



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CERNEK GÖLÜ'NDEN İZOLE EDİLEN SİYANOBAKTERİLERİN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HABİBE CENİKLİOĞLU

ŞUBAT

HABİBE CENİKLİOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞUBAT 2022

**CERNEK GÖLÜ'NDEN İZOLE EDİLEN SİYANOBAKTERİLERİN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Habibe CENİKLİOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2022

Habibe CENİKLİOĞLU tarafından hazırlanan ‘CerneK Gölü’nden İzole Edilen Siyanobakterilerin Moleküler Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY ÇOKLUĞU/OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Önder İdil

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Başkan: Prof. Dr Cihan Darcan

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye: Dr Öğr. Üyesi Ceren Başkan

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Tez Savunma Tarihi: 28/01/2022

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez, değerli annem Neriman CENİKLİOğLU ve değerli babam Ramazan CENİKLİOğLU'na
ithaf olunur.

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Habibe CENİKLİOĞLU

28.01.2022

CERNEK GÖLÜ'NDEN İZOLE EDİLEN SİYANOBAKTERİLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Habibe CENİKLİOĞLU

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2022

ÖZET

Siyanobakteriler, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri bilinen önemli kaynaklardan biridir. Bu çalışmada Cernek Gölü'nden elde edilen siyanobakteri türlerinin izolasyonları yapılmıştır. İzolasyon sonucu elde edilen siyanobakteri türleri, BG-11 ve BG-11₀ besi ortamlarında saflaştırılmıştır. Saflaştırılan siyanobakteri türlerinin fenotipik moleküler tanımlamaları yapıp, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. İzole edilen siyanobakteri türlerinden farklı profillere sahip olanlar belirlenerek, 16S ribozomal RNA analizi ile tür tayinleri yapılmıştır. Antimikrobiyal aktivite denemelerinde Gram pozitif (+) bakterilerden *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Micrococcus luteus* NRLL 1018, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Gram negatif (-) bakterilerden *Salmonella typhimurium* LT2, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, mayalardan *Candida albicans* ATCC 14053 ve *Candida krusei* ATCC 34135 kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite denemelerinde mikrodilüsyon (MİK-Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) yöntemi kullanılmıştır. MİK yönteminde üremenin gerçekleşmediği son kuyucuğun konsantrasyon değeri baz alınmıştır. Tüm siyanobakteri ekstraktları arasında en yüksek antimikrobiyal aktivite C8 ve C30 kodlu siyanobakteri ekstraktlarında görülmüştür. Tüm siyanobakteri ekstraktları arasında en düşük antimikrobiyal aktivitenin C15 kodlu siyanobakteri ekstraktında olduğu saptanmıştır. Antioksidan aktivite çalışmalarında ise siyanobakteri ekstraktlarının DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme aktivitelerine ve Bakır (II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite (CUPRAC: Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) ölçüm sonuçlarına bakılarak antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Tüm siyanobakteri ekstraktları arasında en yüksek DPPH radikalleri süpürme aktivitesi C37 kodlu siyanobakteri ekstraktında, en düşük DPPH radikalleri süpürme aktivitesi C48 kodlu siyanobakteri ekstraktında saptanmıştır. Tüm siyanobakteri ekstraktlarına bakıldığında en yüksek CUPRAC değerinin C43 kodlu siyanobakteri ekstraktında, en düşük CUPRAC değerinin ise C15 kodlu siyanobakteri ekstraktında olduğu saptanmıştır.

Sayfa Adedi	: 128
Anahtar kelimeler	: Siyanobakteri, MİK, DPPH, CUPRAC
Danışman	: Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL

DETERMINATION OF THE MOLECULAR CHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF CYANOBACTERIA ISOLATED FROM LAKE

CERNEK

(M. Sc. Thesis)

Habibe CENİKLİOĞLU

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE

February 2022

ABSTRACT

Cyanobacteria are one of the important sources of known antioxidant and antimicrobial effects. In this study, cyanobacteria species obtained from Cernek Lake were isolated. Cyanobacterial strains obtained as a result of isolation were purified in BG-11 and BG-11₀ nutrient media. Phenotypic molecular identifications of the purified cyanobacteria species were made and their antimicrobial and antioxidant properties were investigated. Among the isolated cyanobacteria species, those with different profiles were determined, and species were determined by 16S ribosomal RNA analysis. In antimicrobial activity trials, Gram-positive (+) bacteria *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Micrococcus luteus* NRLL 1018, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Gram-negative (-) bacteria *Salmonella typhimurium* LT2, *Klebsiella pneumoniae* ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, yeasts *Candida albicans* ATCC 14053 and *Candida krusei* ATCC 34135 were used. Microdilution (MIC-Minimum Inhibition Concentration) method was used in antimicrobial activity trials. In the MIC method, the concentration value of the last well in which growth did not occur is taken as a basis. Among all cyanobacteria extracts, the highest antimicrobial activity was seen in C8 and C30 coded cyanobacteria extracts. It was determined that the lowest antimicrobial activity among all cyanobacteria extracts was in the C15 coded cyanobacteria extract. In antioxidant activity studies, antioxidant activities were determined by looking at DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) radical scavenging activities and Copper (II) ion reduction based antioxidant capacity (CUPRAC: Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) measurement results of cyanobacteria extracts. Among all cyanobacteria extracts, the highest DPPH radicals scavenging activity was found in the C37 coded cyanobacteria extract, and the lowest DPPH radicals scavenging activity was found in the C48 coded cyanobacteria extract. When all cyanobacteria extracts were examined, it was determined that the highest CUPRAC value was in the C43 coded cyanobacteria extract, and the lowest CUPRAC value was in the C15 coded cyanobacteria extract.

Number Of Pages	: 128
Key Words	: Cyanobacteria, MIC, DPPH, CUPRAC
Supervisor	: Asst. Prof. Dr. Önder İDİL

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Çalışma ve eğitim sürecimde ilgi, anlayış ve tecrübelerini esirgemeyen, yaptığı değerli katkıları ile her zaman örnek alacağım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Araştırma Görevlisi Emine ÇELİKOĞLU ve değerli hocam Dr. Umut ÇELİKOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen, Amasya'daki ailem olan Canfide Merve YEMİŞ'e teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarımda, desteğini esirgemeyen değerli hocam Hilal ÖZER'e ve çalışma arkadaşlarım, Melike KARATAŞ YILDIZ, Merve KARAASLAN ve Musa Can MANSUROĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca maddi, manevi desteklerini esirgemeyen annem Neriman CENİKLİOĞLU'na, babam Ramazan CENİKLİOĞLU'na, abim Mahmut CENİKLİOĞLU'na ve kardeşim Fazlı CENİKLİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iiv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Cernek Gölü	3
1.2. Siyanobakteriler	3
1.2.1. Siyanobakterilerin ekolojisi.....	5
1.2.2. Siyanobakterilerin morfolojisi.....	6
1.2.3. Siyanobakterilerin hücre yapıları.....	6
1.2.4. Siyanobakterilerdeki özelleşmiş hücreler ve farklılaşma	8
1.2.5. Siyanobakterilerin kullanım alanları	11
1.3. Antimikrobiyal Aktivite	11
1.3.1. Mikrodilüsyon yöntemi	12
1.4. Antioksidan Aktivite	13
1.4.1. DPPH radikalleri sönmleme yöntemi	14
1.4.2. Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi	15
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
2.1. Materyal	16
2.1.1. Çalışmada kullanılan besi ortamları	17

	Sayfa
2.1.2. Çalışmada kullanılan çözeltiler	19
2.1.3. Çalışmada kullanılan primerler	21
2.1.4. Çalışmada kullanılan markırlar	21
2.2. Yöntem	22
2.2.1. Cernek gölü örnekleme noktaları	22
2.2.2. Su örneklerinin kimyasal analizi	24
2.2.3. Su örneklerinin mikroskopik görüntüsü	25
2.2.4. Su örneklerinin filtrasyonu	25
2.2.5. Su örneklerinden siyanobakteri izolasyonu	26
2.2.6. Siyanobakteri izolatlarının identifikasyonu	27
2.2.7. Su örneklerinden DNA ekstraksiyonu	33
2.2.8. Saf siyanobakteri türlerinin biyokütlece geliştirilmesi	35
2.2.9. Siyanobakteri izolatlarının filtrasyonu	36
2.2.10. Siyanobakteri izolatlarının santrifüjü	36
2.2.11. Siyanobakteri izolatlarının liyofilizasyonu	37
2.2.12. Siyanobakteri izolatlarından ekstrakt eldesi	38
2.2.13. Siyanobakteri ekstraktlarının kurutulması	39
2.2.14. Bakteriyel test mikroorganizmaları	40
2.2.15. Antimikrobiyal aktivitenin saptanması	41
2.2.16. Antioksidan aktivitenin saptanması	42
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	43
3.1. Su Örneklerinin Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	43
3.2. Su Örneklerinden Siyanobakteri İzolasyonu	47
3.3. Siyanobakterilerin Kommünite Analizleri	53

	Sayfa
3.3.1. Su örneklerinden DNA ekstraksiyonu	53
3.3.2. İzolatların moleküler identifikasyonu.....	54
3.3.3. Filogenetik ağacın elde edilmesi	66
3.4. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları.....	68
3.4.1. Mikrodilüsyon yöntemi ile MİK'in belirlenmesi	69
3.5. Antioksidan Aktivite Çalışmaları.....	81
3.5.1. DPPH radikali söndürme aktiviteleri	81
3.5.2. Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi	90
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	99
KAYNAKÇA.....	104
ÖZGEÇMİŞ	110

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Siyanobakterilerin yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele)	1
Şekil 1.2. 16S rRNA gen dizilimine göre siyanobakterilerin üç temel grup içindeki konumu	4
Şekil 1.3. Siyanobakterilerin hücre yapısı	6
Şekil 1.4. Fikobilizomların yapısı	7
Şekil 1.5. Hormogonium yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele).....	8
Şekil 1.6. Akinetin yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele).....	9
Şekil 1.7. Heterosistin yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele)	9
Şekil 1.8. Çalışmanın yürütüldüğü laboratuvar	16
Şekil 1.9. λ DNA/HindIII Digest (FERMENTAS) Markır'ın fragment profili.....	21
Şekil 1.10. 100 bp DNA Ladder (SOLİS BİODYNE) Markır'ın fragment profili.....	22
Şekil 1.11. Cerneke Gölü (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele).....	23
Şekil 1.12. Cerneke Gölü'nden su örneklerin alındığı koordinatlar;.....	24
Şekil 1.13. Cerneke Gölü'nden alınan su örnekleri.....	24
Şekil 1.14. Su örneklerinin mikroskopik görüntüleri.....	25
Şekil 1.15. Filtrasyon düzeneği.....	26
Şekil 1.16. Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR)	29
Şekil 1.17. Agarose jel elektroforezi.....	31
Şekil 1.18. Agarose jelin ethidium bromür ile boyanması.....	31
Şekil 1.19. Transsilüminatörde gözlem	32
Şekil 1.20. PZR ürünlerinin santrifüjü.....	33
Şekil 1.21. Saf siyanobakteriyel türlerin biyokütlece gelişimi; 1, 2.....	35
Şekil 1.22. Siyanobakteri izolatların biyokütlelerinin filtrasyonu	36
Şekil 1.23. Siyanobakteri izolatlarının biyokütlelerinin santrifüjü.....	37

	Sayfa
Şekil 1.24. Siyanobakteri izolatlarının biyokütlelerinin liyofilizasyonu	37
Şekil 1.25. Liyofilize edilmiş siyanobakteri izolatları	38
Şekil 1.26. Siyanobakteri türlerinin pigmentlere parçalanması;	38
Şekil 1.27. Ekstraktların desikatörde kurutulması	39
Şekil 1.28. Kurutulmuş siyanobakteri ekstraktları	39
Şekil 1.29. Spektrofotometre ölçümü	41
Şekil 1.30. Mikroplaka okuyucu	42
Şekil 1.31. Cernek Gölü su kalitesi parametreleri	44
Şekil 1.32. Saf siyanobakteri türlerinin mikroskopik görünümü;	52
Şekil 1.33. Siyanobakteri türlerinin UV ışık ortamında DNA bant görüntüleri	53
Şekil 1.34. 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA geni amplifikasyon ürünleri:(~2000-2500 bp)	55
Şekil 1.35. Elde edilen izolatların ARDRA jeli (<i>MspI</i>)	56
Şekil 1.36 Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakterilerin filogenetik ilişkisi	67
Şekil 1.37. Minimum inhibisyon konsantrasyonu deneysel çalışmaları	69
Şekil 1.38. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>B. cereus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisi	70
Şekil 1.39. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>K. pneumoniae</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkisi	70
Şekil 1.40. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>E. coli</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkisi	70
Şekil 1.41. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>C. krusei</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkisi	71
Şekil 1.42. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisi	71
Şekil 1.43. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>M. luteus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisi	71
Şekil 1.44. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>B.subtilis</i> 'e karşı antimikrobiyal etkisi	72

	Sayfa
Şekil 1.45. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>S.typhi</i> 'ye karşı antimikrobiyal etkisi	72
Şekil 1.46. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı antimikrobiyal etkisi	72
Şekil 1.47. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının <i>C. albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisi	73
Şekil 1.48. C37 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi; 1,2.....	82
Şekil 1.49. C52 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi; 1,2.....	83
Şekil 1.50. C48 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi; 1,2.....	84
Şekil 1.51. C8 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi; 1,2.....	85
Şekil 1.52. C33 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi; 1,2.....	86
Şekil 1.53. C15 ve C8 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi;1,2,3	92
Şekil 1.54. C43 ve C52 kodlu siyanobakteri ekstraktının bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi;1, 2,3	93
Şekil 1.55. C23 kodlu siyanobakteri ekstraktının bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi;1, 2.....	94
Şekil 1.56. Gallik asitin bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi.....	97

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Sıvı besi ortamı hazırlama	17
Çizelge 1.2. Katı besi ortamı hazırlama.....	18
Çizelge 1.3. Çalışmada kullanılan primerler.....	21
Çizelge 1.4. PZR mix hazırlanırken kullanılan malzemeler ve miktarları	29
Çizelge 1.5. PZR koşulları.....	30
Çizelge 1.6. Kesim reaksiyonu aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.....	30
Çizelge 1.7. Cernek Gölü su örneği ICP-OES analizi	43
Çizelge 1.8. İzolatların ARDRA profil grup numaraları	57
Çizelge 1.9.İzolatların 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu ile elde edilen BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analiz sonuçları	59
Çizelge 1.10. İzolat numaraları, izolatların tek hücreli (T) yada filamentli (F) özellikleri, örnekleme yapılan tarih, ARDRA jel sonucunda elde edilen gup numaraları ve identifikasyon sonuçları.....	63
Çizelge 1.11. Siyanobakterilerin ekstraktlarının, bakteriyel test mikroorganizmaları üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerleri	73
Çizelge 1.12. Tüm siyanobakteri ekstraktlarının DPPH radikalleri sönmüleme aktiviteleri.....	87
Çizelge 1.13. Tüm siyanobakteri ekstraktlarının Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasiteleri.....	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

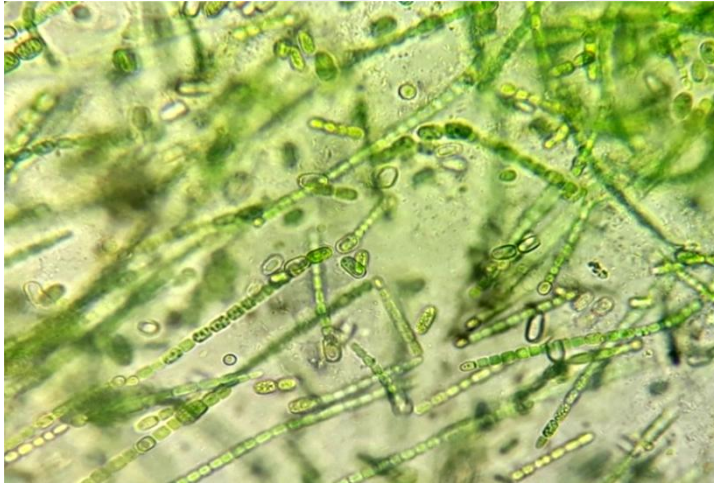
Simgeler	Açıklama
g	Gram
mg	Miligram
μ g	Mikrogram
ng	Nanogram
nm	Nanometre
L	Litre
ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
UV	Ultraviyole
$^{\circ}$ C	Santigrat derece
%	Yüzde
Λ	Lamda
V	Volt
W	Watt
cm	Santimetre
dk	Dakika
s	Saniye
M	Molar

Kısaltmalar	Açıklama
KoAC	Potasyum asetat
NLS	N-loril sarkozil
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonları
ARDRA	Amplified ribosomal DNA restriction analizi
bp	Base pairs (baz çiftleri)
BLAST	Basic local alignment search tool (temel yerel hizalama aracı)
NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
OD	Optik yoğunluk
HAT	Hidrojen atomu transferi
ET	Elektron transferi
TE	Trolox eşdeğeri
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
IC ₅₀	%50 inhibisyona ulaşmak için gerekli antioksidan derişimi
CUPRAC	Cupric Iron Reducing Antioxidant Capacity (Bakır (II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite)

1. GİRİŞ

Siyanobakteriler, yeryüzündeki en eski fotosentetik canlılardır (Şekil 1.1). Fotosentez yolu ile enerji elde ederler. Prokaryot yapıda olmaları ile alglerden ayrılırlar (Meinesz ve Tarhan, 2010).

Tüm siyanobakteriler, yapılarında karakteristik olarak fikobilin ve klorofillerden sadece klorofil-a'yı bulundurur. Fikobilinlerin bir sınıfı olan mavi renkli fikosiyanın, yeşil renkli klorofil pigmentiyle birlikte siyanobakterilere mavi-yeşil rengini verir (Stal, 2012). Siyanobakteriler içerdikleri pigmentler nedeniyle mavi-yeşil algler olarak adlandırılırsalar da kahverengi, sarı, siyah veya kırmızı olabilmektedir. Bunun yanında fikoeritrin, astaksantin, ksantofil ve β -karoten siyanobakterilerin içerdikleri önemli pigmentlerdir (Erikson, 2008).



Şekil 1.1. Siyanobakterilerin yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Gölle)

Siyanobakterilerin en önemli özelliklerinden biri de azotu fikse etmeleridir. Yaklaşık 70'den fazla türün, azotu fikse ettikleri bilinmektedir (Whitton ve Potts, 2012).

Siyanobakterilerin hızlı bir şekilde büyüyerek kümelenmesi “bloom” olarak tanımlanır. Bu kümelenmeler ötrofikasyona sebep olabilmektedir. Tatlı sulardaki ötrofikasyon, özellikle içme suyu olarak kullanılan su kaynaklarında, siyanobakteri yoğunluğunun artmasına neden olmaktadır.

Ötrofikasyon sonucu meydana gelen biyolojik oluşumlar, suyun tadını ve kokusunu değiştirebilmektedir. Nörotoksik, sitotoksik ve hepatotoksik etkileri bulunan değişik toksinlere sebep olmaktadır. Sebep olduğu toksik etkiler, su kaynaklarının içme suyu olarak kullanılmasını kısıtlayarak, insan ve hayvan sağlığı için ciddi tehlike yaratmaktadır (Carmichael, 2001; Codd, 2000).

Siyanobakterileri sınıflandırmada farklı yöntemler kullanılmaktadır. En çok kullanılan yöntemler ise morfolojik tanımlama ve moleküler karakterizasyondur. Daha önceki çalışmalar morfolojik tanımlamaya yönelik yapılırken, günümüzde bunun tek başına yeterli olmayacağı düşünülmektedir. Bu nedenle morfolojik tanımlamanın yanında moleküler karakterizasyon da yapılarak siyanobakterilerin sınıflandırılması yapılmaktadır. Buradan yola çıkarak siyanobakterileri tanımlamada kullanılan en uygun yöntemin, genetik sekanslara dayalı identifikasyon ile 16S rRNA genindeki varyasyonlara bakarak yapılan filogenetik sınıflandırma olduğu belirlenmiştir. (Bryant, 2006).

Bu çalışmada, Kızılırmak Deltası Ramsar Alanı'nın en büyük gölü olan Cernek Gölü'nde bulunan siyanobakteri türlerinin ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Karadeniz Bölgesi'nde "Ramsar Alanı" olarak kabul edilen tek sulak alan Kızılırmak Deltası'dır. Birçok kuş türünün ve iç su balığı türünün yaşam alanı olan Cernek Gölü yıl boyu yirmi binden fazla su kuşunun yaşamını sürdürdüğü alandır. Tehlike altında bulunan balık türleri yaşamlarının kritik dönemlerini bu alanda geçirmektedir. Çok sayıda canlıya ev sahipliği yaptığı için 1998 yılında, Ramsar Alanı olarak belirlenmiştir (Can ve Taş, 2012). Ramsar Alanı olarak adlandırılan Kızılırmak Deltası'nda 'Bafra Balık Gölleri' olarak adlandırılan 6 adet lagün bulunur. Bu 6 adet lagünden bir tanesi de Cernek Gölü'dür. Cernek Gölü, Kızılırmak'ın doğusunda yer alan, Kızılırmak Deltası'nın en büyük gölüdür. Cernek Gölü 589 hektarlık bir alana sahiptir. Samsun'un ilçesi olan Bafra'nın Doğanca Beldesi'nde yer alır. Belde'nin Bafra'ya olan uzaklığı 20 km'dir. Cernek Gölü doğudan ve kuzeyden Karadeniz, güneyden Balık, Uzun, Tatlı ve Gıcı gölleri ile Ondokuz Mayıs ilçesi, batısından ise Doğanca Beldesi ile çevrelenmiştir. Cernek Gölü, tabakalaşmanın olmadığı, 1-3 m derinliğe sahip, sık bir göldür. Gölün etrafında, tatlı su sulak alanları bulunmaktadır (Bekleyen ve Taş, 2008; Taş ve Gönüloğlu, 2007).

Cernek Gölü'nde ilkbahar ve sonbahar aylarında toplam çözünmüş anyon ve katyon maddeleri artış gösterdiği için tuzluluk değerinde (ilkbahar döneminde 0,98 g/L, sonbahar döneminde ise 1,12 g/L) artış olmaktadır. (Cüce ve Bakan, 2017).

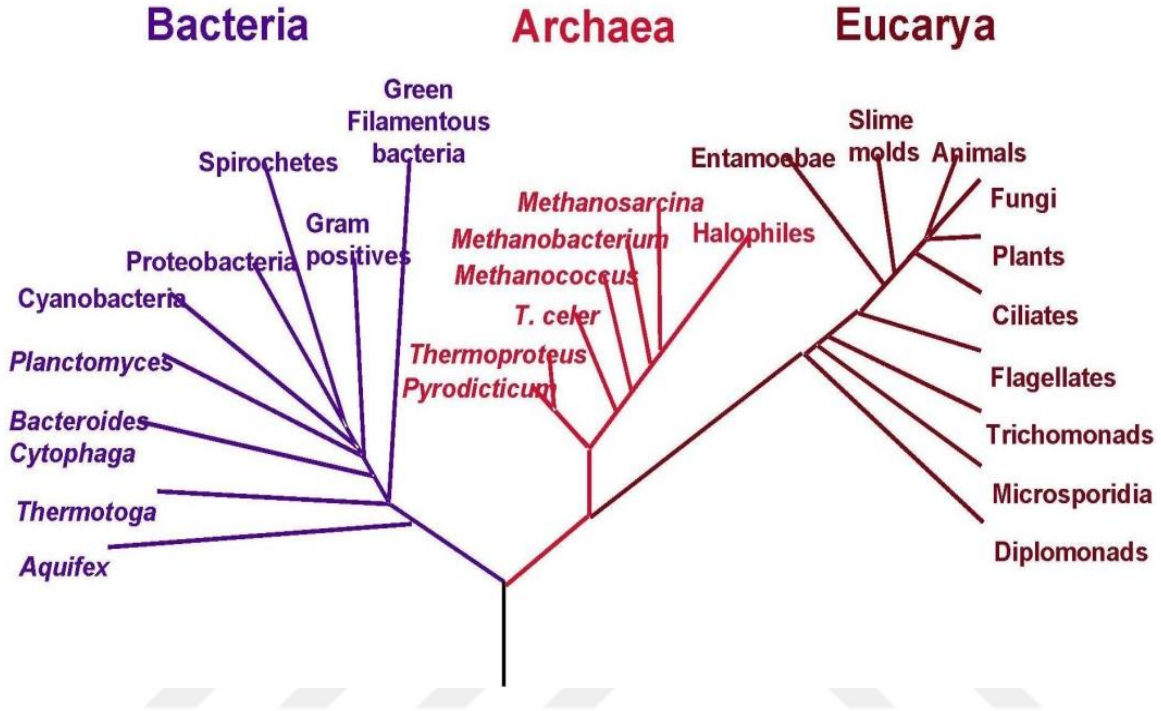
1.1. Cernek Gölü

Cernek Gölü sulak alanı, farklı türde su kuşları için önemli bir yaşam alanıdır. Göçmen kuşların göç yolu güzergahında bulunan bir göldür. Göçmen kuşların göç sezonunda barınıp beslendiği alandır (Baris, Erciyas, Gürsoy, Özsemir ve Nowakowski, 2005). Buna karşılık Cernek Gölü sulak alanı, “Yaban Hayatı Koruma Sahası” olarak 1979 yılından itibaren koruma altına alınmıştır. Bu statü Kara Avcılığı Yasası ile değiştirilip, “Yaban Hayatı Geliştirme Sahası” haline getirilmiştir. Yaban hayatı geliştirme sahaları, av ve yaban hayatlarının korunduğu, geliştirildiği, yaşama ortamlarını iyileştirme tedbirlerinin alındığı ve özel avlanma planı çerçevesinde avlanmanın yapılabildiği sahaları içermesi ve barındırdığı kuş zenginliği nedeniyle su kuşları açısından yaban hayatı geliştirme sahası kriterleri içerisine girmektedir. Uluslararası Kuş Koruma Kurumu (Delta Birdlife International) tarafından geliştirilen bilimsel kriterlere göre nesli tehlike altında olan türleri barındırması, Türk Bilim Araştırma Vakfı (TÜBAV) topluluklarının farklı örneklerini içermesi, dar yayılışlı türlerin bulunması ve mevsimsel olarak yoğunlaşan türler için sığınma özelliği taşıması ile “Önemli Kuş Alanı” (ÖKA) statüsünde yer almaktadır. Cernek Gölü ve sulak alanı içerdiği tüm bu biyolojik çeşitliliği ve uluslararası önemi nedeniyle “Önemli Kuş Alanı” (ÖKA), “Önemli Bitki Alanı” (ÖBA) ve “Önemli Doğa Alanı” (ÖDA) statülerine sahiptir (Eken ve diğerleri, 2004; Eken, Bozdoğan, Isfendiyaroglu, Kılıç & Lise, 2006; Şimşek, Canlı ve Çetin, 2011).

1.2. Siyanobakteriler

Siyanobakteriler, Eubacteria bölümünde yer alırlar. 16S rRNA gen sekans analizlerine göre, Gram pozitif (+) bakterilere yakındırlar. Özellikle *Clostridium* sp. ve *Bacillus* sp. gibi düşük G + C (Guanin ve Sitozin) gubu ile benzerlik göstermektedir (Castenholz, 2001).

Buradan yola çıkarak Madigan, Martinko ve Parker'ın 2003'de yaptığı çalışmaya göre siyanobakterilerin 16S rRNA gen dizilimine göre üç temel grup (bacteria, archaea, eucarya) içindeki konumları Şekil 1.2'de yer almaktadır.



Şekil 1.2. 16S rRNA gen dizilimine göre siyanobakterilerin üç temel grup içindeki konumu

Siyanobakteriler, fotosentez faaliyetlerini gerçekleştirirken, organik karbon ve oksijen gazı üretmeleri yönü ile bitkilere benzerlik gösterirler. Alglerin ve bitkilerin yaptığı gibi siyanobakteriler de fotosentez faaliyetleri sırasında ihtiyaç duydukları elektronları, su molekülünü parçalayarak elde ederler. Fotosentez sonucunda çıkardıkları oksijen gazı, difüzyon yoluyla kolayca hücreyi terk eder. Siyanobakterilerin atalarında su molekülünden elektron çıkarma yolu evrimleşerek, dünyamızda oksijence zengin bir atmosfer oluşmuş ve buna bağlı olarak da oksijene dayalı metabolizmaları olan yüksek yapılı canlılar ortaya çıkmıştır (Graham, L. E., Graham, J. M. ve Wilcox, 2004).

En son taksonomik kategorizasyona göre siyanobakteriler, Cyanophyceae sınıfında, 9 takım olarak sınıflandırılmıştır.

Bu takımlar;

1- *Spirulinales*

2- *Oscillatoriales*

3- *Gleobacterales*

4- *Nostocales*

5- *Synechococcales*

6- *Pleurocapsales*

7- *Pseudanabaenales*

8- *Chroococcales*

9- *Chroococcidiopsidales*'tir (Guiry, M. D. ve Guiry, G. M., 2016).

1.2.1. Siyanobakterilerin ekolojisi

Siyanobakterilerin yeryüzünde 3,8 milyar yıl önce de yaşadığı bilinmektedir. Avustralya yakınlarındaki stromatolitlerde (kil+siyanobakteri kolonisi) siyanobakteri fosilleri keşfedilmiştir. Bu fosillerin ipliksi siyanobakteri türü olduğu tespit edilmiştir. Siyanobakterilerin yeryüzünde bu kadar uzun yıllar yaşıyor olmaları çevresel şartlara çok iyi uyum sağladıklarının göstergesidir. Bununla birlikte siyanobakteriler, okyanuslarda, ılıman topraklarda, sıcak su kaynaklarında, çöllerde, soğuk göllerde, tatlı su göllerinde, kutuplarda, nadiren de tuzlu su gölleri gibi ekstrem şartlarda yaşayamayabilmektedir. Ayrıca siyanobakterilerin çoğalmaları büyük oranda sıcaklığın ve ışığın etkisine bağlı olarak değişmektedir (Ward, Castenholz ve Miller, 2012).

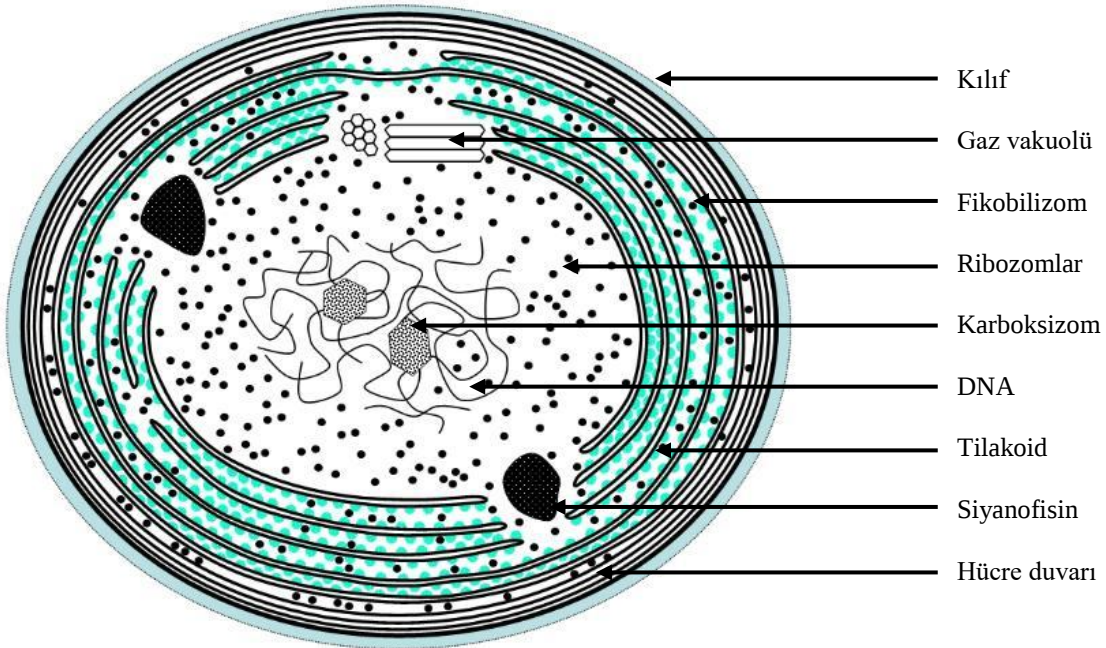
1.2.2. Siyanobakterilerin morfolojisi

Siyanobakteriler, tek hücreli ya da filamentli şekilde olup, tekli gruplar ya da koloniler oluşturabilmektedir. Filamentli siyanobakterilerin kolonilere bağlanmalarını sağlayan kılıfları bulunmaktadır. Bazı siyanobakteri hücrelerinde gerçek dallanma görülürken, bazılarında yalancı dallanma görülür. Ayrıca siyanobakteriler çoğunlukla hareketsiz olmasına rağmen yapılarında bulunan trikom ucunu öne arkaya sallamasıyla hareket edebilme yeteneklerine sahiptir.

Bunun yanında siyanobakterilerde üreme, bakterilere benzer şekilde, hücreler ikiye bölünerek gerçekleşirken, koloni meydana getiren türlerinde hücre bölünmesi ve fragmentasyon tarzında eşeysiz üreme görülmektedir (Whitton, 2000).

1.2.3. Siyanobakterilerin hücre yapıları

Siyanobakterilerin çekirdek ve plastidleri bir zarla çevrilmemiştir. Çekirdek ve plastidleri hücre içerisinde dağılmış halde bulunur (Whitton, 2000). Siyanobakterilerin hücre yapısı Şekil 1.3’de yer almaktadır (Charlebois, 2016).

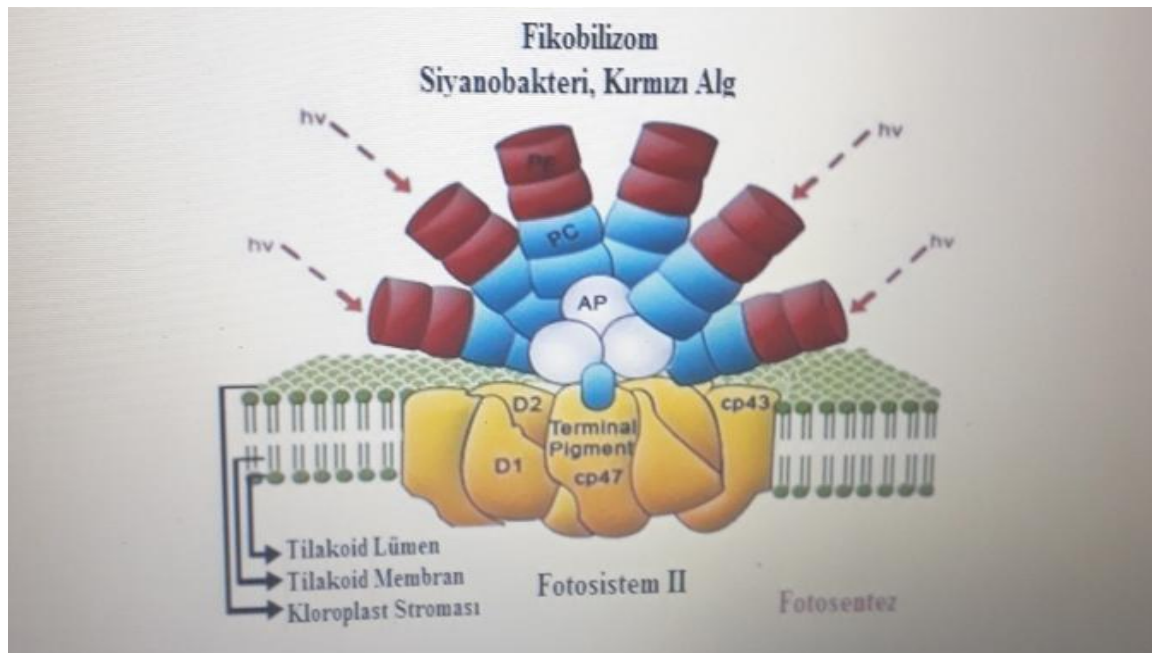


Şekil 1.3. Siyanobakterilerin hücre yapısı

Siyanobakteri hücreleri glikokaliks adı verilen bir yapıyla çevrelenmiştir.

Glikokalis karbonhidrat bakımından zengin olup, dış membranın dış kısmında bulunan bir kılıf gibidir. Hücrelerin kurumasını önleyip, temel besinin alınmasında görevlidir. Kılıf, çoğu siyanobakteri türünde polisakkaritten oluşurken, bazı siyanobakteri türlerinde ise polipeptitlerden oluşmuştur. Peptidoglikan tabakası dış membran ile plazma membranı arasında yer almaktadır. Bu tabaka sayesinde iç ve dış periplazmik boşluk oluşup, transport kanalları da bu boşlukta bulunmaktadır. Mekanik koruma sağlayıp, sert dokusuyla hücreye şekil verir.

