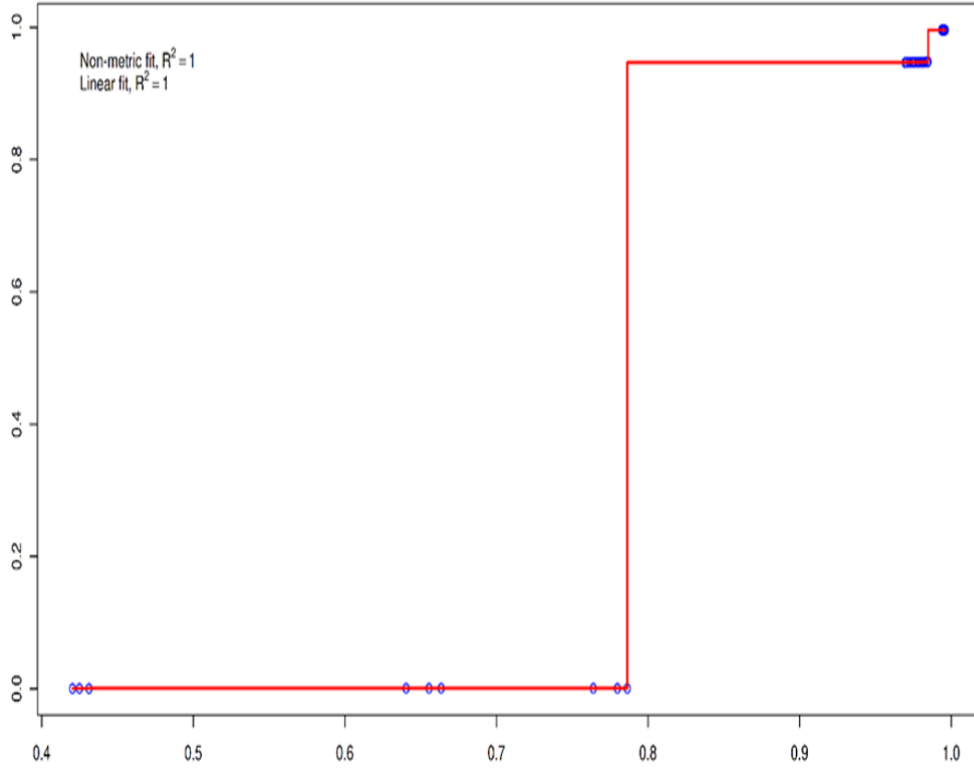
Şekil 3.23. Sediment, toprak ve su örneklerinin Shannon yöntemine göre alfa çeşitlilik analizi



Şekil 3.24. Sediment, toprak ve su örneklerinin Chao yöntemine göre alfa çeşitlilik analizi

3.5. Beta çeşitlilik

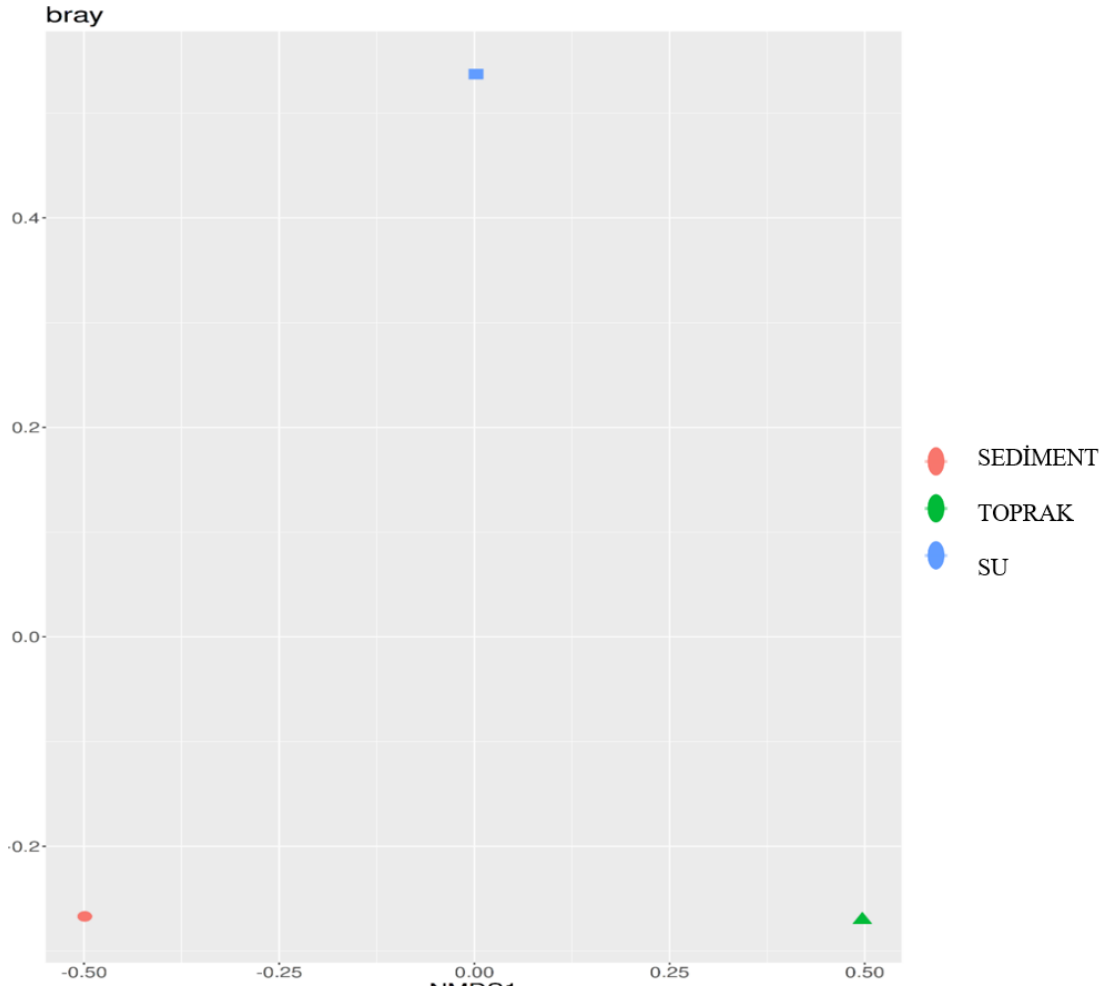
Beta çeşitlilik, farklı örnekler içerisindeki mikrobiyal toplulukların çeşitliliği arasındaki farklılığı ifade eder. Su, sediment ve toprak örneklerinin beta çeşitlilik düzeyini göstermek amacıyla oluşturulan Bray-Curtis grafiğinde R^2 0,8-1,0 arasında olmalıdır. Sonuçlar incelendiğinde bizim örneklerimizin değeri 1,0 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre gruplandırmanın doğruluğu Şekil 3.25'te belirlenmiştir.



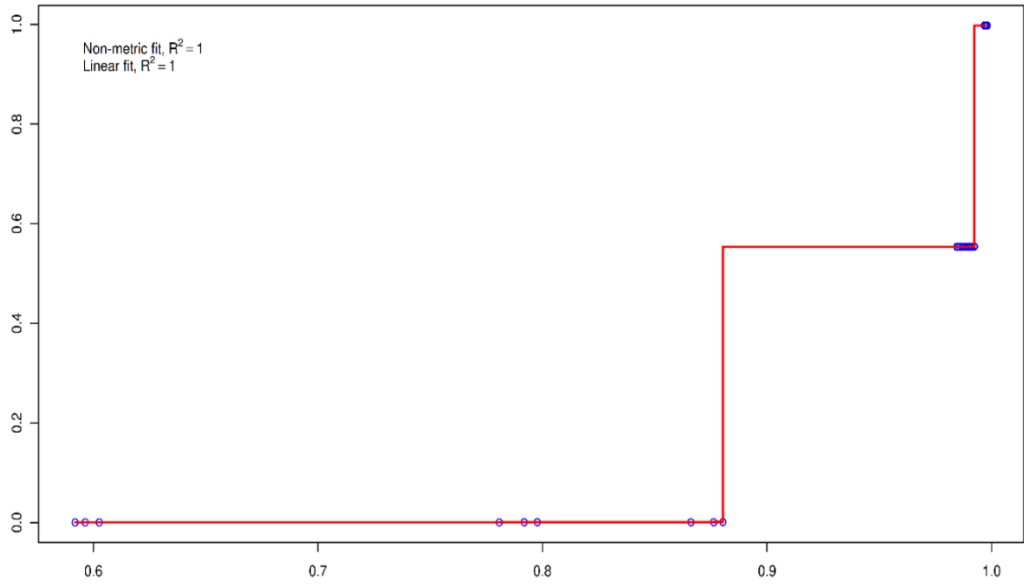
Şekil 3.25. Beta çeşitlilik Bray-Curtis grafiği

Şekil 3.26'daki Bray-Curtis grafiği incelendiğinde su, sediment ve toprak örneklerinin birbirinden bağımsız olduğu açıkça görülmektedir. Birbirlerine yakın olduğu ve beta çeşitlilikte birbirleriyle ortak mikroorganizmaların az olduğu örnek ve numunelerin birbirinden bağımsız olduğu belirlenmiştir.

Jaccard metodu, mikrobiyal topluluklar arasındaki benzerliği ve farklılığı, iki topluluk arasında paylaşılan türlerin sayısına ve her bir topluluğa özgü tür sayılarına dayanarak ölçmektedir. Şekil 3.25'teki Bray-Curtis grafiğinde elde edilen bulgular ile Jaccard analizini gösteren Şekil 3.27'deki bulgular, yüksek düzeyde benzerlik göstermektedir.

