



ÇEŞİTLİ TATLI SU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI MİKROALGLERİN
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE ANTİ-ÇOĞUNLUK ALGILAMA
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Eda BOZKURT

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Mayıs - 2019

ÇEŞİTLİ TATLI SU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI MİKROALGLERİN
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE ANTİ-ÇOĞUNLUK ALGILAMA
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Eda BOZKURT

Kütahya Dumlupınar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Tuba İÇA

Mayıs-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

Eda BOZKURT'un YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "ÇEŞİTLİ TATLI SU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI MİKROALGLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE ANTI-ÇOĞUNLUK ALGILAMA AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ" başlıklı bu çalışma, jürimizce Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

13/05/2019

Prof. Dr. Önder UYSAL

Enstitü Müdürü, Fen Bilimleri Enstitüsü

Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Anabilim Dalı Başkanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Tuba İÇA (Danışman)

Danışman, Biyoloji Anabilim Dalı

Sınav Komitesi Üyeleri

Prof. Dr. Tuba İÇA

Biyoloji Bölümü, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi

Doç. Dr. Mete YILMAZ

Biyomühendislik Bölümü, Bursa Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Ferdağ ÇOLAK

Biyoloji Bölümü, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının %14 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Danışman Adı Soyadı

Prof. Dr. Tubo, i.Ç.A

İmzası



Öğrenci Adı Soyadı

Ede Bozkurt

İmzası



ÇEŞİTLİ TATLI SU ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI MİKROALGLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN VE ANTİ-ÇOĞUNLUK ALGILAMA AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Eda BOZKURT

Biyoloji, Yüksek Lisans Tezi, 2019

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Tuba İÇA

ÖZET

Bu çalışmada, Kütahya ilindeki çeşitli tatlı su kaynaklarından, katı atık ünitesinden ve mezbaha atık su çıkışından 60 adet su örneği toplanmıştır. Bu örneklerden yeşil alglerin (*Chlorophyta*) izolasyonu yapılmıştır. Saf olarak elde edilen 7 alg türü (B1, B6, B27, T14, T15, T16, K3) makroskobik, mikroskobik morfolojilerine göre incelenmiş ve moleküler karakterizasyonları yapılmıştır. Yedi alg türünün sekans verileri incelendiğinde 5 tür için tanı konulabilmektedir. B6, B27, T14, K3 türleri *Scenedesmus* sp., T16 ise *Stichococcus bacillaris* olarak tanımlanmıştır. İzolasyonu yapılan 7 alg türü uygun koşullarda sıvı besi ortamında çoğaltılarak etanol, metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida krusei* (ATCC 6258) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) türleri üzerine antimikrobiyal aktiviteleri, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Zon çaplarına göre alg türleri değerlendirildiğinde B1 ve T16 alglerinin etanol ekstraktlarının *S.aureus* türüne karşı oldukça etkili olduğu saptanmıştır. Metanol ekstratında *S. aureus* türüne karşı en iyi aktiviteyi T16 kodlu alg, kloroform ekstratında ise B1 kodlu alg göstermiştir. Bu sonuçlara göre yedi alg türünün gram pozitif bakterilere karşı etkinliği yüksek iken gram negatif bakterilere karşı etkinliği zayıf olarak saptanmıştır. Ayrıca *Chromobacterium violaceum* türü üzerine alg ekstraktlarının anti-çoğunluk algılama aktivitesi incelenmiş ve etkinliğin olmadığı kanısına varılmıştır. Bu çalışma kapsamında en iyi sonuç alınan T16 etanol ekstraktlarının hastane orijinli MRSA türleri üzerine olası antimikrobiyal etkinliği de araştırılmıştır. *S.aureus* üzerine etkili olan etanol ekstraktının MRSA türleri üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Antibiyogram, *Chromobacterium violaceum*, Metisilin Direçli *Staphylococcus aureus*, quorum sensing, yeşil algler.

DETECTION OF ANTIMICROBIAL AND ANTI-QUORUM SENSING ACTIVITY OF SOME MICROALGAE ISOLATED FROM VARIOUS FRESH WATER SAMPLES

Eda BOZKURT

Biology, M. S. Thesis, 2019

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Tuba İÇA

SUMMARY

In this study, a total of 60 water samplings were collected from different fresh water sources, solid waste unit and slaughterhouse waste water outlet in the province of Kütahya. Green algae (Chlorophyta) isolation was performed from these samplings. Seven algal species (B1, B6, B27, T14, T15, T16, K3) obtained in their pure form were studied based on their macroscopic, microscopic morphologies and later on their molecular characterization was performed. When the sequence data of the seven algal species were obtained, we will be able to diagnose five species. Although B6, B27, T14, K3 species were identified as *Scenedesmus* sp., and T16 as *Stichococcus bacillaris*, further phylogenetic studies are needed. The isolated seven algal species were grown in the appropriate liquid medium and the antimicrobial activities on *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida krusei* (ATCC 6258) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) species were determined by ethanol, methanol, chloroform and water extracts with disc diffusion method. When evaluating the algal species according to their zone diameter, ethanol extracts of B1 and T16 algae were found to be highly effective against *S.aureus* species. In the methanol extract, T16 coded algae presented the best activity against *S.aureus* species, while in the chloroform extract, B1 coded algae was the most efficient. According to these results, it was determined that the seven algal species have a high level of activity against gram positive bacteria while presenting a low level of activity against gram negative bacteria. In addition, quorum sensing activity detection of algal extracts on *C. violaceum* was studied and it was concluded that there was no activity. The antimicrobial activity of the T16 ethanol extracts with the best result on hospital-acquired MRSA was studied within the scope of this study. It was determined that the ethanol extract, active on *S.aureus*, has no effect on MRSA species.

Keywords: Antibioqram, *Choromobacterium violaceum*, green algae, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, quorum sensing.