Hücre membranı hücre organellerini sararak, hücrede yapısal bütünlüğü sağlayıp, seçici geçirgen yapısıyla madde alışverişi, hücre yapısını koruma, sinyal iletimi, hücre hareketlerinin ve hücreler arası bağlantıların sağlanması gibi önemli görevlere sahiptir. Hücre membranının yapısı protein ve lipitten oluşur. Siyanobakterilerde grana gibi yapılar olmadığından yapıları basittir. Membran organizasyonu, türe ve fizyolojik duruma göre değişmektedir (Bryant, 1994). Bunun yanında siyanobakterilerin çoğunda ışık tutucu olarak görev yapan fikobilizomlar bulunmaktadır. Fikobilizomlarda allofikosiyanın pigmenti bulunur (Madigan ve diğerleri, 2003). Fikosiyanın ve fikoeritrin merkezden dışa doğru yayılarak yüzey alanını artırır. Fikobilizomların büyüklüğü şekil, tür ve ışık koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Fikobilizomların yapısı Şekil 1.4’de yer almaktadır (Bryant, 1994).

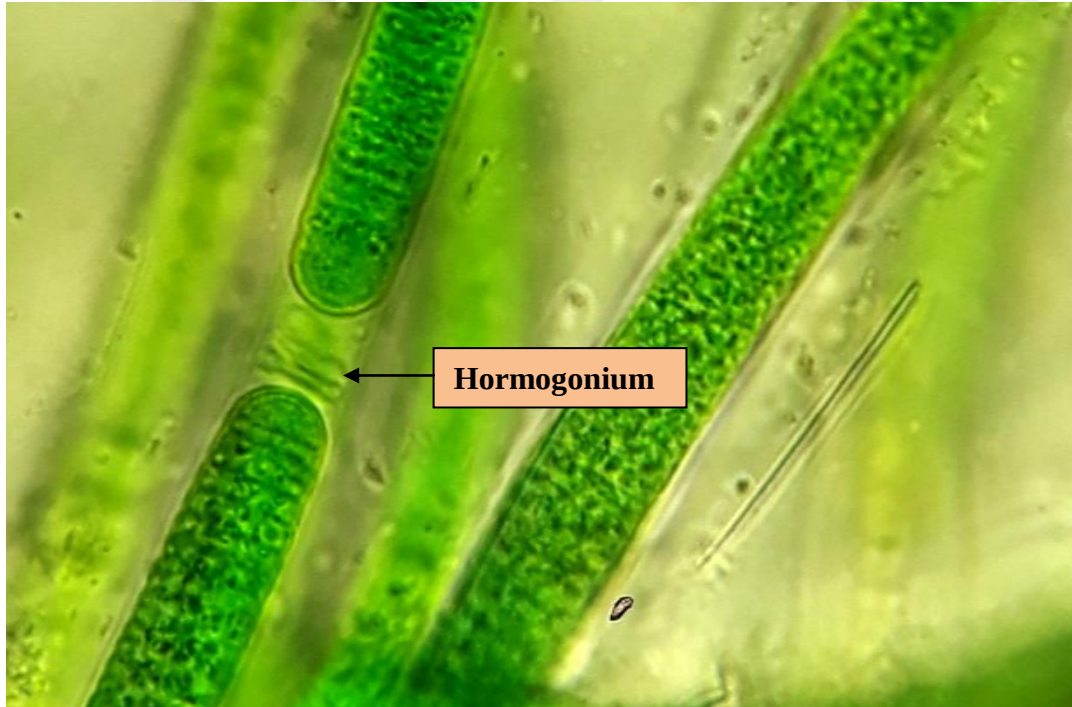


Şekil 1.4. Fikobilizomların yapısı

Siyanobakterilerin sitoplazmalarında glikojen granülleri, siyanofisin granülleri, karboksizomlar, volutin ve gaz vakuolleri bulunmaktadır (Garrity, Brenner, Krieg, Staley ve Manual, 2005). Ayrıca besin depo maddesi kromoplazma içersinde yer alır. Bu besin depo maddeleri glikojen, siyanofisin ve volitindir. Bazı siyanobakteri türlerinde yağ ve lipit de bulunur (Stal, 2012).

1.2.4. Siyanobakterilerdeki özelleşmiş hücreler ve farklılaşma

Siyanobakterilerin ortam koşullarına uyum yeteneklerinin iyi olduğu bilinmektedir. Bu amaçla siyanobakterilerde bulunan özelleşmiş hücreler, farklılaşarak siyanobakterilerin ortam koşullarına uyum yeteneklerini artırır. Bu yapılardan hormogonium, anormal şartlarda oluşur. Hormogonium ipliksi yapıda olan bazı siyanobakteri türlerinde aradaki hücrelerin ölmesiyle ipliğin birkaç hücreden oluşan parçalara dönüşmesidir (Şekil 1.5). Bu parçaların her biri hormogonium olarak adlandırılır. Hormogonium şartlar elverişli olduğunda gelişerek ipliği yeniden meydana getirir (Damerval, Guglielmi, Houmard ve De Marsac, 1991).



Şekil 1.5. Hormogoniumum yapısı (Cernek Gölü/Bafra Balık Gölleri)

Bunun yanında ipliksi siyanobakteri türlerinde anormal şartlara dayanıklı heterosist ve akinet olarak adlandırılan yapılar da bulunur. Tek hücreden meydana gelen akinet veya heterosit vejetatif hücrenin metamorfoz geçirmesiyle oluşmaktadır. Akinet, vejetatif hücreden daha büyük yapılı, kalın çeperi bulunan, yedek madde açısından zengin bir spordur (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Akinetin yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele)

Heterosist ise bazı siyanobakteri hücrelerinin büyüyerek oluşturduğu homojen görünümlü yapıdır (Hermawan, 2019). Heterosistin yapısı, Şekil 1.7’de yer almaktadır.



Şekil 1.7. Heterosistin yapısı (Cerneke Gölü/Bafra Balık Göllele)

Heterosist, vejetatif hücre ile arasında gerçekleşen fotosentez sayesinde azot fiksasyonunun gerçekleşmesini sağlar.

Azot fiksasyonu yapan siyanobakteriler genelde filamentli formdadır. Ayrıca azot fiksasyonu, sadece anaerobik koşullarda işlev görebilen nitrogenaz enziminin varlığında gerçekleşir. Nitrogenaz, azot gazından amonyum üretimini hızlandıran bir biyolojik katalizördür. Nitrogenaz enziminin Dünya atmosferinde henüz oksijen yokken ortaya çıktığı düşünülmektedir. Dünya'nın atmosferi, iki milyar yıldır oksijenlidir. Azot bağlayan bakteriler, iki milyar yıl içerisinde değişik stratejiler geliştirerek nitrogenazlarını oksijenden korumaktadır. Bu güçlüğü yenebilmek için siyanobakterilerin bazı türleri "heterosist" olarak adlandırılan yapıları bulundurmaktadır. Heterosistin hücre duvarı çok kalın olduğundan oksijenin içeri girmesini engelleyerek nitrogenazın çalışmasını sağlar. Fotosistem II'lerini kaybeden heterosistler anaerobik koşullara çok iyi uyum sağlamışlardır. Işık varlığında fotosistem I'i kullanarak ATP üretebilmektedirler. Bunun yanı sıra atmosferdeki azot gazını kullanamayan canlılar, bağlı azot açısından prokaryot canlılara ihtiyaç duymaktadır (Graham ve diğerleri, 2004).

Son yıllarda siyanobakterilerin oksijenden korunma mekanizmaları üzerine çalışmalar yapılmış olup, bu mekanizmaların filogenetik, morfolojik, fizyolojik, moleküler ve adaptasyonla ilgili özellikleri araştırılmıştır (Adams ve Rohlf, 2000; Böhme, 1998; Fay, 1992).

Serbest oksijenin %10'dan az olduğu zaman siyanobakterilerdeki azot fiksasyonu en verimli şekilde gerçekleşir. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise oksijen heterosistten sızarak nitrogenazı durdurmaktadır. Siyanobakterilerin %10'un üzerinde serbest oksijen konsantrasyonuna sahip olması fotosentezin inhibe olmasına neden olmaktadır. Siyanobakterilerin düşük oksijen koşullarında daha iyi gelişim göstermeleri belki de onların oksijen kıtlığı olan Silüriyen öncesi dönemden gelen canlılar olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu düşünceyi destekler nitelikteki diğer veri ise heterosist ve nitrogenaza sahip olmayan siyanobakteri türlerinde nitrogenazı kodlayan genlerin var olduğunun tespitidir (Keeton, Gould J. L., ve Gould C. G., 2004). Bunun yanında birçok siyanobakteri türünde, yoğunluğu suyun yoğunluğundan az olan ve yüzmeyi sağlayan gaz vakuelleri bulunur (Reynolds, Oliver ve Walsby, 1987). Siyanobakteriler, gaz vakuelleri sayesinde su yüzeyinde yüzerek, yaşamaları için daha elverişli bir ortama doğru, hareket ederler. Gaz vakuelleri bulunmayan siyanobakteri türleri genellikle dip kısımlarda birikir (Walsby, 1994).

1.2.5. Siyanobakterilerin kullanım alanları

Siyanobakteriler, atık suların temizlenmesi, güneş enerjisinin biyokütleyle dönüşümü, fazla karbondioksitin ortamdan uzaklaştırılması, hava kalitesinin artırılması, kimyasal maddelerin üretilmesinden enerji eldesine kadar çok geniş kullanım alanına sahiptirler (Converti, Casazza, Ortiz, Perego ve Borghi, 2009; Demirbaş, 2010). Bunun yanında karbondioksit, protein ve yağ asidi içeriği bakımından zengin olduklarından, hayvan yemi, gıda, kozmetik, katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır (Sasa, Şentürk, Üstündağ ve Erem, 2020). Son yıllarda ise siyanobakterilerin, fotosentez, fotosentezin genetik kontrolü, genetik ekspresyonun fotoregülasyonu, hücre farklılaşması, azot fiksasyonu gibi biyoteknoloji ve sağlık alanlarındaki kullanımları yoğunlaşmıştır (Boussiba ve Richmond, 1980).

1.3. Antimikrobiyal Aktivite

Bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanılan antibiyotikler ve farmakolojik aktif bileşikler bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları ortadan kaldırırken bazı yararlı mikroorganizmaları da olumsuz etkilemekte olup, sık ve bilinçsiz kullanılan antibiyotikler ise patojen mikroorganizmaları bakterilere karşı daha dirençli hale getirmektedir. Antibiyotiklere ve farmakolojik aktif bileşiklere karşı direnç geliştiren patojen mikroorganizmaların yaptıkları enfeksiyonların sayısındaki artış siyanobakterilerin aktif bileşiklerinin araştırılmasına yönelik ilgiyi arttırmıştır (Uçarkuş ve diğerleri, 2017). Siyanobakterin aktif bileşiklerinin izolasyonu genel olarak iki nedenden dolayı araştırılmaktadır. Bunlardan birincisi; farmakolojik ve biyolojik uygulamalar için yeni bileşiklerin keşfi, ikincisi ise organizmaların doğal ortamlarındaki ilişkilerinin daha iyi anlaşılmasıdır (Rania ve Hala, 2008).

Siyanobakteriler üzerine yapılan araştırmalar göstermiştir ki, siyanobakteriler, antimikrobiyal aktivitesi bulunan aktif bileşikler üretmektedir. Siyanobakterilerin sekonder metabolitleri ile toksik, hormonal ve antimikrobiyal aktiviteleri arasında önemli ilişkiler bulunmaktadır (Carmichael, 2001; Patterson, Larsen ve Moore, 1994). Bu bileşikler Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkili bulunmuştur. Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasında da Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili oldukları saptanmıştır.

Bunun sebebinin, Gram negatif bakterilerin toksik ajanlara karşı dirençli olması ve membranlarında bulunan lipopolisakkaritlerin dış çevreleriyle bağlantıyı keserek bir bariyer görevi yapmasından kaynaklandığı ifade edilmektedir (Dixon, Al-Nazawi ve Alderson, 2004).

1.3.1. Mikrodilüsyon yöntemi

Antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların gösterdiği duyarlılık çok farklı şekillerde olup, bu durum, mikroorganizmaların türüne ya da antibiyotiklerin yapısına göre değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle kullanılacak olan antibiyotiğin statik özelliğinin çok iyi belirlenmesi gerekmektedir. Mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı duyarlılığının saptanmasında, dilüsyon ve difüzyon olmak üzere başlıca iki yöntem vardır. Dilüsyon tekniği ise tüp dilüsyon ve agar dilüsyon olmak üzere iki tanedir.

Tüp dilüsyon tekniği makro ve mikro olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Her iki yöntem de prensip olarak aynı olmasına rağmen, makrodilüsyon yönteminde test tüpleri kullanılırken, mikrodilüsyon yönteminde "U" veya "V" tabanlı mikropate kullanılmaktadır. Mikrodilüsyon yöntemi antimikrobiyal maddelerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerini belirlemede kullanılmaktadır. MİK değeri, antimikrobiyal maddenin statik etkisini göstermektedir. MİK, antimikrobiyal özellikteki maddenin mikroorganizmaların gelişmesine engel olan en düşük yoğunluğu olarak ifade edilmektedir. Agar dilüsyon tekniği ise tüp dilüsyon tekniğine benzemesine rağmen tek fark, bu yöntemde dilüsyonları hazırlanan antimikrobiyal maddenin agar içine eklenerek iyice karıştırılıp, petrilere dökülmesidir. Böylece her petride antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonları bulunmaktadır. Yine kullanılan test mikroorganizmaları da bu şekilde ekilmektedir. Difüzyon tekniği agar yüzeyinde farklı yöntemlerle uygulanmaktadır. Bu uygulamalar içerisinde yer alan ve en çok kullanılan yöntem disk difüzyon yöntemidir. Bu yöntemde kâğıt disklere emdirilen antimikrobiyal maddenin, test mikroorganizmanın inoküle edildiği besi ortamına difüzyonu prensibine dayanmaktadır. Belirli miktarlarda antimikrobiyal madde emdirilmiş kâğıt diskler, test mikroorganizmasının inoküle edildiği katı besi ortamına yerleştirilmektedir.

Petrilerin inkübasyonu sonucunda disk çevresinde oluşan inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçülmekte, sonuçlar standart zon tablolarına göre değerlendirildikten sonra mikroorganizmanın kullanılan antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılık durumu belirlenmektedir (Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, 2018). Agar difüzyon yöntemi kapsamında kullanılan diğer yöntem de kültür içeren besi ortamı üzerine belirli çapta kuyucuklar açılmakta ve bu kuyucukların içine homojen olarak çözölmüş uçucu yağ karışımı ilave edildikten sonra petriler inkübe edilmektedir. İnkübasyon süresi sonunda kullanılan maddenin etkinliği, kuyucuk etrafında oluşan inhibisyon zonları ile tespit edilmektedir. Kullanılan maddenin antimikrobiyal etkisi, disk difüzyon testine benzer şekilde değerlendirilmekte, antimikrobiyal etki, oluşan inhibisyon zonunun çapı ile doğru orantılı olarak artmaktadır (Burt, 2004; Schelz, Molnar ve Hohmann, 2006).

1.4. Antioksidan Aktivite

Bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içeren molekül ya da atomlar serbest radikaller olarak isimlendirilir (Yazıcı ve Kader, 2004). Antioksidanlar, mevcut ortamdan uzaklaştırarak ya da serbest radikallerin oluşumunu önleyerek hücrenin zarar görmesine engel olup, çoğunlukla yapılarında fenolik bileşik bulunduran moleküllerdir (Kähkönen ve diğerleri, 1999; Nagai, Myoda ve Nagashima, 2005). Süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^-), peroksi (ROO) gibi oksijen içeren serbest oksijen radikalleri (SOR) kararsız yapıda olup kolayca reaksiyon verebilen bileşiklerdir (Yazıcı ve Kader, 2004). Solunum, enzim reaksiyonları, UV ışınlar, iyonize radyasyon gibi çevresel kaynakların etkisiyle serbest radikaller meydana gelebilmektedir (Young ve Woodside, 2001). Serbest radikaller çoğu dejeneratif düzensizlik, kanser ve bunun gibi hastalıklar, kalp damar hastalıkları ve alzheimer gibi hastalıkların oluşumunda önemli rol oynar (Devasagayam ve diğerleri, 2004; Sarma, Mallick ve Ghosh, 2010). Antioksidanlar ise serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonun bazı zararlı etkilerini hafifletebilir (Rice-Evans ve Burdon, 1993). Yine serbest radikal oluşumunu engellenmesi ve oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi antioksidanlar sayesinde olur (Serteser ve Gök, 2003). Antioksidanların aktivitesi konsantrasyon miktarı, sıcaklık, substrat çeşidi ve ortamdaki oksijen miktarı gibi özellikler dikkate alındığında, değişiklik göstermektedir (Becker ve diğerleri, 2004).

Antioksidanlar mekanizmalarına göre iki sınıfa ayrılırlar. Bunlardan ilki olan birincil antioksidanlar, radikaller ile reaksiyona girip, zararlı formlara dönüşmesini ve yeni serbest radikal oluşmasını engellemektedir (örneğin; katalaz, peroksidaz, transferin). İkinci grup ise ikincil antioksidanlar olup, oksijen radikalini yakalayarak sistem içerisinde oluşacak radikal zincir reaksiyonlarını önlemektedir (örneğin; askorbik asit, E vitamini, polifenoller) (Serteser ve Gök, 2003).

Temel antioksidan kaynakları dörde ayrılmıştır (Prior, Wu ve Schaich, 2005). Bu antioksidan kaynakları;

1. Enzimler; süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz
2. Büyük moleküller; albumin, ferritin ve diğer proteinler
3. Küçük moleküller; askorbik asit, ürik asit, tokoferol, karetonoidler, polifenoller (epigallokateşin, epigallokateşingallat, epikateşin, kateşin, kafeik asit, klorojenik asit, gallik asit, ferulik asit, kumarik asit vb.)
4. Bazı hormonlar; östrojen, melatonin vb.

Toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesi için hidrojen atomu transfer (HAT) yöntemi ve elektron transferine (ET) yöntemi kullanılmaktadır. HAT temelli yöntemlerin çoğu, azo bileşiklerin bozulması yolu ile oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayanan reaksiyonlardır. ET temelli yöntemler ise antioksidanın oksidantı indirgenme yeteneğini renk değişimi ile belirleyen yöntemlerdir. HAT temelli yöntemler; genellikle pH etkisinden, çözücünden kısmi olarak bağımsız ve kısa sürede gerçekleşirken, ET temelli yöntemler; pH'a, çözücüye bağlı olarak ve yavaş şekilde gerçekleşir (Apak, Güçlü, Özyürek ve Karademir, 2004). DPPH radikalleri süpürme yöntemi ve Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) ET temelli yöntemlerdir.

1.4.1. DPPH radikalleri sönümleme yöntemi

DPPH'nin (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) maksimum absorbans'ı 515 nm'de, minimum absorbans ise 517 nm' de antioksidan ile serbest DPPH radikalin proton transferi ile gerçekleşmektedir (Huang, Ou ve Prior, 2005).

Görünür alanda gerçekleşen bu süreç absorban sabitleninceye kadar spektrofotometre ile takibe alınmaktadır (MacDonald-Wicks, Wood ve Garg, 2006; Scalzo, 2008). Bu yöntem teknik açıdan basit ve hızlı gerçekleşen bir yöntemdir. Ancak bazı dezavantajları bu yöntemin uygulamasını sınırlandırmaktadır. Bu dezavantajlar;

- Peroksil radikalleri ile çok hızla reaksiyon oluşturabilen birçok antioksidan, DPPH ile yavaş reaksiyona oluşturabilir ya da hiç reaksiyon oluşturmazabilir.
- DPPH uzun ömürlü bir azot radikali olup, lipid peroksidasyonu ile alakalı bir reaktif ve kısa ömürlü olan peroksil radikali ile benzerlik göstermemektedir (Huang ve diğerleri, 2005; Magalhães, Segundo, Reis ve Lima, 2008; Prior ve diğerleri, 2005).

1.4.2. Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi

Tütem ve Apak tarafından (1991) ılımlı bir oksidan olarak çeşitli indirgen ajanların tayini için kullanılabileceği önerilen bis (neokuprein) bakır (II) klorür reaktifi, sistein, E vitamini (Tütem, Apak, Günaydı ve Sözgen, 1997) ve askorbik asit'in (Güçlü, Sözgen, Tütem, Özyürek ve Apak, 2005) tayininde başarı ile kullanılmıştır. Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC: Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) ile hem hidrofilik, hem lipofilik antioksidan kapasite belirlenmektedir.

Sentetik antioksidanların kanserojen etkilerinin olması, bilim insanlarını doğal antioksidanlar üzerine araştırma yapmaya yöneltmiştir (Madhavi, Deshpande ve Salunkhe, 1995). Son zamanlarda antioksidan fonksiyonu olan çoklu doymamış yağ asitleri, β -karoten ve diğer pigmentler gibi çeşitli aktif bileşiklerin kaynağı olan siyanobakterilere olan ilgi artmıştır. Siyanobakterilerden elde edilen pigment maddeleri, güçlü antioksidan özelliğe sahiptir (Bhat ve Madyastha, 2001; Reddy ve diğerleri, 2000; Wang, Pan, Sheng, Xu ve Hu, 2007).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu yüksek lisans tez çalışması Amasya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi laboratuvarında yapılmıştır (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Çalışmanın yürütüldüğü laboratuvar

2.1.1. Çalışmada kullanılan besi ortamları

BG 11 ve BG11₀ sıvı besi ortamı

Sıvı besi ortamı hazırlanırken, tüm malzemeler Abelson ve Simon'un 1988'de yaptığı çalışmalarından yararlanılarak hazırlanıp, 121 °C'de 20 dk otoklavlanmıştır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Sıvı besi ortamı hazırlama

Malzemeler	Miktarı (g/L)	BG-11-1X Miktarı (ml)	BG-11 ₀ -1X Miktarı (ml)	Solüsyonu	Miktarı (g)
MgSO ₄ ·7H ₂ O (MERCK)	6	10	10	H ₃ BO ₃ (MERCK)	2,86
C ₆ H ₈ O ₇ (MERCK)	0,6	10	10	MnCl ₂ ·4H ₂ O (MERCK)	1,81
Fe(C ₆ H ₆ O ₇) (SİGMA)	0,6	10	10	ZnSO ₄ ·7H ₂ O (MERCK)	0,22
CaCl ₂ ·2H ₂ O (MERCK)	3,6	10	10	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O (MERCK)	0,39
[CH ₂ N (CH ₂ COOH) ₂] ₂ (SİGMA)	0,1	10	10	CuSO ₄ ·5H ₂ O (MERCK)	0,079
K ₂ HPO ₄ (MERCK)	4	10	10	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O (MERCK)	0,0494
Na ₂ CO ₃ (MERCK)	3	10	10	Distile su	1L
NaNO ₃ (MERCK)	150	10	-		
Solüsyon	-	1	1		
		Distile su ile 1L'ye tamamlanır	Distile su ile 1L'ye tamamlanır.		

BG 11 ve BG-11₀ katı besi ortamı

Katı besi ortamı hazırlanırken tüm malzemeler Abelson ve Simon'un 1988'de yaptığı çalışmalarından yararlanılarak hazırlanıp, 121 °C'de 20 dk otoklavlanmıştır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Katı besi ortamı hazırlama

Malzemeler	Miktarı (g/L)	BG-11-1X Miktarı (ml)	BG-11 ₀ -1X Miktarı (ml)	Solüsyonu	Miktarı (g)
MgSO ₄ .7H ₂ O (MERCK)	6	10	10	H ₃ BO ₃ (MERCK)	2,86
C ₆ H ₈ O ₇ (MERCK)	0,6	10	10	MnCl ₂ .4H ₂ O (MERCK)	1,81
Fe(C ₆ H ₆ O ₇) (SİGMA)	0,6	10	10	ZnSO ₄ .7H ₂ O (MERCK)	0,22
CaCl ₂ .2H ₂ O (MERCK)	3,6	10	10	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (MERCK)	0,39
[CH ₂ N (CH ₂ COOH) ₂] ₂ (SİGMA)	0,1	10	10	CuSO ₄ .5H ₂ O (MERCK)	0,079
K ₂ HPO ₄ (MERCK)	4	10	10	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O (MERCK)	0,0494
Na ₂ CO ₃ (MERCK)	3	10	10	Distile su	1L
NaNO ₃ (MERCK)	150	10	-		
Solüsyon	-	1	1		
		Distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.	Distile su ile 500 ml'ye tamamlanır.		

Otoklavlanan besi ortamı (BG-11- BG-11₀), otoklavlanan agar powder (SİGMA) (12gr/500ml) ile karıştırılarak petrilere dökülmüştür. Katılaştıktan sonra 4 °C'de saklanmıştır.

Nutrient agar (NA) plakları

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan bakterilerin ve mayaların, geliştirilmesi ve stoklanması için kullanılmıştır.

20 g Nutrient Agar

1000 ml Distile Su

Nutrient agar ve distile su karışımı, 121 °C'de 20 dakika otoklavlanarak (NÜVE-STEAMART OT-90L) steril edilip, petrilere dökülmüştür. Katılaştıktan sonra 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Nutrient broth (NB) sıvı besi ortamı

Bakterilerin kültürde büyütülmeleri amacı ile kullanılmıştır.

8 g Nutrient Broth

1000 ml Distile Su

Broth ve distile su karışımı, 121 °C'de 20 dakika otoklavlanarak steril edilip, 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.1.2. Çalışmada kullanılan çözeltiler

5X TBE buffer (5x Tris-borate-EDTA)

108 g Trisma Base (SIGMA)

55 g H₃BO₃ (MERCK)

40 ml 0,5 M [CH₂N(CH₂COOH)₂]₂

Distile Su ile 2 litreye tamamlanmıştır.

pH:8

Manyetik karıştırıcı (MTOPS MS300HS MAGNETİC STİRRER) ile karıştırılarak homojenize edilmiştir (Boutte ve diğerleri, 2005).

1X TBE buffer (1x Tris-borate-EDTA)

5X TBE'den 400 ml alınıp,

1600 ml Distile Su eklenmiştir.

Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak homojenize edilmiştir (Boutte, Grubisic, Balthasarat, ve Wilmotte, 2006).

Liziz buffer

40 mM $[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2]_2$ (SİGMA)

400 mM NaCl (MERCK)

0,75 mM Tris HCl (MERCK)

pH: 8,3

Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak homojenize edilmiştir (Abelson ve Simon, 1988).

TE (Tris-EDTA) buffer

2,5 ml 1M Tris HCl (MERCK)

0,5 ml 0,5 M $[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_2]_2$ (SİGMA)

2,47 ml Distile Su

pH:8

Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak homojenize edilmiştir (Sambrook, Fritsch ve Maniatis, 1989).

DPPH hazırlama

25 mg DPPH

1000 ml Distile Su

4 °C'de 24 saat saklanmıştır.

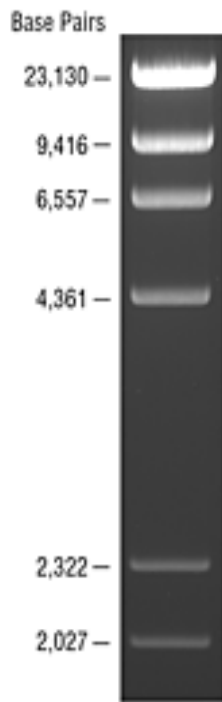
2.1.3. Çalışmada kullanılan primerler

Çalışmada 23S30R, CYA359F, CYA781R (a), CYA781R (b) ve CYA1494R primerleri kullanılmıştır (Taton, Grubisic, Brambilla, De Wit ve Wilmotte, 2003; Boutte ve diğerleri, 2005).

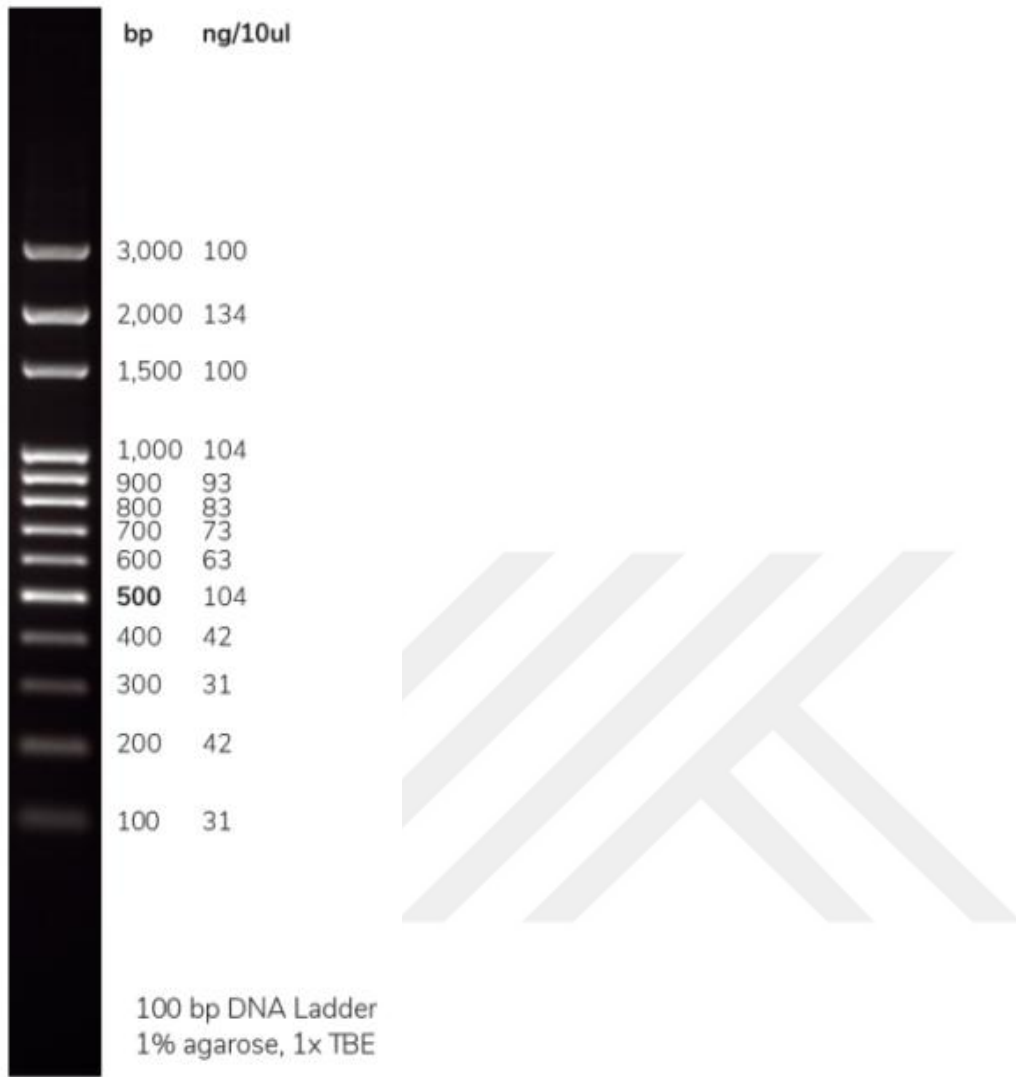
Çizelge 1.3. Çalışmada kullanılan primerler

Primer	Sekans (5'-3')	Pozisyon 3' ucu
23S30R	CTT CGC CTC TGT GTG CCT AGG T	30
CYA359F	GGG GAA TTT TCC GCA ATG GG	359
CYA781R (a)	GAC TAC TGG GGT GGT ATC TAA TCC CAT T	781
CYA781R (b)	GAC TAC AGG GGT ATC TAA TCC CTT T	781
CYA1494R	GTA CGG CTA CCT TGT TAC GAC	1494

2.1.4. Çalışmada kullanılan markırlar



Şekil 1.9. λ DNA/HindIII Digest (FERMENTAS) Markır'ın fragment profili

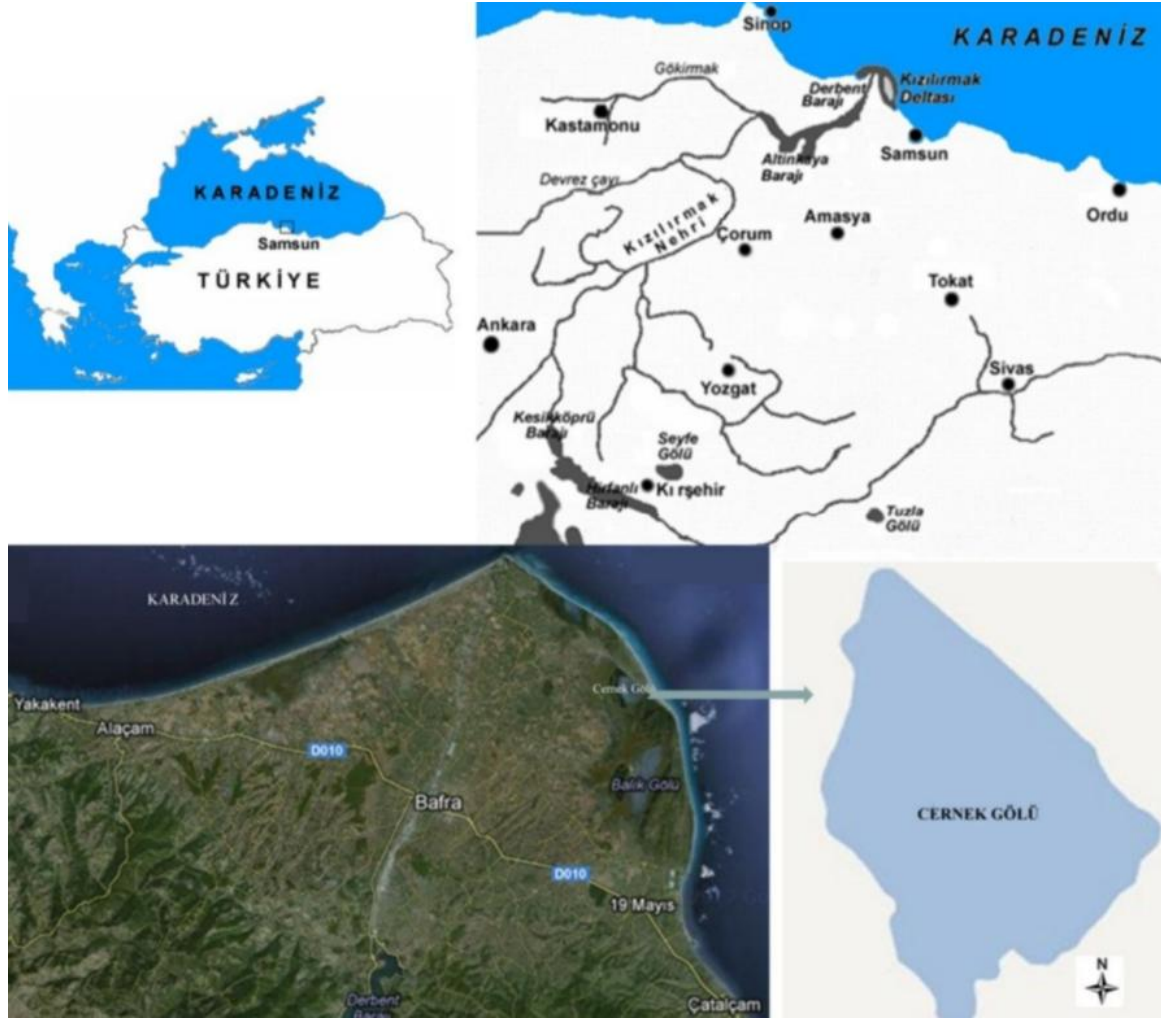


Şekil 1.10. 100 bp DNA Ladder (SOLİS BİODYNE) Markır'ın fragment profili

2.2. Yöntem

2.2.1. Cernek gölü örnekleme noktaları

Siyanobakteri türleri, Cernek Gölü'nün farklı noktalarından, 20 Ağustos 2019'da örnekleme yapılarak elde edilmiştir. Örnekleme yapılan alan Şekil 1.11'de yer almaktadır (Taş ve Gönüloğlu, 2007; Bekleyen ve Taş, 2008).



Şekil 1.11. Cernek Gölü (Cernek Gölü/Bafra Balık Gölleri)

Örnekleme noktasının koordinatları belirlenerek örnekleme noktalarında fotoğraflama yapılmıştır.