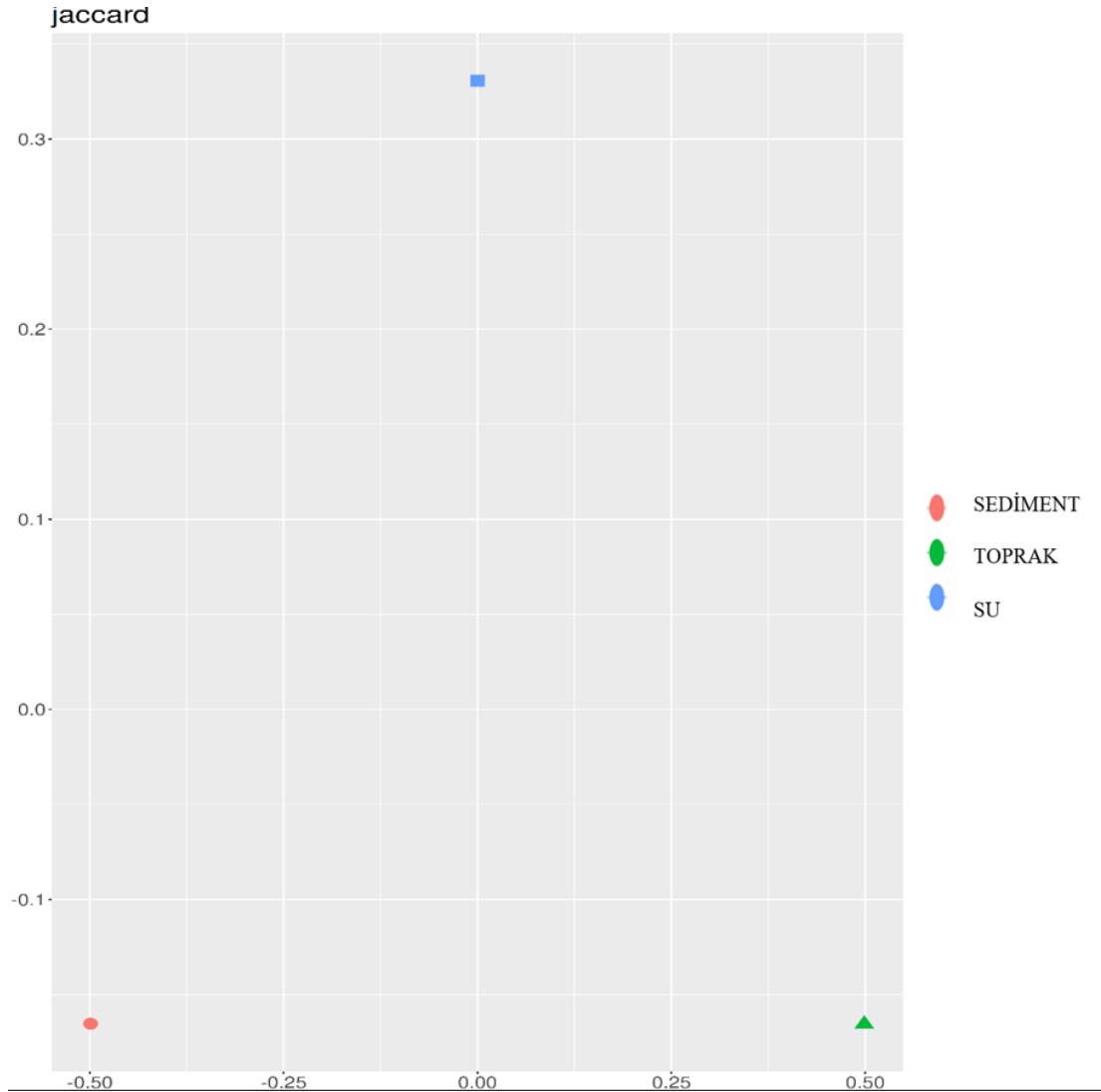


Şekil 3.26. Bray-Curtis yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi



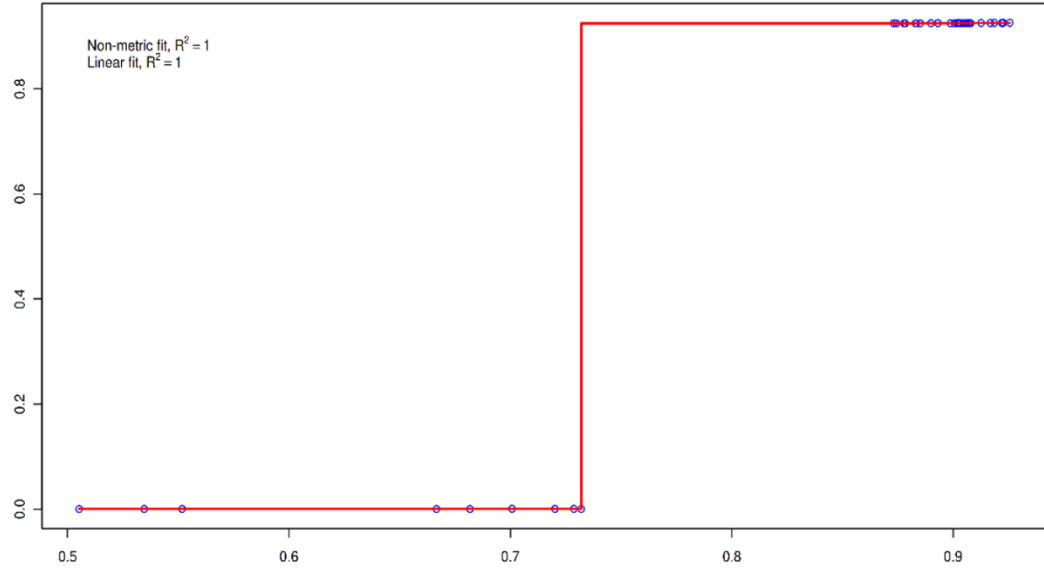
Şekil 3.27. Jaccard grafik tablosunda beta çeşitlilik grafiği

Jaccard grafiğinde de Bray-Curtis grafiği gibi farklı örnekler arasındaki beta çeşitliliği gösteren grafiğe (Şekil 3.28) benzer şekilde, örnekler arasında mikrobiyal bağlantı görülmemiştir.

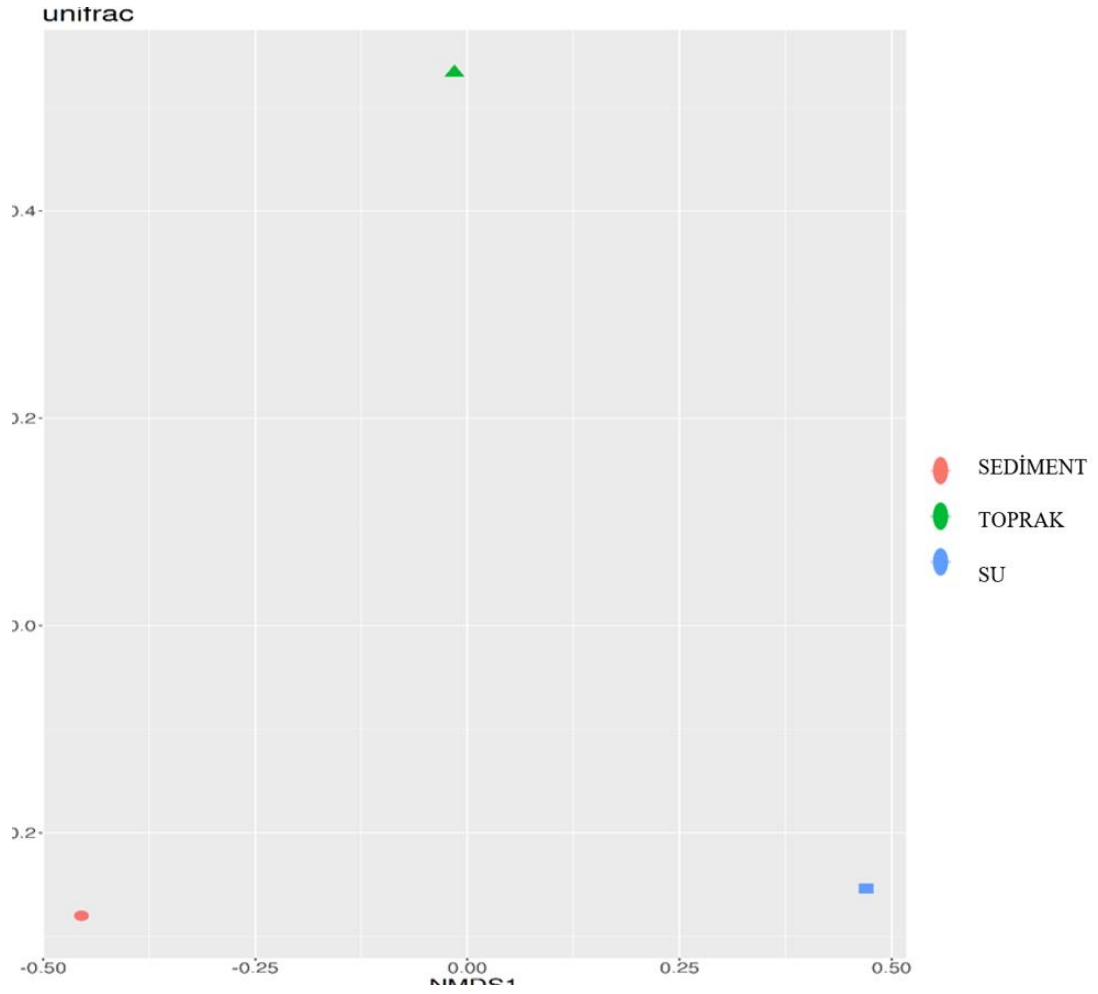


Şekil 3.28. Jaccard yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi

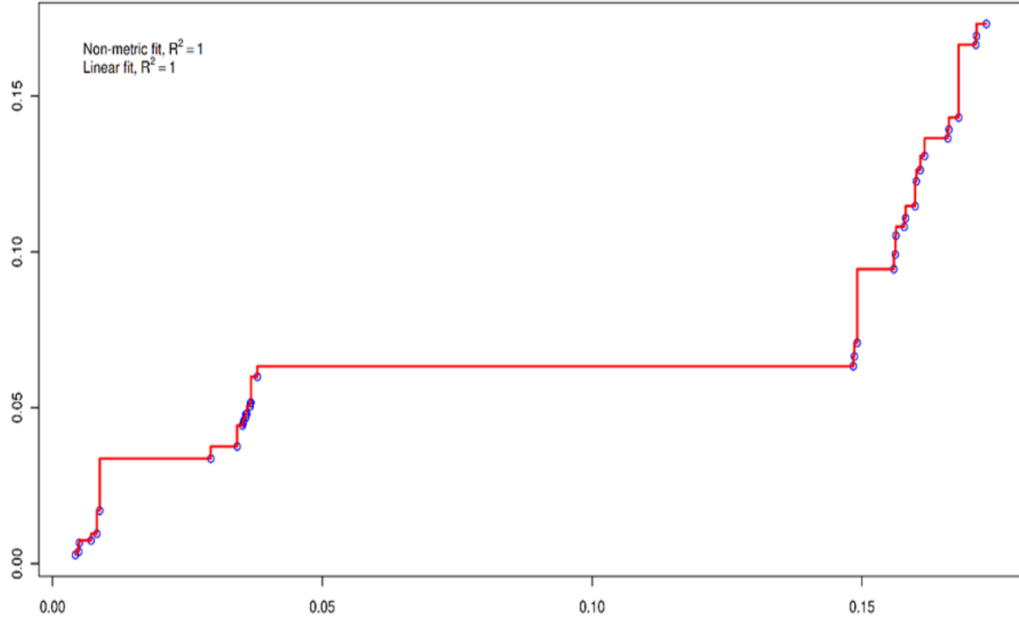
Farklı örneklerin barındırdığı mikrobiyal içerikteki farklılıkların gösterimi ağırlıksız-Unifrac doğruluk tablosu (Şekil 3.29), ağırlıksız-Unifrac grafiği (Şekil 3.30), ağırlıklı-Unifrac doğruluk değeri (Şekil 3.31), ağırlıklı-Unifrac grafiği (Şekil 3.32), PCA grafiği (Şekil 3.33), PCoA grafiği (Şekil 3.34) ile analiz edilmiştir.



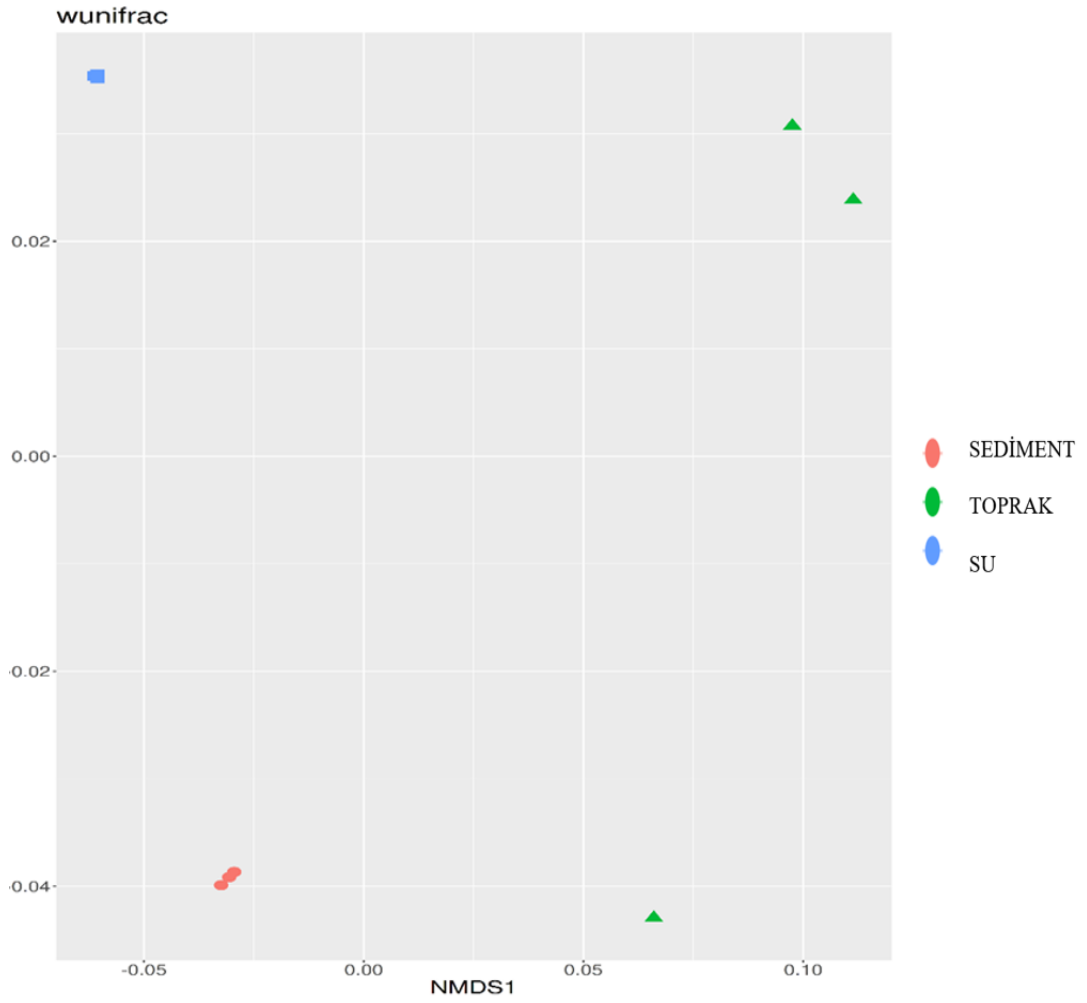
Şekil 3.29. Ağırlıksız-Unifrac doğruluk değeri grafiği