TEŞEKKÜR

Çalışmam sırasında benden yardımlarını esirgemeyen, tez konumun seçiminden yapım aşamasına kadar desteğini hep hissettiğim sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Tuba İÇA ‘ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Deneyisel çalışmalarımda bana maddi ve manevi desteğini bir an olsun esirgemeyen değerli arkadaşlarım Özlem Saniye BAYRAKTAR, Nilay GÖREN, Ümran ZEREN, Sermin ÇEVİRGİN ve Mustafa AĞAÇ’ a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca bana hem maddi hem de manevi olarak destek veren sevgili aileme gönülden teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Alglerin Tarihçesi.....	2
1.2. Alglerin Sınıflandırılması	4
1.3. Alglerin Biyokimyasal Özellikleri.....	12
1.4. Alglerin Ekolojisi	14
1.4.1. Alglerin dağılımına etki eden ekolojik faktörler	15
1.5. Ekonomik Önemleri	15
1.6. Mikroalglerin Antimikrobiyal Önemi.....	17
1.6.1. Quorum sensing.....	20
1.6.2. Anti-quorum sensing	21
1.7. Alg Türlerinde Moleküler Tanı Yöntemleri	23
2. MATERYAL METOD	26
2.1. Metod	28
2.1.1. Su örneklerinin toplanması ve mikroalg türlerinin izolasyonu.....	28
2.1.2. Alglerin çoğaltılması	28
2.1.3. Alglerin kurutulması.....	29
2.1.4. Alg ekstratlarının hazırlanması	29
2.1.5. Alglerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi	29
2.1.6. Metisilin dirençli <i>S. aureus</i> türleri üzerine antimikrobiyal etkinin değerlendirilmesi	30
2.1.7. <i>C. violaceum</i> ' un anti-çoğunluk algılama (anti-QS) aktivitesinin belirlenmesi	30
2.1.8. Moleküler karakterizasyon	31
3. BULGULAR.....	32

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1. Alglerin Makroskopik ve Mikroskopik Bulguları	31
3.2. Alg Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkinliğinin Değerlendirilmesi	36
3.3. Metisilin Dirençli <i>S. aureus</i> Türleri Üzerine Antimikrobiyal Etkinin Değerlendirilmesi	41
3.4. Alg Ekstraktlarının <i>C. violaceum</i> Üzerine Anti-QS Aktivitesinin Belirlenmesi	41
3.5. Moleküler Karakterizasyon	42
4. TARTIŞMA SONUÇ	46
KAYNAKLAR DİZİNİ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Chapman ve Chapman, 1973 tarafından yapılan klasifikasyon	6
1.2. <i>Chromobacterium violaceum</i> tarafından üretilen N-asil-DL-homoserin laktonun (AHL) kimyasal yapısı	22
1.3. <i>C. violaceum</i> türlerinde pigment oluşumu ve QS moleküllerinin rolü	22
1.4. Yeşil alglerin tanımlamasında (Darienکو vd. 2015) tarafından kullanılan tanımlama şeması.	24
1.5. Nükleer ribozomal operon üzerinde yer alan gen bölgeleri.	25
2.1. T16 numaralı algin katı ve sıvı besi ortamında çoğaltılması ve etanol ekstraktının eldesi...30	
3.1. B1 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B), m3N-BBM sıvı besiyerinde üreme (C).	32
3.2. B6 nolu mikroalg türünün P49 katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).	33
3.3. B27 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).	33
3.4. T14 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).	34
3.5. T15 nolu mikroalg türünün P49 katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).	34
3.6. T16 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).	35
3.7. K3 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).	35
3.8. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin etanol ekstraktlarının <i>S. aureus</i> (A), <i>E. coli</i> (B), <i>E. faecalis</i> (C) ve <i>P. aeruginosa</i> (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.	37
3.9. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin metanol ekstraktlarının <i>S. aureus</i> (A), <i>E. coli</i> (B), <i>E. faecalis</i> (C) ve <i>P. aeruginosa</i> (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.	38
3.10. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin kloroform ekstraktlarının <i>S. aureus</i> (A), <i>E. coli</i> (B), <i>E. faecalis</i> (C) ve <i>P. aeruginosa</i> (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.	39
3.11. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin su ekstraktlarının <i>S. aureus</i> (A), <i>E. coli</i> (B), <i>E. faecalis</i> (C) ve <i>P. aeruginosa</i> (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.	40

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**Şekil****Sayfa**

- 3.12. Su örneklerinden izole edilen alg ekstraktlarının MHA besiyerindeki *C. violaceum* üzerine anti-QS aktivitesinin belirlenmesi.41



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Ana alg gruplarının ayırt edici özellikleri.....	8
1.2. Bazı mikroalg türlerine ait biyokimyasal bileşenler (% kuru hücre ağırlığı bazında).	13
1.3. Farklı alglerden elde edilen antibakteriyel bileşikler ve etki gösterdikleri bakteriyel patojenler.....	19
1.4. DNA bazlı tür sınıflandırması ve / veya temel algal gruplarından yeşil alglerde barkodlama için kullanılan ana markırlar	25
2.1. Su örneklerinin alındığı bölgeler ve koordinatları.	26
2.2. Antimikrobiyal ve anti-QS aktivitenin belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar.	26
3.1. Antimikrobiyal etkinlikte zon çapları.	36
3.2. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.	37
3.3. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.	38
3.4. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.	39
3.5. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.	40
3.6. İzole edilen algerin mikroskopik morfolojileri, moleküler karakterizasyonu amacı ile yapılan sekans verileri ve bu değerlendirmeler doğrultusunda olası tür isimleri.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
CO ₂	Karbondiyoksit
NaCl	Sodyum klorür
N	Azot
P	Fosfor
S	Kükürt
K	Potasyum
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
Si	Silisyum
CaCO ₃	Kalsiyum karbonat
NaNO ₃	Sodyum Nitrat
CaCl ₂ ·2H ₂ O	Kalsiyum Klorür di Hidrat
MgSO ₄ ·7H ₂ O	Magnezyum Sülfat heptaHidrat
K ₂ HPO ₄	Potasyum monoHidrojen Fosfat
KCl	Potasyum Klorür
NH ₄ NO ₃	Amonyum Nitrat
KH ₂ PO ₄	Potasyum diHidrojen Fosfat
BaCl ₂	Baryum Klorür
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
ml	Mililitre
g	Gram
µl	Mikrolitre
nm	Nanometre
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
QS	Quorum Sensing
QQ	Quorum Quenching
Rp	Kromatografisi
Pd	Plazmodezma
An	Anteridyum

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
Gk	Genç Karpogon
Kt	Korteks Tüpü
Yk	Yaşlı Karpogon
Kh	Korteks Hücresi
Krö	Kromatofor Önden Görünüş
Kry	Kromatofor Yandan Görünüş
Kr	Kromatofor
M	Müsilaj
P	Pirenoid
ÇS	Çeper Süsü
DK	Dış Kabuk
K	Kabuk
Kr	Kromatofor
Ks	Kabuk Süsü
Kş	Kuşak Şeridi
Mh	Müsilaj Halkası
N	Nukleus
Pk	Plazma Köprüsü
Rf	Rafe
Yd	Yağ Damlası
Bc	Bazal Cisim,
BO	Boyuna Oluk
EO	Enine Oluk
Po	Por
St	Stigma (Göz Noktası)
V	Vakuol
EPA	Eikozapentaenoik Asit
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
AHL	Açıl Homoserin Laktonlar
MRSA	Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>

1. GİRİŞ

Algler, dış görünüşleri bakımından tek hücreli mikroskobik formlardan birkaç metre boya kadar değişik morfolojilerde bulunabilen, genellikle sucul habitatlarda çok geniş bir yayılma gösteren (okyanuslar, nehirler, tatlı su gölleri, çaylar, dereler, kutup gölleri, su birikintileri vb.), ototrof, fotosentetik çoğunlukla ökaryotik canlılardır (Pereira ve Magalhaes, 2014). Ayrıca hayvan ve bitkilerle simbiyotik yaşayabilirler (Gümüş, 2006; Cirik ve Cirik, 2011). Algler primer üretici canlılardır ve besin zincirinin temel taşlarından birini oluşturmaktadırlar (Cirik ve Cirik, 2011).