1)



2)



3)

4)

Şekil 1.12. Cernek Gölü'nden su örneklerin alındığı koordinatlar;

1: (41.646110, 36.079445)

2: (41.646110, 36.079166)

3: (41.646110, 36.079445)

4: (41.646390, 36.079445)

2.2.2. Su örneklerinin kimyasal analizi

20 Agustos 2019 tarihinde Cernek Gölü'nden 5'er litre su örneği plastik şişelere alınarak aynı gün laboratuvara getirilmiştir.

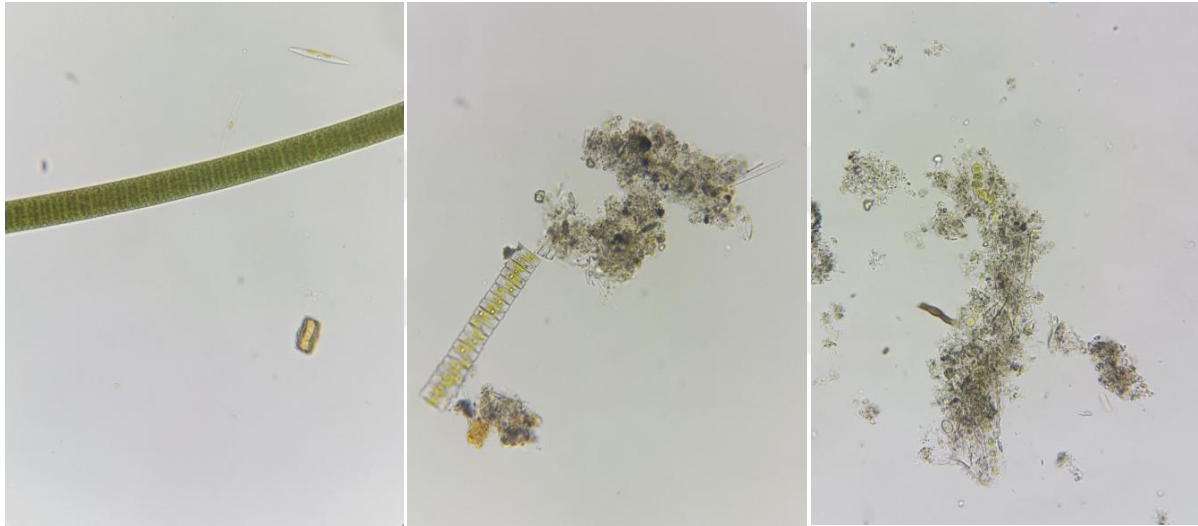


Şekil 1.13. Cernek Gölü'nden alınan su örnekleri

Getirilen su örneğinin ICP-OES analizleri yapılmıştır. Sudaki Fe^{+2} , Ca^{+2} , Na^{+2} , K^{+} ve Mg^{+2} değerlerine bakılmıştır. Suyun pH değeri pH metre (İSOLAB) ile ölçülmüştür. Ayrıca suyun sıcaklığı tespit edilmiştir.

2.2.3. Su örneklerinin mikroskopik görüntüsü

Cernek Gölü'nden alınan su örneklerinden preparat hazırlanarak mikroskopik görünümüleri fotoğraflamıştır. Siyanobakterileri türlerinin morfolojik yapıları tespit edilmiştir (40X objektif kullanılmıştır).



Şekil 1.14. Su örneklerinin mikroskopik görüntüleri

2.2.4. Su örneklerinin filtrasyonu

Cernek Gölü'nden alınan su örnekleri 0,2 μm steril filtreden (FİLTRE-LAB) süzülerek, siyanobakteri DNA'sının sudan ayrışarak filtre üzerinde toplanması sağlanmıştır. Filtrede 100 ml olmak üzere toplam 600 ml su örneği süzölmüştür.



Şekil 1.15. Filtrasyon düzeneği

2.2.5. Su örneklerinden siyanobakteri izolasyonu

Cernek Gölü'nden siyanobakteri izolasyonu için 250 ml'lik erlende 100 ml sıvı besi ortamı (2X konsantrasyonda) hazırlanmıştır. Bunun için dört tane BG-11 sıvı besi ortamı, dört tane BG-11₀ sıvı besi ortamı hazırlanmıştır. 250 ml'lik erlende bulunan sıvı besi (100 ml) ortamlarına ökaryotik canlıları ayrıştırmak için 1'er ml cycloheximide (0,1g/ml) eklenmiştir. Su örnekleri 0,2 µm gözenek çaplı filtreden geçirilerek cycloheximide (SİGMA) bulunan bu besiyerlerine ekilmiştir. Uygun koşullarda (optimum ışık ve sıcaklık), yaklaşık üç hafta gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen siyanobakterilerin saflaştırılması ve biyokütle olarak yeterli büyüklüğe ulaşmasında 1X konsantrasyonda hazırlanan sıvı ve katı besi ortamı (BG-11, BG-11₀) kullanılmıştır. Saflaştırma aşamasında sıvı besi ortamı kullanılırken, siyanobakteri steril şartlarda cam pastör pipet yardımıyla cam tüp içersinde bulunan 15 ml sıvı besi ortamına ekilmiştir.

Vortexlenerek karıştırılıp, steril şartlarda cam pastör pipet yardımıyla ikinci bir tüpe ekim yapılarak dilüsyon yapılmıştır. Saflastırma aşamasında katı besi ortamı kullanılırken, damlatma ya da çizgi ekimi yöntemi kullanılmıştır. Damlatma ekimi ile yapılan işlemde, steril şartlarda cam pastör pipet yardımıyla alınan siyanobakteri örneği, petrideki steril katı besi ortamına, birbirine karışmayacak şekilde damlatma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Çizgi ekimi ise, steril şartlarda steril öze ya da eküvyon çubuk yardımıyla alınan siyanobakteri örneği, hayali dört bölgeye ayırdığımız petrideki steril katı besi ortamına, önce birinci bölgeye birkaç çizim yapılarak, ardından özeyi steril edip ilk çizimde birinci bölgeye de dokunup diğer çizimlerde dokundurmadan devam ederek üçüncü ve dördüncü çizimler de yapılarak gerçekleştirilmiştir (Abelson ve Simon, 1988).

2.2.6. Siyanobakteri izolatlarının identifikasyonu

Siyanobakteri izolatlarının mikroskopik analizi

Siyanobakteri türlerinin mikroskopik analizleri yapılırken sıvı kültürlerden yararlanılmıştır. Sıvı kültürden steril cam pasteur pipeti ile steril şartlarda, bir miktar sıvı kültür alınarak preparat hazırlanmıştır. Işık mikroskobu ile izolatların saf olup olmadıkları, filamentli ya da tek hücreli olup olmadıkları, filamentli türlerin heterosit içerip içermedikleri, renkleri gibi morfolojik analizleri yapılmıştır (Boone ve diğerleri, 2001).

Siyanobakteri izolatlarının moleküler identifikasyonu

Siyanobakteri izolatlarının moleküler identifikasyonu yapılırken nükleik asit analizine dayanan testler yapılmıştır (Boutte ve diğerleri, 2005).

16S rRNA geni amplifikasyonu için siyanobakteri izolatlarından DNA ekstraksiyonu

Saflaştırılmış olan izolatların 16S rRNA geni amplifikasyonları için sıvı besi ortamlarına (BG-11) ekimleri yapılmış olup, uygun ışık ve sıcaklık ortamında yaklaşık 3 hafta inkübasyona bırakılmıştır. Bu sıvı kültürler yeterli hücre yoğunluğuna ulaştığında DNA izolasyonları yapılmıştır.

DNA izolasyonu için:

- Saf siyanobakteri türleri cam pastör pipet ile steril şartlarda, steril ependof tüplere (1,5 ml'lik) alınıp, (1 ml), 7,500 rpm'de 6 dk santrifüj yapılarak süpernatant uzaklaştırıldı.
- Pallet üzerine 5 µl lizozim (10mg/ml) ve 500 µl liziz buffer eklenip, vortex yapılarak, karıştırıldı.
- Etüvde 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda tüplere 16 µl NLS (N-loril sarkozil (%30)) eklenip, vortex yapılarak, karıştırıldı.
- Etüvde 65 °C'de 3 saat inkübasyona bırakıldı.
- 10 dk buzda bekletildi.
- 200 µl KoAC (5M) eklenerek shaker'de 100 rpm'de 2 dk karıştırıldı.
- 13,000 rpm'de 10 dk 4 °C'de santrifüj yapıldı.
- 600 µl süpernatant, 60 µl DNA su ve 660 µl isoproponol steril ependof tüplere alındı.
- 13,000 rpm'de, 15 dk, 4 °C'de santrifüj yapılarak, süpernatant uzaklaştırıldı.
- Palet üzerine 600 µl soğuk ethanol (%70) eklendi.
- 13,000 rpm'de, 15 dk, 4 °C'de santrifüj yapılarak, ethanol uzaklaştırıldı.
- Ependof tüpler kurutma kağıdının üzerine ters çevrilip, 30 dk bekletilerek kurutuldu.
- Tüp içindeki siyanobakteri DNA'ları, 30 µl TE buffer içinde çözündü.
- İzole edilen DNA'lar -20 °C'de saklanmıştır (Boutte ve diğerleri, 2005).

16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu

Siyanobakteri genomik DNA'dan 16S rRNA gen + ITS ve 5' 23S ucunun PZR amplifikasyonu 25 µl'lik bir reaksiyon karışımında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 359F (5'-GGG GAA TTT TCC GCA ATG GG-3') ve 23S30R (5'-CTT CGC CTC TGT GTG CCT AGG T-3') primer setleri kullanılmıştır. Amplifikasyon reaksiyonu PZR cihazı (PEQLAB) ile yapılmıştır. Kullanılan koşullar şu şekilde tanımlanmıştır (Boutte ve diğerleri).

Çizelge 1.4. PZR mix hazırlanırken kullanılan malzemeler ve miktarları

PZR mix	
Malzeme	Miktar (µl)
10X Dream Taq Buffer	2,5
BSA (bovine serum albumin)	2,5
MgCl ₂	2
359F	1
23S30R	1
dNTP mix	1
Dream Taq Polimeraz	0,25
Steril su	13,75
Genomik DNA	1

Toplam hacim 25µl'ye tamamlanmıştır.



Şekil 1.16. Polimeraz zincir reaksiyonları (PZR)

PZR koşulları aşağıdaki şekilde kurgulanmıştır (Çizelge 1.5) (Boutte ve diğerleri, 2005; Calusinka, 2005).

Çizelge 1.5. PZR koşulları

PZR koşulları		
başlangıç	ön denaturasyon basamağı: 94 °C 5 dk	
	denaturasyon basamağı: 94 °C 30 s	30 döngü
	annealing basamağı: 57 °C 30 s	
	elongation basamağı: 72 °C 2 dk	
son	son elongation basamağı: 72 °C 7 dk	

Elde edilen PZR ürünleri %1'lik agarose jel 120V'da 30 dk yürütülerek gözlenmiştir (Boutte ve diğerleri, 2005).

Restriksiyon enzimi ile kesim (ardıra profillerine bakma)

MspI restriksiyon endonukleaz (MBI FERMENTAS) kullanılarak, izolatlardan elde edilen PZR ürünlerinin kesimi yapılmıştır.

MspI (HPA II)

5'...C↓CGG...3'

3'...GGC↑C...5'

Çizelge 1.6. Kesim reaksiyonu aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

Enzim mix hazırlama	
Malzeme	Miktar (µl)
PZR ürünü	20
Buffer tango	2,5
<i>MspI</i>	0,5
Steril su	2

37 °C'de 5 saat inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon 65 °C'de 20 dk inkübasyon ile sona erdirilmiştir (Boutte ve diğerleri, 2005; Calusinka 2005).

Agarose jel elektroforezi

%2'lik (2,4 g Agorose + 120 ml 1X TBE buffer) Agarose (SİGMA) jel hazırlanmıştır. Mikrodalgada Agarose eriyinceye kadar ısıtılmıştır (4 dk). Biraz soğuyunca Jel aparatına dökülerek, polimerizasyona bırakılmıştır.



Şekil 1.17. Agarose jel elektroforezi

Daha sonra örnekler elektroforezde 50V'da 2 saat süre ile yürütülmüştür (Şekil 1.17).



Şekil 1.18. Agarose jelin ethidium bromür ile boyanması

Elektroforez sonrasında jel, ethidium bromür (SİGMA) ile boyanmıştır (Şekil 1.18). Ethidium bromür ile boyanan jel UV ışık altında transillüminatörde gözlenmiştir (Şekil 1.19).



Şekil 1.19. Transsilüminatörde gözlem

İzolatlardan elde edilen PZR ürünlerinin dizi analizi

PZR ürünlerinden dizi analizi için, ARDRA jeli sonrasında elde edilen benzer bant profillerine sahip olan izolatlardan sadece bir tanesi seçilmiş olup, bu izolatlara ait olan PZR ürününün, dizi analizi için saflaştırılması yapılmıştır.

PZR ürünlerinin saflaştırma işlem basamakları şu şekildedir:

- Kolonu toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- Kolonuna 80 µl “binding buffer” eklenmiştir.
- Saflaştırılacak olan DNA solüsyonu kolona transfer edilmiş ve pipetleyerek 4-6 kez karıştırılmıştır.
- 12,000 rpm’de 1 dk santrifüjlenmiştir.
- Toplama tüpü boşaltılıp, kolon boş olan toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir.
- Kolona 700 µl “wash buffer” eklenmiştir.

- 12,000 rpm’de 2 dk santrifüjlenmiştir.
- Toplama tüpü atılıp, kolon 1,5 ml’lik stril ependof tüpe transfer edilmiştir.
- Kolonu içerisindeki fiber matriks in üzerine 30 μ l “elution buffer” eklenmiştir.
- Örnek dakika oda sıcaklığında 5-10 dk bekletilip, inkübe edilmiştir.
- 12,000 rpm’de 1 dk santrifüjlenmiştir.
- Saf DNA elde edilmiştir.

Saflaştırılmış olan PZR ürünleri dizi analizi için GIGA Genomics Facility, Molecular Genetics/Belgium birimine gönderilerek analiz sonuçları elde edilmiştir.



Şekil 1.20. PZR ürünlerinin santrifüjü

2.2.7. Su örneklerinden DNA ekstraksiyonu

Alınan su örnekleri 0,2 μ m por çapındaki (FİLTRE LAB) filtre ile filtrasyon işlemi yapılarak siyanobakteri türlerinin DNA’sı elde edilmiştir. Filtre -20 °C’de saklanmıştır.

Filtrelerden DNA izolasyonu için;

- -20 °C’de saklanmış olan filtre steril makas ile parçalara ayrılıp, 50 ml’lik falkon tüplere alınmıştır.
- Üzerine 50 µl lizozim (10mg/ml) ve 5 ml liziz buffer eklenip, vortex (CLEAVER) yapılarak, karışması sağlandı.
- Etüvde (MEMMERT) 37 °C’de 1 saat inkübe edilip, vortex yapılarak, karışması sağlandı.
- 160 µl NLS (N-loril sarkozil) (%30) eklendi.
- Etüvde 65 °C’de 3 saat inkübasyona bırakıldı.
- 10 dk buzda bekletildi.
- 2 ml KoAC (Potasyum asetat (5M)) eklenip, orbital shaker’de (STUART) 100 rpm’de 2 dk karıştırıldı.
- Santrifüjde (SİGMA) 13.000 rpm’ de 10 dk 4 °C’de santrifüj yapıldı.
- 600 µl süpernatant, 60 µl DNA su ve 660 µl isopropanol (BİRPA) steril ependof tüplere alındı.
- 13,000 rpm’de, 15 dk, 4 °C’de santrifüj yapıp, süpernatant uzaklaştırıldı.
- Palet üzerine soğuk ethanol 600 µl (%70) eklendi.
- 13,000 rpm’de, 15 dk, 4 °C’de santrifüj yapıp, ethanol uzaklaştırıldı.
- Ependof tüpler kurutma kağıdının üzerinde ters çevrilerek kurumaya bırakıldı (yaklaşık 30 dk).
- Tüp içindeki DNA’lar, 30 µl TE buffer içinde çözüldü.
- İzole edilen DNA’lar +4 °C’de saklanmıştır (Boutte ve diğerleri, 2005; Calusinka, 2005).

2.2.8. Saf siyanobakteri türlerinin biyokütlece geliştirilmesi

Saflařan iyanobakteri türleri, 50 ml azotlu BG-11 sıvı besiyerlerinde 10 gün, 200 ml azotlu BG-11 sıvı besiyerlerinde 10 gün, 700 ml azotlu BG-11 sıvı besiyerlerinde 10 gün olmak üzere toplamda 30 gün optimum sıcaklık (Yaklaşık 35 °C) ve optimum ışık (Yaklaşık 400 Lüks) ortamında inkübasyona bırakılmıştır.



1)

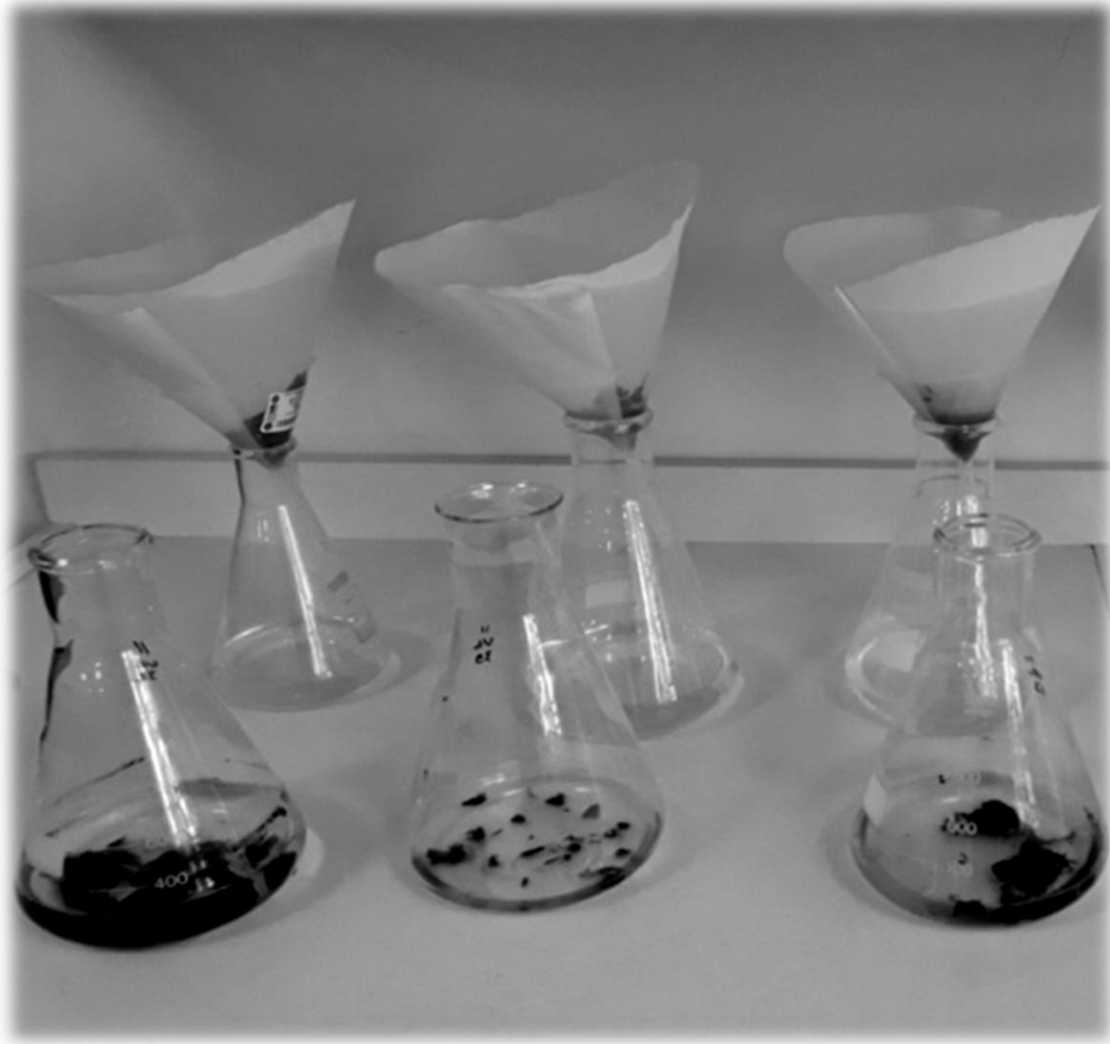


2)

şekil 1.21. Saf siyanobakterileriyel türlerin biyokütlece gelişimi; 1, 2

2.2.9. Siyanobakteri izolatlarının filtrasyonu

İnkübasyon sonunda yeterli biyokütleyle ulaşan siyanobakteri izolatları, filamentli ise önce filtreden geçirilerek süzölmüştür. Daha sonra 14,000 rpm’de 4 °C’de 10 dk santrifüj yapılmıştır (Şekil 1.22).



Şekil 1.22. Siyanobakteri izolatların biyokütlelerinin filtrasyonu

2.2.10. Siyanobakteri izolatlarının santrifüjü

Tüm siyanobakteri izolatları 14,000 rpm’de 4°C’de 10 dk santrifüj yapılmıştır. Santrifüjün sonucu oluşan süpernatant dökülerek palet elde edilmiştir (Şekil 1.23).



Şekil 1.23. Siyanobakteri izolatlarının biyokütlelerinin santrifüjü

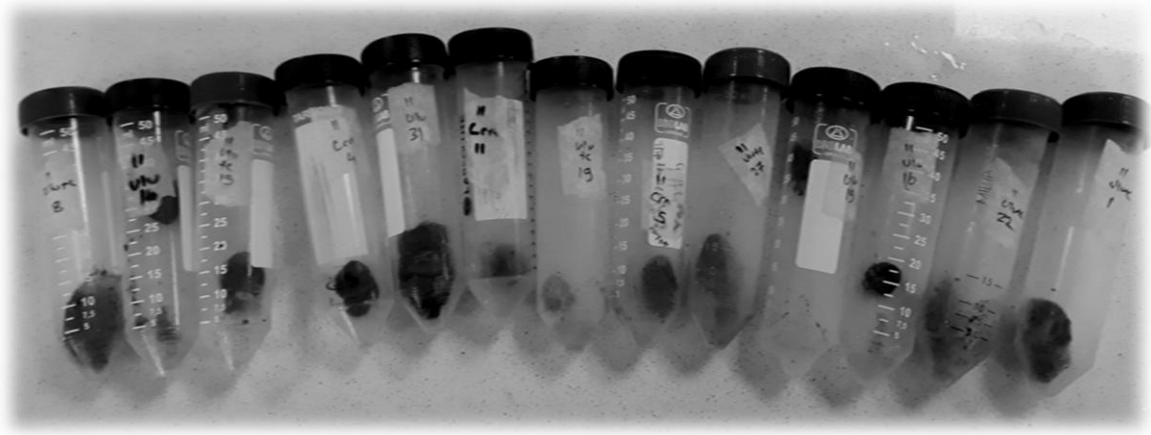
2.2.11. Siyanobakteri izolatlarının liyofilizasyonu

Santrifüj edilmiş siyanobakteri türleri liyofilizatörde (LABCONCO) bekletilerek kurutulmuştur (Şekil 1.24).



Şekil 1.24. Siyanobakteri izolatlarının biyokütlelerinin liyofilizasyonu

Liyofilizatörde kurutulan örnekler -20°C 'de saklanmıştır.



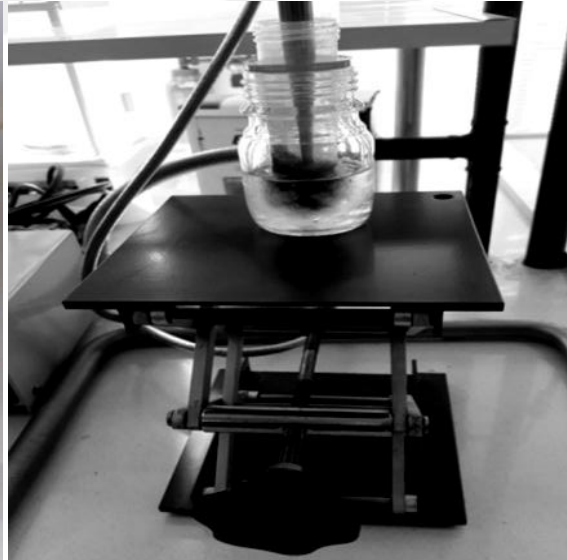
Şekil 1.25. Liyofilize edilmiş siyanobakteri izolatları

2.2.12. Siyanobakteri izolatlarından ekstrakt eldesi

Liyofilize edilmiş siyanobakteri türleri soğuk azot yardımıyla Methanol (SIGMA) kullanılarak havanda parçalanmıştır. Methanolla parçalanan siyanobakteri türleri falkon tüplere alınarak sonikatör (BANDELİN SONOPULS) ile 90W'da 2 dk daha parçalandı.



1)



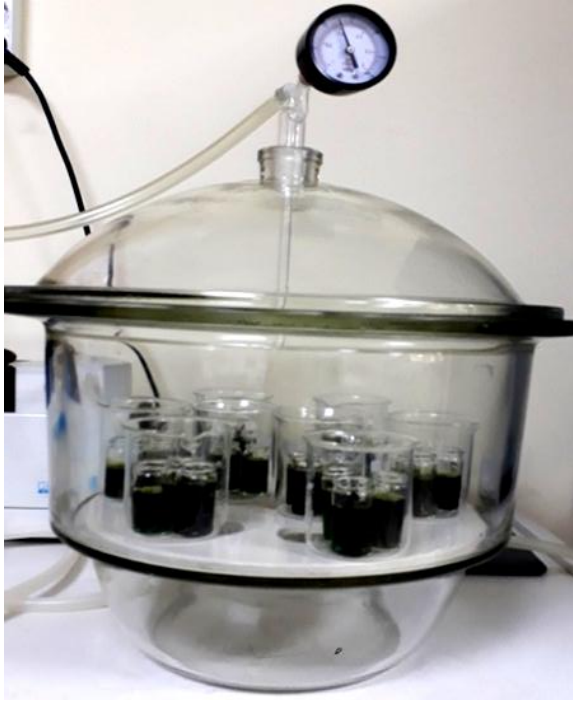
2)

Şekil 1.26. Siyanobakteri türlerinin pigmentlere parçalanması;

- 1) Methanolla parçalama,
- 2) Sonikatörde parçalama

2.2.13. Siyanobakteri ekstraktlarının kurutulması

Methanolle parçalanarak santrifüjlenen siyanobakteri örneğinin süpernatantı alınarak desikatörde (GLASWERK WERTHEİM) kurutulmuştur. Kurutma işlemi yapılırken soğutma işlemi 4°C'ye ayarlı soğutmalı sirkülatör (POLYSCIENCE) ile yapılmıştır.



Şekil 1.27. Ekstraktların desikatörde kurutulması

Kuruyan siyanobakteri ekstraktları terazide (RADWAG) tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir.



Şekil 1.28. Kurutulmuş siyanobakteri ekstraktları

Ekstraktların ağırlıkları belirlendikten sonra DMSO'da (MERCK) çözünmüştür (20mg/ml). Ultrasonik temizleyici (DADI DA 968) ile ekstrakt homojen hale getirilmiştir.

2.2.14. Bakteriyel test mikroorganizmaları

Elde edilen siyanobakteri ekstraktları'nın antimikrobiyal aktivitesi 10 mikroorganizma üzerinde denenmiştir. Gıda patojenleri olan bu mikroorganizmaların 8 tanesi bakteri, 2 tanesi ise mayadır. Bu mikroorganizmalar,

Gam pozitif (+) bakteriler;

- *Bacillus cereus* ATCC 7064,
- *Micrococcus luteus* NRLL 1018,
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633,
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

Gam negatif (-) bakterileri;

- *Salmonella typhimurium* LT2,
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603,
- *Escherichia coli* ATCC 25922,
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,

Mayalar;

- *Candida albicans* ATCC 14053,
- *Candida krusei* ATCC 34135.

2.2.15. Antimikrobiyal aktivitenin saptanması

Tüm siyanobakteri türlerinin toplam ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacı ile tüp dilüsyon tekniği kullanılmıştır. Bu amaçla mikrodilüsyon yöntemi ile antimikrobiyal maddelerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerlerini belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında 26 farklı siyanobakteri ekstraktı test edilmiştir.

Mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerinin saptanması

Tüm denemeler NA (MERCK) besi ortamı ve NB (MERCK) besi ortamı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm bakteriyel test mikroorganizmaları $37\pm0,1$ °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteriyel test mikroorganizmaları 5 ml NB içine steril şartlarda ekilerek $37\pm0,1$ °C'de 18 saat geliştirilmiştir. Optik yoğunluğu (OD) ayarlamak için spektrofotometre (THERMO GENESYS 10S UV-VIS) ile 600 nm'deki bakteri absorbansı 0,1 A ayarlanmıştır. OD'si ayarlı bakterinin ekildiği NB, 96 kuyucuklu plate, birinci kuyucuktan başlayarak, dilüsyon yapılmıştır. Birinci kuyucukdan itibaren 8. kuyucuğa kadar seri dilüsyonları (3; 1,5; 0,75; 0,375; 0,1875; 0,09375; 0,046875; 0,0234375 mg/ml) yapılmıştır. $37\pm0,1$ °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra NA plaklarına steril şartlarda çizi ekim yapılarak $37\pm0,1$ °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonlandığında MİK değerleri NA plaklarında gözlenmiştir. Üremenin olmadığı son kuyucuğun konsantrasyon değeri baz alınmıştır.



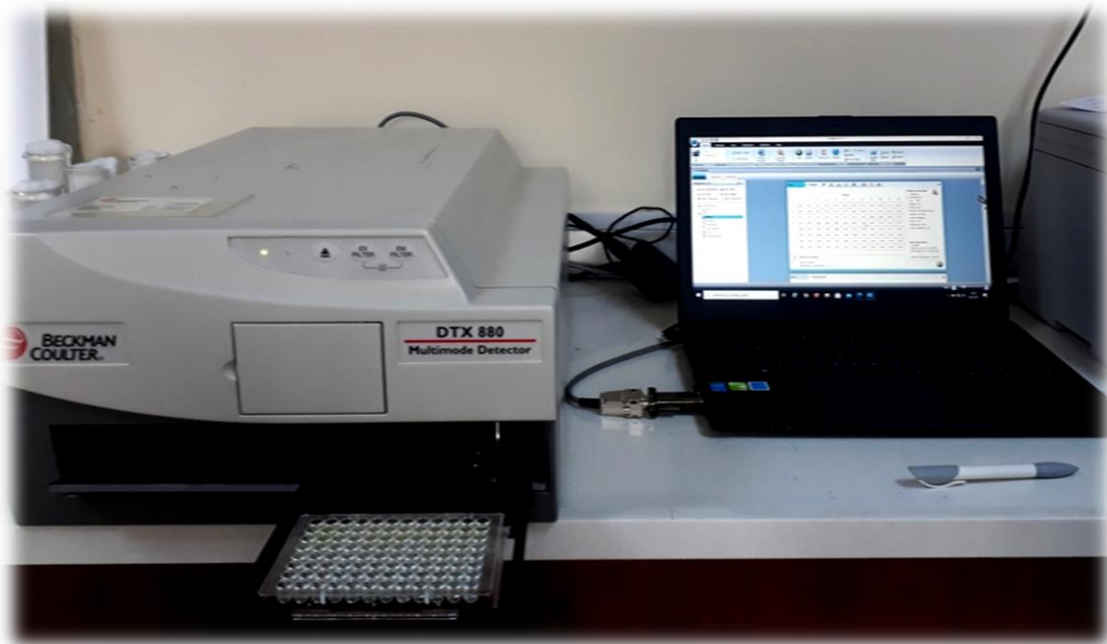
Şekil 1.29. Spektrofotometre ölçümü

2.2.16. Antioksidan aktivitenin saptanması

Siyanobakteri ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini belirlemek amacı ile DPPH radikalleri süpürme yönteminden ve Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yönteminden yararlanılmıştır. Antioksidan aktivite çalışmalarında 26 farklı siyanobakteri ekstraktı test edilmiştir.

DPPH radikalleri sönümleme aktivitelerinin saptanması

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (SİGMA) radikalleri sönümleme aktivitesinden yararlanarak, siyanobakteri ekstraktlarının antioksidan özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır (Huang ve diğerleri, 2005). Bu amaçla 96 kuyucuklu plate birinci kuyucuk hariç tüm kuyucuklara 5 µl DMSO (Dimethyl Sulphoxyde) eklenmiştir. Birinci ve ikinci kuyucuğa 5 µl siyanobakteri ekstraktı eklenmiştir. İkinci kuyucuktan itibaren sekizinci kuyucuğa kadar (sekizinci kuyucuk hariç) 5 µl seri dilisyonları yapılır. Tek bir siyanobakteri ekstraktı için 4'lü dilisyon yapılır. İlk 3 dilisyona uygun konsantrasyonda metanol eklenir. 4. dilisyona uygun konsantrasyonda DPPH eklenir. 30 dk karanlık ortamda bekletilir. Optik yoğunluk (OD) 520 nm üzerinde mikrolaka okuyucu (BECKMAN COULTER DTX880) ile ölçülüp, değerler kaydedilmiştir.



Şekil 1.30. Mikrolaka okuyucu

Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitenin saptanması

Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC: Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) yönteminden yararlanarak, siyanobakteri ekstraktlarının TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) değeri bulunarak, antioksidan özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır (Tütem ve Apak, 1991). Bu amaçla 96 kuyucuklu plate ilk kuyucuk hariç tüm kuyucuklara birinci kuyucuktan sekizinci kuyucuğa kadar (sekizinci kuyucuk hariç) 5 µl DMSO (Dimethyl Sulphoxyde) eklenmiştir. Birinci ve ikinci kuyucuğa 5 µl siyanobakteri ekstraktı eklenmiştir. İkinci kuyucuktan itibaren sekizinci kuyucuğa kadar 5 µl seri dilisyonları yapılır. Tek bir siyanobakteri ekstraktı için 4'lü dilisyon yapılır. İlk 3 dilisyona yeterli konsantrasyonda sırasıyla distile su, CuCl_2 (100 mM), Neocuproin ($7,5 \cdot 10^{-3}$ M), NH_4Ac (1M, Ph:7) eklenir. Dilisyona yeterli konsantrasyonda sırasıyla DMSO ve steril su eklenir. 30 dk karanlık ortamda bekletilir. OD 450 nm üzerinde mikropilaka okuyucu (BECKMAN COULTER DTX880) ile ölçülüp, değerler kaydedilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Su Örneklerinin Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Cernek Gölü'nden 20 Ağustos 2019 tarihinde alınan su örneğinin analizi ICP-OES cihazında yapılmıştır. Bu analizde Fe^{+2} , Ca^{+2} , Na^{+2} , K^+ ve Mg^{+2} değerlerine bakılmıştır (Çizelge 1.7).

Çizelge 1.7. Cernek Gölü su örneği ICP-OES analizi

ICP-OES Analizi	
İçerik	
İyon Adı	Miktarı
Ca^{+2} (mg/L)	40,56
K^+ (mg/L)	23,86
Na^{+2} (mg/L)	698,3
Fe^{+2} (mg/L)	-0,013
Mg^{+2} (mg/L)	108,1
pH	8,25
Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	24,4

Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında, Cernek Gölü su örneği analizi ile ilgili DSİ'nin ve Çevre ve Orman Bakanlığı'nın Kızılırmak Deltası Yönetim Planı (KDYP) kapsamında yapmış olduğu çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda suyun NH_4^+ , PO_4^{3-} , Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , Cl^- ve SO_4^{2-} değerleri bakımından analizi yapılmıştır. Ayrıca suyun pH değeri ölçülerek tespit edilmiştir (Şekil 1.31).

	DSİ, 1982	DSİ, 1994	KDYP, 2008
pH	8,4	8,93	8,64
NH_4^+ (mg/L)	0	0,353	0,073
PO_4^{3-} (mg/L)	0	0,193	0,24
Ca^{+2} mg/L	70,14	48,89	0
Mg^{+2} (mg/L)	82,64	87,13	0
K^+ (mg/L)	16,22	14,85	0
Cl^- (mg/L)	627,5	571,4	0
SO_4^{2-} (mg/L)	361,7	230,9	179,5

Şekil 1.31. Cernek Gölü su kalitesi parametreleri

Cernek Gölü su örneğinden bizim yaptığımız çalışmada ICP-OES analiz verilerine göre sudaki Ca^{+2} değerinin 40,56 mg/L olduğu görülmüştür. Fakat 1982'de Devlet Su İşleri (DSİ) yapmış olduğu çalışmada Ca^{+2} değerinin 70,14 mg/L olduğunu, bunun yanında yine DSİ 1994'de yapmış olduğu çalışmada Ca^{+2} değerinin 48,89 mg/L olduğunu tespit etmiştir. Buna ek olarak KDYP 2008'de yapmış olduğu çalışmada ise Ca^{+2} değerinin 0 mg/L olduğunu belirlemiştir. Dolayısıyla bizim yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen Ca^{+2} değerlerine bakıldığında DSİ'nin (1982, 1994) ve KDYP'nin (2008) yapmış olduğu çalışmalarda belirlenen Ca^{+2} değerlerine göre önemli ölçüde değişmediği görülmüştür. Nitekim Can ve Taş 2012'de yaptığı çalışmada ise en düşük Ca^{+2} değerinin 1.00 mg/L ile Ekim ayında, en yüksek Ca^{+2} değerinin ise 2.05 mg/L ile Aralık ayında görüldüğünü saptamıştır. Ayrıca ortalama Ca^{+2} değerinin 1.79 mg/L olduğunu tespit etmiştir. Fakat bizim 2019'da yaptığımız çalışmada elde edilen Ca^{+2} değerlerinin Can ve Taş'ın (2012) yapmış olduğu çalışmada belirlediği Ca^{+2} değerlerinden oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun durumun zirai faaliyetlerde kullanılan kimyasal gübrelerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Yeniyurt, Çağırkaya, Lise, Ceran, 2008).