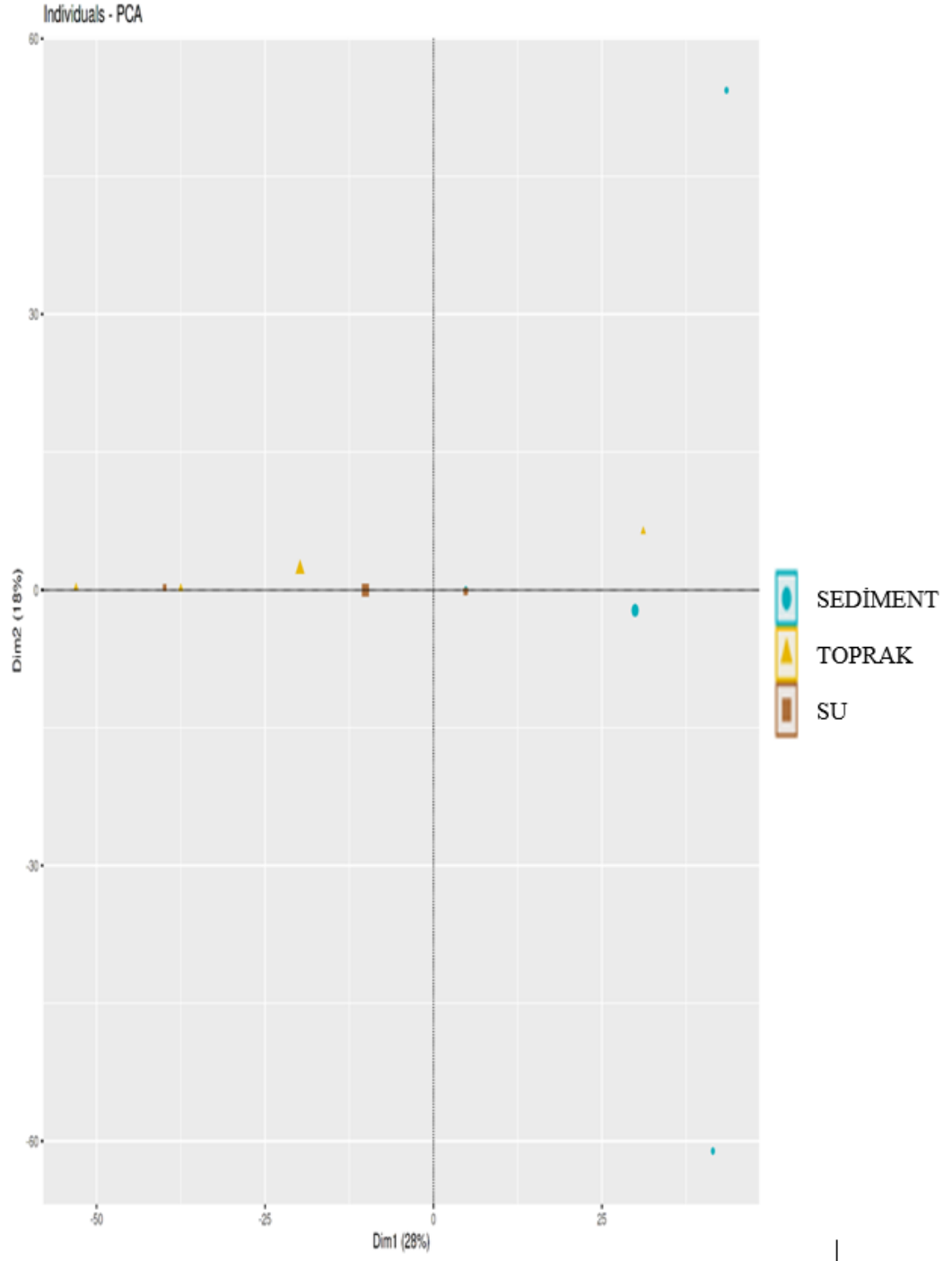
Şekil 3.30. Ağırlıksız-Unifrac grafiği yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi



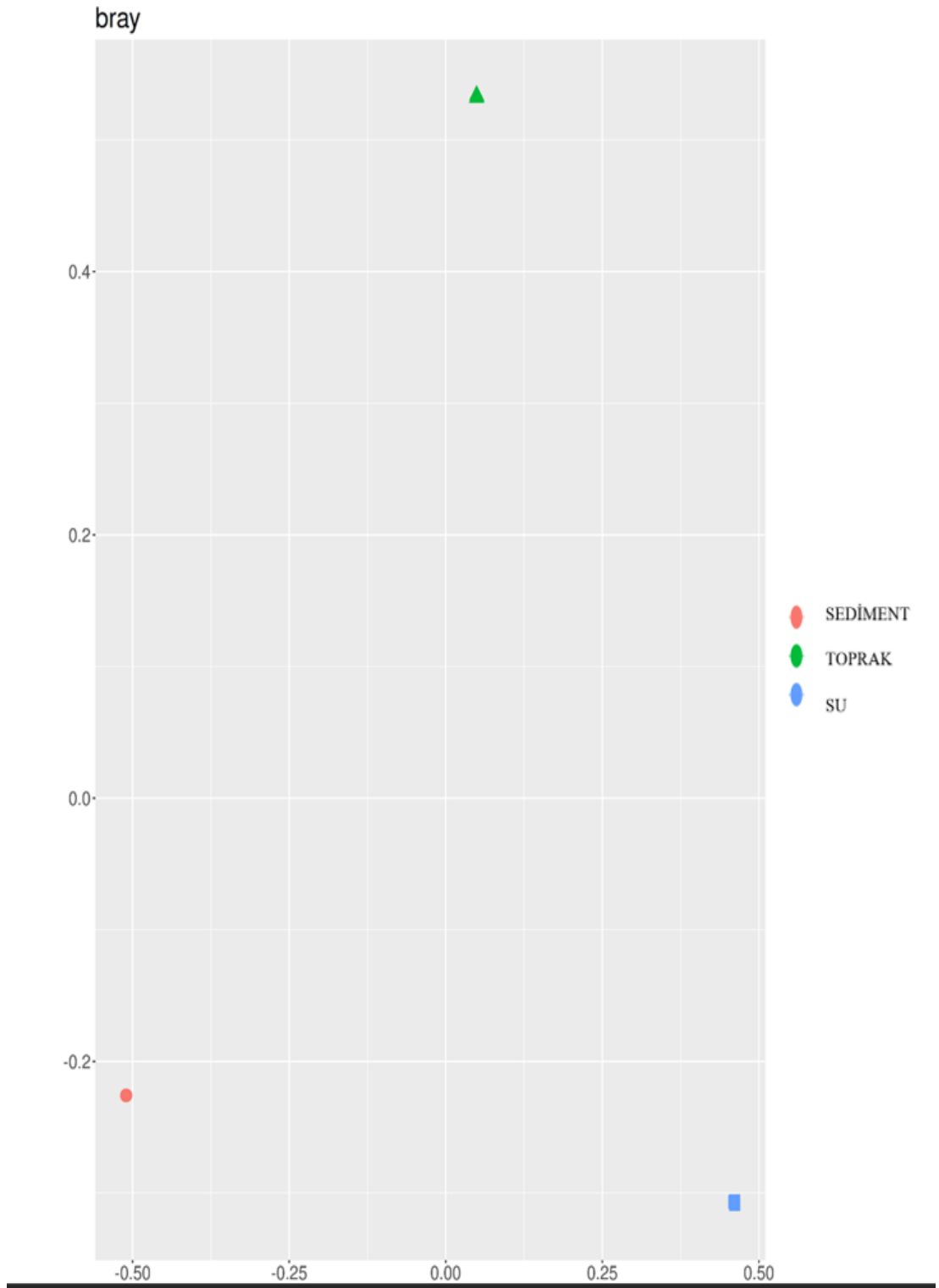
Şekil 3.31. Ağırlıklı-Unifrac doğruluk değeri grafiği



Şekil 3.32. Ağırlıklı-Unifrac grafiği yöntemi ile örneklerin metrik olmayan çok-boyutlu ölçekleme analizi

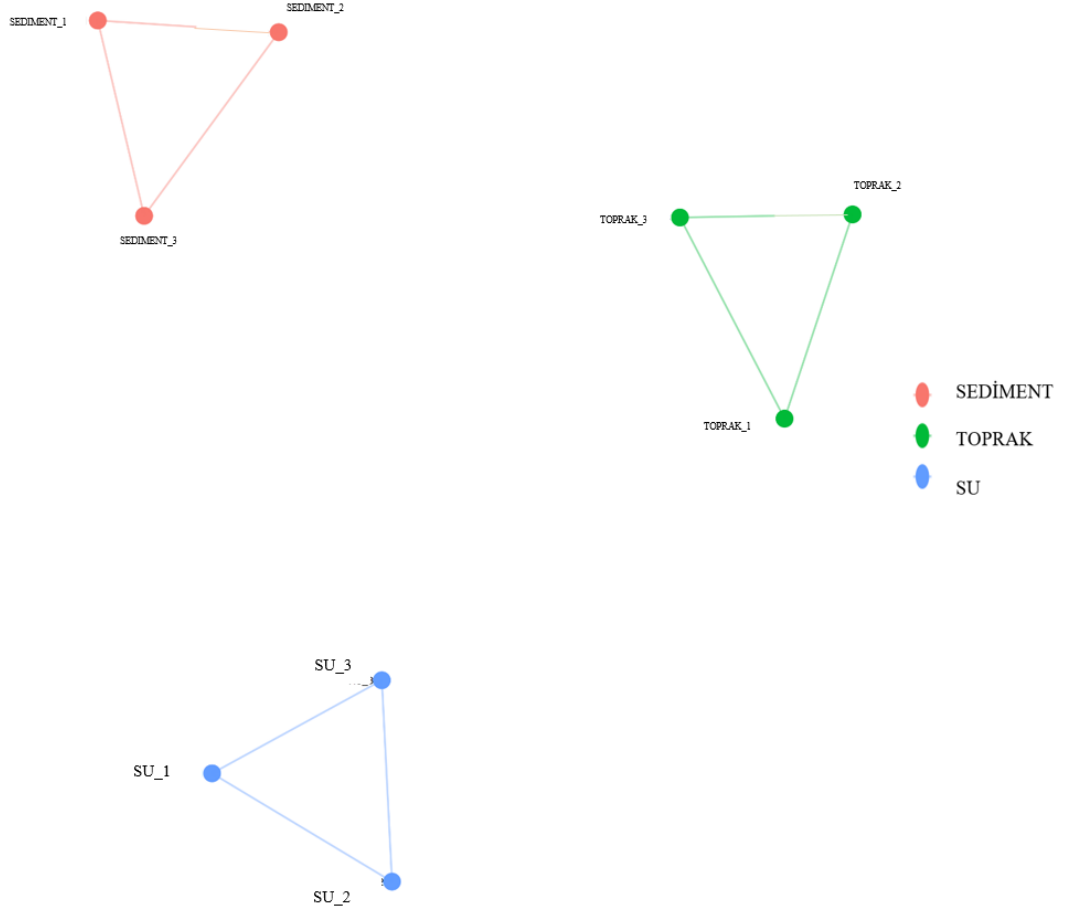


Şekil 3.33. PCA tablosu benzerlik sağlayan mikroorganizmaların çeşitliliğinin gösterimi