Algler bitkiler gibi fotosentez yapabilirler ve depo bileşenlerini oluşturabilirler. Ayrıca çevrelerindeki predatörlere veya parazitlere karşı savunma mekanizmaları da vardır. Ancak tüm bunlara rağmen algler de bitkilerde olduğu gibi kök, gövde ve yaprak benzeri yapılar mevcut değildir. Vejetatif hücre yapısı bakımından da algler bitkilerden ayrılmaktadır (Van den Hoek vd., 1995; Rajan, 2001; Barsanti ve Gualtieri, 2006; Graham vd., 2009).

Doğada yaşayan birçok canlının kendine ait bir savunma sistemi vardır. Bazı bakteriler, mantarlar ve bitkiler bu savunma sisteminde görev alan antimikrobiyal bileşikler üretirler. (Rauha vd., 2000). Mikroalglerde de bulunan bu antimikrobiyal bileşikler sayesinde insanların yararına olabilecek alanlarda bu özellikten yararlanılmaktadır (Yoldaş vd., 2003). Son yıllarda mikroalgler üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda mikroalglerden elde edilen moleküllerin antibiyotik, antiviral, antikanser, antifungal, antibakteriyel, antiinflamatuvar etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmalar arasında hipokolestrolemik, enzim inhibisyonu ve diğer bazı farmakolojik etkilerin de olduğu görülmüştür. Bu doğal ürünlerin tespit edilmesiyle ilaç sanayinde hammadde olarak kullanılmış ve bununla birlikte sentetik moleküllerin yapımında da yapısal bir molekül olarak tercih edilmiştir (Quinn vd., 1993).

Günümüzde antibiyotik direnci önemli bir halk sağlığı sorunudur. Mikrobiyal direnç, mikropların hava koşulları, yiyecek, oksijen veya su mevcudiyeti veya bir antimikrobiyal ilacın varlığı gibi bir etkiye verilen doğal biyolojik tepkisidir. Yeni bir antibiyotik sınıfı kullanıldığında, ilk başta etkilidir, ancak kendine özgü veya edinilmiş bir direnç mekanizmasına sahip olan bakteri popülasyonlarının küçük bir kısmının hayatta kalması için yeterlidir (Walsh, 2003). Antibakteriyel direnç, farklı mekanizmalar ile gelişebilir. Bazı mikroorganizmalar birkaç mekanizmayı barındırarak birden çok ilaca dirençli olma potansiyeli taşırlar. Birden çok ilaca dirençli Gram negatif enterik bakterilerin oluşması hem nozokomiyal, hem toplumdan kazanılan infeksiyonların yönetiminde büyük bir problem oluşturmaktadır (Sarı, 2005).

Bir mikroorganizmanın herhangi bir yolla insan veya hayvan vücuduna girip yerleşerek çoğalmasına enfeksiyon denir. Enfeksiyon ya da enfeksiyöz hastalık, intaniye, bulaşım olarak da bilinir. Hastalık yapıcı herhangi bir yolla insana geçme özelliğindeki mikropların veya parazitlerin vücuda girmesiyle ortaya çıkan hastalık tablosudur. Bu hastalıklar, bir bireyden diğerine veya bir türden diğerine geçebilmelerinden dolayı, genellikle bulaşıcı hastalık olarak tanımlanırlar ve tıbbın enfeksiyon hastalıkları dalında incelenirler (<https://www.tech-worm.com/enfeksiyon-nedir-enfeksiyon-hastaliklari-nelerdir/>).

Mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı aktivitelerinin olmasının yanında kendi aralarında iletişim kurabilmelerini sağlayan bir sistem bulunmaktadır. Bu iletişim kurma becerileri sayesinde ortamdaki değişimlere ayak uydurabilme özelliği kazanmaktadırlar. Sahip oldukları bu mekanizma çoğunluk-yeterlilik algılama olarak Quorum sensing (QS) bilinmektedir ve mikroorganizma için birçok durumda gen ekspresyonu ve bakteriler arası fonksiyonel koordinasyon için önemli bir rol oynamaktadır (Henke ve Bassler, 2004; Bassler ve Losick, 2006; Gonza'lez ve Keshavan, 2006; Gera ve Srivastava, 2006). QS sistemi küçük sinyal moleküllerin görev aldığı ve bu moleküllerin konsantrasyonunun önemli olduğu bir iletişim yoludur. Bu konsantrasyonun durumu ortamdaki hücre yoğunluğuna bağlı değişkenlik göstermektedir. Bu sayede bölgedeki mikroorganizma için bazı genlerin ekspresyonu düzenlenmiş olmaktadır (Dong ve Zhang, 2005; Waters ve Bassler, 2005; Gonza'lez ve Keshavan, 2006).

Günümüzde gerçekleştirilen çalışmalarda mikroorganizmaları kontrol altına almak için pek çok çalışmanın yapıldığı görülmektedir. Ancak kullanılan bazı yöntemler mikroorganizmaların da bir direnç mekanizması kazanmasına yol açmaktadır (Wopperer vd., 2006; Garcia-Aljaro vd., 2008). QS sistemini engellemek üzere oluşturulan bir yaklaşım olan "Quorum Quenching (QQ)", mikroorganizmalar arası sinyal iletişimini bozarak onların etkili bir şekilde kontrol altına alınmasını kolaylaştıran bir sistemdir (Uroz vd., 2009). Bu çalışmada da mikroalglerin antimikrobiyal aktivitesi ve anti-çoğunluk algılama sistemlerinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

1.1. Alglerin Tarihçesi

Algler dünya üzerindeki en eski yaşam formlarından biri olarak kabul gören canlılar olarak ifade edilmektedir. Başka bir ifadeyle algler, birincil fotosentetik pigment olarak klorofil-a'ya sahip olan ilkel bitkiler olarak da tanımlanmaktadır (Dragone vd., 2010; Brennan ve Owende, 2010). Siyanobakteriler bundan yaklaşık 3,5 milyar yıl öncesine uzanan bir süreç içerisinde dünya üzerinde var olmaya başlamışlardır. Günümüze kadar uzanan bu tarihsel

süreçte insanlar tarafından ilaç ve gıda gibi ihtiyaçların giderilmesi için kullanılmıştır (Sukatar, 2002). Alglerle ilgili onlardan faydalanan ilk kişi M.Ö. 2700'lü yıllarda Çin İmparatoru Kral Shen Nung'tur. Daha sonraları uzak doğu ülkelerinde denizden elde edilen algler gıda ve sağlıkta kullanılmaya başlanmıştır. Kozmetik olarak kullanımının ilk başladığı zamanlar ise Roma İmparatorluğu dönemine dayanmaktadır. Kozmetik sektöründe pigment olarak kullanılması Roma döneminin krallarından olan Heros ve Virjil zamanında gerçekleşmiştir (Cirik, 1981).