Yine Cernek Gölü su örneğinden yapılan ICP-OES analiz verilerine göre sudaki K^+ değerinin 23,86 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık 1982’de DSİ’nin yapmış olduğu çalışmada K^+ değerinin 16,22 mg/L olduğu, DSİ’nin 1994’de yapmış olduğu çalışmada K^+ değerinin 14,85 mg/L olduğu görülmüştür. DSİ’nin (1982, 1994) yapmış olduğu çalışmada elde edilen verilerden yola çıkarak, 2019’da bizim aldığımız su örneğindeki K^+ değerinin yıllara göre önemli ölçüde değişmediği görülmektedir. Bunun yanında KDYP 2008’de yapmış olduğu çalışmada K^+ değerini 0 mg/L olarak belirlemiştir. Buradan yola çıkarak KDYP’nin yapmış olduğu çalışmada elde edilen K^+ değerinin arttığı tespit edilmiştir. Buna karşın Özkul ve Karakaya’nın 2006’da yapmış olduğu çalışmada K^+ değerinin 17,6 mg/L olduğu, dolayısı ile bizim yaptığımız çalışmada elde edilen K^+ değerinin bu çalışmada elde edilen K^+ değerine yakın değerler olduğu saptanmıştır.

Bununla birlikte Cernek Gölü su örneğinden yapılan ICP-OES analiz verilerine göre sudaki Na^{+2} değerinin 698 mg/L bulunmasına rağmen, Özkul ve Karakaya’nın 2006’da yapmış olduğu çalışmada 304,4 mg/L olduğu belirlenmiştir. Buradaki verilere bakılarak Na^{+2} değerinin iki katından fazla arttığı görülmektedir. Bu durumun nedeninin zirai faaliyetlerde kullanılan kimyasal gübrelerden alana giren azot ve fosfor bileşikler olduğu düşünülmektedir (Yeniyurt ve diğerleri, 2008). Sudaki azot ve fosfor bileşiklerinin aşırı artması ötrofikasyona sebep olmaktadır. Bu da suda yaşayan canlıları olumsuz etkilemekle birlikte, suyu içme suyu olarak da kullanılamaz hale getirmektedir (Can ve Taş, 2012).

Cernek Gölü su örneğinin Fe^{+2} değeri ile ilgili daha önce yapılmış çalışma bulunmamakta olup, bizim yaptığımız çalışmada ICP-OES analiz verilerine göre sudaki Fe^{+2} değerinin - 0,013 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında Aşıkkutlu, Akköz ve Öztürk 2014’de Çavuşkuşu Gölü’nde yapmış olduğu çalışmada en düşük demir değeri 2014 yılı Ekim ayında ve 2015 yılı Ocak ayında 0 mg/ L olarak, en yüksek demir değerinin ise 2014 yılı Temmuz ayında 0,032 715 mg/ L olarak ölçülmüştür. Dolayısı ile bizim yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen Fe^{+2} değerinin önemli ölçüde değişmediği görülmektedir.

Buna ek olarak Cernek Gölü su örneğinden yapılan ICP-OES analiz verilerine göre sudaki Mg^{+2} değerinin 108,1 mg/L olduğu belirlenmiştir.

Bununla birlikte 1982’de DSİ’nin yapmış olduğu çalışmada Mg^{+2} değerinin 82,64 mg/L olduğu, yine DSİ’nin 1994’de yapmış olduğu çalışmada Mg^{+2} değerinin 87,13 mg/L olduğu saptanmıştır. Bu verilere bakarak bizim yaptığımız çalışmadan elde edilen Mg^{+2} değerinde önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmesine rağmen, KDYP’nin 2008’de yapmış olduğu çalışmada Mg^{+2} değerinin 0 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Yine Can ve Taş 2012’de yaptığı çalışmada en düşük Mg^{+2} değerini Mart ayında 0.342 mg/L, en yüksek Mg^{+2} değerini ise Aralık ayında 0.827 mg/L olarak saptamıştır. Buradan yola çıkarak ortalama Mg^{+2} değeri 0.52 mg/L olduğunu belirlemiştir. Bu verilere göre ise bizim yaptığımız çalışmada elde edilen Mg^{+2} değeri yüksek bulunmuştur.

Yine Cernek Gölü su örneğinin pH değerinin 8,25 olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte 1982’de DSİ yapmış olduğu çalışmada Cernek Gölü suyun pH değerinin 8,4 olduğu, yine DSİ’nin 1994’de yapmış olduğu çalışmada su örneğinin pH değerini 8,93 olarak belirlemiştir. Buna ek olarak KDYP 2008’de yapmış olduğu çalışmada suyun pH değerini 8,64 olarak tespit etmiştir. Ayrıca Can ve Taş 2012’de yapmış olduğu çalışmada suyunun pH değerinin 8,05–8,86 arasında değiştiğini belirlemiştir. Buradan yola çıkarak, en düşük pH değerini Şubat ayında 8,05, en yüksek pH değerini ise Mayıs ayında 8,86 olarak tespit etmiştir. Bu verilere bakarak ortalama pH’ın 8.31 olduğu belirlemiştir. Buna karşılık, Özkul ve Karakaya 2007’de yapmış olduğu çalışmada Cernek Gölü su örneğinin pH değerlerinin 8,38 olduğunu tespit etmiştir. Bunun yanında 2007’de Gürsoy yapmış olduğu çalışmada suyun pH değerini $7,30 \pm 0,37$ – $8,00 \pm 0,50$ arasında belirlemiştir. Dolayısı ile 2019 yılında bizim aldığımız su örneğindeki pH değerinin yıllara göre önemli ölçüde değişmediği saptanmıştır.

Ayrıca Cernek Gölü su örneğinden yapılan ölçümlerde suyun sıcaklığının 24,4 °C olduğu tespit edilmiştir. Cernek Gölü’nde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında, 14.09.2006’da Özkul ve Karakaya suyun sıcaklığını 26 °C olarak belirlerken, buna ek olarak yine Özkul ve Karakaya 19.01.2007’de suyun sıcaklığını 9 °C olarak belirlemiştir. Buna karşılık 1997’de İşbakan ve Gönülol yapmış olduğu çalışmada ölçülen en düşük su sıcaklığının Ocak ayında 6 °C olduğunu, en yüksek su sıcaklığının ise Haziran ayında 27 °C olduğunu tespit etmiştir. Buna göre ortalama su sıcaklığının ise 15,6 °C olduğu saptanmıştır.

Bunun yanında 2012’de Can ve Taş yapmış olduğu çalışmada ise araştırma süresince ölçülen en düşük su sıcaklığını Şubat ayında 8,0 °C olarak belirlerken, en yüksek su sıcaklığını Temmuz ayında 28,8 °C olarak tespit etmiştir. Buradan elde edilen verilere bakarak ortalama su sıcaklığının 17,7 °C olduğunu tespit etmiştir. Dolayısı ile 2019 yılında bizim aldığımız su örneğindeki su sıcaklığının yıllara göre önemli ölçüde değişmediği belirlenmiştir. Su sıcaklığının değişmesi, sudaki oksijen miktarını etkilemektedir. Su sıcaklığının azalması sudaki oksijen seviyesinin artmasını sağlarken, su sıcaklığın artması ise sudaki oksijen miktarının azalmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak sudaki oksijen seviyesinin azalması suda yaşayan çoğu canlı için olumsuz koşullar oluşmasına neden olmaktadır (Tanyolaç, 2009).

3.2. Su Örneklerinden Siyanobakteri İzolasyonu

Bu çalışma Cernek Gölünden izole edilen siyanobakteriler ile yapıldığından, gölden elde edilen izolatlar Cernek Gölü’nün baş harfi olan C ile kodlanmıştır.

Su örneklerinden BG-11 ve BG-11₀ besi ortamlarına ekim yapılarak, uygun sıcaklık ve ışık altında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, farklı morfolojilere sahip olan 26 adet izolat (C4, C5, C6, C7, C8, C15, C17, C21, C22, C23, C27, C29, C30, C31, C32, C33, C34, C35, C37, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52) seçilip, katı ve sıvı besi ortamına ve sıvı besi ortamına ekim yapılarak gelişimleri sağlanmıştır. Gelişme görülen petrillerdeki izolatların saflık kontrolü, mikroskop altında analiz edilmiştir. Saf olmadığı gözlenen petrillerden, tekrar taze besi ortamına ekim yapılarak gelişmeleri sağlanmıştır. Gelişmeden sonra filamentli türlerde petrinin en uç kısmından filament alınarak, tek hücreli türlerde ortadan örnek alınarak tekrar taze besiyeri içeren petrilere ekim yapılmıştır. Petrillerdeki gelişen örneklerin saf olup olmadıklarının kontrolü mikroskop altında belirlenmiştir. Bu işlemler saf kültür elde edilinceye kadar tekrarlanmıştır. Mikroskopta saflık kontrolü yapılarak saf olduğundan emin olunan kültürler uygun sıcaklık ve ışık ortamında, sürekli büyümeleri sağlanmıştır. Yine sıvı kültürlerin ışık mikroskobu (LEİCA DM 500) altında yapılan incelemeleri sonucunda, izolatların filamentli ya da tek hücreli olup olmadıkları, saf olup olmadıkları gibi morfolojik analizler yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir.

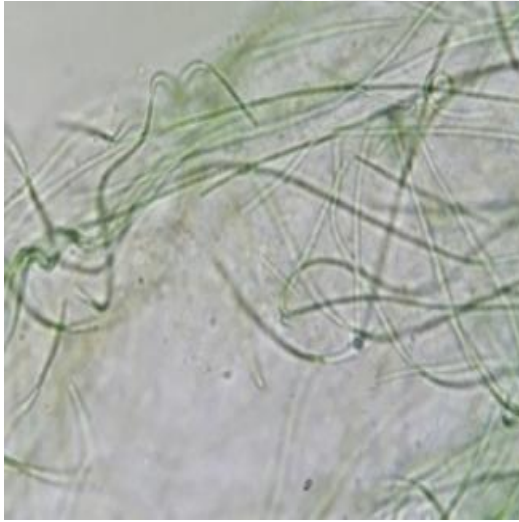
Morfolojik incelemeler mikroskopta 100x objektif kullanılarak yapılmıştır. İzolatların morfolojileri tespit edilerek mikroskop fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 1.32).



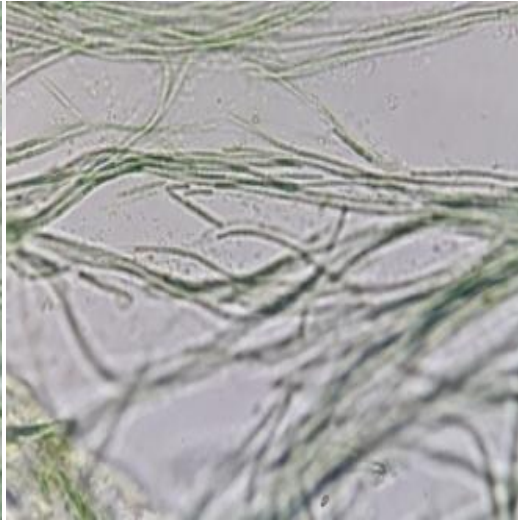
1)



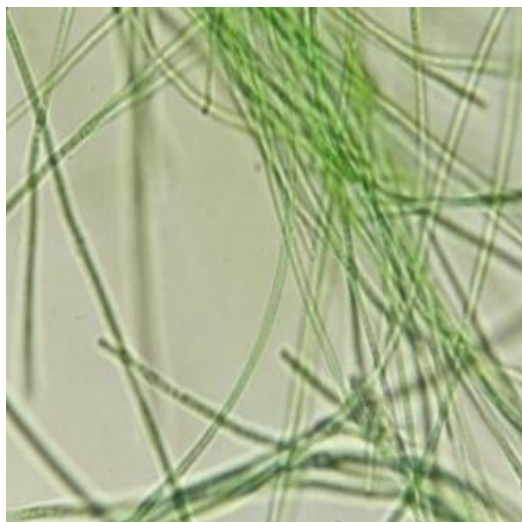
2)



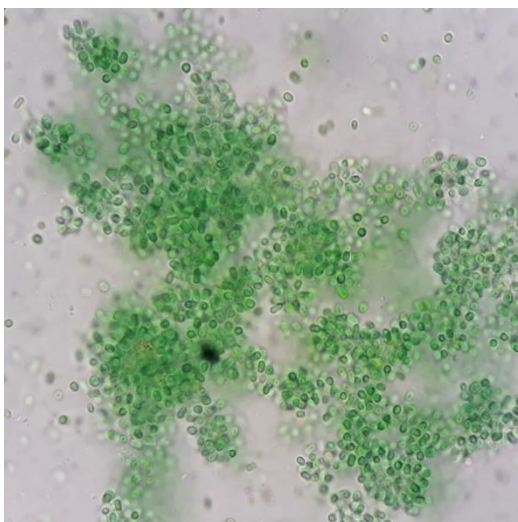
3)



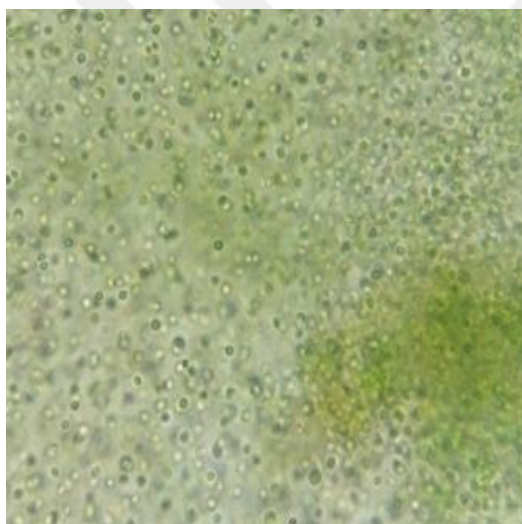
4)



5)



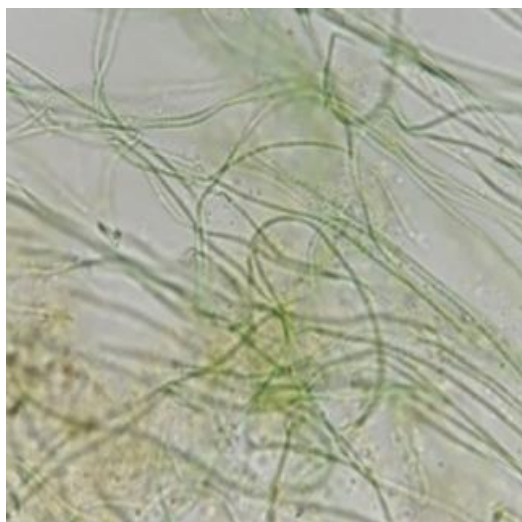
6)



7)



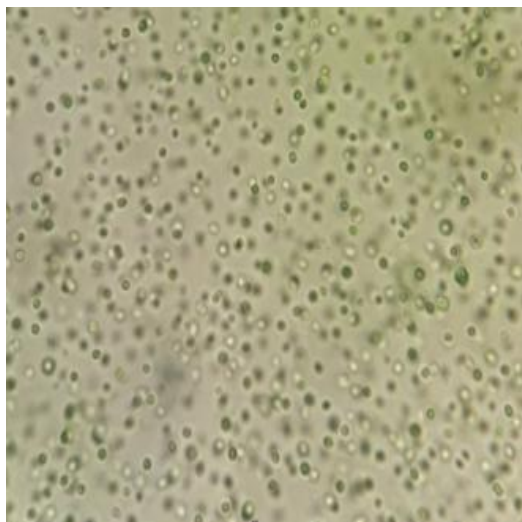
8)



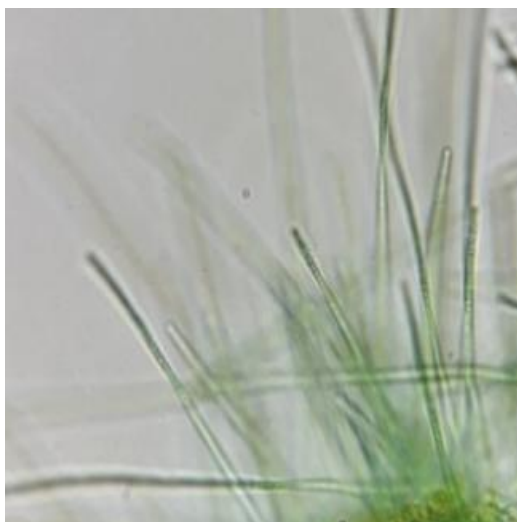
9)



10)



11)



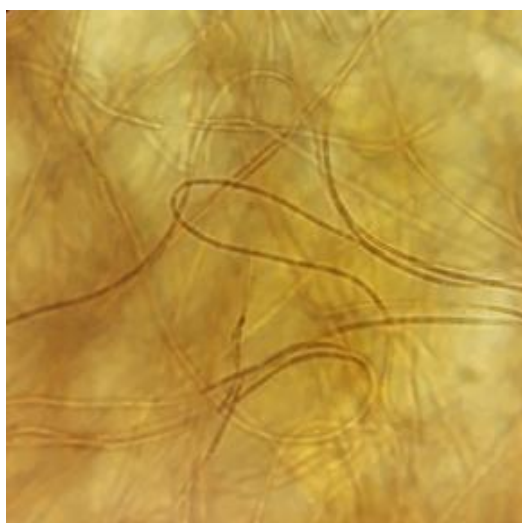
12)



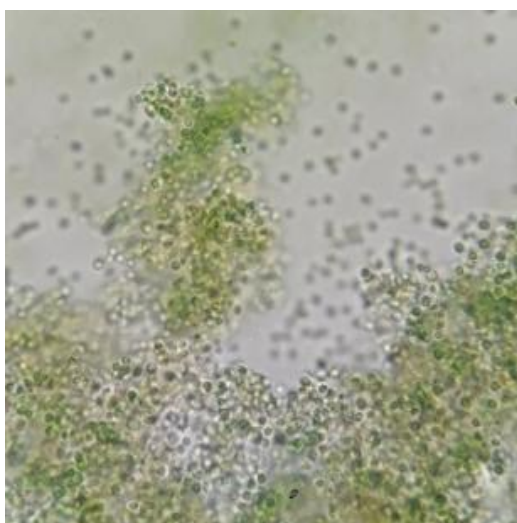
13)



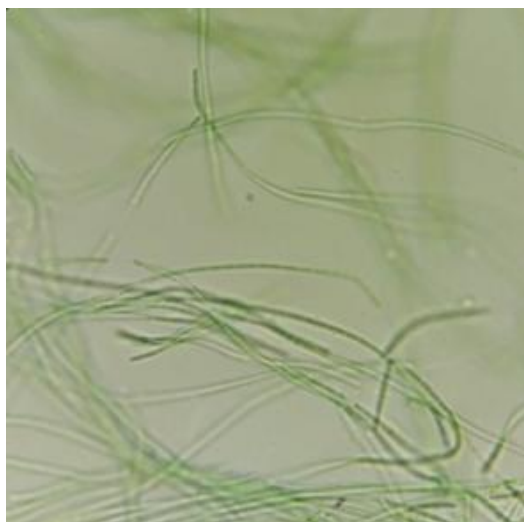
14)



15)



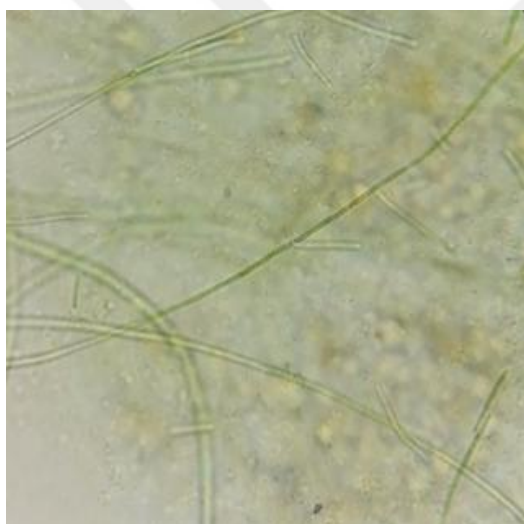
16)



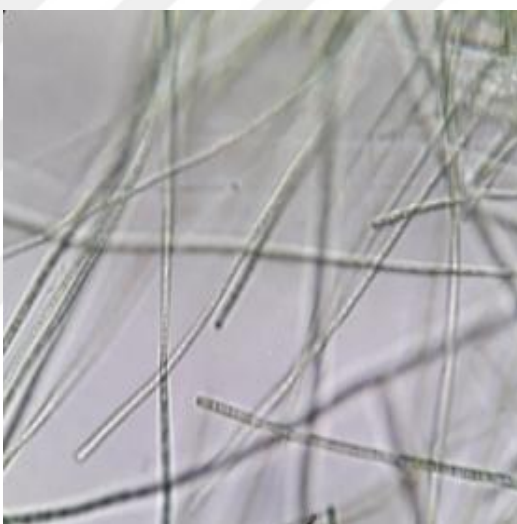
17)



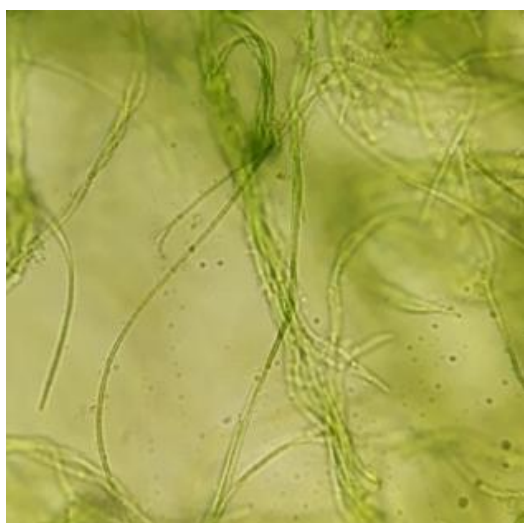
18)



19)



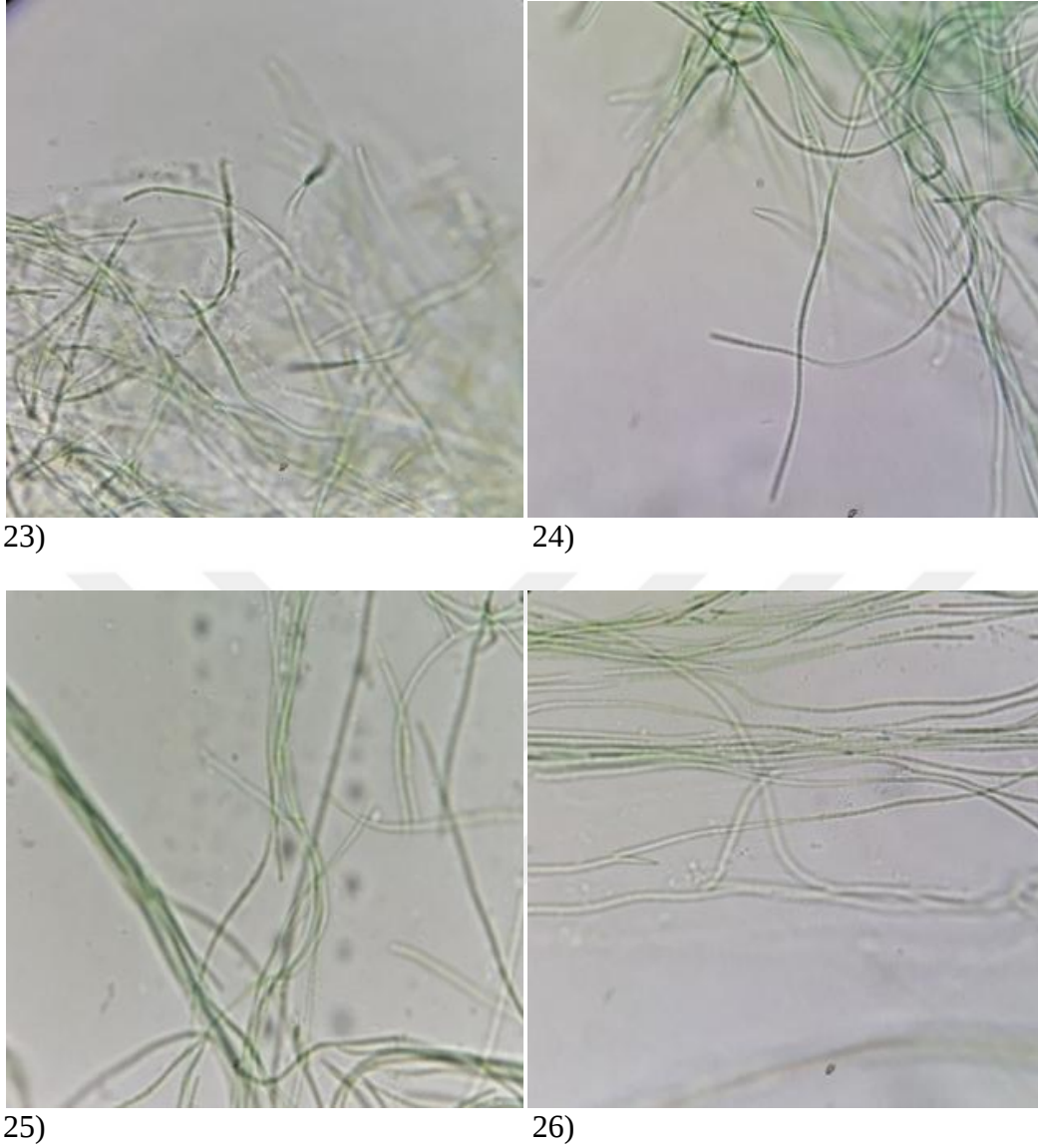
20)



21)



22)



Şekil 1.32. Saf siyanobakteri türlerinin mikroskopik görünümü;

- 1: (C4; Flamentli), 2: (C5; Flamentli), 3: (C6; Flamentli), 4: (C7; Flamentli),
 5: (C8; Flamentli), 6: (C15; Tek hücreli), 7: (C17; Tek hücreli),
 8: (C21; Tek hücreli), 9: (C22; Flamentli), 10: (C23; Flamentli),
 11: (C27; Tek hücreli), 12: (C29; Flamentli), 13: (C30; Flamentli, spiriluna),
 14: (C31; Flamentli), 15: (C32; Flamentli), 16: (C33; Tek hücreli),
 17: (C34; Flamentli), 18: (C35; Flamentli), 19: (C37; Flamentli),
 20: (C42; Flamentli), 21: (C43; Flamentli), 22: (C45; Flamentli),
 23: (C47; Flamentli), 24: (C48; Flamentli), 25: (C51; Flamentli),
 26: (C52; Flamentli).

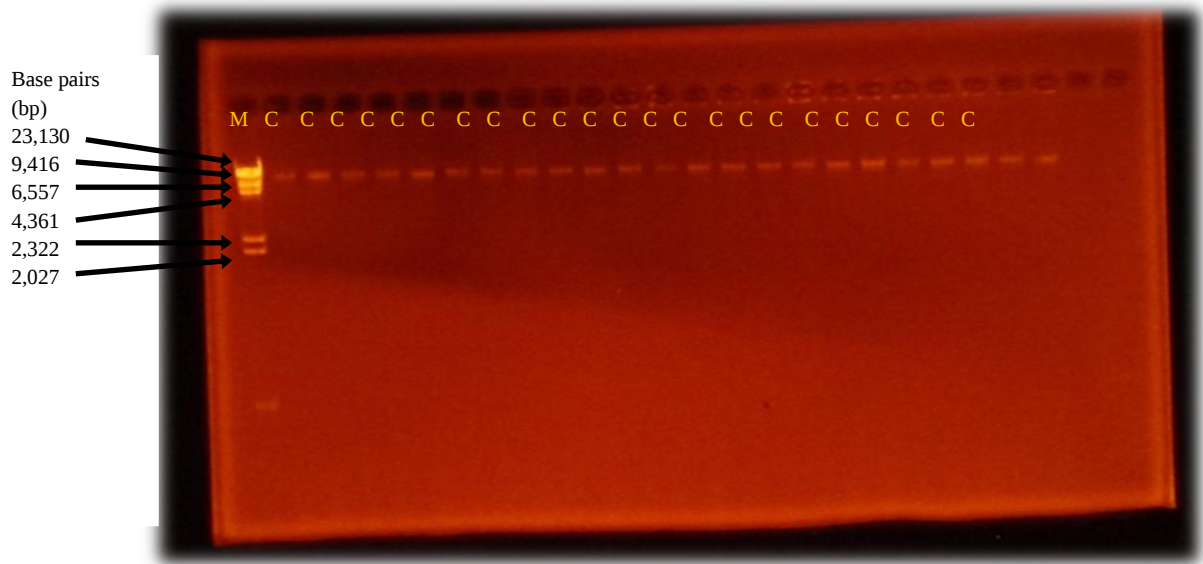
Mikroskopta yapılan incelemeler sonucunda 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 no'lu görüntülerin (C4, C5, C6, C7, C22, C23, C29, C34, C35, C37, C42, C43, C45, C47, C48, C51 ve C52) filamentli, 6, 7, 8, 11, 16 no'lu görüntülerin (C15, C17, C27 ve C33) ise tek hücreli siyanobakteri kültürlerine ait olduğu belirlenmiştir.

Fakat C31 kodlu filamentli siyanobakteri türünün, çok kalın flamente sahip olması yönü ile diğer filamentli türlerden oldukça farklı morfolojik görünümde olduğu tespit edilmiştir. Yine C30 kodlu siyanobakteri türü spiral yapıda olması yönü ile diğer filamentli türlerden farklı morfolojik yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında C32 kodlu filamentli siyanobakteri türünün diğer türlerden farklı olarak kahverenge sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakteri türlerinin mikroskop ile incelenmesinde filamentli türlerin akinet ve heterosist gibi özelleşmiş yapılar bulundurduğu belirlenmiştir. Bazı siyanobakterilerde ise anormal şartlarda meydana gelen hormogoniumlara rastlanmıştır.

3.3. Siyanobakterilerin Kommünite Analizleri

3.3.1. Su örneklerinden DNA ekstraksiyonu

20 Ağustos 2019'da Cernek Gölü'nden alınan su örnekleri filtreden geçirilip, DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyondan elde edilen ürünler elektroforezde 120V'da 30 dk yürütülerek, transillüminatörde UV (Ultraviyole) ışık altında gözlenmiştir (Şekil 1.33)



Şekil 1.33. Siyanobakteri türlerinin UV ışık ortamında DNA bant görüntüleri

Filtreden elde edilen ekstraksiyon ürünlerinin büyüklüğü Lambda (Λ) DNA/HindIII Digest Markır ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak 23,130-9,416 baz çifti büyüklüğündeki fragmente karşılık geldiği belirlenmiştir. Elde edilen ürünün büyüklüğü, kullanılan Lambda (Λ) DNA/HindIII Digest Markır'ın bant profili ile karşılaştırılarak doğrulanmıştır.

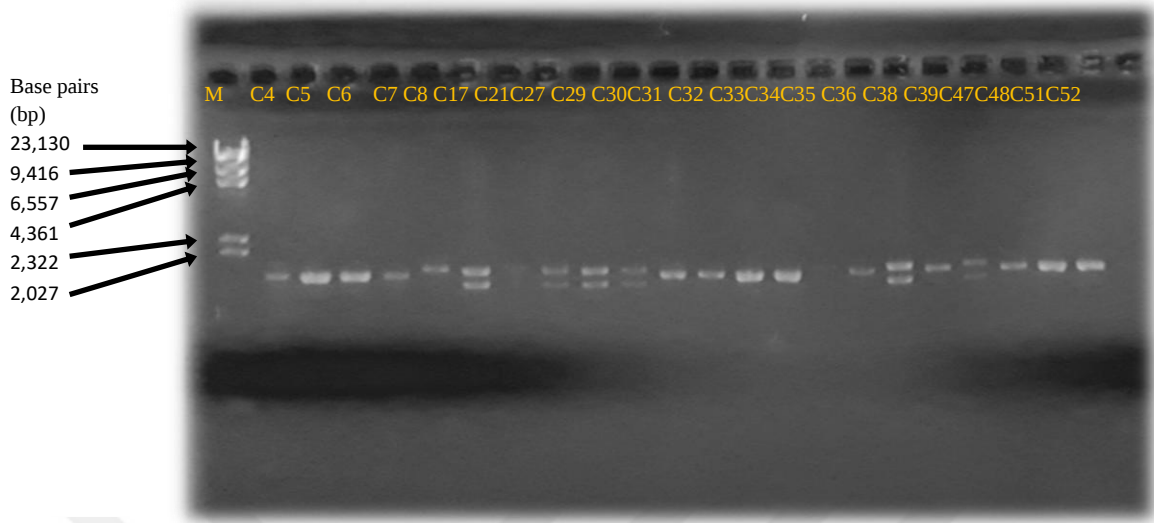
3.3.2. İzolatların moleküler identifikasyonu

16S rRNA Geni Amplifikasyonu İçin İzolatlardan DNA Ekstraksiyonu

Çalışmada su örneklerinden izole edilen siyanobakterilerin 16S rRNA geni amplifikasyonu için en uygun yöntem tespit edilerek DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Daha sonra ekstraksiyon ürünlerinden PZR gerçekleştirilmiştir. (Boutte ve diğerleri, 2005).

16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Amplifikasyonu

16S rRNA + ITS (Internal Transcribed Spacer) + 5' 23S rRNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile amplifikasyonu su örneklerinden elde edilen siyanobakterilerin genomik DNA'sından 16S rRNA gen + ITS ve 5' 23S ucunun PZR amplifikasyonu daha önce belirtilen PZR koşullarında CYA 359F (5'-GGGGAATTTTCCGCAATGGG-3') ve 23S30R (5'-CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT-3') primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR sonrası elde edilen amplifikasyon ürünleri %1'lik agaroz jelde 120 V'da 30 dk yürütülmüştür. Şekil 1.34'de elde edilen amplifikasyon ürünlerinden bazıları görülmektedir. 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA'nın yaklaşık olarak 1500-2000 baz büyüklüğünde bir ürün olması gerektiğinden, elde edilen ürünün büyüklüğü, kullanılan Lambda (Λ) DNA/HindIII Digest Markır'ın bant profili ile karşılaştırılarak doğrulanmıştır.