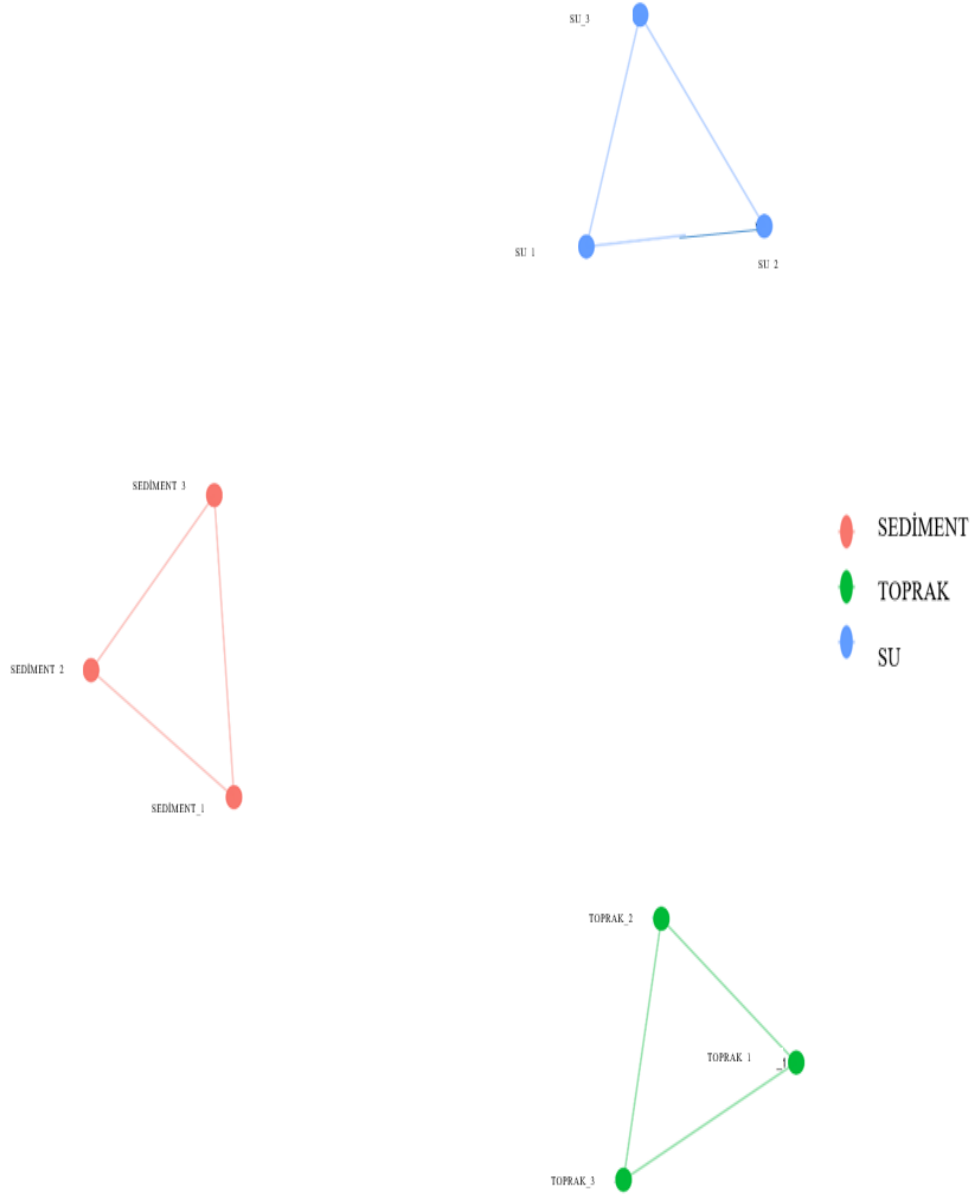
Şekil 3.34. Farklılıkları temel alarak yapılan örnekler arasındaki beta çeşitlilik analizi

Şekil 3.35'teki Bray-Curtis grafiği ve Şekil 3.36'daki Jaccard grafiğinde yapılan tekrarlı dizileme sonuçlarının birbirleri arasındaki ve farklı numuneler arasındaki beta çeşitliliği belirtilmiştir.



Şekil 3.35. Jaccard yöntemi ile örneklerin beta çeşitlilik düzeylerinin karşılaştırılması

Jaccard tablosunda farklı örneklerin arasında hiçbir şekilde mikroorganizma çeşitliliği anlamında önemli düzeyde benzerlik olmadığı görülmektedir.



Şekil 3.36. Bray-Curtis yöntemi ile örneklerin beta çeşitlilik düzeylerinin karşılaştırılması

Bray-Curtis yöntemine göre beta çeşitlilik düzeyleri analiz edilen örneklerin mikrobiyal komüniteleri arasında önemli düzeyde benzerlik olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 3.36).

4. TARTIŞMA

Antarktika Kıtası dünyanın en güneyinde kalan soğuk, kurak özellikleriyle ön plana çıkmış kıta olarak bilinir. Kıtada gerçekleşen sık donma-çözünme olayları, az miktardaki sıvı su miktarı, yüksek seviyedeki UV oranı, bu ekosistemde yaşayan canlılar için aşırı stresli bir ortam yaratmaktadır (Cowan vd., 2014). Ekstrem ortamlar aşırı sıcaklık, aşırı soğukluk, yüksek radyasyon seviyesi gibi fiziksel ve yüksek tuz, toksik maddeler gibi kimyasal faktörleri içerisinde bulundurur. Çevrenin ekstrem karakteri, iklim ve jeolojik hareketler gibi çevresel faktörlerin yanı sıra beşeri faktörlerin etkisiyle de oluşmaktadır. Bu ve buna benzer çeşitli ekstrem koşullarda yaşamsal faaliyetlerini sürdüren mikroorganizmaların araştırılması, tanımlanması ve literatüre kazandırılması önemli bir çalışma alanı haline gelmiştir (Torsvik vd., 2008). Kutup bölgelerinde yaşamsal faaliyetlerini sürdüren mikroorganizmalar aşırı soğuklara, değişken sıcaklık değerlerine dirençli ve bölgeye adapte olmalıdırlar. Yaşam şartları elverişsiz olmasına rağmen ekstrem koşullarda yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilen mikroorganizmalar bulunmaktadır (Malard vd., 2018). Antarktika Kıtası, hızlı ve sert rüzgarları, yaz ve kış mevsimi arasındaki UV miktarı, düşük sıcaklıkları ve az miktarda yağış alması gibi özellikleri bakımından benzer şartlara sahip ortamlardan daha fazla mikroorganizma çeşitliliği göstermektedir (Dennis vd., 2012; Yergeau vd., 2007).

Analiz sonuçlarına göre su örneğinden filum düzeyinde *Actinomycetota* (%0,918), *Bacteroidota* (%18,746), *Bdellovibrionota* (%0,075), *Campilobacterota* (%0,098), *Chloroflexota* (%0,021), *Cloacimonadota* (%0,003), *Coprothermobacterota* (%0,005), *Cyanobacteriota* (%0,025), *Thermodesulfobacteriota* (%0,031), *Bacillota* (%1,597), *Fusobacteriota* (%0,595), *Gemmatimonadota* (%0,003), *Latescibacterota* (%0,001), *Margulisbacteria* (%0,001), *Myxococcota* (%0,002), *Patescibacteria* (%0,754), *Planctomycetota* (%0,109), *Pseudomonadota* (%76,035), *Spirochaetota* (%0,016), *Synergistota* (%0,002), *Verrucomicrobiota* (%0,958), filumları belirlenmiştir. Ayrıca toplamda 173 familya üyesi tespit edilmiştir. En çok *Pseudoalteromonadaceae* (%48,308) üyelerinin bulunduğu belirlenmiştir. Sonrasında sırasıyla *Flavobacteriaceae* (%14,966), *Rhodobacterales* (%11,559) temsilcileri tespit edilmiştir. Su örneğinden toplamda 208 cins tespit edilmiştir. En çok tespit edilen cinsler ise *Pseudoalteromonas* (%55,119), *Polaribacter* (%10,768), *Sulfitobacter* (%6,801),

Psychrobacter (%5,771)'dir. Su örneğinde %51,646 oranında kültüre edilmemiş deniz bakterileri tespit edilmiştir.

İncelenen sediment örneğinde filum düzeyinde *Acidobacteriota* (%1,373), *Actinomycetota* (%8,713), *Armatimonadota* (%0,006), *Bacteroidota* (%28,175), *Bdellovibrionota* (%0,39), *Caldatribacteriota* (%0,001), *Calditrichota* (%0,022), *Campilobacterota* (%0,424), *Chloroflexota* (%1,082), *Cyanobacteriota* (%0,055), *Dadabacteria* (%0,012), *Deinococcota* (%0,022), *Thermodesulfobacteriota* (%5,374), *Elusimicrobiota* (%0,04), *Fibrobacterota* (%0,023), *Bacillota* (%0,737), *Gemmatimonadota* (%2,483), *Hydrogenedentes* (%0,05), *Latescibacterota* (%0,532), *Myxococcota* (%0,662), *Nitrospinota* (%0,002), *Nitrospirota* (%0,502), *Patescibacteria* (%3,843), *Planctomycetota* (%7,132), *Pseudomonadota* (%23,521), *Spirochaetota* (%0,079), *Sumerlaeota* (%0,004), *Verrucomicrobiota* (%13,185), *Zixibacteria* (%0,022). Sediment örneğinde 86 sınıf tespit edilmiştir. En çok üyesi bulunan sınıflar *Bacteroidia* (%27,281), *Gammaproteobacteria* (%19,073), *Verrucomicrobiotae* (%12,193), *Desulfuromonadia* (%4,624), *Alphaproteobacteria* (%4,445), *Planctomycetota* (%4,109)'dir. Sediment örneğinde 264 familya tespit edilmiştir. En çok üyesi bulunan familyalar şunlardır; *Flavobacteriaceae* (%20,372), *Rubritaleaceae* (%8,175), *Comamonadaceae* (%4,004), *Ilumatobacteraceae* (%3,799), *Haliaceae*(3,441), *Rhodobacteraceae*(%3,312), *Pirellulaceae*(%2,63). 332 cins tespit edilmiştir. Bu cinsler arasında en çok üyesi bulunan cinsler şu şekilde sıralanmıştır; *Ilumatobacter*(%4,947), *Flavobacterium* (%3,366), *Maribacter*(%3,184), *Luteolibacter* (%2,948). En çok tespit edilen cins ise %16,174 oranıyla kültüre edilmemiş bakteri cinsleridir. Toplamda 122 adet tür düzeyinde belirleme yapılmıştır: *uncultured_bacterium* (%34,587), *uncultured_Verrucomicrobiotaceae* (%6,248), *uncultured_marine* (%5,59), *uncultured_organism* (%4,325), *uncultured_deep-sea* (%3,4), *uncultured_Bacteroidota* (%3,382), *uncultured_actinobacterium* (%3,313), *uncultured_Alphaproteobacteria* (%2,422), *uncultured_proteobacterium* (%2,374), *Pedobacter lignilitoris* (%2,253)'dir.

Toprak örneğinden yapılan analiz sonuçlarına göre tespit edilen filumlar *Abditibacteriota* (%0,02), *Acidobacteriota* (%6,808), *Actinomycetota* (%10,335), *Armatimonadota* (%0,199), *Bacteroidota* (%19,611) , *Bdellovibrionota* (%0,155), *Caldatribacteriota* (%0,035), *Calditrichota* (%0,011), *Campilobacterota* (%0,216),

Chloroflexota (%1,879), *Cloacimonadota* (%0,029), *Coprothermobacterota* (%0,526), *Cyanobacteriota* (%2,25) *Dadabacteria* (%0,06), *Deinococcota* (%0,341) *Dependentiae* (%0,05), *Thermodesulfobacteriota* (%0,155), *Elusimicrobiota* (%0,008), *Fibrobacterota* (%0,002), *Bacillota* (%26,17), *Fusobacteriota* (%1,094), *Gemmatimonadota* (%2,261), *Hydrogenedentes* (%0,025), *Latescibacterota* (%0,016), *Myxococcota* (%0,163), *Nitrospirota* (%0,067), *Patescibacteria* (%1,24), *Planctomycetota* (%2,986), *Pseudomonadota* (%18,027), *Spirochaetota* (%0,066), *Sumerlaeota* (%0,135), *Synergistota* (%0,141), *Thermotogota* (%0,205), *Verrucomicrobiota* (%4,572), *Zixibacteria* (%0,003)'dır. Toprak örneğinde 99 adet sınıf düzeyinde tespit edilen mikrobiyal takson bulunmaktadır. En çok üyesi bulunan sınıflar sırasıyla; *Bacteroidia* (%19,33), *Bacili* (%13,226), *Clostridia* (%11,715), *Gammaproteobacteria* (%9,774), *Alphaproteobacteria* (%8,253)'dır. Toprak örneklerinden 359 adet familya tespit edilmiştir. En çok üyesi görülen familyalar sırasıyla; *Chitinophagaceae* (%4,8), *Bacteroidaceae* (%4,749), uncultured (%4,674), *Lachnospiraceae* (%4,175), *Prevotellaceae* (%4,168), *Lactobacillaceae* (%4,154), *Ruminococcaceae* (%2,889), *Nocardoidaceae* (%2,719), *Leuconostocaceae* (%2,566), *Staphylococcaceae* (%2,521), *Gemmatimonadaceae* (%2,198), *Xanthomonadaceae* (%2,09)'dir. Toprak örneğinden toplamda 545 cins tespit edilmiştir. En çok üyesi tespit edilen cinsler şu şekildedir; uncultured (%17,009), *Bacteroides* (%5,911), *Lactobacillus* (%4,834), *Prevotella* (%4,282), *Macrococcus* (%2,582), *Leuconostoc* (%2,207), *Faecalibacterium* (%2,059).