Alglerle ilgili kültür çalışmalarına dayanan ilk yayınlanan raporlar 1850'li yıllarda Ferdinand Cohn'a aittir. 1890 yılına gelindiğinde ise alglerle ilgili ilk saf kültür yapılmıştır. Siyanobakteriler üzerine yapılan bu çalışma mikrobiyolog Beijerinck tarafından gerçekleştirilmiştir (Anderson, 2005). Mikroalgal biyoteknolojik çalışmaların başlaması ise geçtiğimiz yüzyılın ortalarına dayandığı belirtilmektedir. 1950'li yıllarda insanlar mikroalgleri protein kaynağı olarak kullanmaya başlamışlardır. Böylece ticari olarak büyük ölçekli gerçekleştirilen ilk alg kültürü (*Chlorella*) 1960'ın başında Japonya'da yapılmıştır. Daha sonra algler üzerine gerçekleştirilen çalışmalar hız kazanmış ve Meksika'da bir gölde mikroalg üretim tesisi kurulmuştur (Borowitzka, 1999). Mikroalgler üzerine yoğun kültür çalışmaları atık sular üzerinde gerçekleştirilmiş ve alglerden enerji elde edilmesi amaçlanmıştır (Oswald ve Glueke, 1960; Oswald ve Golueke, 1962; Oswald, 1963; Negoro vd., 1991). Alglerden enerji üretme çalışmaları ilk olarak ihtiyaçtan dolayı başlamıştır. Bu ihtiyaç 1973 yılında petrol krizinin yaşanmasıyla ortaya çıkmıştır (Nagle ve Lemke, 1990; Spolaora vd., 2006). Meydana gelen bu kriz sonrasında bir araştırma ve mühendislik firması alglerden lipid üretilmesi için ilk adımlarını atmıştır (Williams ve Laurens, 2010). Daha sonra gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda alglerden elde edilen biyoyakıtın geleneksel yakıtlara alternatif olacak bir enerji kaynağı olduğu görülmüştür. Ancak bu yakıtın üretilmesinin mali bilançosu 1990'lı yılların petrol fiyatlarıyla göz önünde bulundurulduğunda, o zamanda uygulanabilir olmadığı görülmüştür (Williams ve Laurens, 2010; Xu ve Mi, 2010). Nitekim, biyoyakıt olarak kullanılsa da, alglerin biyolojileri, tür seçimi ve büyük ölçekte kültüre edilme çalışmalarında ilerlemeler kaydedilmiştir (Williams ve Laurens, 2010).

Son yıllarda alglerle ilgili çalışmaların biyodizel üretimi üzerine gerçekleştirildiği görülmektedir. Biyokütle bazlı biyodizel üretiminin ön plana çıkmasının önde gelen sebeplerinden biri ise, Dünya atmosferinde birikmiş sera gazlarının azaltılması olarak görülmektedir. Mikroalgler büyümek için atmosferdeki mevcut CO₂'ye ihtiyaç duymaktadırlar. Bitkilerle karşılaştırıldığında da algler sera etkisinin temel kaynağı olan CO₂'yi oldukça yüksek özümseme kabiliyetine sahiptirler. Böylece alglerin küresel ısınmanın önüne geçilmesi adına

büyük katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir. Serbest haldeki CO₂'nin yanında baca gazlarından salınan CO₂'nin de özümsemesi açısından algler tercih edilmektedir. Alglerin hem küresel ısınmayı önleyecek hem de alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılabilecek olması çevreye ve insanlığa büyük faydalar sağlayacağı düşünülmektedir (Say vd., 2010).

Moleküler biyolojideki ilerlemeler ile beraber algler üzerine yapılan çalışmalarda biyoürün üretimi artmıştır. Mikroalglerin biyoproses faktörlerindeki değişimler (sıcaklık, pH, ışık, karbon kaynağı, nütrient vb.) biyokütle ve spesifik biyoürün üretimlerini artırmada oldukça yarar sağlamıştır (Williams ve Laurens, 2010; Mercer ve Armenta, 2011). Yine son yıllarda mikroalg biyokütlesinin biyoyakıt elde etmek amacıyla üretimi, alglerin yüksek fotosentez yapma kapasitesi, düşük karasal alan ihtiyacı, ileri teknoloji gerektirmeyen şekilde biyodizele ve yakma gazına çevrilebilmesi önem kazanmıştır (FAO, 2009).

Alglerin; yaralanmalarda, bağışıklık sisteminin dengelenmesinde, yüksek ateşi düşürmede, kan dolaşımının düzenlenmesinde, ve kolesterolü düşürmede kullanıldığı bilinmektedir (Tanka vd., 1969; Takagi vd., 1975; Meenakshi vd., 2012). Yapılan araştırmalar sonucu 30 alg türünün bağışıklık sistemini düzenleyici etkisi saptanmıştır. Bu araştırmaların en etkileyici unsuru; her türün birçok patojene karşı olan antiviral özelliğidir. Alglerin eczacılıktaki başlıca önemli kullanım alanları fikokolloidler sebebiyledir (Brownlee vd., 2005). Polisakkarit yapıdaki fikokolloidler higroskopik özellikleri nedeniyle jelleştirici, stabilize edici ve kalınlaştırıcı etki gösterirler (Zhou vd., 1993). Alglerden elde edilen aljinatlar ilaç sanayinde hammadde veya yardımcı madde olarak kullanılır. Bu amaçla; bazı etken maddelerin (insülin, antibiyotik, hormon, vitamin gibi) enjektabl ve oral ilaç formlarında, yağ ve mumların sulu çözeltilerinde, tabletlerde dolgu maddesi olarak, yağlı kremlerin stabilitesinin sağlanmasında, losyon, pomat, sabun, şampuan, diş macunu ve pastil yapımında, bağırsakta çözünen ilaç formlarının kaplanmasında kullanımları mevcuttur. Aljinatlar; flaster, sargı ve bandajların ana maddesini oluşturmaktadır (Guner vd., 1989; Gümüş, 2006). *Sargassum natans* türü Kuzey Amerika'da emülsiyon formunda ilaçların hazırlanmasında kullanılan başlıca alglerdendir (Hoppe vd., 1979).