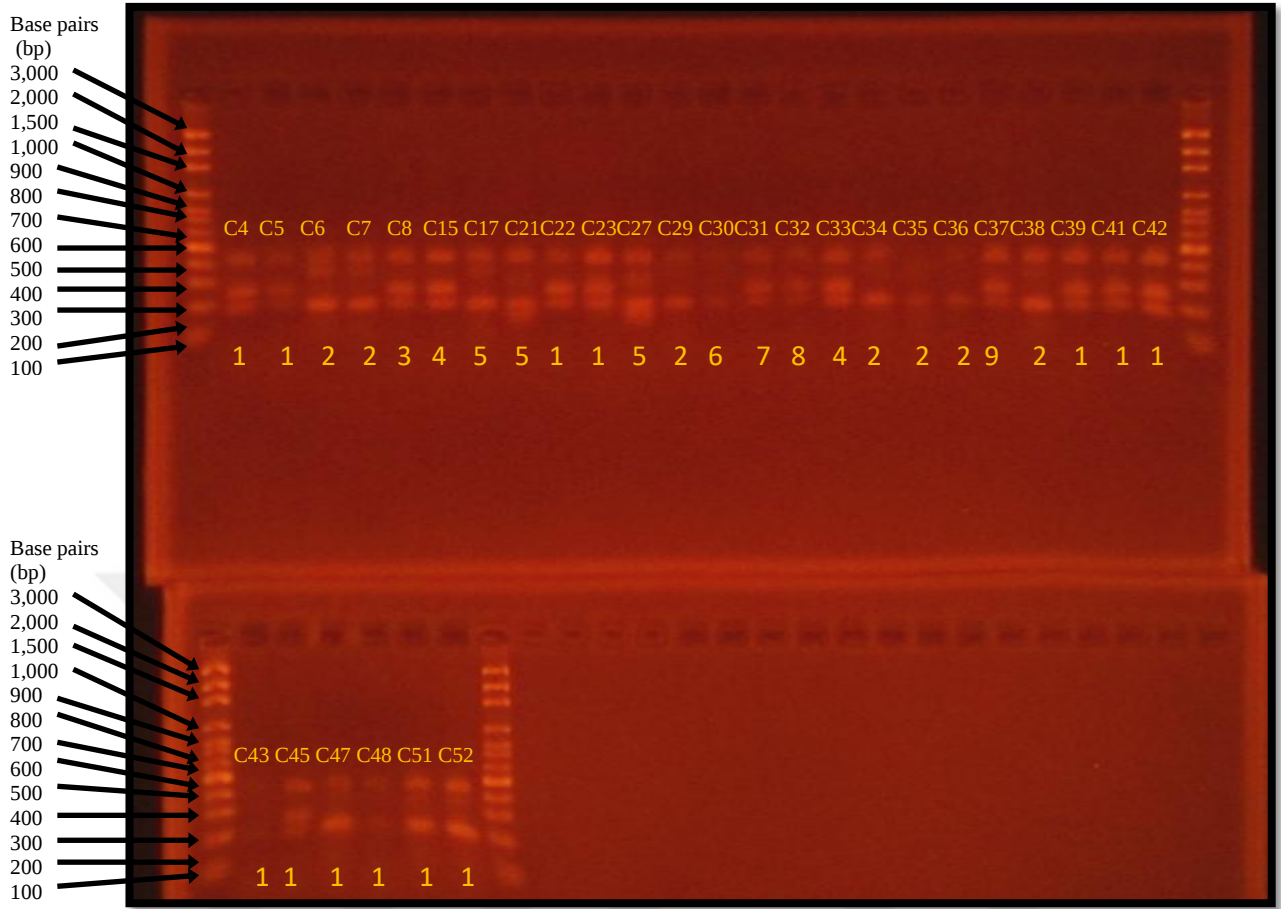


Şekil 1.34. 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA geni amplifikasyon ürünleri:(~2000-2500 bp)

Şekil 1.34'de görüldüğü gibi, oluşan PZR ürünlerinin büyüklüğündeki ufak farklılıklar, filamentöz ve tek hücreli siyanobakterilerin sahip oldukları ITS bölgesinin farklı büyüklüklerde olması şeklinde açıklanmaktadır (Boutte ve diğerleri, 2005). Elde edilen PZR ürünlerinin büyüklüğü markır ile karşılaştırıldığında, 1500-2000 baz çifti büyüklüğündeki fragmentin hizasına karşılık geldiği görülmektedir (Şekil 1.34). Elde edilen PZR ürünlerinin az çok farklı hizada olmasının nedeni, filamentli ve tek hücreli türlerde ITS bölgesinin farklı büyüklükte olması şeklinde açıklanmaktadır.

Elde edilen İzolatların 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA'nın Amplified Ribosomal DNA Restriction Analizi (ARDRA)

İzolatlardan elde edilen PZR ürünlerinin, ARDRA analizleri için kalıp olarak, amplifiye edilen 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA bölgesi kullanılmıştır. PZR reaksiyonu daha önce belirtilen koşullarda CYA 359F (5'-GGGGAATTTTCCGCAATGGG-3') ve 23S30R (5'-CTTCGCCTCTGTGTGCCTAGGT-3') primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzolatlardan elde edilen PZR ürünlerinin kesimi için *MspI* restriksiyon endonukleaz (MBI FERMENTAS) kullanılmıştır (Boutte ve diğerleri, 2005; Calusinka, 2005).



Şekil 1.35. Elde edilen izolatların ARDRA jeli (*MspI*)

Agaroz jel elektroforezi ile elde edilen restriksiyon fragmentleri Şekil 1.35’de görülmektedir. İzole edilen DNA’lar %2’lik agarose jel hazırlanıp, elektroforezde 50V’da 2 saat yürütülerek, transillüminatör’de (CLEAVER) gözlenmiştir (Boutte ve diğerleri, 2005).

C36, C38, C39 ve C41 nolu izolatlar laboratuvar koşullarında yaşamını devam ettiremediği için çalışma, 26 adet izolat (C4, C5, C6, C7, C8, C15, C17, C21, C22, C23, C27, C29, C30, C31, C32, C33, C34, C35, C37, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52) üzerinden yürütülmüştür (Şekil 1.35).

Gruplamalar yapılırken, her bir izolata ait olan bant sayıları ve bu bantların kullanılan 100 bp DNA Ladder (SOLİS BİODYNE) Markır’ına göre pozisyonları kriter alınmıştır. Aynı restriksiyon profiline sahip olan izolatlar aynı grup içerisinde toplanmıştır. Tüm fragment profilleri, kullanılan markıra göre analiz edilmiş ve elde edilen 26 adet izolata toplam 9 farklı restriksiyon profil grubu elde edilmiştir.

C4, C5, C22, C23, C42, C43, C45, C47, C48, C51 ve C52 no'lu izolatlar a ait olan 16S rRNA gen bölgesi restriksiyon profillerinin aynı olduğu görülmüştür. Yine C6, C7, C29, C34 ve C35 no'lu izolata a ait olan 16S rRNA gen bölgesi restriksiyon profilinin aynı olduğu görülmektedir. Ayrıca C15 ve C33 no'lu izolatlar a ait olan 16S rRNA gen bölgesi restriksiyon profillerinin aynı olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak C17, C21 ve C27 no'lu izolatlar a ait olan 16S rRNA gen bölgesi restriksiyon profillerinin aynı olduğu bulunmuştur. Aynı restriksiyon profiline sahip olan izolatlar aynı grup içerisinde toplanmıştır. C8 C30, C31, C32 ve C37 no'lu izolatlar a ait olan 16S rRNA gen bölgesi restriksiyon profillerinin tüm izolatlardan ve birbirinden farklı olduğu için her bir izolat farklı grubu göstermektedir. Elde edilen izolatların 16S PZR ürünlerinin Amplified Ribosomal DNA Restriction Analizi (ARDRA) ni göstermektedir. PZR ürünleri *MspI* ile kesilmiştir.

Çizelge 1.8. İzolatların ARDRA profil grup numaraları

Gruplar	İzolat Numaraları
Grup 1	C4, C5, C22, C23, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52
Grup 2	C6, C7, C29, C34, C35
Grup 3	C8
Grup 4	C15, C33
Grup 5	C17, C21, C27
Grup 6	C30
Grup 7	C31
Grup 8	C32
Grup 9	C37

Moleküler markır 100 bp DNA Ladder (SOLİS BİODYNE) ARDRA profil grup numaraları Çizelge 1.8'de gösterilen numaraları belirtmektedir. Burada da görüldüğü gibi, Cernek Gölü'ne a ait olan örnekler grup 1, grup 2, grup 3, grup 4, grup 5, grup 6, grup 7, grup 8 ve grup 9 içerisinde toplanmıştır.

Grup1'in 11 üye (C4, C5, C22, C23, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52) sayısı ile en fazla sayıda üye içeren grup olduğu görülmüştür. Bunun yanında grup 2'nin 5 üye (C6, C7, C29, C34, C35) sayısına sahip olduğu görülmüştür. Yine grup 3'ün 1 üye (C8) sayısına sahip olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca grup 4'ün 2 üye sayısına (C15, C33) sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak grup 5'in 3 üye sayısına (C17, C21, C27) sahip olduğu saptanmıştır. Grup 6'nın C30, grup 7'nin C31, grup 8'in C32 ve grup 9'un C37 kodlu izolat olmak üzere birer üyeye sahip olduğu görülmüştür.

Daha sonra her bir guba ait olan temsili 1 izolat seçilerek bu izolatın, 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ürününün (yaklaşık 2000-2500 bp) kısmi DNA dizi analizi yapılmıştır. Bunun için 16S rRNA gen bölgesi restriksiyon profilleri farklı olan 9 adet siyananobakteri türü (C7, C8, C15, C21, C30, C31, C32, C37, C42) seçilerek analizi yapılmıştır. Elde edilen dizi analizi sonuçları Blast (Basic Local Alignment Search Tools) algorithm ile analiz edilmiştir (Thornton, 2019).

Ayrıca The BioEdit software programı otomatize Clustal W alignment temeline bağlı olarak sekans alignment için kullanılmıştır (Hall, 2007). Elde edilen alignment sonuçları manuel olarak kontrol edilmiştir. Buna göre Cernek Gölü'nden *Limnothrix* sp., *Jaaginema* sp., Uncultured cyanobacterial clone, *Spirulina subsala*, *Leptolyngbya compacta*, *Limnothrix planktonica* clone türüne ait izolatlar elde edilmiştir (Çizelge 1.9)

Çizelge 1.9. İzolatların 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA gen bölgesinin amplifikasyonu ile elde edilen BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analiz sonuçları

İzolat Kodu	Primer	Blast Analizi Sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Uzunluk bp	Gen Bankası Numarası
C7	30R	<i>Limnotherix</i> sp. PltGTmp21 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,48	772	KM438179.1
	1494R	<i>Jaaginema</i> sp. TAU-MAC 0110 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	826	MN062656.1
	1494R-30R	<i>Limnotherix</i> sp. PltGTmp21 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,68	1268	KM438179.1
C8	30R	<i>Limnotherix</i> sp. PltGTmp21 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,53	844	KM438179.1
	1494R	<i>Jaaginema</i> sp. TAU-MAC 0110 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99,88	843	MN062656.1
	1494R-30R	<i>Limnotherix</i> sp. PltGTmp21 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,62	1333	KM438179.1

Çizelge 1.10. (devamı)

İzolat Kodu	Primer	Blast Analizi Sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Uzunluk bp	Gen Bankası Numarası
C15	359F	Uncultured cyanobacterial clone Alchichica_AQ1_2_1B_148 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	97,07	819	JN825308.1
	1494R	Uncultured cyanobacterial clone Alchichica_AQ1_2_1B_148 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	96,99	929	JN825308.1
	1494R-359F	Uncultured cyanobacterial clone Alchichica_AQ1_2_1B_148 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	96,94	979	JN825308.1
C21	30R	Uncultured cyanobacterial clone 12 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,10	779	KT793922.1
	1494R	Uncultured bacterial gene for 16S rRNA, partial sequence, clone: PMB-63	99,87	767	AB757744.1
	1494R-30R	Uncultured cyanobacterial clone 21 16S ribosomal RNA gene and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,30	1288	KT793924.1

Çizelge 1.11. (devamı)

İzolat Kodu	Primer	Blast Analizi Sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Uzunluk bp	Gen Bankası Numarası
C30	30R	<i>Spirulina subsala</i> AB2002/06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, full sequence; 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; and tRNA-Ile gene, full sequence	97,10	550	AY575934.1
	1494R	<i>Spirulina subsala</i> FACHB351 16S ribosomal RNA gene, 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, full sequence; and 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	99,31	433	FJ826621.1
	1494R-30R	<i>Spirulina subsala</i> AB2002/06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, full sequence; 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; and tRNA-Ile gene, full sequence	97,40	922	AY575934.1
C32	30R	Uncultured cyanobacterial clone MSmat.3.11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, tRNA-Ile and tRNA-Ala genes, full sequence; and 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	91,42	548	JQ612141.1
	1494R	<i>Leptolyngbya compacta</i> FG3_Rupite 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	866	MG207954.1
	1494R-30R	<i>Leptolyngbya compacta</i> FG3_Rupite 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99,23	1226	MG207954.1

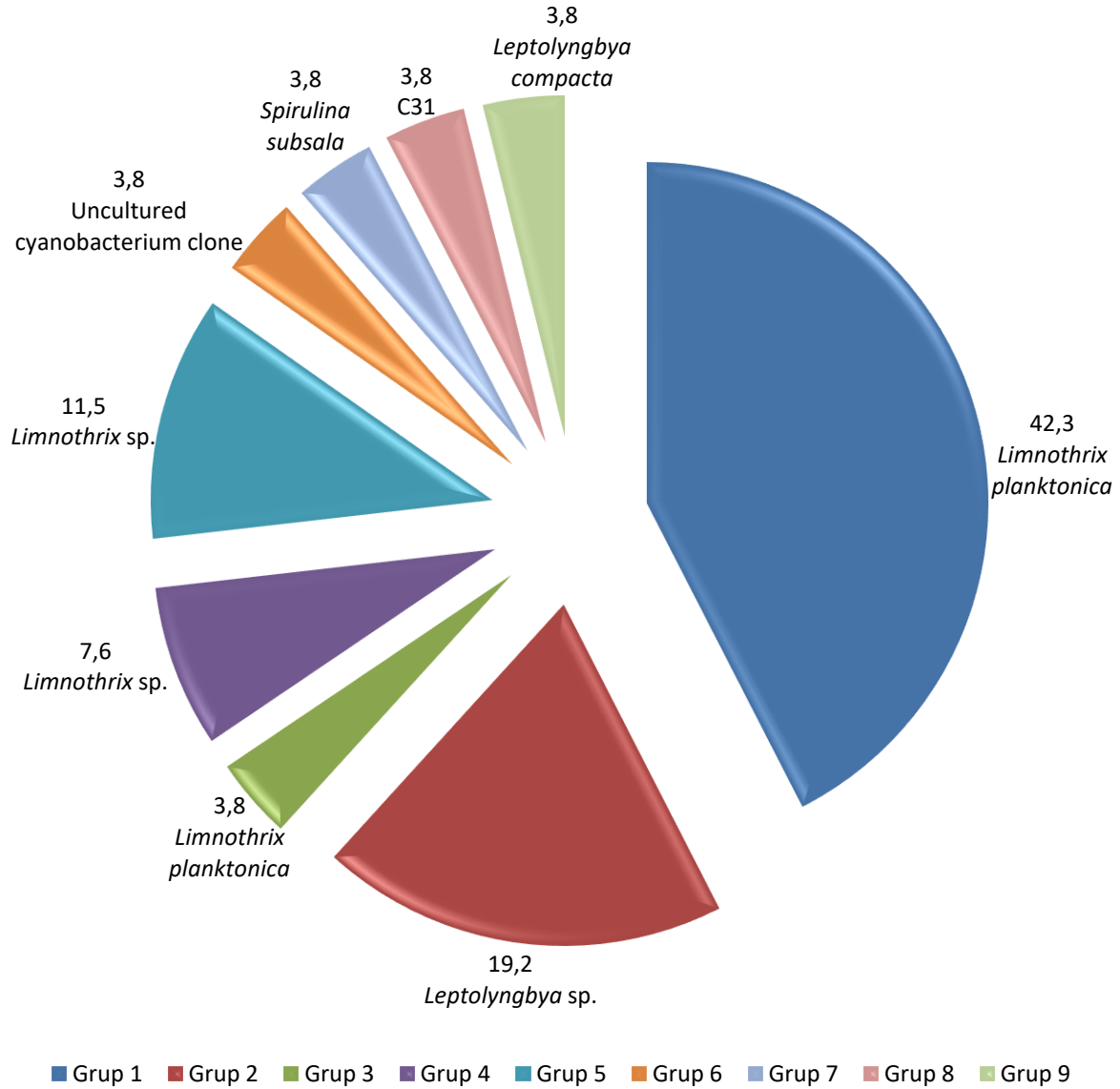
Çizelge 1.12. (devamı)

İzolat Kodu	Primer	Blast Analizi Sonucu	Benzerlik Oranı (%)	Uzunluk bp	Gen Bankası Numarası
C37	30R	<i>Limnithrix planktonica</i> clone KLL-C001 is a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, full sequence	99,76	817	KP726241.1
	1494R	<i>Planktothrix</i> sp. 1738 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	100	826	MH688861.1
	1494R-30R	<i>Limnithrix planktonica</i> clone KLL-C001 is a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, full sequence	99,84	1277	KP726241.1
C42	30R	<i>Limnithrix planktonica</i> KLL-C001 clone a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, complete sequence	99,88	867	KP726241.1
	1494R	<i>Leptolyngbya compacta</i> FG3_Rupite 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99,77	858	MG207954.1
	1494R-30R	<i>Limnithrix planktonica</i> clone KLL-C001 is a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; and 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer and tRNA-Ile gene, full sequence	95,12	1335	KP726241.1

Çizelge 1.13. İzolat numaraları, izolatların tek hücreli (T) yada filamentli (F) özellikleri, örneklem yapılan tarih, ARDRA jel sonucunda elde edilen grup numaraları ve identifikasyon sonuçları

İzolat Numaraları	Morfolojik Yapıları	Örneklem Tarihi (2019)	Örneklem Yapılan Alan	Ardra Analizi Grup Numarası	İdentifikasyon Sonucu
C4, C5, C22, C23, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 1	<i>Limnothrix planktonica</i>
C6, C7, C29, C34, C35	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 2	<i>Limnothrix</i> sp.
C8	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 3	<i>Limnothrix</i> sp.
C15, C33	T	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 4	Uncultured cyanobacterial clone
C17, C21, C27	T	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 5	Uncultured cyanobacterial clone
C30	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 6	<i>Spirulina subsala</i>
C31	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 7	Tespit edilememiştir
C32	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 8	<i>Leptolyngbya compacta</i>
C37	F	20 Ağustos	Cernek Gölü	Grup 9	<i>Limnothrix planktonica</i>

Cernek Gölü'nden İzole Edilen Siyanobakteri Türlerinin Gruplara % Dağılımı



Şekil 1.33. Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakteri türlerinin gruplara % dağılım grafiği

Şekil 1.33'de görüldüğü gibi izolatların en çok ARDRA grup 1'e ait olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların gruplara dağılımını % olarak değerlendirecek olursak, Cernek Gölü'ne ait izolatların %42,3'ünün grup 1'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnothrix planktonica* türüne ait olduğu belirlenirken, yine izolatların %3,8'inin grup 3'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnothrix planktonica* türüne ait olduğu saptanmıştır. Bunun yanında %19,2'sinin grup 2'ye ait olduğu ve BLAST sonucunun *Leptolyngbya sp.* türüne ait olduğu tespit edilmiştir.

Buna karşılık %7,6'sının grup 4'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnithrix* sp. türüne ait olduğu saptanırken, yine %11,5'inin grup 5'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnithrix* sp. türüne ait olduğu tespit edilmiştir. Yine %3,8'inin grup 6'ya ait olduğu ve BLAST sonucunun Uncultured cyanobacterium türüne karşılık geldiği belirlenmiştir. Buna ek olarak izolatların %3,8'inin ise grup 9'a ait olduğu ve BLAST sonucunun *Leptolyngbya compacta* türüne ait olduğu belirlenirken, %3,8'inin grup 7'ye ait olduğu ve BLAST sonucunun *Spirulina subsala* türüne ait olduğu saptanmıştır. Ayrıca %3,8'inin grup 8'e ait olduğu belirlenmesine rağmen, PZR ürünü elde edilemediğinden identifikasyonu yapılamamıştır.

Cernek Gölü'nde yaptığımız morfolojik çalışmanın ve moleküler karakterizasyonun sonucunda *Limnithrix* sp., *Jaaginema* sp., Uncultured cyanobacterial clone, *Spirulina subsala*, *Limnithrix planktonica* clone, *Leptolyngbya compacta* türleri belirlenirken, İşbakan ve Gönüloğlu 1997'de Cernek Gölü'nde yapmış olduğu çalışmada *Aphanocapsa biformis*, *Chroococcus dispersus*, *Chroococcus limneticus*, *Chroococcus minutus*, *Gomphosphaeria lacustris*, *Merismopedia elegans*, *Chroococcus tenuissima*, *Microcystis aeruginosa*, *Phormidium mucicola*, *Anabaena affinis*, *Anabaena aphanizomenoides*, *Anabaena spiroides*, *Lyngbya* sp., *Nodularia spumigena*, *Oscillatoria limnetica*, *Oscillatoria tenuis*, *Spirulina major* türlerini tespit etmiştir. Fakat İşbakan ve Gönüloğlu'nun çalışması sadece morfolojik tanımlama üzerinden yürütülmüş bir çalışmadır.

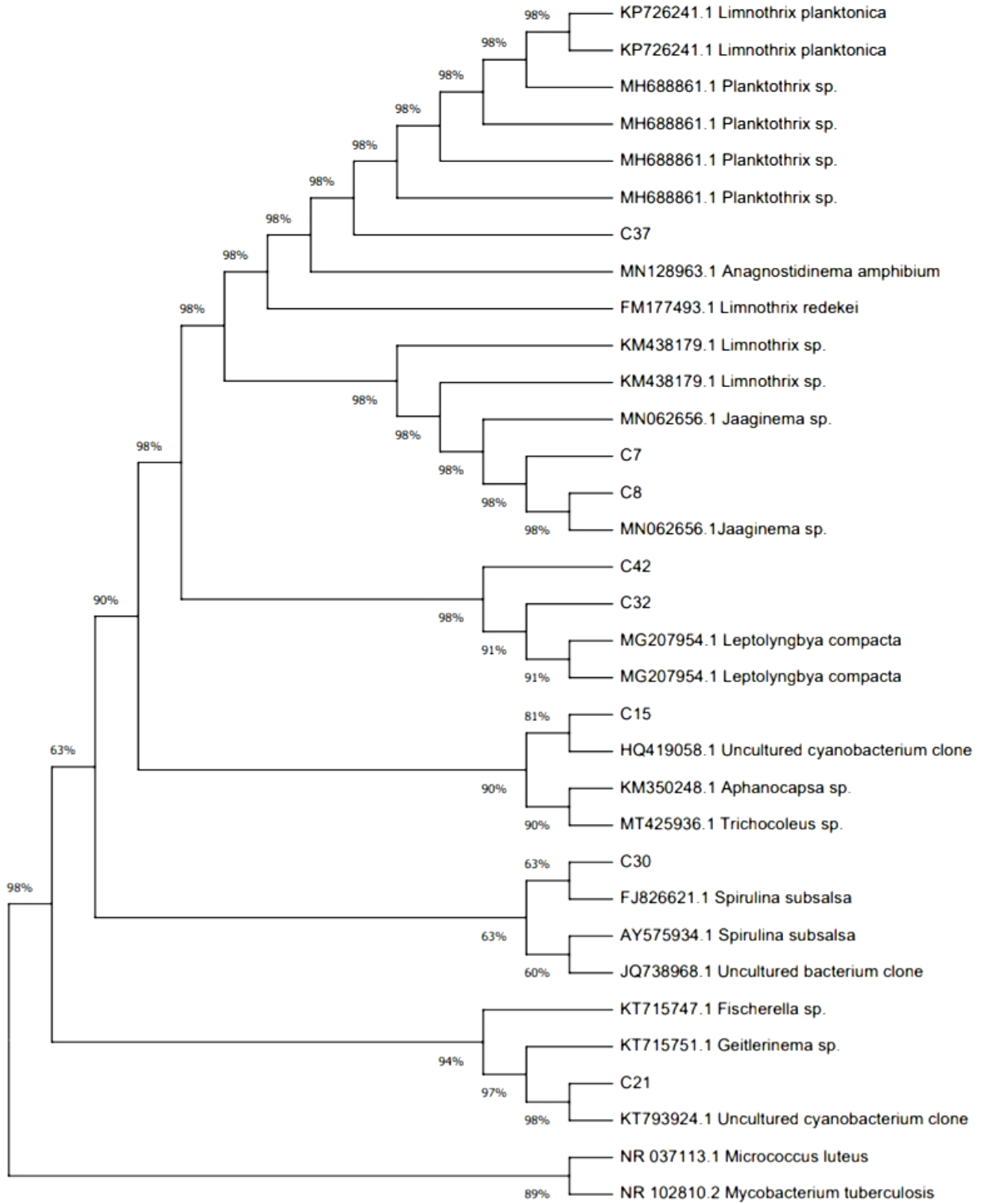
Yine Can ve Taş 2012'de Cernek Gölü'nde yapmış olduğu çalışmada, kıyı bölgesi fitoplankton komünitesinde *Chroococcus dispersus*, *Chroococcus limneticus*, *Chroococcus minutus*, *Gomphosphaeria lacustris*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis incerta*, *Anabaena affinis*, *Anabaena aphanizomenoides*, *Anabaena spiroides*, *Nodularia spumigena*, *Lyngbya* sp., *Oscillatoria limnetica*, *Oscillatoria tenuis* f. *tergestina*, *Phormidium mucicola*, *Spirulina laxa*, *Spirulina major*, *Aphanocapsa biformis*, *Merismopedia elegans*, *Merismopedia glauca*, *Merismopedia punctata*, *Merismopedia tenuissima*, *Pseudanabaena limnetica* türlerini tespit etmiştir.

Nitekim Can ve Taş yapmış olduğu çalışmada morfolojik tanımlamadan yararlanırken, bizim yaptığımız çalışmada morfolojik tanımlamanın yanında moleküler karakterizasyondan da yapılmıştır.

Buna ek olarak 2021’de Sağlam ve Karakaya Balık Gölü’nde (19 Mayıs/ Samsun) dört mevsimde yapılan örneklemede göl suyu örneklerinin tamamından elde edilen çevresel DNA’dan siyanobakteriyel 16S rDNA ampikonunu elde etmiştir. Gerek yüzeyden alınan gerekse derinden alınan su örneklerinden yapılan DNA izolasyonları sonucunda göl suyunda yıl boyunca siyanobakteri türlerinin bulunduğunu belirlemiştir. Buradan elde edilen verilere göre, göl suyunda *Cyanobacterium*, *Cyanobium*, *Limnothrix*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Snowella*, *Synechococcus*, *Phormidium*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Neowolleea*, *Raphidiopsis*, *Scytonematopsis*, *Sphaerospermopsis*, *Acanthoceras*, *Cyclotella* sp. siyanobakteri cinslerinin bulunduğunu tespit etmiştir. Sağlam ve Karakaya, morfolojik tanımlama ve moleküler karakterizasyondan yararlanarak çalışmalarını yürütmüştür. Yine bizim yaptığımız çalışmada da morfolojik tanımlama ve moleküler karakterizasyon yapılarak siyanobakteri türleri tespit edilmiştir.

3.3.3. Filogenetik ağacın elde edilmesi

Cernek Gölü’nden elde edilen izolatların 16S rRNA gen tabanında birbirleri ile olan evrimsel ilişkisi ele alınmıştır. Bauradan yola çıkarak “MEGA 11” programı kullanılarak filogenetik ağaç elde edilmiştir. Şekil 1.36’da Cernek Gölü’nden izole edilen C7, C8, C15, C21, C30, C32, C37, C42 kodlu siyanobakteri türlerinin filogenetik ağaç topolojisinde bulundukları konumlar ve birbirleri ile evrimsel açıdan ilişkisi yer almaktadır. Ağacın istatistiksel güvenilirliği incelendiğinde “bootstrap” değerlerinin genel olarak %50’nin üzerinde olduğu ve bu nedenle güvenilir bir ağaç topolojisi elde edildiği anlaşılmıştır. Elde edilen sonuçlarda da görüldüğü gibi BLAST ile elde edilen sonuçlar ağacın topolojisini desteklemektedir.



Şekil 1.36 Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakterilerin filogenetik ilişkisi

3.4. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Siyanobakteri türlerinin metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için tüp dilüsyon tekniği kullanılmıştır. Bu amaçla mikrodilüsyon yönteminden yararlanılmıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile siyanobakteri ekstraktlarının MİK değeri belirlenerek, antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. Yine bu amaçla Gam pozitif (+) bakteriler, Gam negatif (-) bakteriler ve mayalar kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan bakteriler ve mayalar;

Gam pozitif (+) bakteriler

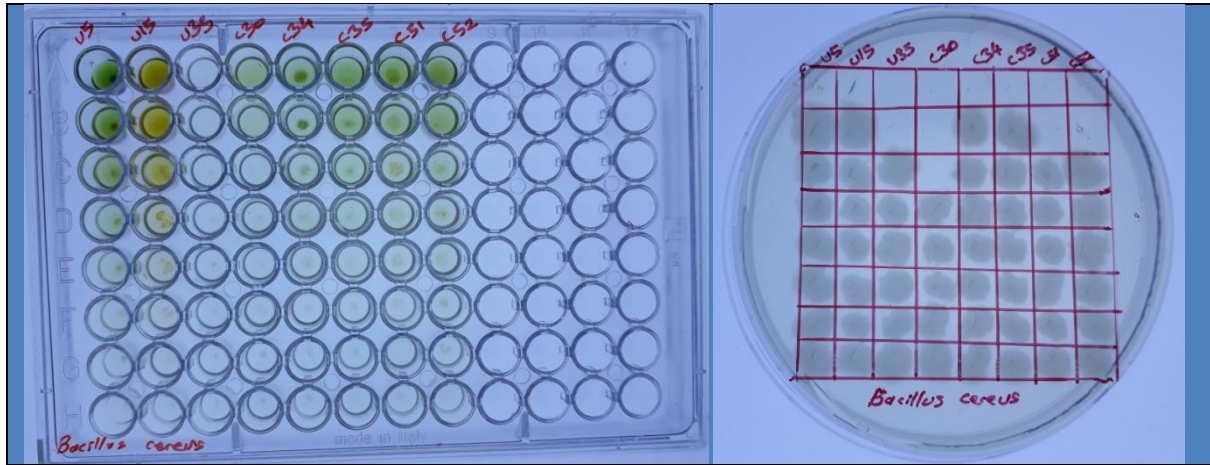
- *Bacillus cereus* ATCC 7064,
- *Micrococcus luteus* NRLL 1018,
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633,
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

Gam negatif (-) bakteriler

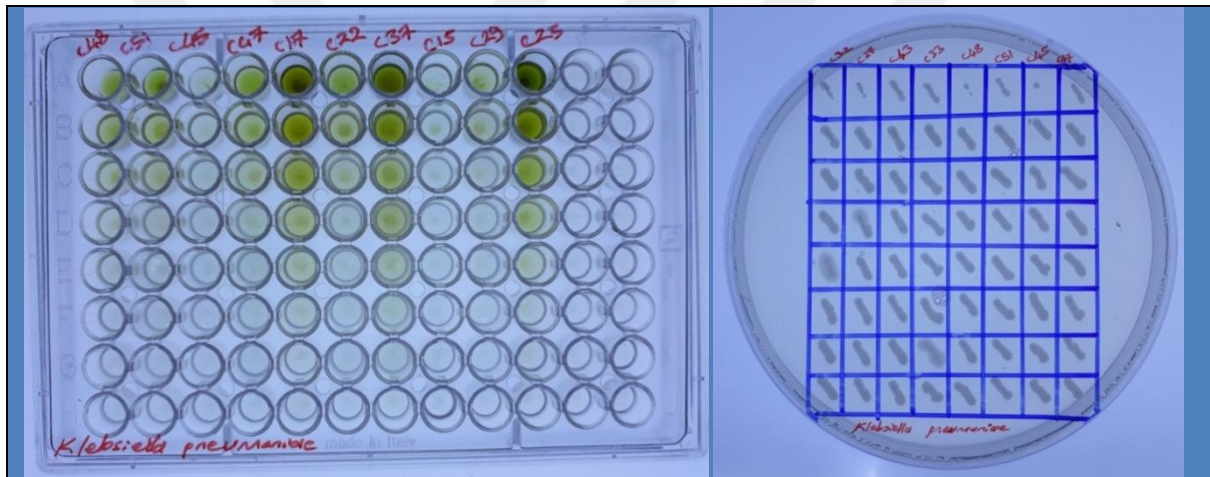
- *Salmonella typhimurium* LT2,
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603,
- *Escherichia coli* ATCC 25922,
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853,

Mayalar

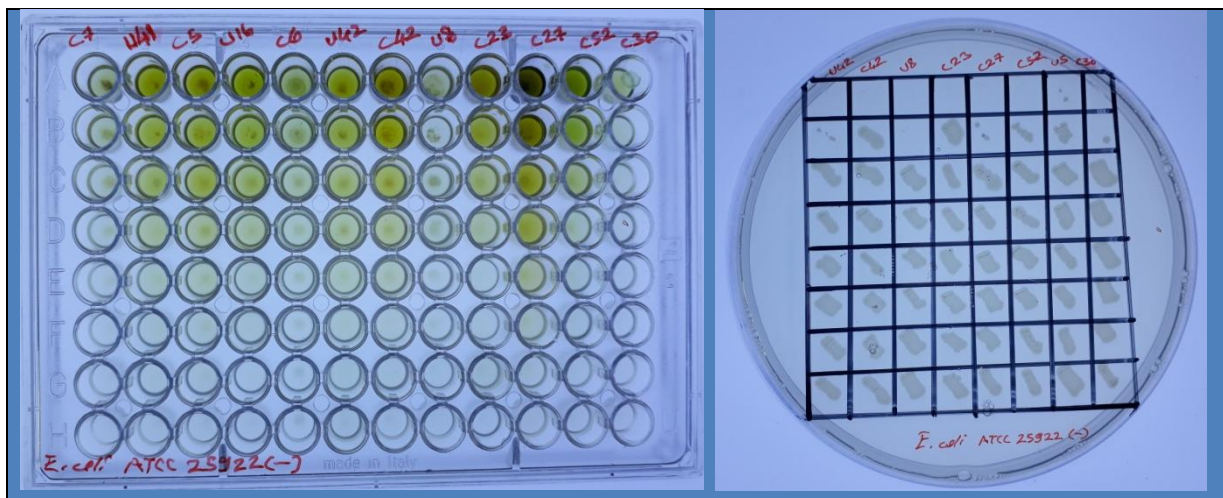
- *Candida albicans* ATCC 14053,
- *Candida krusei* ATCC 34135



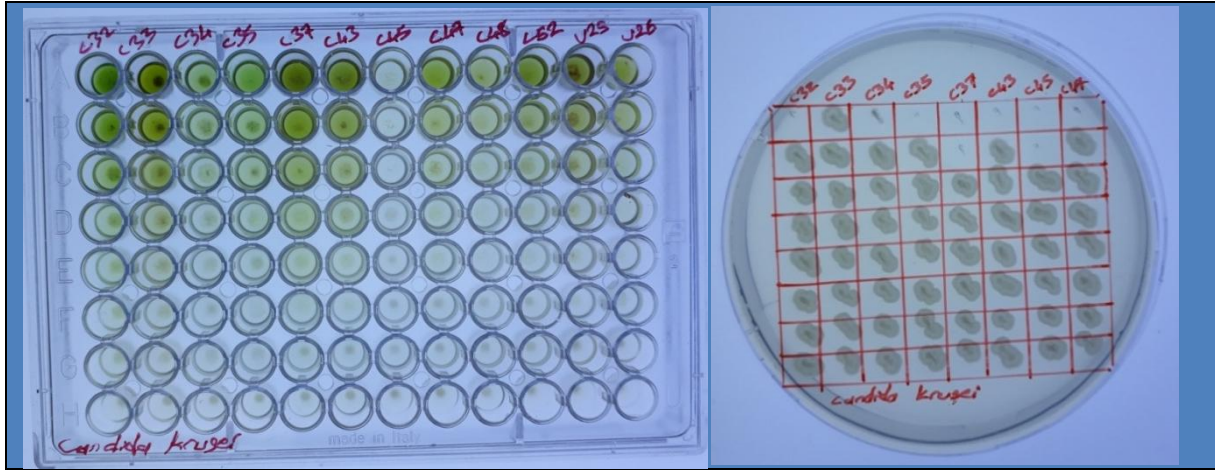
Şekil 1.38. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *B. cereus*'a karşı antimikrobiyal etkisi



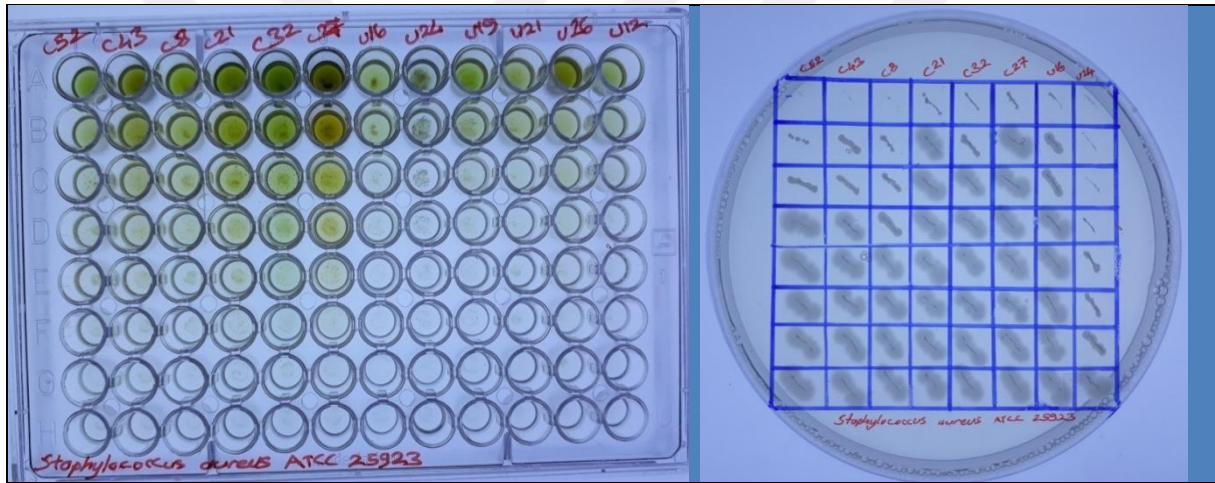
Şekil 1.39. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *K. pneumoniae*'ye karşı antimikrobiyal etkisi