Alfa çeşitlilik belirlenmesi için Shannon ve Chao grafikleri oluşturulmuştur. Shannon grafiğine göre toprak örneği, su ve sediment örneklerine göre çok daha fazla mikrobiyal çeşitlilik göstermiştir. Ardından sediment örneği gelirken, en az mikroorganizma çeşitliliği gösteren numune su örneği olmuştur. Numunelerin filum, sınıf, familya, cins, tür dağılımları incelendiğinde sonuçlar birbirlerini doğrulamaktadır. Chao grafiği incelendiğinde ise Shannon grafiğiyle örtüştüğü görülmüştür. Mikroorganizma miktarı ve çeşitliliği toprak örneğinde en çok iken sonrasında sediment, en az ise su örneğinde mikroorganizma çeşitliliği görülmektedir.

Beta çeşitlilik için Bray-Curtis, Jaccard, ağırlıklı/ağırlıksız-Unifrac, PCoA (temel koordinatlar analizi) grafikleri oluşturulmuştur. Numunelerden elde edilen mikroorganizmaların farklı numunelere ait olduğunu belirten doğruluk değerleri elde

edilmiştir. Bray-Curtis, Jaccard, Unifrac ve PCoA grafikleri incelendiğinde birbiriyle tamamen örtüştüğü görülmektedir.

Pearce vd. (2012) tarafından yapılan göl ve toprak örneklerinden metagenomik analiz çalışmasında *Nocardioides* sp., *Actinomycetota*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Halobacterium* sp., halofilik arke, *Chromohalobacter salexigens*, *Phytophthora sojae* ve bir bitki patojeni gibi fototroflar ve halotolerant organizmalarla eşleşmeler vermiştir. Ayrıca analiz sonuçlarına göre *Pseudomonadota* 320 cins (%48,7), *Actinomycetota* 78 cins (%10,6), *Bacillota* 85 cins (%7,9), *Bacteroidota* 21 cins (%5,9), *Planctomycetota* 3 cins (%4,7), *Acidobacteriota* 2 cins (%4,0), *Cyanobacteriota* 26 cins (%3,4), *Verrucomicrobiota* 2 cins (%3,1) ve *Chloroflexota* 9 cins (%2,3) ile temsil edilmiştir. Waschulin vd. (2021), Mars Oasis bölgesinden alınan toprak örneklerinden *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota* ve *Gemmatimonadota* gibi büyük oranda kültürlenmemiş ve tanımlanması az yapılmış olan filumların temsilcilerini tespit etmişlerdir. Ayrıca bu habitatta tespit edilen biyosentetik gen kümelerinin yaklaşık %60'ının *Actinomycetota*, *Pseudomonadota* ve *Bacteroidota* üyeleri ile temsil edildiği belirlenmiştir. Vyverman vd. (2010) ve Cary vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada kurak bölgelerde tespit edilen *Gloeocapsa* cinsi ile yine kurak vadilerden izole edilen *Arthrobacter*, *Brevibacterium* ve *Corynebacterium* aktinobakterilerin, 'Kuzey Victoria Land'de belirlenen bölgede ise termofilik bakterileri, ayrıca *Bacteroidota* (%8), *Cyanobacteriota* (%4,5), *Betaproteobacteria* (%4,5), *Gammaproteobacteria* (%9,5), *Alphaproteobacteria* (%6,5), *Deltaproteobacteria* (%2,5), *Acidobacteriota* (%15,5), *Chloroflexota* (%2,5), *Gemmatimonas* (%12,5), *Actinomycetota* (%20,5), *Planctomycetota* (%3) filumları tespit edilmiştir. Cary vd. (2010) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda; *Acinetobacter* spp., *Alicyclobacillus acidocaldarius*, *Aquaspirillum* spp., *Arthrobacter* spp., *Azospirillum* spp., *Bacillus* spp., *Bacillus fumarioli*, *Bacillus thermoantarcticus*, *Bizionia argentinensis*, *Brevibacterium* spp., *Brevibacterium antarcticum*, *Brevundimonas* spp., *Chryseobacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Flavobacterium* spp., *Gloeocapsa* spp., *Hymenobacter roseosalivarius*, *Leptolyngbya frigida*, *Massilia* spp., *Micrococcus* spp., *Modestobacter multiseptatus*, *Neisseria* spp., *Nocardia* spp., *Nostoc commune*, *Paenibacillus* spp., *Planococcus* spp., *Pseudonocardia antarctica*, *Pseudomonas* spp., *Psychrobacter* spp., *Sphingobacterium* spp., *Staphylococcus* spp.,

Stenotrophomonas spp., *Streptococcus* spp. ve *Streptomyces* spp cinsleri tanımlanmıştır.

Adams vd. (2006) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda Antarktika topraklarında *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria* ve *Pseudomonas* cinslerine ait bakterileri tespit etmişlerdir. Rogers vd. (2013) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda buz gölünden alınan suyun analizleri sonucu denizde yaşayan mikroorganizmaların varlığını gölde tespit etmiştir. Tespit edilen taksonomik birimlerin çoğunluğunun psikrofilik veya psikrotolerant mikroorganizmalarla benzerlik gösterildiği bildirilmiştir. Ayrıca *Psychrobacter* türlerine yakın olarak 33 benzersiz dizi tespit edilmiştir. Ayrıca *Actinomycetota*, *Archaea*, *Bacteroidota*, *Bacillota*, *Chromalveolata* taksonomik gruplarına ait diziler bulunarak literatüre kazandırılmıştır. Chan vd. (2013) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda Gram-pozitif özelliği olan *Bacillota* üyeleri yaygın olarak belirlenmiştir. Topraktaki mikrobiyal biyoçeşitliliği ortaya çıkarmak amacıyla yapılan metagenomik çalışmalar, bu tür ortamlardan yapılan kültüre edilen mikroorganizmalara kıyasla daha fazla mikroorganizma çeşitliliği bulunduğunu göstermiştir. Babalola vd. (2009) ve Makhalanyane vd. (2013) tarafından metagenomik çalışmalar sonucunda psikrofilik olmayan *Acidobacteriota* ve *Verrucomicrobiota* gibi gruplar tanımlanmıştır. Diğer bir sonuç ise diğer toprak habitatlarında olduğu gibi Antarktika topraklarında da *Actinomycetota* ve *Pseudomonadota* gibi taksonlarla karşılaşılmıştır. Baeza vd. (2017) tarafından Mars Vahası örneklerine yapılan metagenomik analizler sonucu *Pseudomonadota* ve *Actinomycetota* filumlarına ait cinsler tespit edilmiştir. Doğu Antarktika'daki Rus istasyonlarına yakın yüzeylerde ise *Flavobacterium* cinsine ait kanıtlar elde edilmiştir. Yapılan çalışmada güneyde yer alan Shetland Takım Adaları ve Enion Buzulu'ndan alınan örneklerle metagenomik çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda Antarktika Kıtası'nda en çok görülen *Lecanoromycetes* ve *Eurotiomycetes* mantarlarına rastlanmıştır. Ayrıca daha önce kültürle bağımlı çalışmalarda bulunamayan 37 yeni mantar cinsine bu çalışmalar sonucunda rastlanmıştır.

Antarktika Horseshoe Adası mikrobiyal biyoçeşitliliğinin metagenomik yaklaşımla analizini amaçlayan bu çalışmada elde edilen bulgular, literatürde elde edilen sonuçlarla yüzdesel farklarla beraber oldukça benzerlik göstermiştir. Toprak, sediment ve su örneğinde tespit edilen mikrobiyal taksonların büyük bir

bölümü kozmopolit dağılım gösterirken, bazı taksonların Antarktika, Arktik veya benzer fizikokimyasal şartlara sahip habitatlarda dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Alınan numunelerden yapılan metagenomik analizlerin sonuçları incelendiğinde henüz kültüre edilmemiş mikroorganizmaların varlığı yüksek olarak görülmüştür. Bu durumdan kültüre bağlı çalışmaların henüz yeterli olmadığı; Antarktika, Horseshoe Adası'nda tanımlanmayı bekleyen pek çok mikroorganizma olduğu sonucu çıkarılmaktadır.

5. SONUÇ

Alınan numunelerin yapılan metagenomik analizleri sonucunda filum düzeyinde en çok *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, *Firmucutes*; sınıf düzeyinde en çok *Bacteroidia* ve *Gammaproteobacteria*; familya düzeyinde en çok *Pseudoalteromonadaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Chitinophagaceae*; cins düzeyinde en çok *Bacteroides*, *Ilumatobacter*, *Pseudoalteromonas* ve henüz kültür edilmemiş cinsler olduğu belirlendi.

Bu çalışma ile, Antarktika Horseshoe Adası'nın mikrobiyal biyoçeşitliliği ilk kez ortaya çıkarılmıştır. Analizi yapılan toprak, sediment ve su örneklerinde kültüre dayalı izolasyon çalışmaları ile elde edilmiş olan mikroorganizmalar tespit edilmiş olmakla birlikte, mikrobiyal biyoçeşitliliği oluşturan organizmaların büyük çoğunluğunun henüz izole edilemediği görülmüştür. Ayrıca, sadece kutup ekosistemleri gibi aşırı soğuk ortamlarda bulunan mikroorganizmaların Antarktika Horseshoe Adası'nda da tespit edilmiş olması, bu tür mikroorganizmaların düşük sıcaklık, yüksek UV gibi stres koşullarına karşı benzer adaptasyon mekanizmaları geliştirdiklerini düşündürmektedir. Buna bağlı olarak, Antarktika gibi ekstrem fizikokimyasal özelliklere sahip habitatlardan izole edilmesi planlanan mikroorganizmalar için farklı izolasyon stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

6. KAYNAKÇA

- Adams, B. J., Bardgett, R. D., Ayres, E., Wall, D. H., Aislabie, J., Bamforth, S., . . . Stevens, M. I. (2006). Diversity and distribution of Victoria Land biota. *38(10)*(3003-3018).
- Aird, D., Ross, M. G., ve Chen, W. S. (2011). Analyzing and minimizing PCR amplification bias in Illumina sequencing libraries. *12*:(1-14).
- Amann, R. I., Ludwig, W., ve Schleifer, K. H. (1995). *Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation*. *59(1)*:143-169: Microbiological Reviews.
- Amman, R. I., Binder, B. J., Olson, R. J., Chisholm, S. W., Devereux, R., ve Stahl, D. A. (1990). Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *56(6)*(1919-25).
- Ayling, M., Clark, M. D., ve Leggett, R. M. (2019). New approaches for metagenome assembly with short reads. *21(2)*584-94.
- Babalola, O. O., Kirby, B. M., Le Roes-Hill, M., Cook, A. E., Cary, S. c., Burton, S. G., ve Cowan, D. A. (2009). Phylogenetic analysis of Actinomycetotal populations associated with Antarctic Dry Valley mineral soils. *Environ Microbiol*, *11*:566-576.
- Baeza, M., Barahona, S., Alcaïno, J., ve Cifuentes, V. (2017). Amplicon-Metagenomic Analysis of Fungi from Antarctic Terrestrial Habitats.
- Barrett, J. E. (2004). Variation in biogeochemistry and soil biodiversity across spatial scales in a polar desert ecosystem. *85*(3105-3118).
- Bartlett, J. M., ve Stirling, D. (2003). A short history of the polymerase chain reaction. *226*(3-6).
- Blevins, S. M., ve Bronze, M. S. (2010). Robert Koch and the “golden age” of bacteriology. (e744-e751).
- Bolger, A. M., Lohse, M., ve Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *30(15)*2114-2120.
- Browne, H. P., Forster, S. C., Anonye, B. O., Kumar, N., Neville, A. B., Stares, M. D., . . . Lawley, T. D. (2016). Culturing of 'unculturable' human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *533(7604)*:543-46.
- Cary, S., McDonald, I., Barrett, J., ve Cowan, D. (2010). On the rocks: the microbiology of Antarctic Dry Valley soils. *Nat Rev Microbiol*, *8*:129-138.
- Cavaco, M. A., Louis, V. L., Engel, K., Pierre, K. A., Schiff, S. L., Stibal, M., ve Neufeld, J. D. (2019). Freshwater microbial community diversity in a rapidly changing High Arctic watershed. *95*:11.
- Cavicchioli, R. (2015). Microbial ecology of Antarctic aquatic systems.
- Chan, Y., Van Nostrand, J. D., Zhou, J., Poiting, S. B., ve Farrell, R. L. (2013). *Functional ecology of an Antarctic Dry Valley*. doi:10.1073/pnas.1300643110 adresinden alındı
- Choe, Y.-H., Kim, M., ve Lee, Y. K. (2021). Distinct Microbial Communities in Adjacent Rock and Soil Substrates on a High Arctic Polar Desert. *11*:607396.
- Clarridge, J. E. (2004). *Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Clinical Microbiology.
- Coale, K., Johnson, K., Chaves, F., Buesseler, K., Barber, R., ve Brzezinski, M. (2004). Southern ocean iron enrichment experiment: carbon cycling in high-and low-Si water. *304*(408-414).