1.2. Alglerin Sınıflandırılması

Ökaryotik algler, tek bir evrim soyundan türeyerek gelmediği düşünülen ve bundan dolayı tek monofiletik bir grup olarak görülmeyen canlılardır. Plastid organeli ele alındığında, ökaryotik alglerin fotosentez kabiliyeti olmayan protistler (ptotista ve su mantarları gibi) ile karşılaştırıldıklarında kesin bir ayrımı bu organel sayesinde elde ettikleri görülmektedir. Bundan yaklaşık 2 milyar yıl öncesinde fotosentetik olmayan bir ökaryotun siyanobakteri yutması ve

besin olarak parçalayıp sindirmek yerine onu hapsedmesi ile şekillendikleri düşünülmektedir. Zamanla devam eden bu süre içerisinde hücre içine hapsolmuş siyanobakteriler kloroplastı meydana getirmiştir. Hücre bölünmesi ile senkronize olmuş kloroplast bölümü, bu esnada çeşitli genlerin aktarılması ve sitozol içerisinde optimize olmuş biyokimyasal reaksiyonlarla birlikte plastidin yapısı ve pigmentasyonunda (klorofiller, karotenoidler) da değişimler meydana gelmiştir (Andersen, 2013). Bu şekilde varolduğu düşünülen fotosentetik ökaryotlardan tatlı su alglerinin, sayısız form ve ebatta onlarca, belki de yüz binlerce türü ve her yerde bulunabilmektedirler.

Alglerin bazı yapısal ve fonksiyonel özellikleri temel alınarak çeşitli sınıflandırma çalışmaları yapılmıştır (Fritsch, 1965; Chapman ve Chapman, 1973) (Şekil 1.1). Alglerin primer sınıflandırmasında ana kriterler pigmentasyon, biyokimyasal özellikler ve flagella gibi organellerin yapısındaki farklılıklardır. Biyokimyasal özellikler arasında depolama polisakaritleri, hücre duvarlarının kimyasal bileşenleri, karakteristik steroller yer almaktadır (Çizelge 1.2). Algler yapısal olarak prokaryotik (mikroalg) ve ökaryotik (makroalg) olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar. Prokaryotik algler “Mavi-yeşil algler (*Cyanophyta*)” olarak bilinirler. Ökaryotik algler ise kamçı taşımalarına veya pigmentasyonlarına göre; Kahverengi algler (*Phaeophyta*), Kırmızı algler (*Rhodophyta*), Yeşil algler (*Chlorophyta*), Diyatomeleler (*Chrysophyta*) ve Kamçılı algler (*Flagellata*) olarak sınıflandırılmaktadır (Bowen, 1966; Gamal, 2010; Cirik ve Cirik, 2011). Taksonomistler arasında sınıfların sayısı ve bileşimi ile ilgili önemli bir anlaşmaya varılmasına karşın bu sınıfların gruplara ayrılmasıyla ilgili görüş ayrılıkları yaşanabilmektedir. Bazı araştırmacılar ise algleri, sahip oldukları kloroplast içi ve dışı flagella ile ilişkili ve ilişkisiz göz lekelerine göre de gruplandırmışlardır.

	<i>Division</i>	<i>Class</i>
PROCARYOTA	CYANOPHYTA (blue-green 'algae')	CYANOPHYCEAE
EUCARYOTA	1. RHODOPHYTA (red algae)	RHODOPHYCEAE
	2. CHLOROPHYTA (green algae)	CHLOROPHYCEAE PRASINOPHYCEAE (temporary name) CHAROPHYCEAE EUGLENOPHYCEAE
	3. EUGLENOPHYTA (Euglenoids)	
	4. CHLOROMONADOPHYTA* (Chloromonads)	CHLOROMONADO- PHYCEAE
	5. XANTHOPHYTA* (yellow-green algae)	XANTHOPHYCEAE
	6. BACILLARIOPHYTA (diatoms)	BACILLARIOPHYCEAE
	7. CHRYSTOPHYTA (golden-brown algae)	CHRYSTOPHYCEAE HAPTOPHYCEAE (temporary name) PHAEOPHYCEAE
	8. PHAEOPHYTA (brown algae)	
	9. PYRRHOPHYTA (dinoflagellates)	DINOPHYCEAE DESMOPHYCEAE
	10. CRYPTOPHYTA (Cryptomonads)	CRYPTOPHYCEAE

Şekil 1.1. Chapman ve Chapman, 1973 tarafından yapılan klasifikasyon (Chapman ve Chapman, 1973).

Günümüzde moleküler çalışmalar sağladıkları pek çok yararlarla birlikte filogenetik analizlerin anlaşılmasında da önemli katkılar sağlamıştır. Buna ek olarak çoklu gen analizleri ve genomik/proteomik analizleri sayesinde sınıflandırmada en yakın akraba gruplarının belirlenmesinde yardımcı olmuştur (Baldauf, 2003, Hackett vd., 2007; Reeb vd., 2009; Baurain vd., 2010; Burki vd., 2010; Green, 2011).

DNA dizilerinin belirlenmesi; türlerin tanımlanması (DNA barkodlama), türlerin sınıflandırılması (DNA taksonomisi) konularında geleneksel tür düzeyinde taksonomilere alternatif olabilmekte ve kolaylık sağlamaktadır. DNA barkodlama çalışmalarında kısa DNA sekanslarının analizi veya çok lokuslu veri analizleri kullanılabilir (Roe vd. 2010).

Mikrobiyal ökaryotik toplulukların tür çeşitliliği araştırmalarında, nükleer küçük alt üniteli ribozomal RNA geni (SSU veya 18S rDNA) kısmen de olsa güvenli sonuçlar vermektedir. (de Vargas ve diğerleri, 1999; Moon-van der Staay ve diğerleri, 2001; Not ve diğerleri, 2012). Ayrıca nükleer rDNA'nın Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgelerine dayalı sekans analizlerinin de mikroalg türlerinin filogenetik analizi için bir belirteç olabileceği bildirilmektedir (Van Der Strate vd., 2002; Lundholm vd, 2006; Gile vd, 2010; Pröschold vd, 2011, Leliaert vd, 2014). Çoklu gen lokusu taramaları (*rbcL*- large subunit of Rubisco geni,

ITS ve *tufA*- elongation factor geni gibi), bazı yeşil algler için DNA barkod işaretleyicisi olarak kullanılabilir. Filogenetik çalışmalar, farklı yöntemlerle; LSU rRNA bazında, LSU ve SSU rRNA birleştirilmiş dizi hizalamalarına dayanarak da yapılabilir. LSU, nükleer genomdaki ribozomal kümeler halinde düzenlenmiş ard arda dizilmiş tekrarlardan oluşan rDNA gen kompleksinin bir parçasıdır . Filoloji temelli araştırmalarda LSU rDNA kullanılabilir, çünkü yüksek oranda korunan dizilim ile ayırt edici güç sağlar (Uzun vd., 1980).