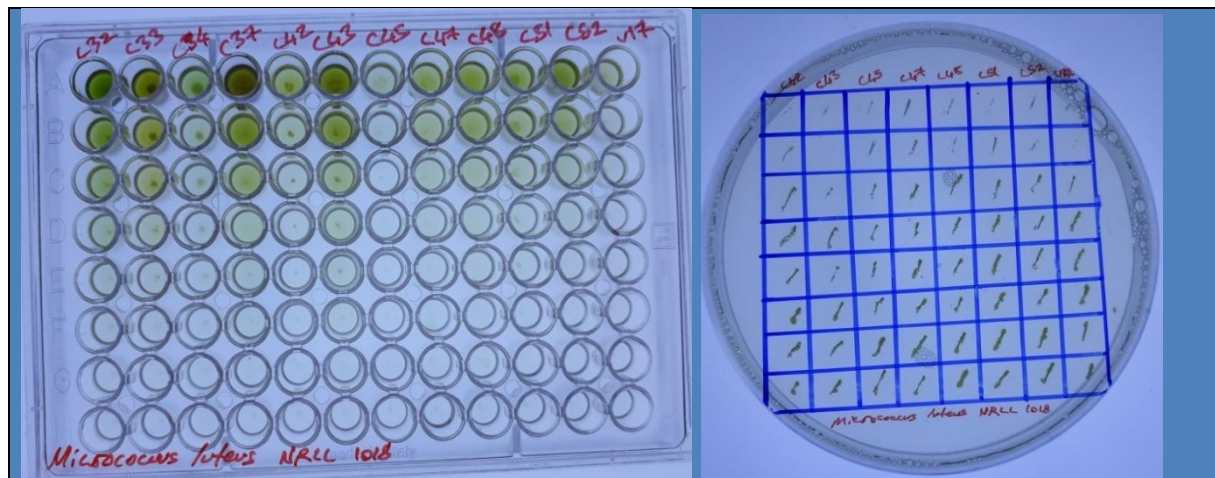
Şekil 1.40. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etkisi



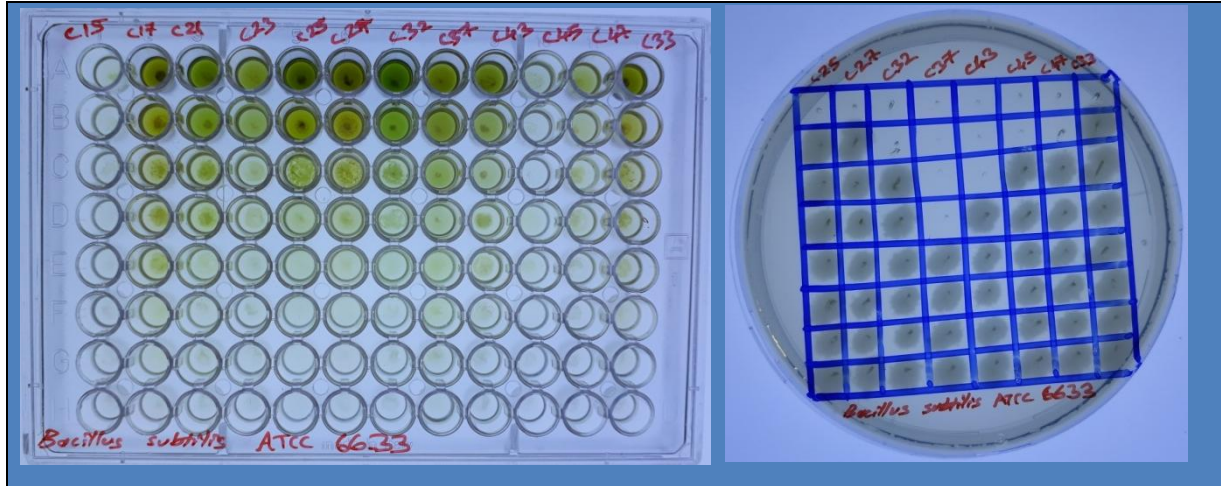
Şekil 1.41. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *C. krusei*'ye karşı antimikrobiyal etkisi



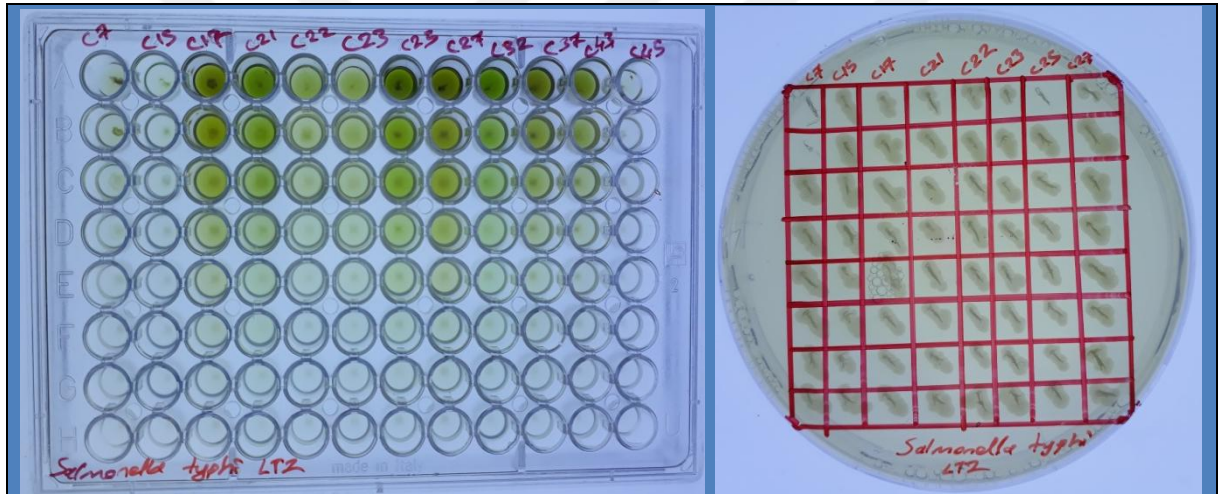
Şekil 1.42. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisi



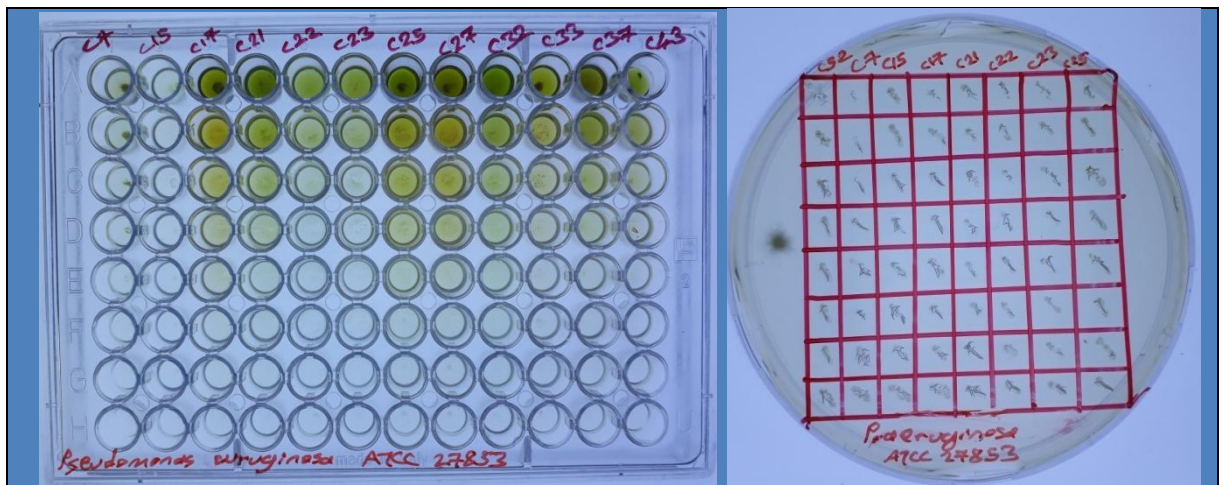
Şekil 1.43. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *M. luteus*'a karşı antimikrobiyal etkisi



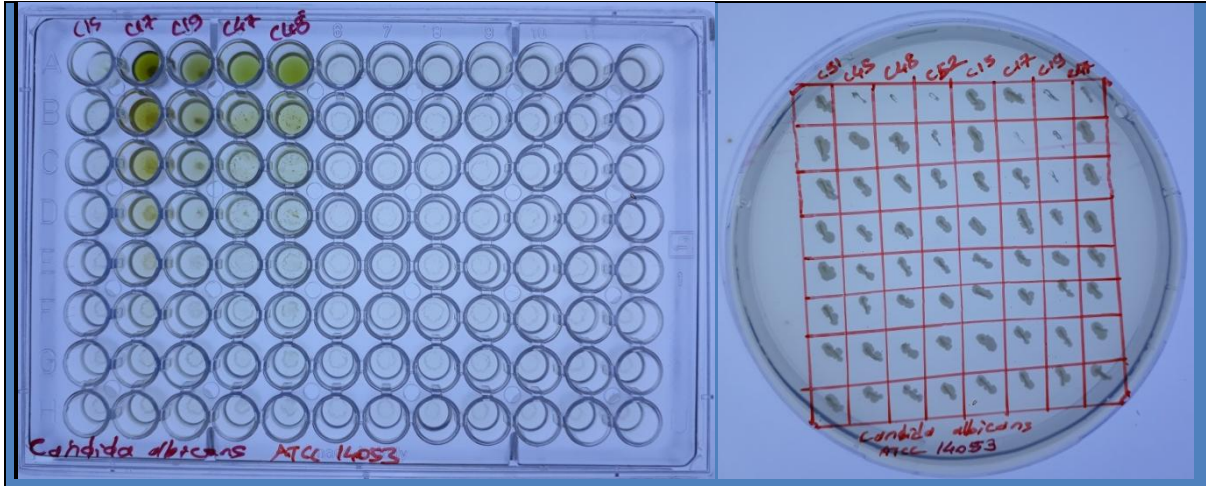
Şekil 1.44. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *B.subtilis*'e karşı antimikrobiyal etkisi



Şekil 1.45. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *S.typhi*'ye karşı antimikrobiyal etkisi



Şekil 1.46. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal etkisi



Şekil 1.47. Siyanobakteri ekstraktlarından bazılarının *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkisi

Çizelge 1.14. Siyanobakterilerin ekstraktlarının, bakteriyel test mikroorganizmaları üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyon değerleri

	Siyanobakteri ekstraktları					
Test Mikroorganizmaları	C4	C5	C6	C7	C8	MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) mg/ml
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	3	0,375	0,75	3	0,1875	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	3	1,5	3	1,5	0,09375	
<i>Micrococcus luteus</i> NRL 1018	3	1,5	1,5	1,5	0,1875	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3	0,375	1,5	3	0,1875	
<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	>3	3	1,5	3	1,5	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	>3	3	3	3	1,5	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3	3	3	3	1,5	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	3	0,75	0,75	3	0,75	
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	3	1,5	1,5	0,375	0,375	
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	3	1,5	1,5	3	0,375	

Çizelge 1.15. (devamı)

	Siyanobakteri ekstraktları					
Test Mikroorganizmaları	C15	C17	C21	C22	C23	Mik (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) mg/ml
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	3	3	1,5	0,75	0,75	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>3	3	3	3	0,75	
<i>Micrococcus luteus</i> NRLL 1018	3	0,75	1,5	0,75	1,5	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3	3	3	0,75	1,5	
<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	>3	>3	>3	>3	>3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATTC 700603	>3	>3	3	>3	3	
<i>Escherichi coli</i> ATCC 25922	3	3	3	3	3	
<i>Pseudomanas aeruginosa</i> ATCC 27853	>3	3	>3	>3	>3	
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	>3	1,5	3	3	1,5	
<i>Candida krusei</i> ATTC 34135	>3	3	3	3	1,5	

Çizelge 1.16. (devamı)

	Siyanobakteri ekstraktları					
Test Mikroorganizmaları	C27	C29	C30	C31	C32	Mik (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) mg/ml
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	3	1,5	0,75	3	1,5	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	3	3	0,1875	3	3	
<i>Micrococcus luteus</i> NRLL 1018	3	1,5	0,1875	3	1,5	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3	1,5	0,75	3	1,5	
<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	3	>3	3	3	>3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATTC 700603	3	3	>3	>3	3	
<i>Escherichi coli</i> ATCC 25922	1,5	3	1,5	3	3	
<i>Pseudomanas aeruginosa</i> ATCC 27853	3	>3	0,375	>3	>3	
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	>3	>3	0,09375	3	>3	
<i>Candida krusei</i> ATTC 34135	>3	>3	0,375	3	3	

Çizelge 1.17. (devamı)

	Siyanobakteri ekstraktları						
Test Mikroorganizmaları	C33	C34	C35	C37	C42	C43	Mik (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) mg/ml
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	3	3	3	0,375	1,5	0,75	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	3	>3	3	1,5	3	3	
<i>Micrococcus luteus</i> NRLL 1018	3	1,5	1,5	0,75	1,5	0,75	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	3	3	3	0,375	1,5	0,75	
<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	3	3	3	>3	>3	3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATTC 700603	>3	>3	>3	3	>3	>3	
<i>Escherichi coli</i> ATCC 25922	3	3	3	3	3	3	
<i>Pseudomanas aeruginosa</i> ATCC 27853	>3	>3	3	3	>3	3	
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	>3	1,5	3	1,5	3	3	
<i>Candida krusei</i> ATTC 34135	>3	3	3	1,5	3	3	

Çizelge 1.18. (devamı)

	Siyanobakteri ekstraktları						
Test Mikroorganizmaları	C45	C47	C48	C51	C52	DMSO	Mik (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) mg/ml
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	0,375	1,5	1,5	1,5	1,5	3	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,375	3	3	1,5	1,5	3	
<i>Micrococcus luteus</i> NRLL 1018	1,5	1,5	1,5	3	1,5	3	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1,5	1,5	1,5	1,5	0,75	3	
<i>Salmonella typhimurium</i> LT2	>3	3	>3	>3	3	3	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATTC 700603	3	>3	3	>3	3	3	
<i>Escherichi coli</i> ATCC 25922	3	3	3	3	3	3	
<i>Pseudomanas aeruginosa</i> ATCC 27853	3	3	3	3	3	3	
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	0,75	3	3	>3	3	3	
<i>Candida krusei</i> ATTC 34135	1,5	3	1,5	3	3	3	

Cerneke Gölü'ndeki siyanobakteri türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili daha önce yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim yaptığımız antimikrobiyal aktivite çalışmalarında kullanılan siyanobakterileri ekstraktlarının, bakteriyel test mikroorganizmaları üzerindeki MİK değerlerinin tamamı Çizelge 1.11'de özetlenmiştir. Burada da görüldüğü gibi Cerneke Gölü'nden izole edilen siyanobakterilerin ekstraktları ile yapılan MİK çalışmalarından elde edilen verilere bakıldığında, *B. cereus* ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında bazı siyanobakteri ekstraktlarının önemli bir etkisi saptanmazken (C4, C7, C15, C17, C27, C31, C33, C34, C35-3mg/ml), bazı siyanobakteri ekstraktlarının ise yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu (C5, C37, C45-0,375 mg/ml, C8-0,1875 mg/ml) görülmüştür. Nitekim *B. cereus* üzerine MİK değeri incelendiğinde, C4, C7, C15, C17, C27, C31, C33, C34, C35 kodlu ekstraktların 3 mg/ml olduğu, bunun yanında C21, C29, C32, C42, C47, C48, C51, C52 kodlu ekstraktların 1,5 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Yine C6, C22, C23, C30, C43 kodlu ekstraktlardaki değerlerin oldukça düşük olduğu (0,75 mg/ml), hatta C5, C37, C45 kodlu ekstraktların MİK değerlerinin 0,375 mg/ml ile daha da düşük değere sahip olduğu ve C8 kodlu ekstraktın ise 0,1875 mg/ml ile en düşük değeri gösterdiği tespit edilmiştir. Dolayısı ile *B. cereus* üzerine C5, C37, C45 ve C8 kodlu ekstraktların en etkili ekstraktlar olduğu saptanmıştır.

Bunun yanında Akarca ve Baytal 2021'de turunçgil yaprakları ile yapmış olduğu çalışmada patojen mikroorganizmalar üzerindeki en düşük MİK değerinin 0,00586 mg/ml ile kurutulmuş limon yaprağı etanol ekstraktında *B. cereus* üzerine olduğunu belirlemiştir. Bu MİK değeri, bizim yaptığımız çalışmadaki MİK değerlerinden oldukça düşük bulunmuştur. Dolayısı ile limon yaprağı etanol ekstraktının *B. cereus* üzerine antimikrobiyal aktivitesinin bizim ekstraktlarımızın tümünün *B. cereus* üzerine antimikrobiyal aktivitesinden yüksek olduğu belirlenmiştir.

S. aureus ile yapılan antimikrobiyal çalışmalar sonucunda bazı siyanobakteri ekstraktlarının herhangi bir etkiye sahip olmadığı, bunun yanında bazılarının ise önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür. Önemli bir etkiye sahip olmayan ekstraktlar arasında yer alan C15 ve C34 kodlu ekstraktların MİK değerine bakıldığında 3 mg/ml'den yüksek olduğu tespit edilmiştir. Buna ilave olarak C4, C6, C17, C21, C22, C27, C29, C31, C32, C33, C35, C42, C43, C47, C48 kodlu ekstraktların MİK değerlerinin 3 mg/ml olduğu saptanmıştır.

Buna karşılık, C5, C7, C37, C51, C52 kodlu ekstraktların MİK değerlerinin 1,5 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Burada ifade edilen değerlere bakıldığında bu ekstraktların orta derecede etkilere sahip oldukları görülmektedir. Fakat C23, C45, C30 ve C8 kodlu ekstraktların MİK değeri incelendiğinde sırası ile 0,75, 0,375, 0,1875 ve 0,09375 mg/ml gibi değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Burada da görüldüğü gibi *S. aureus* üzerine en etkin ekstraktların az etkiliden çok etkiliye doğru C23, C45, C30 ve C8 olduğu görülmüştür.

Bunun yanında, Türkcan ve Ökmen 2013'de yapmış olduğu çalışmada, *Anabaena* sp. GO2, *Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8 ve *Gloeotheca* sp. GO9 kodlu siyanobakteri türlerinin ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmiştir. Türkcan ve Ökmen 2013'de yapmış olduğu çalışmada *Staphylococcus aureus* RSKK 2392 üzerine en yüksek MİK değerini (0,812 mg/ml) *Anabaena* sp. GO2 ekstraktından elde etmiştir. Diğer siyanobakteri ekstraktlarının (*Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9), *S. aureus* üzerine MİK değerini aynı bulmuştur (0,406 mg/ml).

Yine bizim yaptığımız çalışmada bazı siyanobakteri ekstraktlarının *M. luteus* üzerine antimikrobiyal etkisinin az olduğu belirlenirken (C4, C15, C27, C33, C51-3mg/ml), bazı siyanobakteri ekstraktlarının yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği (C17, C22, C37, C43-0,75 mg/ml, C8, C30-0,187 mg/ml), bazılarının ise orta derecede etkili olduğu (C5, C6, C7, C21, C23, C29, C32, C34, C35, C42, C45, C47, C48, C52-1,5 mg/ml) tespit edilmiştir. Bu MİK değerlerine bakıldığında *M. luteus* üzerine en etkin ekstraktların C8 ve C30 kodlu ekstraktlar olduğu saptanmıştır.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, *B. subtilis* üzerine bazı siyanobakteri ekstraktlarının önemli antimikrobiyal etkisi bulunmazken, bazı siyanobakteri ekstraktlarının ise önemli antimikrobiyal etkilerinin olduğu görülmüştür. *B. subtilis* üzerine C4, C7, C15, C17, C21, C27, C31, C33, C34, C35 kodlu ekstraktların MİK değerinin 3 mg/ml olduğu belirlenirken, C6, C23, C29, C32, C42, C45, C47, C48, C51 kodlu ekstraktların 1,5 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. C22, C30, C43, C52 kodlu ekstraktların ise 0,75 mg/ml olduğu saptanmıştır. Bunun yanında C5, C37 kodlu ekstraktların 0,375 mg/ml olduğu görülmüştür. Buna ek olarak C8 kodlu ekstraktın 0,1875 mg/ml olarak hesaplanmıştır.

Bu MİK değerlerine bakılarak *B. subtilis* üzerine C5, C37 ve C8 kodlu ekstraktların en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bunun yanında Türkcan ve Ökmen 2013'de yapmış olduğu çalışmada *Bacillus subtilis* RSKK 245 üzerine tüm siyanobakteri türlerinin ekstraktlarında (*Anabaena* sp. GO2, *Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9) aynı MİK değerini gösterdiğini saptamıştır (0,406 mg/ml).

S. typhimurium ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında çalışılan siyanobakteri ekstraktlarının önemli antimikrobiyal etkiye sahip olmadıkları tespit edilmiştir. *S. typhimurium* üzerine C4, C15, C17, C21, C22, C23, C29, C32, C37, C42, C45, C48, C51 kodlu ekstraktların MİK değeri 3 mg/ml'den büyük, C5, C7, C27, C30, C31, C33, C34, C35, C43, C47, C52 kodlu ekstraktların ise 3 mg/ml olduğu görülmüştür. Bunun yanında C6, C8 kodlu ekstraktların 1,5 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Burada da görüldüğü gibi çalışılan siyanobakteri ekstraktlarının *S. typhimurium* üzerine önemli antimikrobiyal etkilerinin olmadığı görülmüştür. Ayrıca Türkcan ve Ökmen'in 2013'de *Anabaena* sp. GO2, *Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8 ve *Gloeotheca* sp. GO9 kodlu siyanobakteri türlerinin ekstraktlarının *Salmonella typhimurium* RSKK 19 üzerine antimikrobiyal aktivitelerini tespit etmiştir. *S. typhimurium* üzerine en yüksek MİK değeri *Anabaena* sp. GO2 ekstraktından (3,25 mg/ml) elde edilirken, en düşük MİK değeri ise *Gloeotheca* sp. GO9'dan (0,812 mg/ml) tespit edilmiştir. Diğer siyanobakteri ekstraktlarının (*Synechocystis* sp. GO8, *Anabaena* sp. GO10) ise *S. typhimurium* üzerine aynı MİK değerini (1,625 mg/ml) gösterdiğini belirlemiştir.

Bunun yanında Akarca ve Baytal 2021'de yapmış olduğu çalışmada *S. typhi* üzerine en düşük MİK değerinin 0,00879 mg/ml ile kurutulmuş mandalina yaprağı etanol ekstraktında olduğunu belirlemiştir.

Yine yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında siyanobakteri ekstraktlarının *K. pneumoniae* üzerine önemli antimikrobiyal etkisinin olmadığı saptanmıştır. *K. pneumoniae* üzerine C4, C15, C17, C22, C30, C31, C33, C34, C35, C42, C43, C47, C5 kodlu ekstraktların MİK değerinin 3 mg/ml'den büyük olduğu tespit edilmiştir. C5, C6, C7, C21, C23, C27, C29, C32, C37, C45, C48 kodlu ekstraktların ise 3 mg/ml olarak belirlenmiştir. Buna ek olarak C8 kodlu ekstraktın 1,5 mg/ml bulunmuştur.

Bu MİK değerlerine bakılarak, siyanobakteri ekstraktlarının *K. Pneumoniae* üzerine önemli antimikrobiyal etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir.

E. coli ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında siyanobakteri ekstraktlarının önemli antimikrobiyal etkilerinin olmadığı görülmüştür. *E. coli* üzerine C4, C5, C6, C7, C15, C17, C21, C22, C23, C29, C31, C32, C33, C34, C35, C37, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C5 kodlu ekstraktların MİK değeri 3 mg/ml bulunmuştur. Bunun yanında C8, C27, C30 kodlu ekstraktların 1,5 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Bu verilere bakılarak siyanobakteri ekstraktlarının *E. coli* üzerine önemli etkilerinin olmadığı tespit edilmiştir. Buna karşılık Türkcan ve Ökmen'in 2013'de siyanobakteri ekstraktları (*Anabaena* sp. GO2, *Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9) ile yapmış olduğu çalışmada *Escherichia coli* ATCC 11229 üzerine en yüksek MİK değerini (1,625 mg/ml) *Anabaena* sp. GO10 ekstraktının gösterdiğini belirlemiştir. Diğer üç siyanobakteri ekstraktının (*Anabaena* sp. GO2, *Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9) ise aynı değeri göstermiştir (0,812 mg/ml). Buna ek olarak, Akarca ve Baytal 2021'de yapmış olduğu çalışmada *E. coli* üzerine en düşük MİK değerinin 0,01172 mg/ml ile kurutulmuş limon yaprağı etanol ekstraktında olduğunu belirlemiştir.

P. aeruginosa ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında siyanobakteri ekstraktlarının önemli antioksidan etkilerinin bulunmadığı saptanmıştır. *P. aeruginosa* üzerine C29, C31, C32, C33, C34, C42 kodlu ekstraktların MİK değerinin 3 mg/ml'den büyük olduğu tespit edilmiştir. Yine C4, C7, C27, C35, C37, C43, C45, C47, C48, C51, C52 kodlu ekstraktların 3 mg/ml olduğu saptanmıştır. C5, C6, C8 kodlu ekstraktların ise 1,5 mg/ml olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında C30 kodlu ekstraktın 0,75 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Bu MİK değerlerine bakılarak siyanobakteri ekstraktlarının *P. aeruginosa* üzerine önemli antimikrobiyal etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bunun yanında Akarca ve Baytal 2021'de yapmış olduğu çalışmada en yüksek MİK değerini 0,375 mg/ml ile taze greyfurt yaprağı etanol ekstraktında *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde olduğu belirlemiştir. Buna rağmen, Akarca ve Baytal'ın taze greyfurt yaprağı etanol ekstraktı ile *Pseudomonas aeruginosa* üzerine yapmış olduğu çalışmada elde ettiği MİK değerinin bizim *Pseudomonas aeruginosa* üzerine yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz MİK değerlerinden düşük olduğu saptanmıştır.

Yine *C. albicans* ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında bazı siyanobakteri ekstraktları önemli antimikrobiyal etkiye sahip değilken, bazı siyanobakteri ekstraktlarının önemli antimikrobiyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır. *C. albicans* üzerine C15, C27, C29, C32, C33, C51 kodlu ekstraktların MİK değerinin 3 mg/ml'den büyük olduğu belirlenirken, C4, C21, C22, C31, C35, C42, C43, C47, C48, C52 kodlu ekstraktların 3 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. C5, C6, C17, C23, C34 kodlu ekstraktların ise 1,5 mg/ml olduğu saptanmıştır. C45 kodlu ekstraktın 0,75 mg/ml olduğu görülmüştür. Bunun yanında C7, C8 kodlu ekstraktın 0,375 mg/ml olduğu saptanırken, C30 kodlu ekstraktın 0,09375 mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlere bakıldığında *C. albicans* C7, C8 ve C30 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının en etkin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu görülmüştür. Buna ek olarak Türkcan ve Ökmen'in 2013'de *Candida albicans* RSKK 02029 ile yaptığı çalışmalar sonunda tüm siyanobakteri ekstraktlarının (*Anabaena* sp. GO2, *Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9) aynı MİK değerini (1,625 mg/ml) gösterdiğini belirlemiştir.

C. krusei ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında önemli antimikrobiyal etkisi bulunmayan siyanobakteri ekstraktlarının olduğu görülürken, önemli antimikrobiyal etkiye sahip siyanobakteri ekstraktının da olduğu saptanmıştır. *C. krusei* üzerine C15, C27, C29, C33 kodlu ekstraktların MİK değerinin 3 mg/ml'den büyük olduğu tespit edilirken, C4, C7, C17, C21, C22, C31, C32, C34, C35, C42, C43, C47, C51, C52 kodlu ekstraktların 3 mg/ml olduğu saptanmıştır. Bunun yanında C5, C6, C23, C37, C45, C48 kodlu ekstraktların 1,5 mg/ml olduğu belirlenmiştir. C8, C30 kodlu ekstraktların ise 0,375 mg/ml olduğu görülmüştür. Burada da görüldüğü gibi *C. krusei* üzerine en etkin ekstraktların C8 ve C30 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca Türkcan ve Ökmen 2013'de yapmış olduğu çalışmada *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 ile üzerine tüm siyanobakteri ekstraktlarının (*Anabaena* sp. GO2, *Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9) aynı MİK değerini (0,406 mg/ml) gösterdiğini belirlemiştir. Buna karşılık *Enterococcus faecalis* ATCC 8093 üzerine en yüksek MİK değerini *Anabaena* sp. GO2 ve *Anabaena* sp. GO10'un gösterdiğini tespit etmiştir (1,625 mg/ml). Diğer siyanobakteri ekstraktlarının (*Synechocystis* sp. GO8, *Gloeotheca* sp. GO9) MİK değerinin ise aynı olduğunu saptamıştır (0,406).

Bunun yanında *Yersinia enterocolitica* NCTC 11174 üzerine en yüksek MİK değerini *Anabaena* sp. GO2 ekstraktından (1,625 mg/ml) elde ederken, en düşük MİK değeri ise *Gloeotheca* sp. GO9' dan (0,406 mg/ml) sağlamıştır. Diğer siyanobakteri ekstraktlarının (*Anabaena* sp. GO10, *Synechocystis* sp. GO8) MİK değerinin aynı olduğu belirlenmiştir (0,812 mg/ml).

Minimum inhibisyon konsantrasyonu çalışmalarında elde edilen verilere bakıldığında bizim siyanobakteri ekstraktları arasında C8 kodlu siyanobakteri ekstraktının *S. aureus* üzerine, C30 kodlu siyanobakteri ekstraktının *C. albicans* üzerine 0,09375 mg/ml MİK değeriyle önemli ölçüde antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır. Dolayısıyla bu siyanobakteri türleri önemli antimikrobiyal etki gösterdiğinden gıda, sağlık gibi alanlarda kullanılabileceği tespit edilmiştir. Bunun yanında bu siyanobakteri türlerinin, çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle ticaret alanında da değerlendirilebilir olduğu öngörülmüştür.

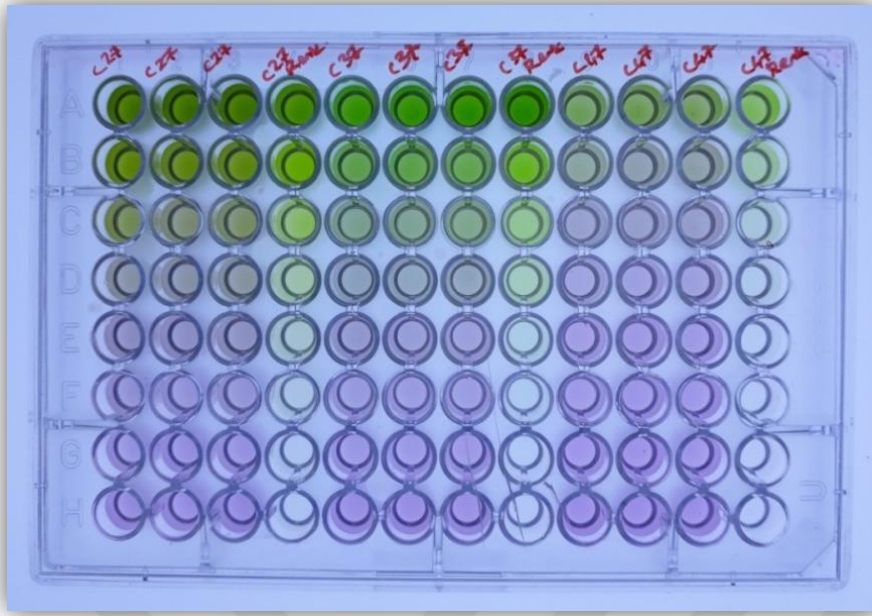
3.5. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Antioksidan aktivite çalışmalarında Cernek Gölü'nden izole edilen C4, C5, C6, C7, C8, C14, C15, C17, C21, C22, C23, C27, C29, C30, C31, C32, C33, C34, C35, C37, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52 kodlu siyanobakteri ekstraktları kullanılmıştır.

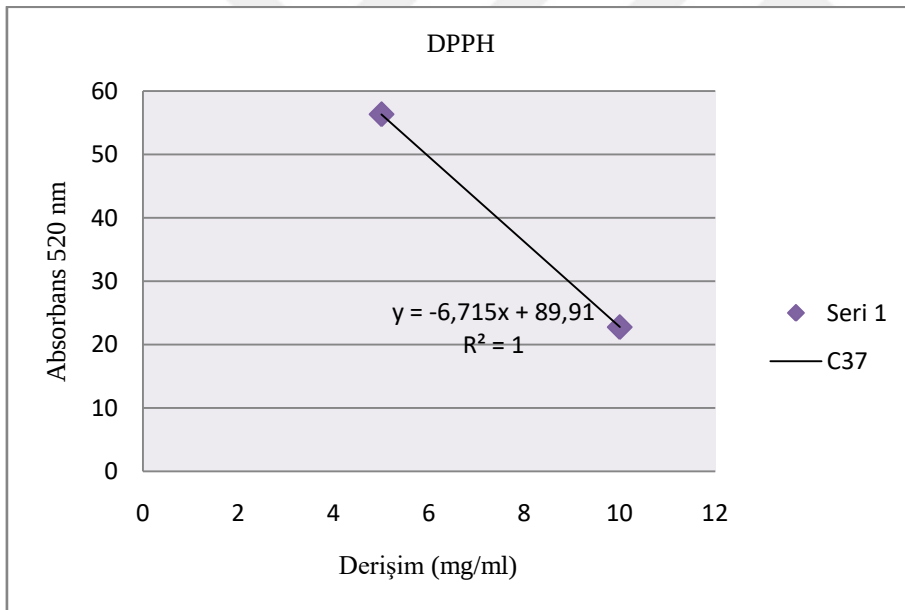
Bunun yanında antioksidan aktivite çalışmalarında siyanobakteri ekstraktlarının antioksidan aktivitesini belirlemek amacı ile DPPH radikalleri sönmüleme yöntemi ve Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yönteminden yararlanılmıştır (Huang ve diğerleri, 2005; Tütem ve Apak, 1991).

3.5.1. DPPH radikali sönmüleme aktiviteleri

Siyanobakteri ekstraktlarının antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla DPPH radikalleri sönmüleme aktivitelerinden yararlanılmıştır (Huang ve diğerleri, 2005). Bu amaçla bazı siyanobakteri türlerinin DPPH radikalleri sönmüleme aktiviteleri aşağıdaki şekillerde yer almaktadır (Şekil 1.48-1.49-1.50-1.51-1.52).