- Cock, P. A., Fields, C. J., ve Goto, N. (2010). The sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. . 38:1767-71.
- Cofaigh, C. O., Dowdeswell, J. A., Evans, J., ve Larter, R. D. (2008). Geological constraints on Antarctic palaeo-ice-stream retreat. 33(4)(513-525).
- Convey, P. (2001). Antarctic ecosystems in Encyclopedia of Biodiversity. (171-184).
- Convey, P., Chown, S. L., Clarke, A., Barnes, D. K., Bokhorst, S., Cummings, V., . . . Wall, D. H. (2014). The spatial structure of Antarctic biodiversity. 84(203-244).
- Cowan, D. A. (2009). Cryptic microbial communities in Antarctic desert. 7535.
- Cowan, D. A., Chown, S. L., Convey, P., Tuffin, M., Hughes, K., Pointing, S., ve Vincent, W. F. (2011). Nonindigenous microorganisms in the Antarctic assessing the risks. 19(540-548).
- Cowan, D. A., Makhalanyane, T. P., Dennis, P. G., ve Hopkins, D. W. (2014). Microbial ecology and biogeochemistry of continental Antarctic soils.
- Cowan, D. A., Ramond, J. B., Makhalanyane, T. P., ve De Maayer, P. (2015). metagenomics of extreme environments. 25(97-102).
- Cuba-Diaz, M., Rivera-Mora, C., Navarrete, E., ve Klagges, M. (2020). Advances of native and non-native Antarctic species to in vitro conservation: improvement of disinfection protocols. 10(3845)(1-10).
- Dai, M., Thompson, R. C., ve Maher, C. (2010). NGSQC: cross-platform quality analysis pipeline for deep sequencing data. S7.
- del Fabbro, C., Scalabrin, S., ve Morgante, M. (2013). An extensive evaluation of read trimming effects on Illumina NGS data analysis. 8:e85024.
- Dennis, P. G., Rushton, S. P., Newsham, K. K., Lauducina, V. A., Ord, V. J., Timothy, D. J., . . . Hopkins, D. W. (2012). Soil fungal community composition does not alter along latitudinal gradient through the maritime and sub- Antarctic. 5(403-408).
- Dodds, W. K., Gudder, D. A., ve Mollenhauer, D. (1995). The ecology of Nostoc. 31(2-18).
- Fraher, M. H., O'Toole, P. W., ve Quigley, E. M. (2012). *Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician*. . 9:312-22: Nat Rev Gastroenterol Hepatol.
- Franzosa, E. A., Mclver, L. J., Rahnavard, G., Thompson, L. R., Schirmer, M., Weingart, G., . . . Huttenhower, C. (2018). Species-level functional profiling of metagenomes and metatranscriptomes. 15(11):962-68.
- Freidmann, E., Wiley, J., ve Sons. (1993). Antarctic Microbiology. 0-471-50776-8(634).
- Gerday, C., Aittaleb, M., Bentahir, M., Chessa, J. P., Claverie, P., ve Collins, T. (2000). Cold-adapted enzymes:from fundamentals to biotechnology. 18(103-107).
- Gilbert, J. A., Hill, P. J., Dodd, C. E., ve Laybourn-Parry, J. (2004). Demonstration of antifreeze protein activity in Antarctic lake bacteria. 150(1)(171-180).
- Gilbride , K. A., Lee, D. Y., ve Beaudette, L. A. (2006). *Molecular techniques in wastewater: Understanding microbial communities, detecting pathogens, and real-time process control*. Microbiol Meth.
- Gomez-Alvarez, V., Teal, T. K., ve Schmidt , T. M. (2009). Systematic artifacts in metagenomes from complex microbial communities. 3:1314-7.
- Green, T. A., Schroeter, B., ve Sancho, L. G. (2007). Plant life in Antarctica . CRC press(pp.389-434).

- Grzymiski, J., Riesenfeld, C. S., Willams, T. J., Dussaq, A. M., Ducklow, H., Erickson, M., . . . Murray, A. E. (2012). A metagenomic assessment of winter and summer bacterioplankton from Antarctica Peninsula Coastal surface waters. *1751-7362/12*.
- Gürsoy, N. C., ve Otlu, B. (2017). Mikrobiyota Çalışmalarında Moleküler Tanı Yöntemleri.
- Handelsman, J. (2004). Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *68(4)*(669-85).
- Handelsman, J., Rondon, M. R., Brady, S. F., Clardy, J., ve Goodman, R. M. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products.
- Hawksworth, D. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *105*(1422-1432).
- Hayashi, H., Sakamoto, M., Kitahara, M., ve Benno, Y. (2003). *Molecular analysis of fecal microbiota in elderly individuals using 16S rDNA library and T-RFLP*. *47*:557-570: Microbiol Immunol.
- Hillmann, B., Al-Ghalith, G. A., Shields-Cutler, R. R., Zhu, Q., Gohl, D. M., Beckman, K. B., . . . Knights, D. (2018). Evaluating the Information Content of shallow shotgun metagenomics. *3(6)*:e00069-18.
- Hogg, I. D., Craig Cary, S., Convey, P., Newsham, K. K., O'Donnell, A. G., Adams, B. J., . . . Wall, D. H. (2006). *Biotic interactions in Antarctic terrestrial ecosystem: are they a factor?* *38*:3035-3040: Soil Biol Biochem.
- Holdgate, M. W. (1977). Terrestrial ecosystems in the Antarctic. *279*(5-25).
- Hollibaugh, J. T., Lovejoy, C., ve Murray, A. E. (2007). Microbiology in Polar Oceans. *20-2*(140-145).
- Humbert, S., Tarnawski, S., Fromin, N., Mallet, M. P., Aragno, M., ve Zopfi, J. (2010). Molecular detection of anammox bacteria in terrestrial ecosystems: distribution and diversity. *4*(450-454).
- Huson, D. H., Auch, A. F., Qi, J., ve Schuster, S. C. (2007). MEGAN analysis of metagenomic data. *17(3)*:377-86.
- Hyatt, D., Chen, G.-L., LoCascio, P. F., Land, M. L., Larimer, F. W., ve Hauser, L. J. (2010). Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *11*(119).
- Illumina, I. (2011). Quality scores for next-generation sequencing. *31*.
- Jakosky, B. M., Nealson, K. H., Bakermans, C., Ley, R. E., ve Mellon, M. T. (2003). Subfreezing activity of microorganisms and the potential habitability of Mars' polar regions. *3*(343-350).
- Karl, D. (1993). Microbial processes in the Southern Ocean In: Friedmann E(ed). Antarctic Microbiology. (634).
- Kayani, M. u., Huang, W., Feng, R., ve Chen, L. (2021). Genome-resolved metagenomics using environmental and clinical samples. *22(5)*(1-20).
- Kim, J., ve Lee, C. (2013). *Quantitative real-time PCR approaches for microbial community studies in wastewater treatment systems: applications and considerations*. Biotechnol.
- Kırkinci, S. F., Edbeib, M. F., Aksoy, H. M., Maraklı, S., ve Kaya, Y. (2021). Identification of Dalapon degrading bacterial strain, *Psychrobacter* sp. TaeBurcu001 isolated from Antarctica. (<https://doi.org/10.1016/j.polar.2021.100656>).

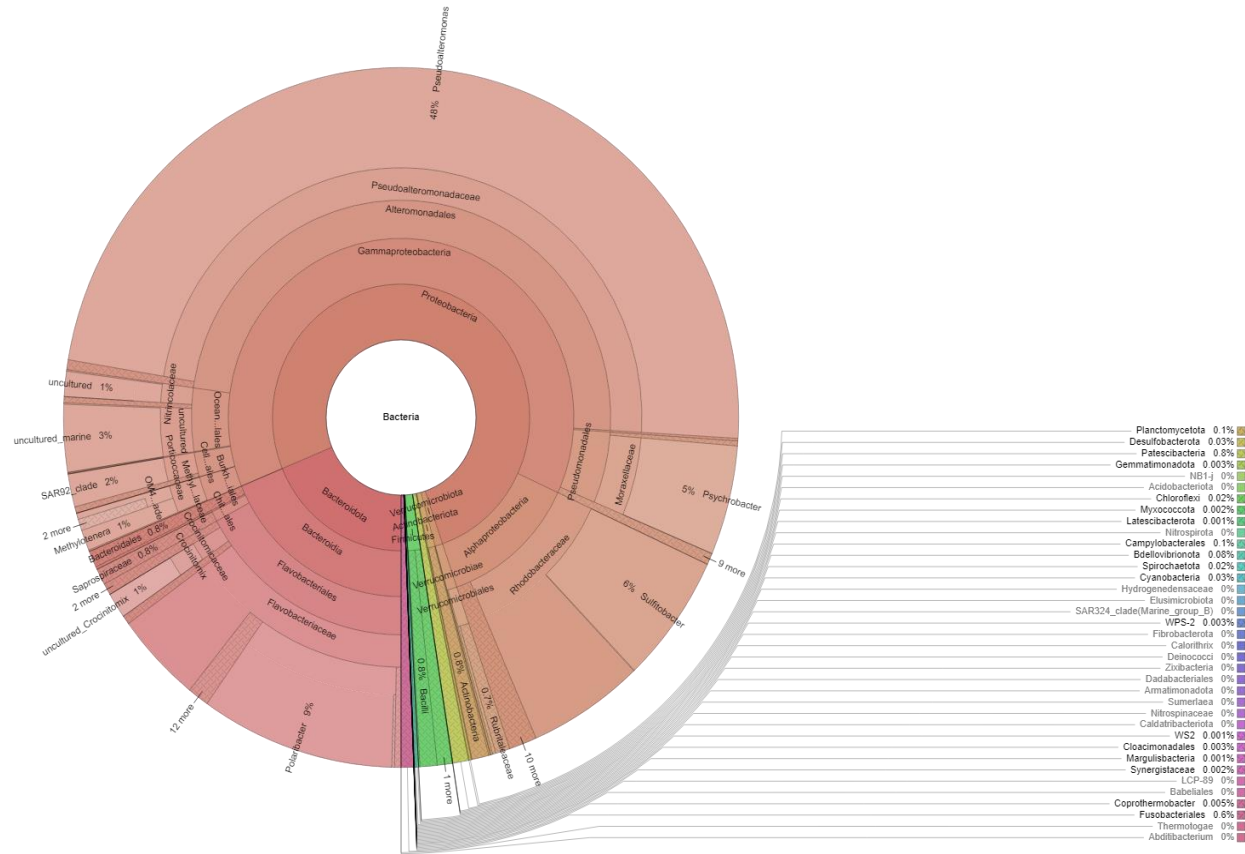
- Kırkinci, S. F., Maraklı, S., Aksoy, H. M., Ozein, D., ve Kaya, Y. (2021). Antarktika: Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Araştırmalarının Gözden Geçirilmesi. (DOI: 10.38001/ijlsb.853472).
- Kumar, K., Mella-Herrera, R. A., ve Golden, J. W. (2010). Cyanobacterial heterocysts. *a000315*.
- Kunin, V., Copeland, A., ve Lapidus, A. (2008). A Bioinformatician's guide to metagenomics. *72:557-78*.
- Kurtzman, C. P., ve Robnett, C. J. (1998). Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit(26S) ribosomal DNA partial sequences. *73(331-371)*.
- Lagier, J.-C., Dubourg, G., Million, M., Cadoret, F., Bilen, M., Fenollar, F., . . . Raoult, D. (2018). Culturing the human microbiota and culturomics. *16(9):540-50*.
- Laybourn-Parry, J., Quayle, W., ve Henshaw, T. (2002). The biology and evolution of Antarctic saline lakes in relation to salinity and trophic. *25(7)(542-552)*.
- Lee, S. H., Jang, I., Chae, N., Choi, T., ve Kang, H. (2013). Organic layer serves as a hotspot of microbial activity and abundance in Arctic tundra soils. *65(405-414)*.
- Li, D., Liu, C. M., ve Luo, R. (2015). MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *31:1674-6*.
- Makhalanyane, T. P., Valverde, A., Birkeland, N. K., Cary, S. C., Marla Tuffin, I., ve Cowan, D. A. (2013). Evidence for successional development in Antarctic hypolithic bacterial communities. *doi:10.1038/ismej.2013.94*.
- Malard, L. A., ve Pearce, D. A. (2018). Microbial diversity and biogeography in Arctic soils. *10(6)(611-625)*.
- Manganelli, M., Malfatti, F., Samo, T., Mitchell, B., Wang, H., ve Azam, F. (2009). Major role of microbes in carbon fluxes during austral winter in the Southern Drake Passage. *4(e6941)*.
- Marcy, Y., Ouverney, C., Bik, E. M., Losekann, T., Ivanova, N., Martin, H. G., . . . Quarke, S. R. (2007). Dissecting biological 'dark matter' with single-cell genetic analysis of rare and uncultivated TM7 microbes from the human mouth. *104(29)(11889-11894)*.
- Margolin, R., Neuner, G., ve Storey, K. (2007). Cold-loving microbes, plants and animals- fundamental and applied aspects. *94(77-99)*.
- Matthews, D. W. (1983). *The Geology of Horseshoe and Lagotellerie Island, Marguerite Bay, Graham Land*. S2 125-154: British Antarctic Survey Bulletin.
- Mende, D. R., Waller, A. S., ve Sunagawa, S. (2012). Assessment of metagenomic assembly using simulated next generation sequencing data. *7:e31386*.
- Meyer, B., ve Kawaguchi, S. (2022). Antarctic marine life under pressure. *Science*(Vol 378, Issue 6617), p. 230.
- Michael, K., Suberg, L. A., Wessels, W., Kawaguchi, S., ve Meyer, B. (2021). Facing Southern Ocean warming: Temperature effects on whole animal performance of Antarctic krill(*Euphausia superba*). *146(125910)*.
- Mikheenko, A., Saveliev, V., ve Gurevich, A. (2015). MetaQUAST: evaluation of metagenome assemblies. *32:1088-90*.
- Mineeva, O., Rojas-Carulla, M., ve Ley, R. E. (2020). DeepMASED: evaluating the quality of metagenomic assemblies. *36:3011-7*.