Çizelge 1.1. Ana alg gruplarının ayırt edici özellikleri.

Bölüm (Division)	Alg grubu	Fotosentetik pigmentleri ^b	Kloroplast dış membranları	Tilakoid birliktelikleri	Nişasta benzeri rezervler	Dış Kılıf	Flagella
Cyanophyta	Siyanobakteriler	chl a, PE, PC, APC	0	0	Siyanofisin	Peptidoglikan	0
Rhodophycophyta	Kırmızı alg	chl a, PE, PC, APC	2	0	Floridan	Galaktoz polimer matriksli duvar	0
Chlorophycophyta	Yeşil alg	chl a, b	2	2-6	Gerçek	Selülozik duvar	0- yada daha çok
Euglenophycophyta	Euglenoid alg	chl a, b	3	3	Paramilon	Pellicle, lorica	1 -2
Xanthophycophyta	Ksantofit (sarı yeşil) alg	chl a, c, c ₂ , diadinoksantin, heteroksantin,	4	3	Krizolaminarin	Selülozik duvar	2 eşit olmayan
Ochrophyta	Östigmatofit	chl a, violaksantin, vaukeriaksantin	4	3	Krizolaminarin	Selülozik duvar	1 -2 eşit olmayan
Chrysophycophyta	Krisofit (Sarı-kahverengi) alg	chl a, c, c ₂ , c ₃ , fukoksantin	4	3	Krizolaminarin	Lorika	2 eşit olmayan
Haptophyta	Haptofit alg	chl a, c, c ₂ , c ₃ fukoksantin, diadinoksantin,	4	3	Krizolaminarin	Silisli olmayan	2 eşit + haptonema
Chrysophyta	Sinuroid alg	chl a, c, c ₂ , c ₃ , fukoksantin	4	3	Krizolaminarin	Silisli	2 eşit olmayan
Bacillariophycophyta	Diatom	chl a, c, c ₂ , c ₃ , fukoksantin, diatoksantin, diadinoksantin	4	3	Krizolaminarin	Silisli frustüller	1 (nadiren)
Pyrophytya	Dinoflagellatlar	chl a, c ₂ , peridinin	3	3	Gerçek	Selülozik teka	2 eşit olmayan
Cryptophycophyta	Kriptomonadlar	chl a, c ₂ , PC or PE, allokoksantin	4	2	Gerçek	Periplast	2 eşit
Phaeophycophyta	Kahverengi alg	chl a, c, c ₂ , c ₃ fukoksantin	4	3	Laminarin	Alginat matriksli Duvar	2 eşit olmayan Enine + boyuna

^b chl=chlorophyll (yeşil), PE=phycoerythrin (kırmızı), PC=phycocyanin (mavi), APC=allophycocyanin (mavi), fucoxanthin and peridinin (sarı-kahve).

Siyanobakteriler veya mavi-yeşil algler, en eski alg grubudur. Bu alg türünün sınıflandırması ilk yıllarda sadece morfolojik özelliklerine göre yapılmıştır (Geitler, 1932). Bununla birlikte, hem elektron mikroskobu hem de moleküler filogenetik analiz, geleneksel morfolojik grupların monofiletik gruplar olmadığını göstermiştir (Andersen, 2013).

Yeşil alglerin sistematiği incelendiğinde bu sınıfın üyelerinden bazılarının serbest yaşayan flagellatlar olduğu, tek hücreli ya da kolonilerden meydana geldiği görülür. Diğerleri kokkoid veya palmelloit' tir, hareketsizdirler. Geriye kalan diğerleri filamentli veya sifonludur. Sınıfın flagellalı üyelerinde hücre glikoprotein bir zarfla çevrilmiştir. Flagellasız formlarda polisakkarit duvar vardır. Bazı kokkoid ve flagellalı türler ise selüloz bulundurur. *Chlorophyceae* sınıfı içerisinde 2650 türü içeren 355 kadar cins bulunmaktadır. Türlerin büyük çoğunluğu tatlı sularda yaşar, çok sayıda karasal formları ve deniz ortamlarında da yaşayanları vardır (Baydar, 1979). Yeşil algler a ve b klorofillere sahiptir. Depolama ürünü tipik olarak nişastadır. Yeşil algler iki gruba ayrılır: *Chlorophytes* ve *Charophytes*. Önceleri ultrastrüktürel özelliklere dayanarak tanımlanmakla birlikte (Pickett-Heaps ve Marchant, 1972; Mattox ve Stewart, 1984; Stewart ve Mattox, 1984), şu anda gen dizisi verileri, kloroplast ve nükleer genom verileri ile tanı desteklenmektedir (Timme ve Delwiche, 2010).

Kırmızı algler, klorofil a ve yığılanmamış tilakoid membranların yüzeyinde bulunan fikobilizomlar (allofikosiyenin, fikosiyenin ve fikoeritrin ile pigment kompleksleri) içermektedir. Kırmızı algler yaşam döngülerinde hem flagella hem de sentriolü eksik olan ökaryotlar arasında tektir. Kırmızı algler üzerine yapılan çalışmalar onların çok çeşitli olabildiklerini göstermiştir (Yoon vd., 2006). Açık okyanuslarda çeşitlilik gösterebilen dev kelpeler ve dünyanın her yerinde bulunabilen diatomların da dahil olduğu gruptur (Yang vd., 2012). *Heterokont* 'lar dünya üzerinde en yaygın grup olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca kendi içerisinde alt gruplara da ayrılabilen bu grup, birçok alg türünü barındırmaktadır (Şekil 1.1.) (Yang vd., 2012). *Dinoflagellat* 'lar hem tatlı sularda hem de tuzlu sularda yaşayan organizmalardır. Flagellaları sayesinde hareket edebilme özelliğinde olan bu algler fotosentetik, heterotrofik ve miksotrofik olarak yaşamlarını sürdürebilirler (Smayda ve Reynolds, 2001). Haptofitler neredeyse sadece deniz ve acı su organizmalarıdır. Çoğu türün, alışılmadık bir eklentisi vardır - haptone - ve yiyecek yakalamak için kullanılabilir (Patil vd., 2007). Bazı haptofitler, kokkolit denilen kalsiyum karbonat pullarını üretir ve bu nedenle bu gruba *Kokkolithores* denir (Francois vd., 2002; Balch vd., 2010).