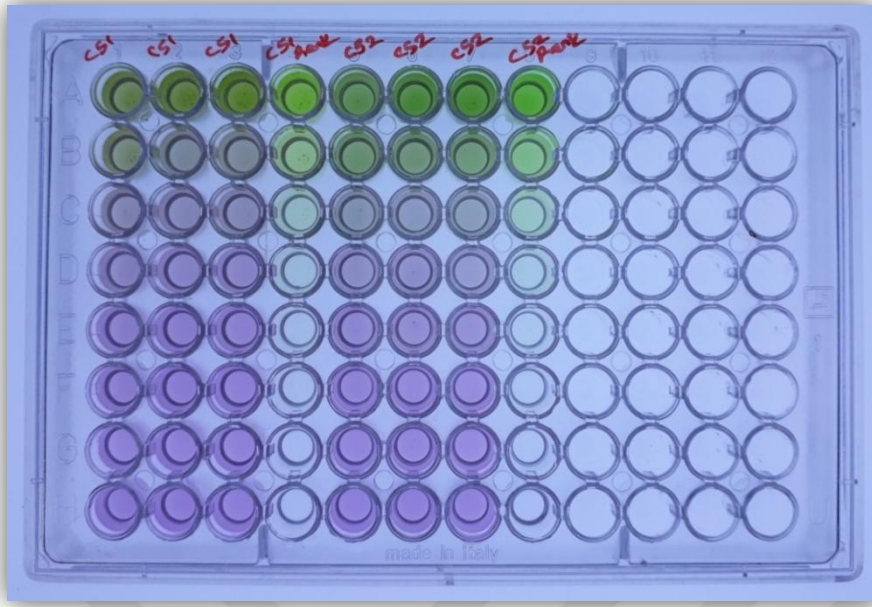


1)

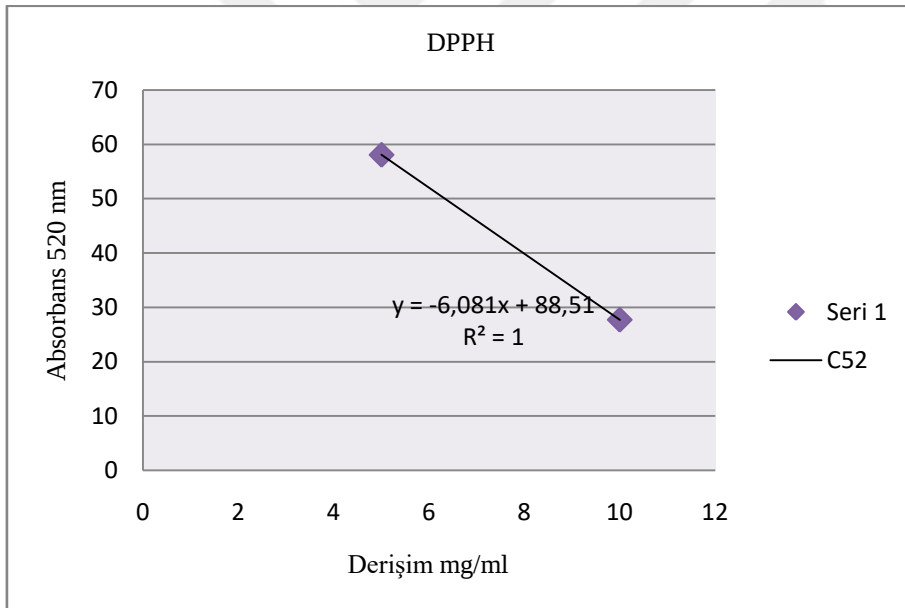


2)

Şekil 1.48. C37 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi;
1,2

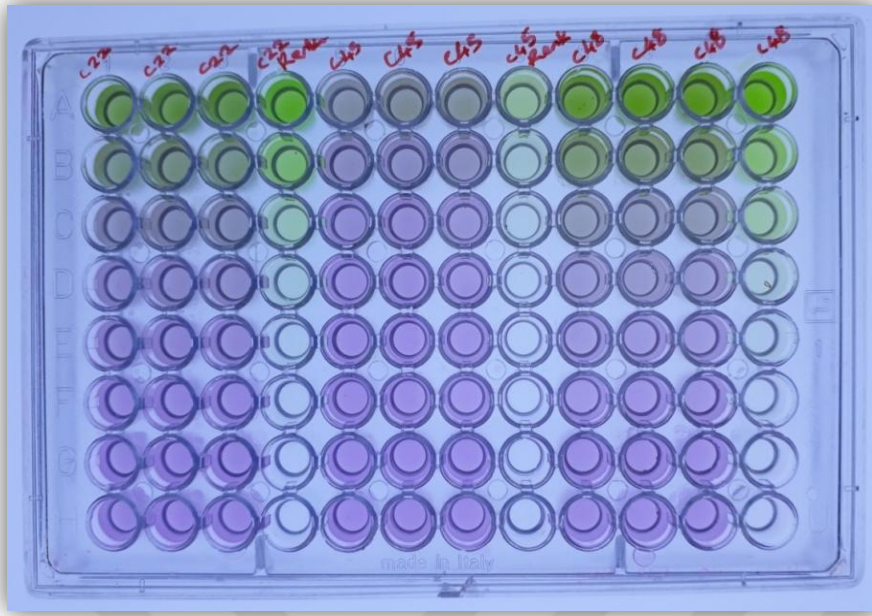


1)

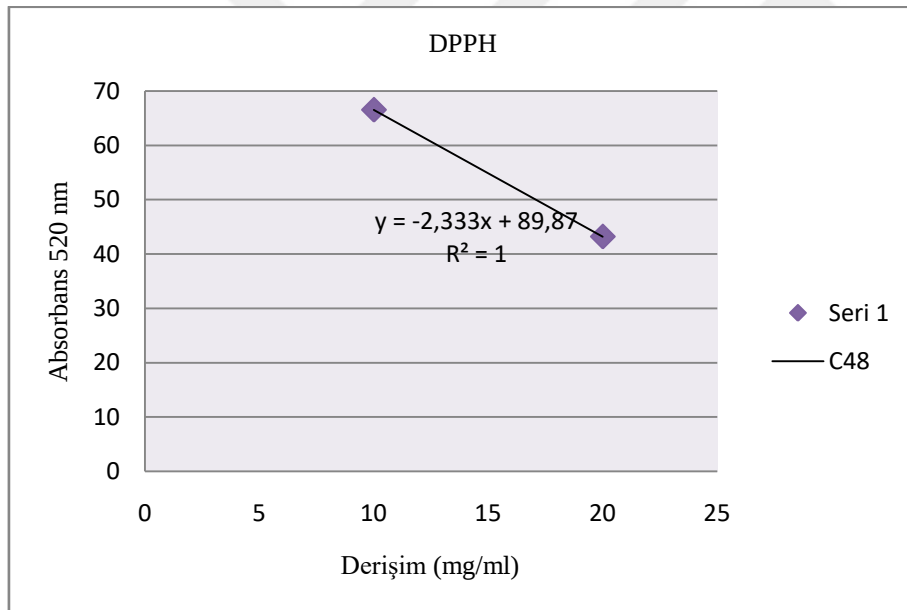


2)

Şekil 1.49. C52 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri söndürme aktivitesi;
1,2

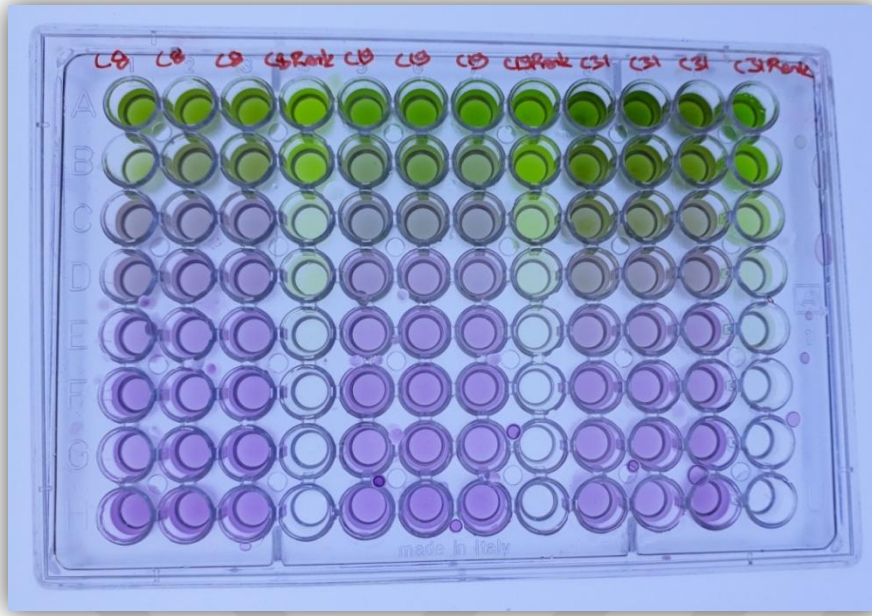


1)

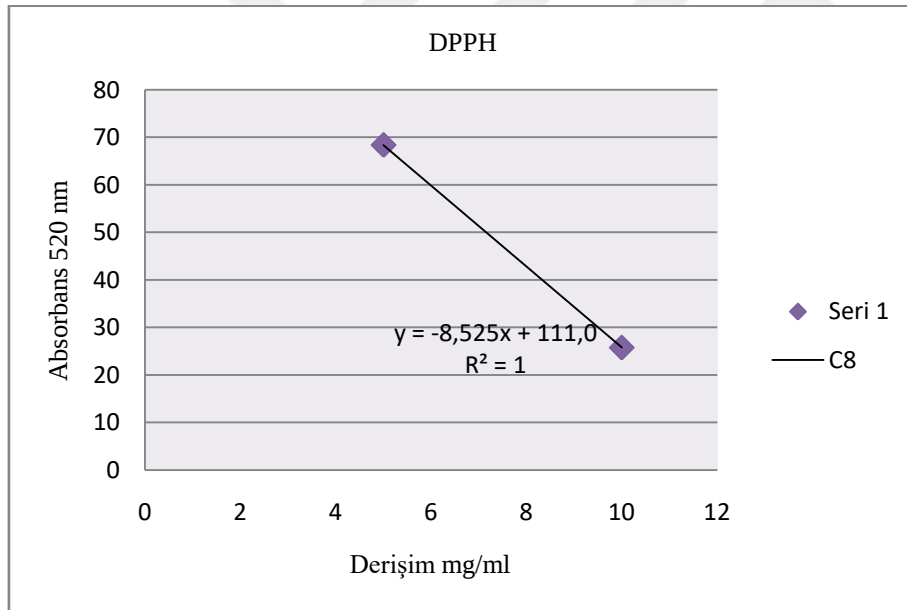


2)

Şekil 1.50. C48 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi;
1,2

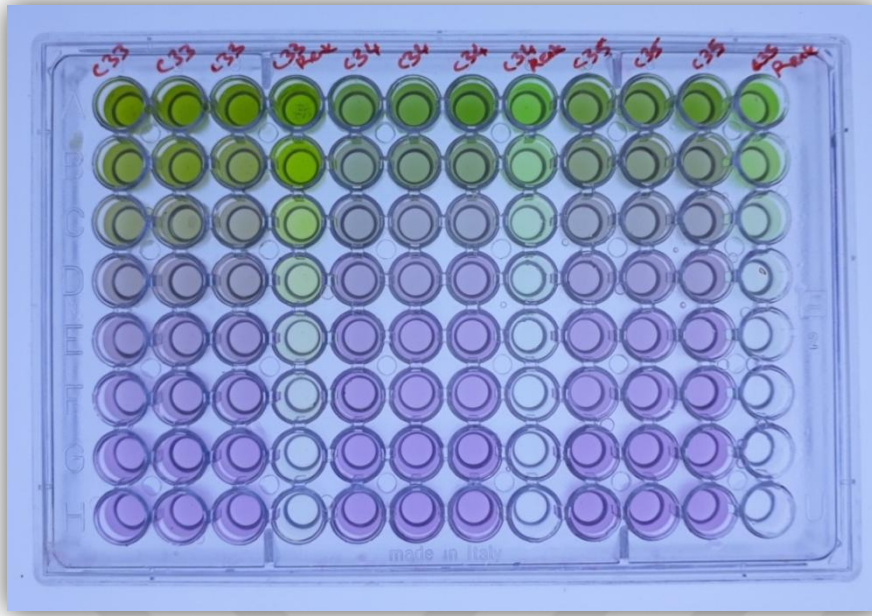


1)

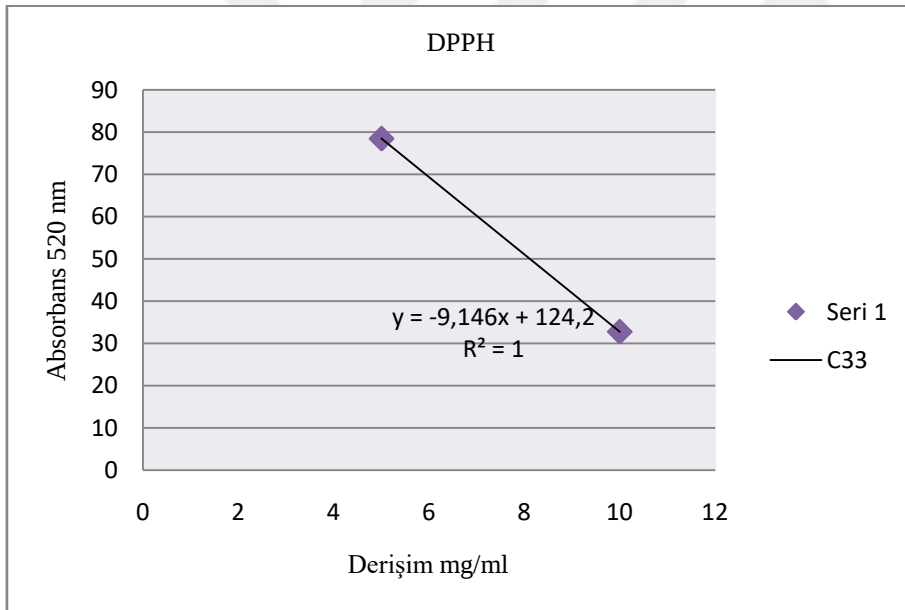


2)

Şekil 1.51. C8 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi; 1,2



1)



2)

Şekil 1.52. C33 kodlu siyanobakteri ekstraktının DPPH radikalleri sönmleme aktivitesi;
1,2

Çizelge 1.19. Tüm siyanobakteri ekstraktlarının DPPH radikalleri sönümleme aktiviteleri

Cerneke Gölü'nden izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının DPPH radikalleri sönümleme aktiviteleri	
Siyanobakteri ekstraktları	DPPH radikalleri sönümleme aktiviteleri IC ₅₀ (mg/ml)
C4	Hesaplanamadı
C5	9,167493±0,337196
C6	Hesaplanamadı
C7	Hesaplanamadı
C8	7,455425±0,954357
C15	Hesaplanamadı
C17	Hesaplanamadı
C21	9,960728±1,451662
C22	Hesaplanamadı
C23	12,19609±0,597308
C27	Hesaplanamadı
C29	Hesaplanamadı
C30	Hesaplanamadı
C31	Hesaplanamadı
C32	9,713416±3,653392
C33	8,112836±1,186652
C34	Hesaplanamadı
C35	Hesaplanamadı
C37	5,94341±0,199735
C42	9,963293±0,759989
C43	13,39376±2,465632
C45	Hesaplanamadı
C47	Hesaplanamadı
C48	17,08958±0,948226
C51	Hesaplanamadı
C52	6,33284±1,029127
GA (gallik asit)	0,031

Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının DPPH radikalleri sönümleme aktivitelerini belirlemek amacıyla IC_{50} (%50 inhibisyona ulaşmak için gerekli antioksidan derişimi) değerleri tespit edilmiştir. Elde edilen verilere bakıldığında bazı siyanobakteri ekstraktları yüksek antioksidan etkiye sahipken, bazı siyanobakteri ekstraktlarının önemli antioksidan etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 1.12). Buradan yola çıkarak C5 kodlu ekstraktın IC_{50} değerinin $9,167493 \pm 0,337196$ mg/ml olduğu belirlenirken, C8 kodlu ekstraktın $7,455425 \pm 0,954357$ mg/ml olarak tespit edilmiştir. Buna karşılık C21 kodlu ekstraktın $9,960728 \pm 1,451662$ mg/ml olduğu saptanmıştır. Bunun yanında C32 kodlu ekstraktın $9,713416 \pm 3,653392$ mg/ml olduğu, C33 kodlu ekstraktın $8,112836 \pm 1,186652$ mg/ml olduğu ve C42 kodlu ekstraktın $9,963293 \pm 0,759989$ mg/ml olduğu görülmüştür. Buna karşılık C23, C43, C48 kodlu ekstraktların sırasıyla $12,19609 \pm 0,597308$ mg/ml, $13,39376 \pm 2,465632$ mg/ml, $17,08958 \pm 0,948226$ mg/ml IC_{50} değerleri ile en yüksek IC_{50} değerlerini gösteren ekstraktlar olduğu, dolayısı ile en düşük antioksidan etkiye sahip olan ekstraktların bunlar olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak C37 kodlu ekstraktın IC_{50} değerinin $5,94341 \pm 0,199735$ mg/ml olduğu, C52 kodlu ekstraktın IC_{50} değerlerinin ise $6,33284 \pm 1,029127$ mg/ml olduğu, dolayısı ile en yüksek antioksidan etkiye sahip türlerin bunlar olduğu tespit edilmiştir. C4, C6, C7, C15, C17, C22, C27, C29, C30, C31, C34, C35, C45, C47, C51 kodlu ekstraktların ise çalışılan konsantrasyonda IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır. DPPH radikalleri sönümleme aktivitelerinden elde edilen verilere bakıldığında en yüksek antioksidan aktivite ($IC_{50}=5,94341 \pm 0,199735$ mg/ml) C37 kodlu siyanobakteri ekstraktında gözlenmiştir. Yine en düşük antioksidan aktivite ($IC_{50}=17,08958 \pm 0,948226$ mg/ml) C48 kodlu siyanobakteri ekstraktında tespit edilmiştir. Bunun yanında, güçlü bir antioksidan madde olan gallik asit ile bizim yaptığımız DPPH radikalleri sönümleme aktivitesini çalışmalarında gallik asitin IC_{50} değerinin $0,031$ mg/ml olduğu tespit edilmiştir. Dolayısı ile bizim yaptığımız çalışmada en yüksek antioksidan etki gösterdiği belirlenen C37 kodlu siyanobakteri ekstraktın ($IC_{50}=5,94341 \pm 0,199735$ mg/ml), onu takiben C52 kodlu siyanobakteri ekstraktının ($IC_{50}=6,33284 \pm 1,029127$ mg/ml) antioksidan aktivitesinin, gallik asitin antioksidan aktivitesinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Cernek Gölü'ndeki siyanobakteri türlerinin antioksidan aktiviteleri ile ilgili daha önce yapılan bir çalışma bulunmamasına rağmen siyanobakterilerin antioksidan aktiviteleri ile ilgili yapılan başka çalışmalar mevcuttur.

Buna örnek olarak, Hossain ve arkadaşları 2016'da DPPH radikalleri sönümlleme yönteminden yararlanarak *Oscillatoria* sp., *Lyngbya* sp., *Microcystis* sp. ve *Spirulina* sp.'nin antioksidan aktivitesini belirlemiştir. Araştırmacılar en yüksek antioksidan aktiviteyi *Oscillatoria* sp. ($IC_{50}=465,31\pm25,76$ mg/ml), onu takiben *Lyngbya* sp. ($IC_{50}=248,39\pm11,97$ mg/ml)' nin gösterdiği belirlemiştir. Hossain ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Oscillatoria* sp.'nin önemli antioksidan etki gösterdiğini ve bunun fikosiyaninden kaynaklı olabileceğini bildirmiştir. Buradan yola çıkarak *Oscillatoria* sp.'nin doğal bir antioksidan besin olabileceğini belirtmiştir. Buna ek olarak *Oscillatoria* sp. ve *Lyngbya* sp.' nin eczacılık, beslenme ve diğer endüstriler için iyi bir kaynak olabileceğini öngörmüştür. Bunun yanında bizim yaptığımız çalışmada en düşük IC_{50} değerlerine sahip olduğu belirlenen C37 ve C52 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının, Hossain ve arkadaşlarının 2016'da *Oscillatoria* sp. ve *Lyngbya* sp. türleri ile yapmış olduğu çalışmada elde ettiği IC_{50} değerlerinden daha düşük IC_{50} değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Dolayısı ile C37 ve C52 kodlu ekstraktların yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yine Hossain ve arkadaşlarının görüşlerinden yola çıkarak C37 ve C52 kodlu ekstraktların doğal bir antioksidan besin olabileceği, bunun yanında eczacılık, beslenme ve diğer endüstriler için iyi bir kaynak olabileceğini belirlenmiştir. Buna ek olarak ticari alanda da değerlendirilebilir olduğu öngörülmüştür.

Bunun yanında Emiraoğlu ve Öztürk 2018'de yapmış olduğu çalışmada, DPPH radikalleri sönümlleme aktivitesinin en yüksek *Oscillatoria* sp. N38 ($IC_{50}=10,27$ mg/ml) izolatında; en düşük *Oscillatoria* sp. N46 ($IC_{50}=675,5$ mg/ml) izolatında olduğunu saptamıştır. DPPH radikalleri sönümlleme aktivitesi en yüksek olan izolat *Oscillatoria* sp. N38 'in aynı zamanda mikrosistin içerdiğini de belirtmiştir. Toksin içeren izolatların DPPH radikalini sönümlleme aktivitelerine bakıldığında, DPPH radikalleri sönümlleme aktivitelerinin sırasıyla *Oscillatoria* sp. N38>*Oscillatoria* sp. N71>*Oscillatoria* sp. N82>*Leptolyngbya* sp. N2>*Oscillatoria* sp. N53 izolatları olduğu görülmektedir.

Buna karşılık Aydaş, Öztürk ve Aslım 2013 yılında yapmış olduğu bir çalışmada DPPH radikalleri sönümlleme aktivitesine bakılmış ve en düşük aktivitenin *Leptolyngbya* sp. BASO704 türünde ($IC_{50}= 212,04$ mg/ml) olduğunu tespit etmiştir.

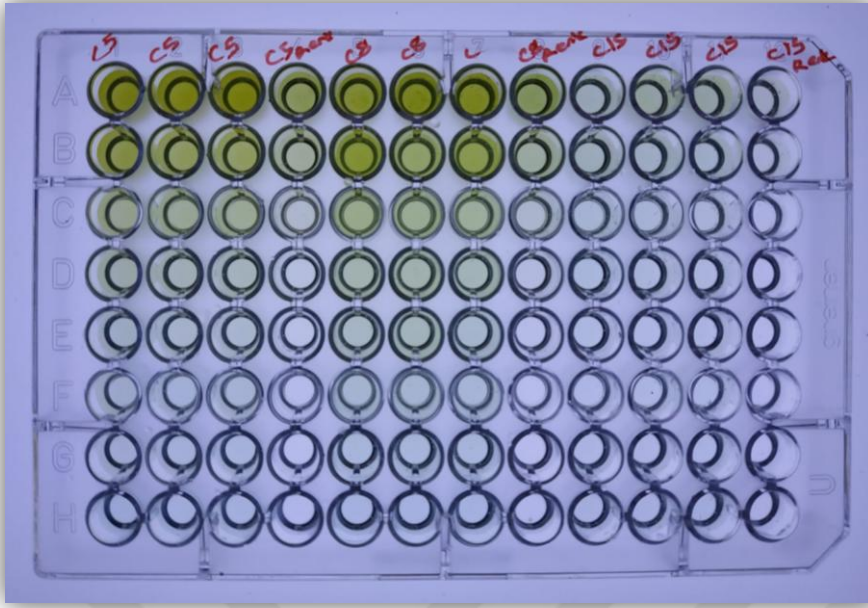
Yine Jerez-Martel ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı bir çalışmada *Nostoc* sp., *Leptolyngbya protospira*, *Nodularia spumigena* ve *Phormidiochaete* sp. türlerinin BHA ve BHT standartlarının solüsyonlarına göre yüksek konsantrasyonlarının DPPH radikalleri sönümleme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Konsantrasyon oranı arttıkça DPPH radikali sönümleme etkisinin doğru orantılı bir şekilde artış gösterdiği bildirmiştir.

Bunun yanında Erbaykent ve arkadaşlarının 2012’de yapmış olduğu çalışmada *Oscillatoria amphibia* (Acıgöl/Denizli) antioksidan etkileri, *Spirulina platensis*’in ham ekstrakt ve fikosiyanini ile karşılaştırılmıştır. Ham ekstrakt ve C-fikosiyaninlerin antioksidan etkileri DPPH radikalleri sönümleme aktivite testlerinde en yüksek değerler *Oscillatoria amphibia* ekstraktları için bulunmuştur.

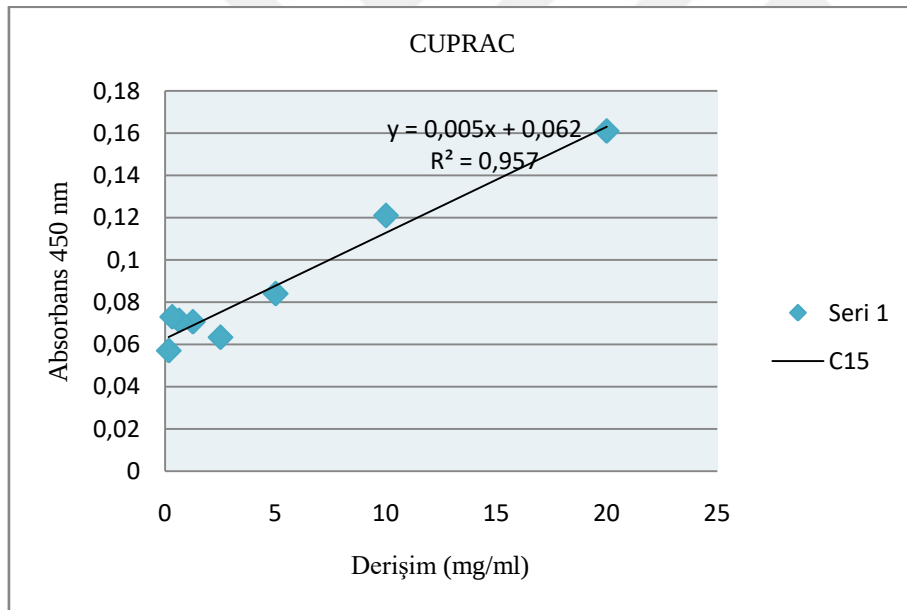
Buna ek olarak Shalaby ve Shanab 2013’de yapmış olduğu çalışmada DPPH yöntemini kullanarak *Spirulina platensis*’in su ve metanollü ekstraktlarının antioksidan aktivitesini belirlemiştir. Kullanılan *Spirulina platensis* örneğinin metanollü ekstraktının toplam fenolik içeriği %1,23 olarak bulunmuştur. Aynı örneğin metanollü ekstraktının 200 µg/ml konsantrasyonda DPPH yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite değerinin %89,61 olduğunu saptamıştır.

3.5.2. Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi

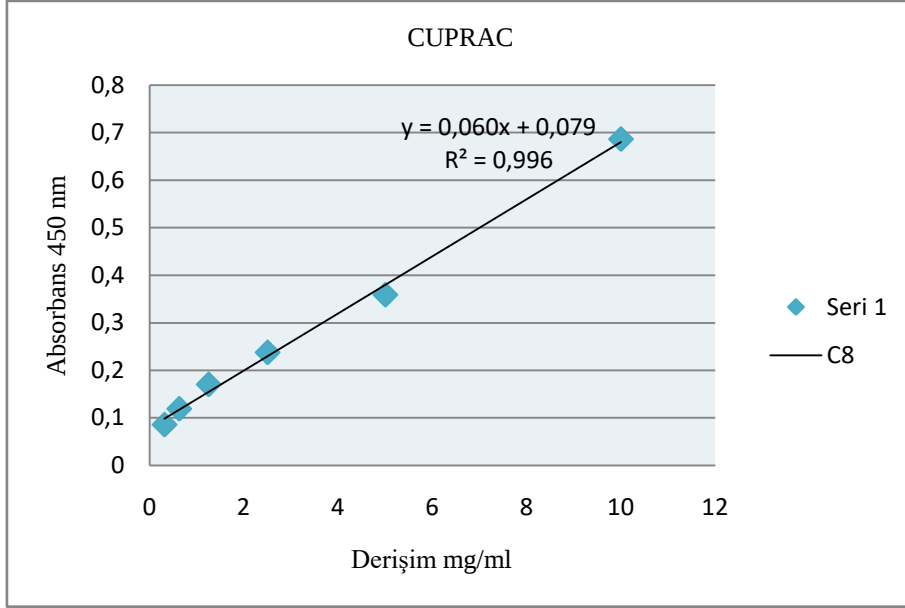
Siyanobakterilerin ekstraktlarının antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla yararlanılan bir diğer metot Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasite yöntemidir (Tütem ve Apak, 1991). Bu yöntemde siyanobakteri ekstraktlarının her birinin 1 gramının galik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeyici kapasiteleri belirlenmiştir. Bazı siyanobakteri ekstraktlarının Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasiteleri aşağıdaki şekillerde yer almaktadır (Şekil 1.53-1.54-1.55)



1)

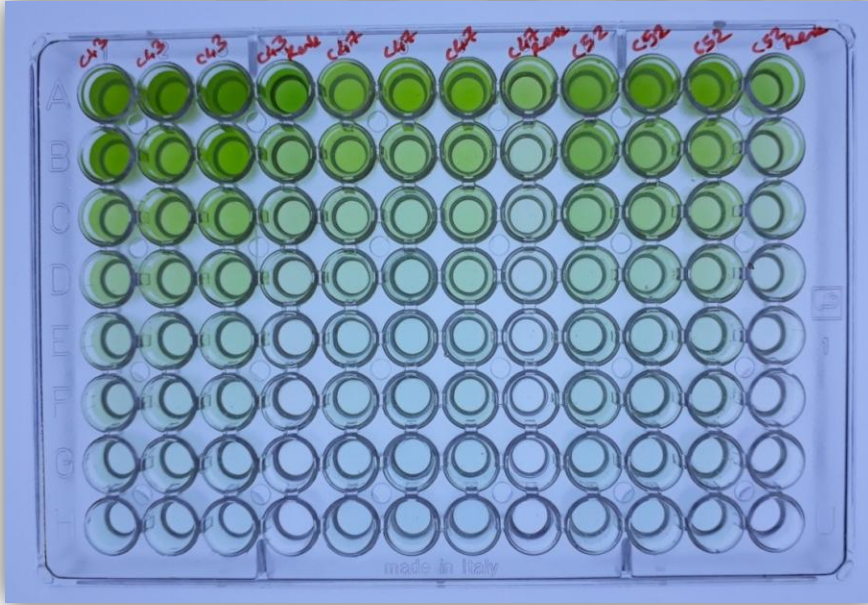


2)

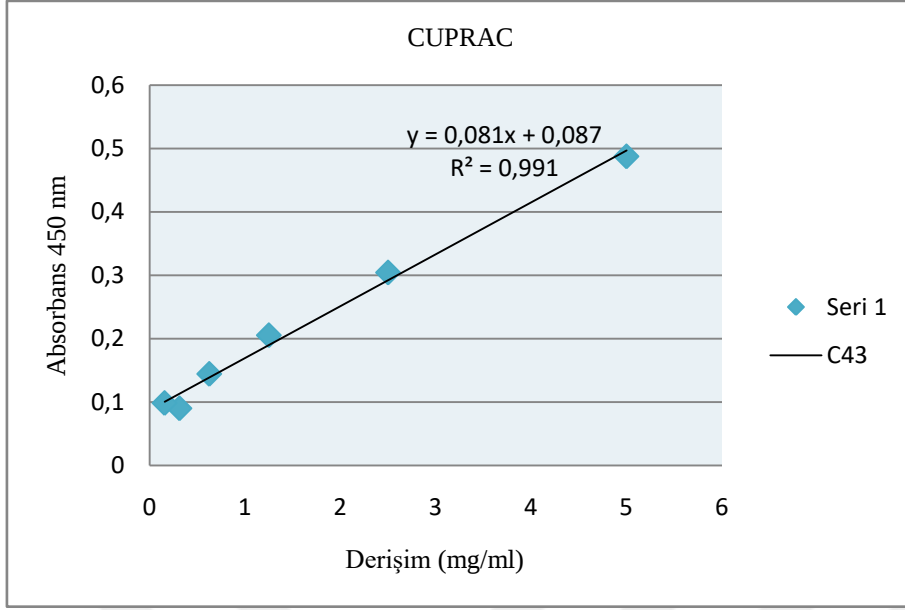


3)

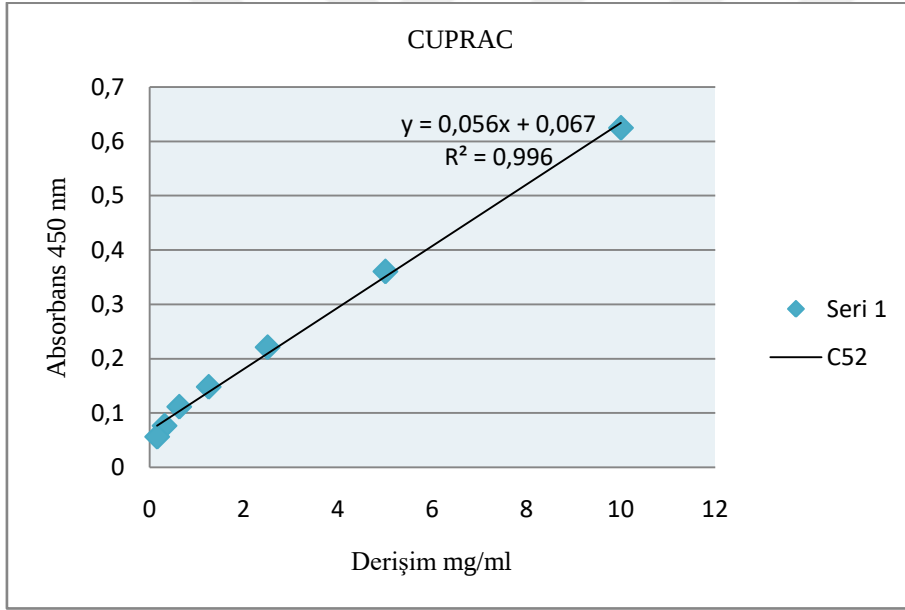
Şekil 1.53. C15 ve C8 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi;1,2,3



1)

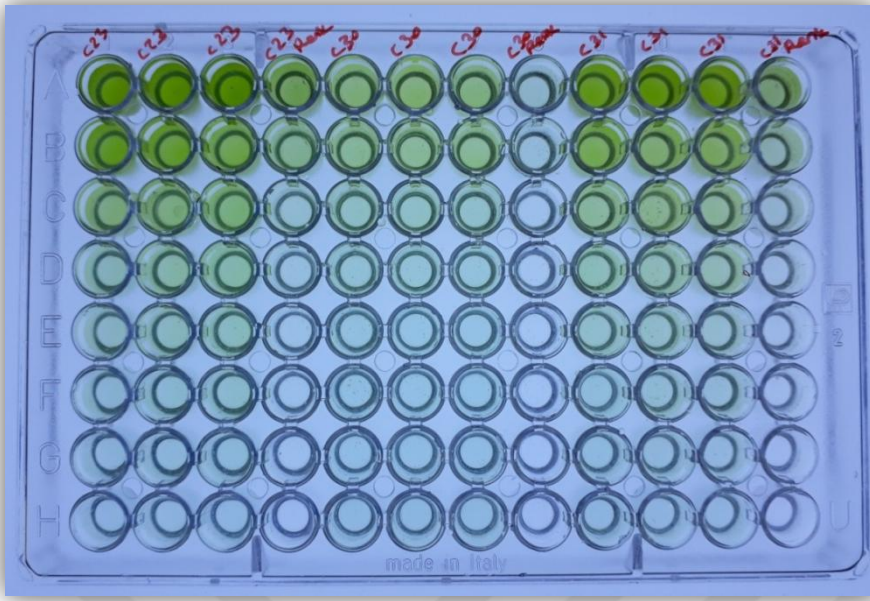


2)

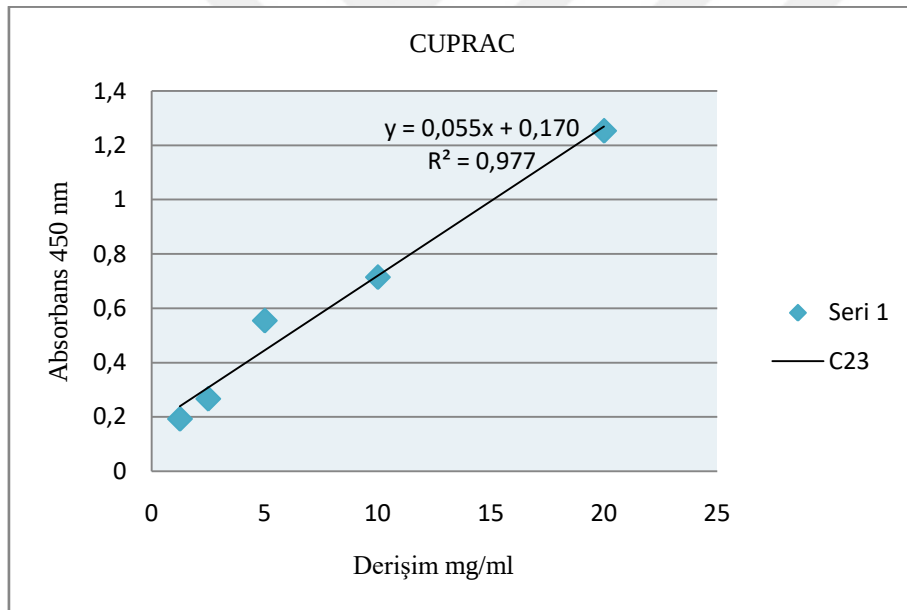


3)

Şekil 1.54. C43 ve C52 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi;1, 2,3



1)



2)

Şekil 1.55. C23 kodlu siyanobakteri ekstraktının bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi;1, 2

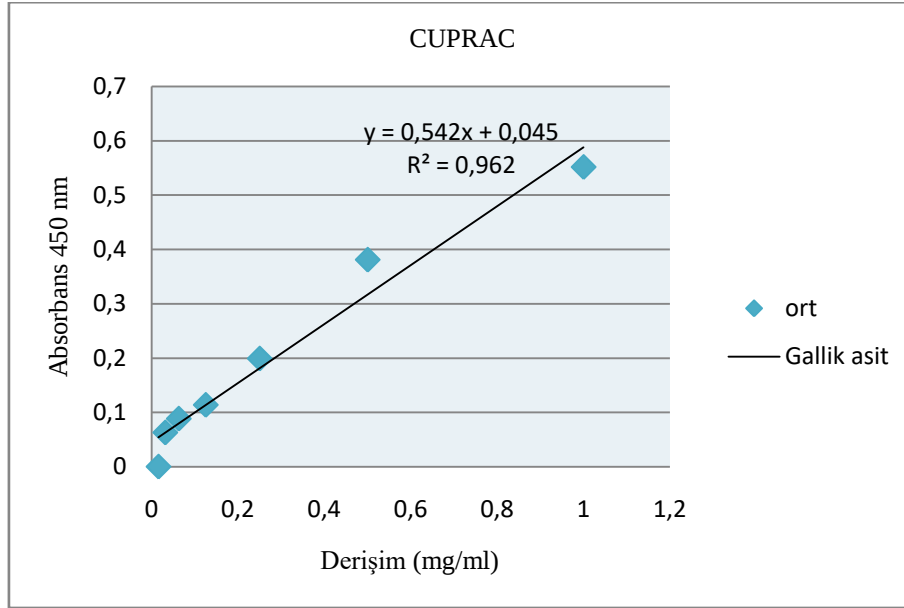
Çizelge 1.20. Tüm siyanobakteri ekstraktlarının Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasiteleri

Cerneke Gölü'nden izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının Bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasiteleri	
Siyanobakteri türleri	1 g ekstraktın gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır indirgeme gücü
C4	90,4059±0,662912
C5	59,04059±0,367717
C6	90,4059±0,644563
C7	66,42066±0,198132
C8	110,7011±1,535789
C15	9,225092±0,119062
C17	66,42066±0,649619
C21	51,66052±0,594396
C22	33,21033±0,357187
C23	101,476±0,066044
C27	68,26568±0,955357
C29	73,80074±0,389323
C30	27,67528±0,174736
C31	79,33579±0,198132
C32	75,64576±0,695816
C33	35,05535±0,514762
C34	60,88561±0,087368
C35	60,88561±0,549595
C37	97,78598±1,030052
C42	57,19557±0,468167
C43	149,4465±0,693462
C45	35,05535±0,099066
C47	62,73063±0,198132
C48	47,97048±0,262104
C51	44,28044±0,171587
C52	103,321±0,264176

Cerneke Gölü'nden izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının her birinin 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücü belirlenmiştir.