- Mitchell, A. L., Scheremetjew, M., Denise, H., Potter, S., Tarkowska, A., Qureshi, M., . . . Hunter, F. (2018). EBI metagenomics in 2017: enriching the analysis of microbial communities, from sequence reads to assemblies. *46*(D726-D735).
- Morgan, X., ve Huttenhower, C. (2012). Human microbiome analysis. *8*:12.10.1371.
- Moter , A., ve Göbel, U. B. (2000). Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. *41*(85-112).
- Muyzer, G. (1993). *de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA.* *59*(3):695-700: Applied and Environmental Microbiology.
- Nakamura, K., Oshima, T., ve Moritomo, T. (2011). Sequence-specific error profile of Illumina sequencers. *39*:e90.
- Negermut, D. R., Costello, E. K., Meyer, A. F., Pescador, M. Y., Weintraub, M. N., ve Schmidt, S. K. (2005). Structure and function of alpine and arctic soil microbial communities. *156*(775-784).
- New, F. N., ve Brito, I. L. (2020). What is metagenomics teaching us, and what is missed. *74*:117-35.
- Nielsen, U. N., ve Wall, D. H. (2013). The future of soil invertebrate communities in polar regions: different climate change responses in the Arctic and Antarctic? *16*(3)409-19.
- Nurk, S., Meleshko, D., ve Korobeynikov, A. (2017). meyaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *27*:824-34.
- Olson, N. D., Treangen, T. J., ve Hill, C. M. (2017). Metagenomic assembly through the lens of validation: recent advances in assessing and improving the quality of genomes assembled from metagenomes. *20*:11400-50.
- Osborn, A. M., Moore, E. B., ve Timmis, K. N. (2000). *An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics.* *2*(1):39-50: Environ Microbiol.
- Pascale, d. D., Santi, D. C., Fu, J., ve Landfolt, B. (2012). The microbial diversity of Polar environments is a fertile ground for bioprospecting. *8*(15-22).
- Pearce, D. A. (2008). Climate change and the microbiology of the Antarctic Peninsula region. *91*(2)(203-217).
- Pearce, D. A., Newsham, K. K., Thorne, M. A., Calvo-Bado, L., Krsek, M., Laskaris, P., . . . Wellington, E. M. (2012). Metagenomic analysis of a southern maritime Antarctic soil.
- Peng, Y., Leung, H., Yiu, S. M., ve Chin, F. (2012). IDBA-UD: a de novo assembler for single-cell and metagenomic sequencing data with highly uneven depth. *28*(11):1420-28.
- Pushkareva, E., Pessi, I. S., Wilmotte, A., ve Elster, J. (2015). Cyanobacterial community composition in Arctic soil crusts at different stages of development. *91*:fiv143.
- Rajendhran, J., ve Gunasekaran, P. (2011). *Microbial phylogeny and diversity: Small subunit ribosomal RNA sequence analysis and beyond.* Microbial Res.
- Rao, S., Chan, Y., Lacap, D., Hyde, K., Pointing, S., ve Farrell, R. (2011). Low-diversity fungal assemblage in an Antarctic Dry Valleys soil. *Polar Biol*, *35*:567-574.
- Rogers, S., Shtarkman , Y., Koçer, Z., Edgar, R., Veerapaneni, R., ve D'Elia, T. (2013). Ecology of Subglacial Lake Vostok(Antartica), Based on Metagenomik/Metatranscriptomic Analyses of Accretion Ice. (ISSN 2079-7737).
- Ruisi, S., Barreca, D., Selbmann, L., Zuccomi, L., ve Onofri, S. (2007). Fungi in Antarctica. *6*(127-141).

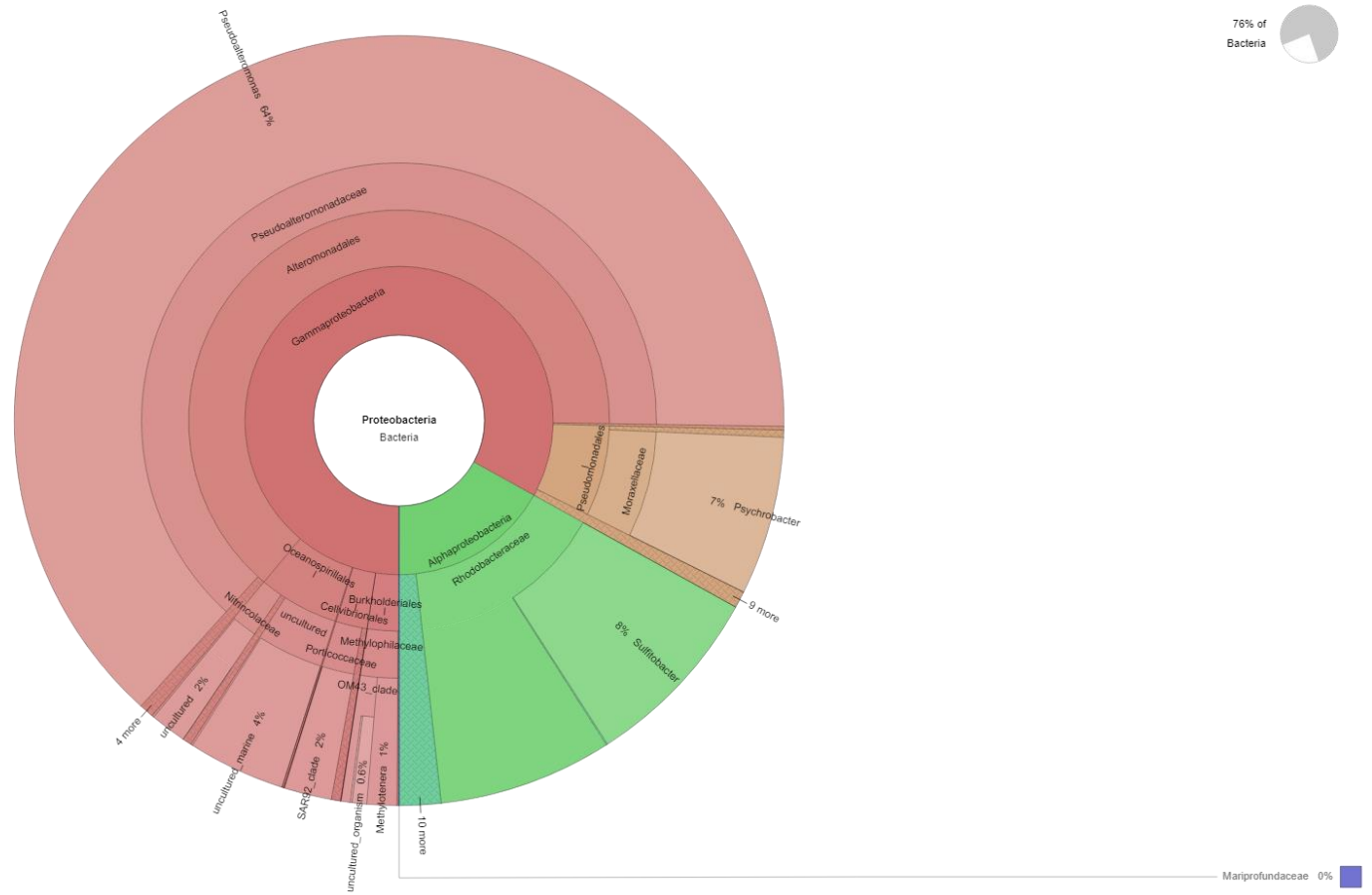
- Saheb Kashaf, S., Almedia, A., Segre, J. A., ve Finn, R. D. (2021). Recovering prokaryotic genomes from host-associated, short-read shotgun metagenomic sequencing data. *16(5)*(2520-2541).
- Sanger, F., Nicklen, S., ve Coulson, A. R. (1977). *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. USA: 74, 5463-5467.
- Sarhan, M. S., Hamza, M. A., Youssef, H. H., Patz, S., Becker, M., ElSawey, H., . . . Hegazi, N. A. (2019). Culturomics of the plant prokaryotic microbiome and the dawn of plant-based culture media. *19*(15-27).
- Schierbeek, A. (1959). *Measuring the Invisible World: The Life and Works of Antoni van Leeuwenhoek*. London: Abelard-Schuman.
- Shivaji, S. (2017). Bacterial biodiversity, cold adaptation and biotechnological importance of bacteria occurring in Antarctica. *83*(327-352).
- Simmons, B. L., Duvar, D. H., Adams, B. J., Aynes, E., Barrett, J. E., ve Virginia, R. A. (2009). Long-term experimental warming reduces soil nematode populations in the McMurdo Dry Valleys, Antarctica. *41(10)*(2052-2060).
- Steven, B., Leveille, R., Pollard, W. H., ve Whyte, L. G. (2006). Microbial ecology and biodiversity in permafrost. *10*(259-267).
- Stewart, E. J. (2012). Growing unculturable bacteria. *194*:4151-60.
- Sunagawa, S., Coelho, L. P., Chaffron, S., Kultima, J. R., Labadie, K., Salazar, G., . . . Alberti, A. (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. (348).
- Taş, N., Jong, A. E., Li, Y., Trubl, G., Xue, Y., ve Dove, N. C. (2021). Metagenomic tools in microbial ecology research. *67*(184-191).
- Tatusov, R. L., Galperin, M. Y., Natale, D. A., ve Koonin, E. V. (2000). The COG database: a tool for genome-scale analysis of protein functions and evolution. *28(1)*(33-36).
- Thomas, D. N. (2008). The biology of polar regions.
- Tin, T., Liggett, D., Maher, P. T., ve Lamers, M. (2014). Antarctic Futures: Human Engagement with the Antarctic Environments.
- Torsvik, O., ve Øvreas, L. (2008). Microbial diversity, life strategies, and adaptation to life in extreme soils. (15-43).
- Tringe, S. G., Von Mering, C., Kobayashi, A., Salamov, A. A., Chen, K., Chang, H. W., . . . Detter, J. C. (2005). Comparative metagenomics of microbial communities. *308*(554-557).
- Tyson, G. W., Champman, J., ve Hugenholtz, P. (2004). Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *428*:(37-43).
- van Gestel, N. C., Ducklow, H. W., ve Baath, E. (2020). Comparing temperature sensitivity of bacterial growth in Antarctic marine water and soil. *PLR-1440485*.
- Vincent, W. F. (2000). , Evolutionary origins of Antarctic microbiota: invasion, selection and endemism. *12*(374-385).
- Vincent, W. F. (2002). *Cyanobacterial dominance in the polar regions In: The ecology of Cyanobacteria: their diversity in time and space*. Berlin pp 321-340: Springer.
- Visconti, A., Le Roy, C. I., Rosa, F., Rossi, N., Martin, T. C., Mohn, R. P., . . . Falchi, M. (2019). Interplay between the human gut microbiome and host metabolism. *10(1)*4505.
- Vyverman, W., Verleyen, E., Wilmotte, A., Hodgson, D. A., Willems, A., Peeters, K., . . . Sabbe, K. (2010). Evidence for widespread endemism among Antarctic micro-organisms. *4*(103-113).