Cryptophytes 'ler kırmızı, kahverengi ve yeşil (nadiren mavi) tatlı su ve kıyı denizlerinde çok yaygındır. Sıra dışı özelliklere sahiptirler. Örneğin, nükleomorf, sekonder bir

endosimbiyozdan kalan indirgenmiş bir çekirdektir, bir veya her iki flagella bipartit tübüler yapıya sahiptir ve hücre, özel plakalardan oluşan bir periplast ile kaplanır. Fotosentezde kullanılan ışığı toplamak için klorofiller a ve c'nin yanı sıra fikobilinleri kullanırlar; fotosentetik depolama ürünü nişastadır. Son filogenetik çalışmalar, kriptofitlerle haptofit arasında moleküler bir ilişki olduğunu göstermektedir; Bununla birlikte, morfolojik ve biyokimyasal olarak, iki grubun ortak noktaları azdır. *Euglenoid*'ler, büyük ölçüde su birikintileri, bataklıklar, göletler, göller ve nehirlerde yaşayan tatlı su türleridir; amonyak veya üre içeriği yüksek sularda bol miktarda bulunurlar. Fotosentetik Euglenoidler, evrimsel olarak tripanozomlar ve diğer parazitler organizmalar ile ilişkilidir (Andersen, 2013).

Chlorarachniophytes'ler, özellikle kıyı sularında meydana gelen küçük bir deniz yosunu grubudur. *Chlorarachnion* ve *Gymnochloris* amoeboid organizmalardır (McFadden vd., 1997).

Kloroplast, ökaryotik alglerin baskın organelidir. Tabaka benzeri tilakoid ve fotosentez için ışık yakalayan zara bağlı pigmentleri içerir. Tilakoid düzeni algal gruplar arasında farklılık gösterir. Örneğin, *Charophyceae*' de plastidler bitki kloroplastlarına benzer ve farklı granalara (tilakoid yığınlarına) sahiptir; haptofit plastidler, üç tabaka benzeri tilakoid' den oluşan lamellere sahiptir. Heterokont plastidler haptofitlere benzer, ancak tabaka benzeri lamelleri çevreleyen dış keseye benzer bir kuşak lameline sahiptir. Birçok plastid bir pirenoide sahiptir. Pirenoid, Calvin fotosentez döngüsünde yer alan baskın protein olan RuBisCO'nun (ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz) bulunduğu yerdir. Yeşil algler, plastidin içinde nişasta taneciklerine sahiptir, ancak diğer tüm algler için karbonhidrat veya lipid depolanması, plastidin dışındadır (Ball vd, 2011). Lipid cisimleri de yaygındır ve görünimleri genellikle alglerin fizyolojik veya çevresel koşulları ile ilgilidir, örneğin, hücreler yüksek ışık stresi veya besin açlığı altındayken lipid cisimlerinin sayısı ve büyüklüğü artar. Kloroplast, kendi DNA'sını, tipik olarak dairesel kromozomları içerir; bununla birlikte, DNA sadece az sayıda geni kodlar çünkü çoğu gen çekirdeğe aktarılmıştır (Green, 2011).

Mitokondri çeşitliliği de algler arasında hayvanlar ve bitkilerden daha fazladır. Yeşil ve kırmızı algler bitki veya hayvanlarındaki gibi düzleştirilmiş mitokondriyal kristaya sahiptir. Bununla birlikte, öglenoidler disk benzeri kristaya sahiptir ve haptofit, heterokont ve dinoflagellat algleri tübüler şeklinde kristaya sahiptirler (Shiflett ve Johnson, 2010).

Birçok alg çekirdeği bitkilerde veya hayvanlarda bulunanlara benzer; ancak önemli farklılıkları vardır. Tipik öglenoid çekirdek her zaman yoğunlaştırılmış kromozomlara sahiptir

ve dinoflagellatlarda çekirdek, görsel olarak bir sikke yığına benzeyen benzersiz kromozomlara sahiptir (Lee, 2008; Graham vd., 2009).

Golgi aygıtı ve endoplazmik retikulum gibi organeller genellikle diğer ökaryotlarda bulunanlara benzerdir. Algler, bu organelleri, organik, silikat veya kalsiyum karbonat pullarının yanı sıra flagella ve diğer yapıları üretmek için kullanır. Ökaryotik hücreler bir veya daha fazla tip vakuol içerebilir. Sert ve komple hücre duvarlarına sahip hücreler genellikle tipik bitki vakuolüne benzeyen bir vakuole sahiptir ve vakuol, sırayla hücre ve organizmal sertliği koruyan pozitif bir ozmotik basıncı muhafaza etmek için işlev görür. Bazı organizmalar, özellikle heterokont algleri, depolama ürünleri veya özellikle stres altındaki subseleler kompartmanların bozulmasından veya yeniden şekillendirilmesinden türetilen yan ürünler için vakuolleri kullanırlar (Andersen, 2013).

Flagellalar, alglerin hareket edebilmesini sağlayan organellerdir (Manton ve von Stosch, 1966). Birçok algteki temel flagellum geliştirilmiş veya değiştirilmiştir (Andersen ve diğerleri, 1993). Flageller yapılar hareket yönünü değiştirir, yani flagella mevcutsa hücre ileri doğru yüzer (Sleigh, 1989). Flagellum hücrenin içindeki bazal gövdeyi oluşturmak için bir geçişe uğrar ve bazal gövdeler mikrotübüler ve lifli köklerle tutturulur. Bu yapılar sırayla hücre iskeletini oluşturur veya buna bağlanır (Andersen vd., 1991; Moestrup, 2000). Flagella da bir olgunlaşma sürecinden geçer. Bir flagellum başlangıçta bazal bir gövdeden oluşur ve olgunlaşmamış flagellum olarak adlandırılır. Hücre bölündüğünde olgunlaşmamış flagellum geri çekilir ve olgun bir flagellum olarak tekrar büyür; bu sürece flagellar transformasyon denir (Melkonian vd., 1987; Wetherbee vd. 1988). Stigma kırmızı renkli ve bir flagellum ile ilişkilendirilmiş özel bir lipit birikimini temsil etmektedir. Bu noktaya gelen ışınlar sayesinde canlı fototaksi sağlayarak flagellası sayesinde hareket etme eğiliminde olur (Kreimer, 1994, 1999; Jékely, 2009). Yani hücre gelen ışık yönüne doğru veya tam tersi yönde bir yer değiştirme işlemi gerçekleştirir.