Elde edilen verilere bakıldığında bazı siyanobakteri ekstraktlarının yüksek antioksidan etki gösterdiği, buna bağlı olarak bazılarının ise önemli ölçüde antioksidan etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Çizelge 1.13'deki verilerden yola çıkarak C4 kodlu ekstraktın 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücü $90,4059 \pm 0,662912$ olarak tespit edilmiştir. Yine C5 kodlu ekstraktın $59,04059 \pm 0,367717$ olduğu belirlenirken, C6 kodlu ekstraktın $90,4059 \pm 0,644563$ olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık C7 kodlu ekstraktın $66,42066 \pm 0,198132$ olduğu, C17 kodlu ekstraktın $66,42066 \pm 0,649619$ olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık C43, C8, C52 kodlu ekstraktların 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücünün sırası ile $149,4465 \pm 0,693462$, $110,7011 \pm 1,535789$, $103,321 \pm 0,264176$ olduğunun tespit edilmiştir. Dolayısı ile en yüksek antioksidan etkiye sahip türlerin bunlar olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte C15 kodlu ekstraktın 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücünün $9,225092 \pm 0,119062$ olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuca göre en düşük antioksidan etkiye sahip türün bu tür olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında C21 kodlu ekstraktın 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücünün $51,66052 \pm 0,594396$ olduğu, C22 kodlu ekstraktın $33,21033 \pm 0,357187$ olduğu, yine C23 kodlu ekstraktın $101,476 \pm 0,066044$ olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık C27 kodlu ekstraktın $68,26568 \pm 0,955357$ olduğu belirlenirken, C29 kodlu ekstraktın ise $73,80074 \pm 0,389323$ olduğu saptanmıştır. Yine C30 kodlu ekstraktın $27,67528 \pm 0,174736$ olduğu C31 kodlu ekstraktın ise $79,33579 \pm 0,198132$ olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında C32 kodlu ekstraktın $75,64576 \pm 0,695816$ olduğu belirlenirken, C33 kodlu ekstraktın $35,05535 \pm 0,514762$ olduğu, yine C34 kodlu ekstraktın ise $60,88561 \pm 0,087368$ olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık C35 kodlu ekstraktın $60,88561 \pm 0,549595$ olduğu, C37 kodlu ekstraktın ise $97,78598 \pm 1,030052$ olduğu belirlenmiştir. Yine C42 kodlu ekstraktın $57,19557 \pm 0,468167$ olduğu, C45 kodlu ekstraktın $35,05535 \pm 0,099066$ olduğu, C47 kodlu ekstraktın $62,73063 \pm 0,198132$ olduğu saptanmıştır. Buna ek olarak C48 kodlu ekstraktın $47,97048 \pm 0,262104$ olduğu görülmüştür. Ayrıca C51 kodlu ekstraktın $44,28044 \pm 0,171587$ olduğu belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilere göre en yüksek antioksidan aktivite C43 kodlu siyanobakteri ekstraktında tespit edilmiştir ($149,4465 \pm 0,693462$). Dolayısı ile C43 kodlu siyanobakteri ekstraktının doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği öngörülmektedir. Yine en düşük antioksidan aktivitenin C15 kodlu siyanobakteri ekstraktında olduğu belirlenmiştir ($9,225092 \pm 0,119062$).

Bunun yanında, yaptığımız çalışma ile güçlü bir antioksidan madde olduğu bilinen gallik asitin bakır (II) antioksidan indirgeyici kapasite çalışmalarında elde edilen grafiğin eğimi 0,542 olarak belirlenmiştir (Şekil 1.56). Buradan yola çıkılarak Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakteri ekstraktlarının her birinin 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücü ifade edilmiştir.



Şekil 1.56. Gallik asitin bakır (II) indirgeyici antioksidan kapasitesi

Akın Kılıç 2020'de yapmış olduğu CUPRAC çalışmada metanol-su ekstraktlarının absorbans değerlerini belirleyerek antioksidan aktivitelerini tespit etmiştir. Elde edilen verilere bakıldığında pazı pancarı ($0,878 \pm 0,0239$) ve pancar ($0,754 \pm 0,022$) bitkilerinin en yüksek antioksidan etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca dietil eterli ekstraktlarda absorbans değerleri belirlenerek, antioksidan etki tespit edilmiştir. Buradan yola çıkarak melocan ($0,722 \pm 0,049$), pancar çiçeği ($0,697 \pm 0,073$) ve hoşuranda ($0,6895 \pm 0,094$) bitkilerinin yüksek antioksidan etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yine bu çalışmadan yola çıkarak pazı pancarı bitkisi apolar çözücü olan dietil eterli ekstraktlarda $0,0643 \pm 0,045$ absorbans verirken, polar çözücü olan metanol-su'da $0,878 \pm 0,023$ absorbans değerini göstermiştir.

Bunun yanında Karlığa 2020’de yapmış olduğu çalışmada *Spirulina platensis*’de antioksidan aktiviteyi belirlemek için CUPRAC yönteminden yararlanmıştır. Buradan yola çıkarak, Ham (normal koşullarda elde edilmiş) *S. platensis*’de toplam antioksidan kapasiteyi $864,5 \pm 27,3$ mg TE/100 g olarak belirlerken, *S. platensis*’den elde edilen biyoaktif peptitlerin toplam antioksidan kapasitesini $3114,2 \pm 80,0$ mg TE/100 g olarak tespit etmiştir. Bunun yanında selenyumca zenginleştirilmiş *S. platensis*’de toplam antioksidan kapasiteyi $1168,9 \pm 61,4$ mg TE/100 g olarak belirlerken, selenyumca zenginleştirilmiş *S. platensis*’den elde edilen biyoaktif peptitlerin toplam antioksidan kapasitesinin $2576,3 \pm 172,8$ mg TE/100 g olduğunu saptamıştır.

Yine Gültekin ve Özyiğitoğlu 2018’de yapmış olduğu çalışmada dalsı liken *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf türüne ait örneklerden elde edilen aseton ekstraktının antioksidan kapasiteleri CUPRAC yöntemini kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen CUPRAC sonuçlara göre ($9,653 \pm 0,102$ µg TE/gr) iyi düzeyde aktivite gösterdiğini saptamıştır. Buradan yola çıkarak *P. furfuracea* liken türünün farmakoloji alanında doğal kaynak olarak kullanılabileceği öngörmüştür.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Bafra Balık Gölleri Ramsar Alanı'nın en büyük gölü olan Cernek Gölü'nde yapılmıştır. Cernek Gölü'nden siyanobakteri izolasyonu yapılarak, izole edilen türlerin DNA dizi analizleri yapılmıştır. Ayrıca izole edilen siyanobakterilerin ekstraktlarından biyolojik aktivite çalışmaları (antimikrobiyal ve antioksidan) yapılmıştır.

Cernek Gölü'nden alınan örnekler optimum sıcaklık ve ışık ortamında geliştirilerek saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saflaştırma işlemi sonucunda elde edilen türlerin mikroskopik incelemelerinde 26 farklı siyanobakteri türü olduğu görülmüştür. Elde edilen izolatlar arasında siyanobakterilerin filamentli ve tek hücreli formlarına rastlanmıştır. Bu izolatlar arasında filamentli özellikteki siyanobakterilerin tek hücreli siyanobakterilere oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen filamentli türlerde akinet, heterosist, hormogonium gibi özelleşmiş yapıların da bulunduğu belirlenmiştir. Heterosist azot fiksasyonunda görev aldığından, heterosis bulunduran siyanobakteriler buradaki azot fiksasyonu için önemlidir. Ayrıca izole edilen siyanobakterilerin kahverengi ve yeşil renge sahip olduğunun da tespiti yapılmıştır.

Çalışmada, morfolojik tanımlama sonucu 26 adet izolat (C4, C5, C6, C7, C8, C15, C17, C21, C22, C23, C27, C29, C30, C31, C32, C33, C34, C35, C37, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52) tespit edilmiştir. Bunun yanında Cernek Gölü'ne ait olan örnekler moleküler karakterizasyon sonucu elde edilen ARDRA profilleri grup 1, grup 2, grup 3, grup 4, grup 5, grup 6, grup 7, grup 8 ve grup 9 içerisinde toplanmıştır. Grup1'in 11 üye (C4, C5, C22, C23, C42, C43, C45, C47, C48, C51, C52) sayısı ile en fazla sayıda üye içeren grup olduğu görülmüştür. Bunun yanında grup 2'nin 5 üye (C6, C7, C29, C34, C35) sayısına sahip olduğu görülmüştür. Yine grup 3'ün 1 üye (C8) sayısına sahip olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca grup 4'ün 2 üye sayısına (C15, C33) sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak grup 5'in 3 üye sayısına (C17, C21, C27) sahip olduğu saptanmıştır. Grup 6'nın C30, grup 7'nin C31, grup 8'in C32 ve grup 9'un C37 kodlu izolat olmak üzere birer üyeye sahip olduğu görülmüştür. Farklı olan 9 adet siyanobakteri türünün (C7, C8, C15, C21, C30, C31, C32, C37, C42) analizi yapılmıştır.

Her bir gruba ait olan temsili 1 ya da 2 izolat seçilerek bu izolatın, 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ürününün (yaklaşık 2000-2500 bp) kısmi DNA dizi analizi yapılmıştır. Farklı ARDRA profiline sahip olduğunun tespiti yapılan izolatların 16S rRNA + ITS + 5' 23S rRNA gen bölgesi amplifikasyon ürününün kısmi DNA dizi analizi yapılarak sonuçları BLAST algorithm ile analiz edilmiştir (Thornton, 2019). The BioEdit software programı otomatize Clustal W alignment temeline bağlı olarak sekans alignment için kullanılmıştır (Hall, 2007).

İzolatların en çok ARDRA grup 1'e ait olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçları % olarak değerlendirecek olursak, Cernek Gölü'ne ait izolatların %42,3'ünün grup 1'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnothrix planktonica* türüne ait olduğu görülmüştür. Yine izolatların %19,2'sinin grup 2'ye ait olduğu ve BLAST sonucunun *Leptolyngbya* sp. türüne ait olduğu, %3,8'inin grup 3'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnothrix planktonica* türüne ait olduğu saptanmıştır. Buna ek olarak izolatların %7,6'sının grup 4'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnothrix* sp. türüne ait olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında %11,5'inin grup 5'e ait olduğu ve BLAST sonucunun *Limnothrix* sp. türüne ait olduğu saptanmıştır. Ayrıca %3,8'inin grup 6'ya ait olduğu ve BLAST sonucunun Uncultured cyanobacterium türüne karşılık geldiği tespit edilmiştir. Buna ek olarak %3,8'inin grup 7'ye ait olduğu ve BLAST sonucunun *Spirulina subsala* türüne ait olduğu saptanmıştır. Ayrıca %3,8'inin grup 8'e ait olduğu belirlenmiş fakat PZR ürünü elde edilemediğinden identifikasyonu yapılamamıştır. İzolatların %3,8'inin ise grup 9'a ait olduğu ve BLAST sonucunun *Leptolyngbya compacta* türüne ait olduğu belirlenmiştir. DNA dizi analiz sonuçlarına göre Cernek Gölü'nden *Limnothrix* sp., *Jaaginema* sp., Uncultured cyanobacterial clone, *Spirulina subsala*, *Leptolyngbya compacta*, *Limnothrix planktonica* clone türüne ait izolatlar elde edilmiştir. Cernek Gölü'nde daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen siyanobakteri türlerinin bazıları, bizim yaptığımız çalışmada da (morfolojik tanımlama ve moleküler karakterizasyon) tespit edilmiştir.

Ayrıca izolatların 16S rRNA gen tabanında birbirleri ile olan evrimsel ilişki ele alınmıştır. Ağacın istatistiksel güvenilirliği incelendiğinde "bootstrap" değerlerinin genel olarak %50'nin üzerinde olduğu ve bu nedenle güvenilir bir ağaç topolojisi elde edildiği anlaşılmıştır.

Bu sonuçlara göre, BLAST ile elde edilen sonuçlar ağacın topolojisini desteklemektedir. Elde edilen sonuçlar Cernek Gölü'nde bulunan siyanobakteri çeşitliliği açısından önemlidir.

Cernek Gölü su örneğinde yapılan ICP-OES analiz verilerine bakıldığında sudaki Na^{+2} , Ca^{+2} , K^{+} , ve Mg^{+2} değerlerinin daha önce yapılan çalışmalara göre önemli ölçüde artmadığı saptanmıştır. Su kalitesi parametrelerinde belirgin bir farklılık görülmemesi suyun kimyasal yapısında önemli değişimlere neden olan etkenlerin olmadığının göstergesidir. Bunun yanında Cernek Gölü su örneğinden yapılan ICP-OES analiz verilerine göre sudaki Na^{+2} değerinin arttığı görülmüştür. Bu durumun nedeninin zirai faaliyetlerde kullanılan kimyasal gübrelerden alana giren azot ve fosfor bileşikler olduğu düşünülmektedir (Yeniyurt ve diğerleri, 2008). Sudaki azot ve fosfor bileşiklerinin aşırı artması ötrofikasyona sebep olmaktadır. Bu da suda yaşayan canlıları olumsuz etkilemekle birlikte, suyu içme suyu olarak da kullanılamaz hale getirmektedir (Can ve Taş, 2012). Yine Mg^{+2} değerinin de arttığı görülmüştür. Bunun yanında Cernek Gölü su örneğinin Fe^{+2} değeri ile ilgili daha önce yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca su sıcaklığı ve pH değerlerinde geçmiş yıllara göre önemli ölçüde değişmediği görülmüştür.

Bunun yanında Cernek Gölü'nden izole edilen siyanobakteri türlerinin antimikrobiyal özelliklerini belirlemek için tüp dilüsyon tekniği olan mikrodilüsyon yönteminden yararlanılmıştır. Mikrodilüsyon yapılarak siyanobakteri türlerinin ekstraktlarının MİK değerleri belirlenmiştir. MİK değerlerinden yola çıkılarak siyanobakteri türlerinin ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında Gram pozitif (+) bakterilerden *B. cereus*, *M. luteus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, Gram negatif (-) bakterilerden *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, mayalardan *C. albicans* ve *C. krusei* kullanılmıştır.

Tüm siyanobakterilerin ekstraktları arasında en yüksek antimikrobiyal etkiyi C8 ve C30 kodlu siyanobakteri ekstraktları göstermiştir. C8 kodlu siyanobakteri türünün en yüksek antimikrobiyal aktivitesi 0,09375 mg/ml MİK değeriyle *S. aureus*'a karşı göstermiştir. C8 kodlu siyanobakteri ekstraktının 1,5 mg/ml MİK değeriyle *S. typhimurium*, *K. pneumoniae* ve *E. coli* 'ye karşı düşük antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

C30 kodlu siyanobakteri ekstraktının mikroorganizmalar üzerine etkileri incelendiğinde en yüksek antimikrobiyal aktivitesi 0,09375 mg/ml MİK değeriyle *C. albicans*'a karşıdır. Bunun yanında *K. pneumoniae*'ye karşı önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (>3 mg/ml). Tüm siyanobakterilerin ekstraktları arasında C15 kodlu siyanobakteri ekstraktı en düşük antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. Nitekim C15 kodlu siyanobakteri ekstraktının 3 mg/ml MİK değeriyle mikroorganizmalar üzerinde (*B. cereus*, *M. luteus*, *B. subtilis* ve *E. coli*) önemli bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. C15 kodlu siyanobakteri ekstraktının en düşük antimikrobiyal aktivitesi 3 mg/ml'den büyük MİK değeriyle *S. aureus*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve *C. krusei*'ye karşıdır. Tüm siyanobakterileri ekstraktları, en düşük antimikrobiyal aktiviteyi ise *K. pneumoniae* üzerine göstermiştir.

Antimikrobiyal aktivite denemelerinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, tüm siyanobakteri ekstraktlarının Gram negatif bakterilere oranla Gram pozitif bakteriler üzerinde daha fazla etkili olduğu görülmüştür. Bunun nedeni Gram pozitif bakterilerin kalın bir peptidoglikan tabakası bulundurup, dış membran bulundurmamalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Gram negatif bakterilerde ise peptidoglikan tabakası çok ince olup, dış membran bulunmaktadır.

Antimikrobiyal aktiviteleri yüksek olan türlerin tespit edilmesi, günümüzde birçok alanda siyanobakteri türlerinin kaçınılmaz tercih sebeplerinden birini oluşturacaktır. Dolayısı ile bundan sonra yapılacak olan çalışmaların siyanobakteri türlerinde çok yönlü biyolojik aktivite çalışmalarına yönelik olacaktır.

Antioksidan aktivite çalışmalarında DPPH radikalleri sönmeme aktivitesi ve CUPRAC yönteminden yararlanılmıştır (Huang ve diğerleri, 2005; Tütem ve Apak, 1991). Tüm siyanobakteri ekstraktlarının DPPH radikallerini sönmeme sonuçları incelendiğinde C37 kodlu siyanobakteri ekstraktının en yüksek antioksidan aktiviteye ($IC_{50}=5,94341\pm0,199735$) sahip tür olduğu belirlenmiştir. En düşük antioksidan aktivitenin ise ($IC_{50}=17,08958\pm0,948226$) C48 kodlu siyanobakteri ekstraktında olduğu tespit edilmiştir. Yine C4, C6, C7, C15, C17, C22, C27, C29, C30, C31, C34, C35, C45, C47, C51 kodlu siyanobakteri ekstraktlarının çalışılan konsantrasyonlarda önemli bir antioksidan aktiviteye sahip olup olmadığı gözlenmiştir.

Cernek Gölü'nden izole edilen tüm siyanobakteri ekstraktlarının her birinin 1 gramının gallik asit eşdeğeri cinsinden bakır (II) indirgeme gücü incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite ($149,4465 \pm 0,693462$) C43 kodlu siyanobakteri ekstraktında görülmüştür. Bunun yanında en düşük antioksidan aktivitenin ($9,225092 \pm 0,119062$) C15 kodlu siyanobakteri ekstraktında olduğu belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak C37 ve C43 kodlu siyanobakteri türünün doğal bir antioksidan olarak kullanılabilme potansiyeli olduğu öngörülmektedir.

Siyanobakteri türlerinin antimikroyal ve antioksidan aktivitelerinden elde edilen sonuçlara bakıldığında yüksek antimikrobiyal ve antioksidan etkiye sahip türlerin bulunduğu ve bunların birçok alanda kullanılabilir olduğu belirlenmiştir. Buradan yola çıkılarak daha sonraki yıllarda yapılacak çalışmalarda, siyanobakterilerin araştırılmasına önem verilmesi daha uygun olacaktır. Siyanobakteri ekstraktlarının, kimyasal bileşenleri aydınlatılarak, etken maddenin izole edilip, fonksiyonel grupların ilave edilmesiyle, bu bileşenlerin aktivitelerinin nasıl olacağının araştırılması gelecek çalışmalara öncülük etmesi açısından önemli olacaktır. Ayrıca bu bileşenlerin hedeflerinin ve mekanizmalarının belirlenmesine de ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abelson, J.N. ve Simon, M.I. (1988), *Methods Enzymol.*, Academic Pres, San Diego, California.
- Adams, D. C., & Rohlf, F. J. (2000). Ecological character displacement in *Plethodon*: biomechanical differences found from a geometric morphometric study. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(8), 4106-4111.
- Akarca, G., & Baytal, F. (2021). Turunçgil Kabuk ve Yaprak Ekstraktlarının Gıda Kaynaklı Patojen Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Aktivitesi. *Akademik Gıda*, 19(4), 424-432.
- Akin Kiliç, H. (2020). *Giresun yöresinde yetişen bazı yöresel bitkilerin bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (CUPRAC) ve anti-tirozinaz enzim aktivitelerinin incelenmesi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Aşıkkutlu, B., Akköz, C., & Öztürk, B. Y. (2014). Çavuşçu Gölü'nün (Konya/Ilgın) bazı su kalite özellikleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, (39), 1-9.
- Aydaş, S. B., Ozturk, S., & Aslım, B. (2013). Phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activity and antioxidant properties of some cyanobacteria isolates. *Food chemistry*, 136(1), 164-169.
- Bariş, S., Erciyas, K., Gürsoy, A., Özsemir, C., & Nowakowski, J. (2005). Cernek-a new bird ringing station in Turkey. *The Ring*, 27(1), 113-120.
- Becker, E. M., Nissen, L. R., & Skibsted, L. H. (2004). Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 219(6), 561-571.
- Bekleyen, A., & Taş, B. (2008). Çernek Gölü'nün (Samsun) Zooplankton Faunası. *Ekoloji dergisi*, 17(67).
- Bhat, V. B., & Madyastha, K. M. (2001). Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA. *Biochemical and biophysical research communications*, 285(2), 262-266.
- Boone, D.R., Casstenholz, R.W. ve Garrity, G.M. (eds). (2001), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd. End. Springer. New York.
- Boussiba, S., & Richmond, A. E. (1980). C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology*, 125(1), 143-147.
- Boutte, C., Komárková, J., Grubisic, S., Znachor, P., Bataille, A., Zapomělová, E., ... & Wilmotte, A. (2005). A polyphasic approach to assess the cyanobacterial diversity of summer samples from Czech reservoirs. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 177-195.
- Böhme, H. (1998). Regulation of nitrogen fixation in heterocyst-forming cyanobacteria. *Trends in plant science*, 3(9), 346-351.

- Bryant, D. A. (Ed.). (2006). *The molecular biology of cyanobacteria* (Vol. 1). Springer Science & Business Media.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Calusinka, M. (2005). Diversity of mat-forming cyanobacteria from meltwaters on Livingstone Island, Antarctic Peninsula: A molecular and morphological approach, Master's Thesis, University of Liege, Belgium
- Can, Ö., & Taş, B. (2012). Ramsar Alanı İçinde Yer Alan Cernek Gölü ve Sulak Alanının (Kızılırmak Deltası, Samsun) Ekolojik ve Sosyo-Ekonomik Önemi. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 5(2), 1-11.
- Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, 7(5), 1393-1407.
- Castenholz, R. W., Wilmotte, A., Herdman, M., Rippka, R., Waterbury, J. B., Itean, I., & Hoffmann, L. (2001). Phylum BX. cyanobacteria. In *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (pp. 473-599). Springer, New York, NY.
- Charlebois, G. (2016). *Microcystin and Microcystis Destruction by Ozone in Drinking Water Treatment: Constraints and Effects* (Master's thesis, University of Waterloo). <https://cronodon.com/BioTech/Cyanobacteria.html>
- Codd, G. A. (2000). Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological engineering*, 16(1), 51-60.
- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Del Borghi, M. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), 1146-1151.
- Cüce, H., & Bakan, G. (2017). Sığ sularda nutrient seviyelerine sediman kalitesinin etkisinin konumsal olarak değerlendirilmesi: Cernek Gölü örneği. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 5(5), 546-555.
- Damerval, T., Guglielmi, G., Houmard, J., & De Marsac, N. T. (1991). Hormogonium differentiation in the cyanobacterium *Calothrix*: a photoregulated developmental process. *The Plant Cell*, 3(2), 191-201.
- Demirbas, A. (2010). Use of algae as biofuel sources. *Energy conversion and management*, 51(12), 2738-2749.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Japi*, 52(794804), 4.
- Dixon, R. A., Al-Nazawi, M., & Alderson, G. (2004). Permeabilising effects of sub-inhibitory concentrations of microcystin on the growth of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, 230(2), 167-170.
- Eken, G., Bozdoğan, M., Isfendiyaroglu, S., Kılıç, D. T., & Lise, Y. (2006). Key biodiversity areas of Turkey. *Doğa Derneği, Ankara*, 186-187.

- Eken, G., Bennun, L., Brooks, T. M., Darwall, W., Fishpool, L. D., Foster, M., ... & Tordoff, A. (2004). Key biodiversity areas as site conservation targets. *BioScience*, 54(12), 1110-1118.
- Emiraoğlu, N., & Öztürk, Ş. (2018). *Kızılırmak'tan izole edilen Siyanobakterlerin toksinlerinin belirlenerek biyoteknolojik açıdan öneminin araştırılması* (Master's thesis, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi).
- Erbaykent, B. T., Gurhan-Deliloglu, İ., & Dalay, M. C. (2012). A comparative study on antioxidant and cytotoxic effects of *Oscillatoria amphibia* and *Spirulina platensis* C-phycocyanin and crude extracts. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 29(1), 1-7.
- Eriksen, N. T. (2008). Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied microbiology and biotechnology*, 80(1), 1-14.
- Fay, P. (1992). Oxygen relations of nitrogen fixation in cyanobacteria. *Microbiological reviews*, 56(2), 340-373.
- Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. R., & Manual, B. S. (2005). Systematic bacteriology. *The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*, Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics, 2.
- Graham, L. E., Graham, J. M., & Wilcox, L. W. (2004). Bitki Biyolojisi (Plant Biology). *Çeviri Editörü: Işık, K., Palme Yayıncılık, Ankara.*
- Graham, L. E., Kodner, R. B., Fisher, M. M., Graham, J. M., Wilcox, L. W., Hackney, J. M., ... & Cook, M. E. (2004). The evolution of plant physiology. *Early land plant adaptations to terrestrial stress: a focus on phenolics*, 155-69.
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. AlgaeBase. 2016. *World-Wide Electronic Publication*. National University of Ireland, Galway< <http://www.algaebase.org>>(searched on 18 Sep, 2016).
- Güçlü, K., Sözgen, K., Tütem, E., Özyürek, M., & Apak, R. (2005). Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper (II)–neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals. *Talanta*, 65(5), 1226-1232.
- Gültekin, S., & Özyiğitoğlu, G. (2018). *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf liken türünün antibakteriyel aktivitesi ve antioksidan kapasitesinin araştırılması. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 30(2), 189-194.
- Gürsoy, S. (2007). *Bafra uzun göl ve cernek göl'ündeki bazı makrofit bitkilerde azot ve fosfor rezorbsiyonu* (Master's thesis, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Hall, T. (2007). BioEdit 7.0.5.3 Department of Microbiology, North Carolina State University.(online) available. <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/Bioedit.html>.
- Hermawan, A. (2019). *Keanekaragaman Plankton di sistem sungai bawah tanah Gua Temu Giring Tuban* (Doctoral dissertation, UIN Sunan Ampel Surabaya).
- Hossain, M. F., Ratnayake, R. R., Meerajini, K., & Wasantha Kumara, K. L. (2016). Antioxidant properties in some selected cyanobacteria isolated from fresh water bodies of Sri Lanka. *Food science & nutrition*, 4(5), 753-758.

- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- İşbakan, B., ve Gönüloğlu, A., (1977). *Cernek Gölü (Bafra-Samsun) Fikoplanktonu ve Mevsimsel Değişimi Üzerinde Bir Araştırma*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Jerez-Martel, I., García-Poza, S., Rodríguez-Martel, G., Rico, M., Afonso-Olivares, C., & Gómez-Pinchetti, J. L. (2017). Phenolic profile and antioxidant activity of crude extracts from microalgae and cyanobacteria strains. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*.
- Karlığa, E. S. (2020). *Spirulina platensis' ten elde edilen biyoaktif peptitlerin enkapsülasyonu ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- KDYP, Kızılırmak Deltası Yönetim Planı, 2008
- Keeton, W. T., Gould, J. L., & Gould, C. G. (2004). 'Kromozomların Bileşimi. WW Norton Company, New York, London, Palme Yayıncılık, Ankara.
- MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046-2056.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. (1995). *Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives*. CRC Press.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2003). Microbial growth. *Brock biology of microorganisms*, 137-166.
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613(1), 1-19.
- Meinesz, A., & Tarhan, E. (2010). *Yaşam nasıl başladı: evrimin üç kökeni*. ODTÜ Yayıncılık.
- Nagai, T., Myoda, T., & Nagashima, T. (2005). Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) Equisetum arvense L. *Food chemistry*, 91(3), 389-394.
- Okmen, G., & Turkcan, O. (2013). The antibacterial activity of Elaeagnus angustifolia L. against mastitis pathogens and antioxidant capacity of the leaf methanolic extracts.
- Özkul, K. (2008). *Uzungöl ve cernek gölü (Bafra, Samsun) yüzey tabakasından tek hücreli siyanobakterin izolasyonu ve karakterizasyonu üzerine araştırmalar* (Master's thesis, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Patterson, G. M., Larsen, L. K., & Moore, R. E. (1994). Bioactive natural products from blue-green algae. *Journal of Applied Phycology*, 6(2), 151-157.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.

- Rania, M. A., & Hala, M. T. (2008). Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by placket-burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global J. Biotechnol. Biochem*, 3(1), 22-31.
- Reddy, C. M., Bhat, V. B., Kiranmai, G., Reddy, M. N., Reddanna, P., & Madyastha, K. M. (2000). Selective inhibition of cyclooxygenase-2 by C-phycocyanin, a biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochemical and biophysical research communications*, 277(3), 599-603.
- Reynolds, C. S., Oliver, R. L., & Walsby, A. E. (1987). Cyanobacterial dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. *New Zealand journal of marine and freshwater research*, 21(3), 379-390.
- Rice-Evans, C., & Burdon, R. (1993). Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Progress in lipid research*, 32(1), 71-110.
- Sağlam, M., Karakaya, H., (2021). *Balık Gölü (19 Mayıs, Samsun) Siyanobakteri Komünitesinin Mevsimsel Biyoçeşitliliğinin Metagenomik Analizi*. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Samsun.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R., & Ghosh, A. K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3), 185-192.
- Sasa, A., Şentürk, F., Üstündağ, Y., & Erem, F. (2020). Alglerin gıda veya gıda bileşeni olarak kullanımı ve sağlık üzerine etkileri.
- Schelz, Z., Molnar, J., & Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmodic activities of essential oils. *Fitoterapia*, 77(4), 279-285.
- Serteser, A., & Gök, V. (2003). Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, 2-4.
- Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. (2013). Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*.
- Stal, L. J. (2012). Cyanobacterial mats and stromatolites. In *Ecology of cyanobacteria II* (pp. 65-125). Springer, Dordrecht.
- Şimşek, Ö., Canlı, K., & Çetin, B. (2011). Contributions to the Liverwort (Marchantiophyta) flora of Ilgaz Mountains (Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, 4(1), 7-10.
- Thornton, P. K. (2019). Livestock production: recent trends, future prospects–NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc>. Retrieved 30th July.
- Tanyolaç, J. (2009). Limnoloji (Tatlı Su Bilimi). *Hatipoğlu Yayınları*.
- Tas, B., & Gonulol, A. (2007). An ecologic and taxonomic study on phytoplankton of a shallow lake, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 28(2), 439.
- Taton, A., Grubisic, S., Brambilla, E., De Wit, R., & Wilmotte, A. (2003). Cyanobacterial diversity in natural and artificial microbial mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a morphological and molecular approach. *Applied and environmental microbiology*, 69(9), 5157-5169.

- Tütem, E., & Apak, R. (1991). Simultaneous spectrophotometric determination of cystine and cysteine in amino acid mixtures using copper (II)—neocuproin reagent. *Analytica chimica acta*, 255(1), 121-125.
- Tütem, E., Apak, R., Günaydı, E., & Sözgen, K. (1997). Spectrophotometric determination of vitamin E (α -tocopherol) using copper (II)-neocuproine reagent. *Talanta*, 44(2), 249-255.
- Uçarkuş, E., Gökalsın, B., Yıldırım, N., Açıkgöz, B., Özyiğitoğlu, G., & Sesal, N. C. (2017). Balıkesir Bölgesinden Toplanan Liken Örneklerine Ait Özütlelerin *Escherichia coli* ATCC 25922 Üzerindeki Antibakteriyel Etkinlikleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 47(1), 26-32.
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, Kirby-Bauer Disk Difüzyon Yöntemi. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/uamdss/06-AMD-TP-03-CLSI-KirbyBauer-disk-difuzyon-yontemi.pdf>, Erişim: 04.06.2018.
- Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, MİK Saptama Yöntemleri. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/uamdss/08-AMD-TP-04-MIK-saptamayontemleri.pdf>, Erişim: 04.06.2018.
- Walsby, A. (1994). Gas vesicles. *Microbiological reviews*, 58(1), 94-144.
- Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J., & Hu, Q. (2007). Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food chemistry*, 105(1), 36-41.
- Ward, DM, Castenholz, RW ve Miller, SR (2012). Jeotermal habitatlarda siyanobakteriler. *Siyanobakterilerin Ekolojisi II* (s. 39-63). Springer, Dordrecht.
- Whitton, B. A. (2000). Introduction to the cyanobacteria. *The Ecology of Cyanobacteria* (Whitton BA & Potts M, eds).
- Whitton, B. A., & Potts, M. (2012). Introduction to the cyanobacteria. In *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 1-13). Springer, Dordrecht.
- Yazıcı, C., & Kader, K. Ö. S. E. (2004). Melatonin: Karanlığın Antioksidan Gücü. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 56-66.
- Yeniyurt, C., Çağırıkaya, S., Lise, Y., & Ceran, Y. (2008). Kızılırmak deltası sulak alan yönetim planı 2008-2012. *Çevre ve Orman Bakanlığı Ankara (KDYP)*.
- Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı Habibe CENİKLİOĞLU

Eğitim Derecesi

Okul/Program

Mezuniyet Yılı

Lisans

Bayburt Üniversitesi

2018

Yüksek Lisans

Amasya Üniversitesi

2022

Bilimsel Faaliyetler

1-) Ceniklioğlu, H., İdil, Ö., (2020, 22-23 Ağustos). Cernek Gölü'ndeki Siyanobakterilerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. 8. Uluslararası Fen ve Mühendislik Bilimleri Araştırmaları Kongresi (UBAK), Çorum.