- Walther, G. R., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, t. J., Fromentin, J.-M., . . . Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change . *416*(389-395).
- Waschulin, V., Borsetto, C., James, R., Newsham, K., Donadio, S., Corre, C., ve Wellington, E. (2021). Biosynthetic potential of uncultured Antarctic soil bacteria revealed through long-read metagenomic sequencing.
- Watt, L.-M. v. (2022, December 24). *Antarctica Encyclopedia*.
<https://www.britannica.com/place/Antarctica>:
<https://www.britannica.com/place/Antarctica> adresinden alındı
- Wintzingerode, F. V., Göbel, U. V., ve Stackebrandt, E. (1997). Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *21*(213-229).
- Woese, C. R., ve Fox, G. E. (1977). *Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdom*. 74, 5088-5090: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.
- Wrighton, K. C., Thomas , B. C., ve Sharon, I. (2012). Fermentation, hydrogen and Sulfur metabolism in multiple uncultivated bacterial phyla. *337*:1661-5.
- Wynn-Williams, D. (1983). Distribution and characteristics of chromobacterium in the maritime and sub-Antartic. *2*(101-108).
- Yang, S. F., Lu, C. W., ve Yao, C. T. (2019). To trim or not to trim: effects of read trimming on the De novo genome assembly of a widespread east Asian passerine, therufous-capped babbler(*Cyanoderma ruficeps* Blyth). *10*:737.
- Yeok, Y. K., Sekiguchi, Y., ve Parks, D. H. (2015). Comparative genomics of candidate phylum TM6 suggests that parasitism is widespread and sncestral in this lineage. *33*:915-27.
- Yergeau, E., Bokhorst, S., Huiskes, R. H., Boschker, H. T., Aerts, R., ve Kowalchuk, G. ., (2007). Size and structure of bacterial, fungal and nematode communities along an Antarctic environmental gradient. *59*(436-451).
- Yıldırım, C. (2019). Geomorphology of Horseshoe Island, Marguerite Bay Antarctica. *16*(2)(55-67).
- Yooseph , S., Sutton, G., Rusch, D. B., Halpern, A. L., Williamson, S. J., Remington, K., . . . Li, W. (2007). The Sorcerer II Global Ocean Sampling expedition: expanding the universe of protein families. *5*(e16).
- Zakhia, F., Jungblut, A. D., Taton, A., Vincent, W. F., ve wilmotte, A. (2006). *Cyanobacteriota in cold ecosystems in Psychrophiles*. From Biodiversity to Biotechnology.
- Zepeda, A. E., Ponce de Leon, A. V., ve Sanchez-Florez, A. (2015). The Road to Metagenomics:From Microbiologu to DNA Sequencing Technologies and Bioinformatic.
- Zhou, Y., Liu, M., ve Yang, J. (2022). Recovering metagenome-assembled genomes from shoutgun metagenomic sequencing data: Methods applications, challenges, and opportunities. *260*(127023).
- Zukerkandl, E., ve Pauling, L. (1965). Molecules as documents of evolutionary history. *8*(357-366).

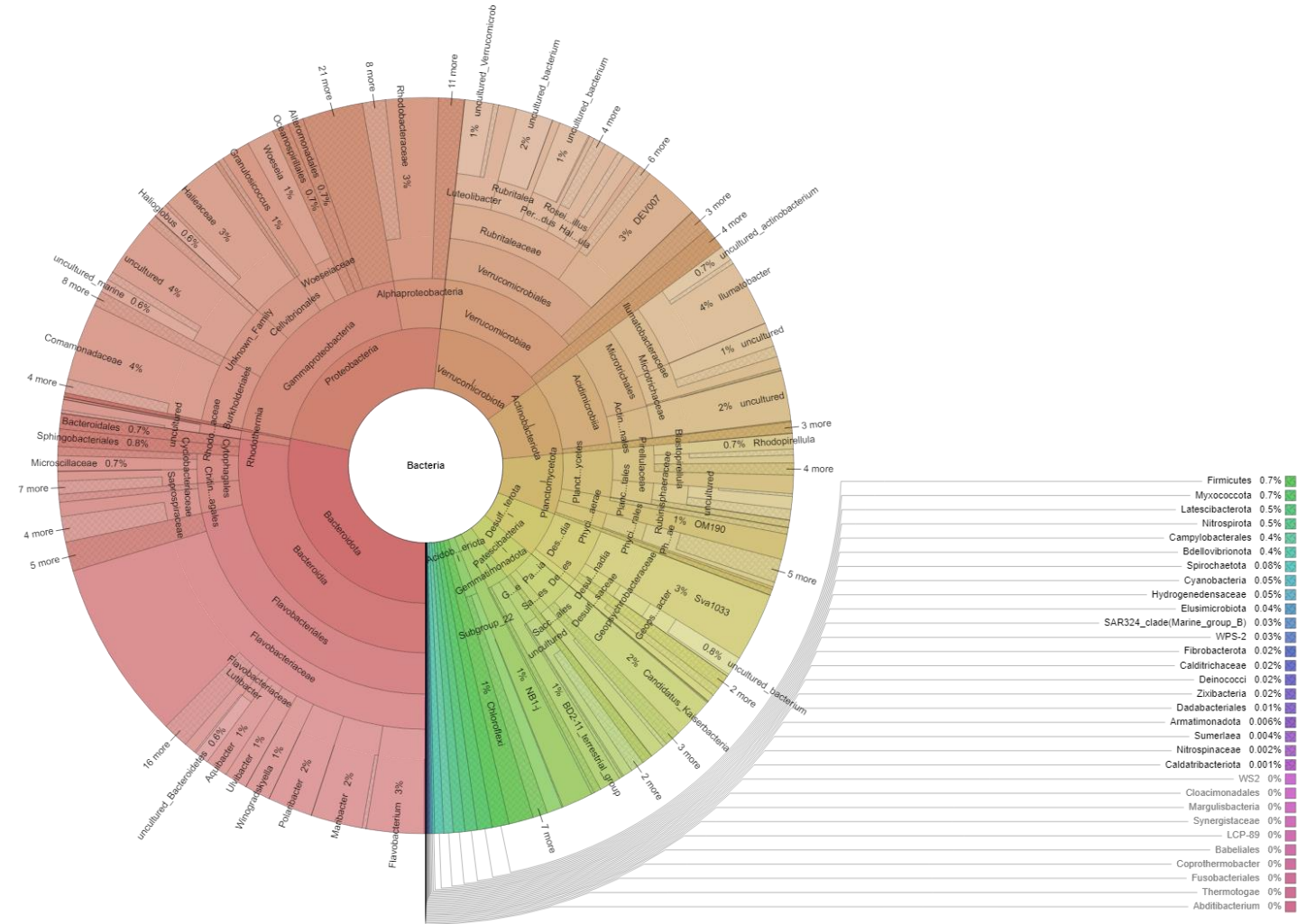
7. EK



Su örneğinin filumlarının taksonomik dağılım görüntüsü



Su örneğinin *Pseudomonadota* filumunun taksonomik dağılım görüntüsü



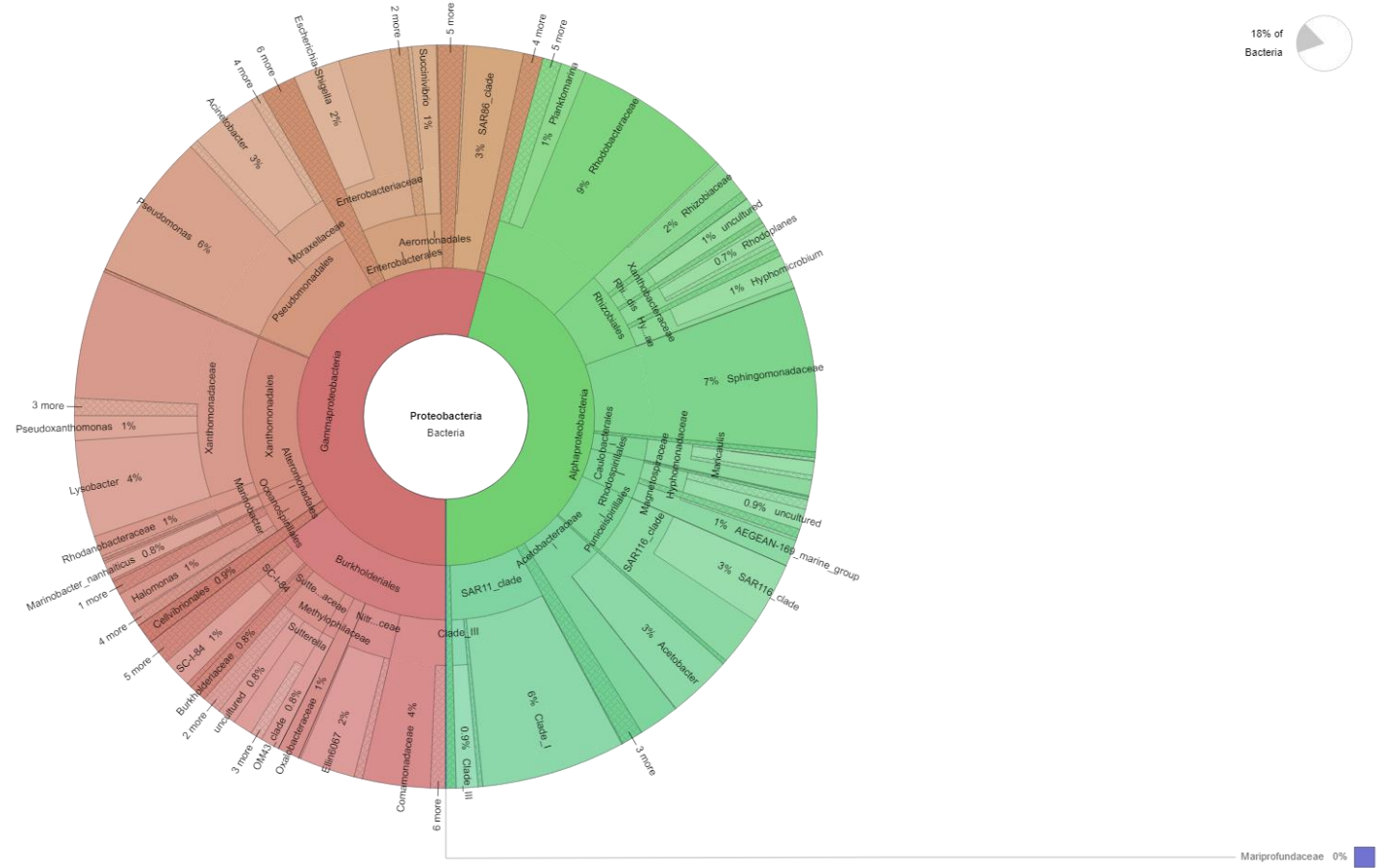
Sediment örneğinin filumlarının taksonomik dağılım görüntüsü



Sediment örneğinin *Pseudomonadota* filumunun taksonomik dağılım görüntüsü



Toprak örneğinin *Bacillota* filumunun taksonomik dağılım görüntüsü



Toprak örneğinin *Pseudomonadota* filumunun taksonomik dağılım görüntüsü

8. ÖZ GEÇMİŞ

Miraç Ercan GÜRSOY, Samsun Aziz ATİK Anadolu Öğretmen Lisesi'ni bitirdikten sonra Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünden 02.10.2019 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : <https://orcid.org/0000-0002-9420-4279>

Yayınlar:

1. Kayacı, H, Akyüz, G. Gürsoy, M. E., Matar G. ve Andaç, M. Green Synthesis of Silver Nanoparticles by Fresh Ginkgo Biloba Leaf Extract, Gıda Kimyası Kongresi, 2022, Antalya, Türkiye, poster sunumu.
2. Gürsoy, M. E., Duman, M., Satıcıoğlu, İ. B., Ay, H. Horseshoe Adası'nın (Antarktika) Aktinobakteri Biyoçeşitliliğinin Metagenomik Analizi 6. Ulusal Kutup Çalıştayı, 2022, Trabzon, Türkiye, sözlü sunum.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. TÜBİTAK BİDEB 2210-A Genel Yurtiçi Yüksek Lisans Bursu
2. ARDEB 1001 Proje Bursu