Hücre duvarı, sitoplazmayı tamamen kaplayan ve hücrenin turgor basıncını arttırmasını sağlayan sağlam bir yapıdır. Gerçek hücre duvarlarına sahip algler iki şekilde hücre bölünmesine maruz kalır. Desmoschisis, ana hücrenin iki yavru hücre üretmek için ayırdığı dinoflagellatlarda aseksüel üremedir (Fensome vd, 1993). Bu organizmalar sert bir thallus geliştirebilir, çünkü hücreler duvarları ile güçlü bir şekilde bağlanır. Kahverengi, yeşil ve kırmızı deniz yosunları - makroskobik alg - desmoşizisten duvarlar oluşturur. Alternatif olarak, ana hücre duvarı tamamen çözülebilir veya atılabilir ve sonraki hücrelerin her biri tamamen yeni bir hücre duvarı üretebilir; bu eleuteroschisis olarak adlandırılır. Hücre duvarlarının

biyokimyasal bileşimi alg grupları arasında değişmektedir. Siyanobakteriler, peptidoglikan duvarına sahiptir. Bu duvar, zengin bir protein kaynağıdır ve bu nedenle Spirulina, proteince zengin bir gıda takviyesi olarak satılmaktadır. Makroskopik kırmızı alglerin hücre duvarları, sülfatlanmış galaktanların polimerleri ve çeşitli müsilajların emdirildiği bir selüloz mikrofibriler iskelet içerirler. Agarlar ve karragenanlar (yüksek oranda sülfatlanmış), kırmızı alg duvarlarından ticari olarak çıkarılır ve çeşitli uygulamalarda koyulaştırıcı ve emülsiyonlaştırıcı olarak kullanılırlar. Yeşil algal hücre duvarları selüloz, hemiselüloz, pektik bileşikler ve glikoproteinlerden oluşabilir (Andersen, 2013).

Alglerin fotosentez sonucu ürettikleri rezerv polimerlerin yapısına göre de sınıflandırılması yapılmaktadır. Örneğin yüksek bitkilerin ürettikleri gibi nişasta üreten algler *Chlorophyta* grubunda yer alırken, diğer grupta yer alanlar polimer ve serbest monomerler gibi rezerv maddeler sentezlemektedirler. Alglerin hücre duvarının yapısına baktığımızda ise, yine bazı farklılıkların olduğu görülmektedir. Çoğu alg için hücre duvarı yapısı selüloz fibrillerden oluşan bir ağ yapısındadır ve bu yapı genellikle pektin, ksilanlar, mannanlar, algilik asit veya fukinik asit gibi polisakkaritlerce desteklenmektedir. Bazı alg türlerinde ise yukarıdaki polisakkaritlere ilaveten kalsiyum karbonatın da olduğu görülmüştür. Bu bileşen algin hücre duvarını güçlendirmektedir. Ayrıca hücre duvarı yapısında kitinin de bulunduğu tespit edilmiştir. Çeşitli yapılarda hücre duvarına sahip olan algler içerisinde öglenoidlerin ve bazı yeşil alglerin hücre duvarı yoktur. Alglerin hareketleri flagella denilen kamçı benzeri hareket organlarıyla gerçekleştirilmektedir. Silli yapılar alglerde olmadığı için hareket kabiliyeti flagella yapılarıyla sağlanmakta ve flagellaların sayıları değişkenlik göstermektedir. Flagelli alglerden olan *Euglena*, tipik tek bir polar flagellaya sahiptir. Ancak *Chlorophyta*'nın flagelli türlerine baktığımızda ise flagella sayısının iki veya dört olduğu görülmüştür (Madigan, 2012).

1.3. Alglerin Biyokimyasal Özellikleri

Mikroalgler fotosentez mekanizmasını kullanarak güneşten aldıkları enerjiyi kimyasal enerjiye dönüştürürler ve bu enerjiyi hücrelerinde protein, karbonhidrat, lipid ve nükleik asit olarak depolarlar (Huang vd., 2010; Demirbaş, 2011; Park vd., 2015). Ancak ifade edilen bu bileşenler mikroalglerin türüne ve kültür edilme şartlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Mata vd., 2010; Schlagermann vd., 2012; Jacob-Lopez vd., 2015). Bu durum ile ilgili literatür çalışmaları mikroalglerin protein, karbonhidrat ve lipid içeriklerini Çizelge 1.2'deki gibi özetlemektedir.

Çizelge 1.2. Bazı mikroalg türlerine ait biyokimyasal bileşenler (% kuru hücre ağırlığı bazında).

Mikroalg	Protein	Karbonhidrat	Lipit	Kaynak
<i>Chlorella vulgaris</i>	55	9	25	Biller vd., 2012
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	43	16	18	Biller vd., 2012
<i>Spirulina platensis</i>	65	20	5	Biller vd., 2012
<i>Spirulina maxima</i>	68	11,7	6	De Oliveira vd., 1999
<i>Chlorella emersonii</i>	28	11	63	Illman vd., 2000
<i>Chlorella protothecoides</i>	52.6	10.6	14.6	Miao ve Wu, 2006
<i>Chlorella sorokiniana</i>	42	32	22	Illman vd., 2000
<i>Chlorella minutissima</i>	9	14	57	Illman vd., 2000
<i>Nannochloropsis oculata</i>	57	8	32	Biller ve Ross, 2011
<i>Botryococcus braunii</i>	32,6	8,8	36,1	Sydney vd., 2011
<i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i>	38	19	34	Ahmad vd., 2013

Mikroalgler proteinleri yapısal ve metabolik faaliyetlerin sürdürülmesinde kullanırlar. Proteinler hücre büyümesini sağladıklarından dolayı hücre metabolizması için oldukça önemli bir katalizör görevi görürler. Proteinler ayrıca kloroplastın ışık toplama kompleksine yapısal bir iskelet olma özelliği göstermektedirler (Williams ve Laurens, 2010). Bazı mikroalg türlerinin de yüksek oranda protein içermesinden dolayı insan ve hayvanlar için mükemmel bir besin kaynağı olduğu belirtilmektedir (Spolaore vd., 2006; Jacop-Lopez vd., 2015).

Mikroalg hücrelerinde bulunan karbonhidratlar, proteinler gibi yapısal ve metabolik fonksiyonlara katkı sağlamaktadır. Bununla beraber fotosentezin ilk ürünü olarak diğer biyokimyasalların sentezi için önemlidirler (Williams ve Laurens, 2010). Karbonhidratlar hücre içerisinde nişasta, glikoz, şekerler ve diğer polisakkaritler olarak depolanmaktadır (Spolaore, 2006).

Lipidler, alglerin enerji rezervi olarak görev alırken hücre membranının yapısına da katılmaktadırlar (Williams ve Laurens, 2010). Alglerin büyükütlesinde yer alan lipidler nötral ve polar lipidler olarak sınıflandırılmaktadır. Nötral lipidler, trigliseritler ve kolesterol olarak bilinirken, polar lipidler fosfolipid ve galaktolipid olarak bilinmektedir. Nötral lipidlerden olan trigliseritlerin bir özelliği de önemli bir enerji rezervi olmasıdır. Bu özellik sayesinde biyodizel üretiminin temel hammadde olması özelliğindedir (Huang vd., 2010; Williams ve Laurens, 2010).

Mikroalglerin bölünme ve büyüme için temel gereksinimlerinden biri de nükleik asitlerdir. Algler nükleik asitler, proteinler ve monomerleri ile birlikte büyüme ve bölünme olaylarını düzenlerler. Mikroalgin hücre biyokimyasının küçük bir bölümünü oluşturan nükleik asitler, hücre fosfatının ve azotun önemli bir kısmını oluştururlar (Williams ve Laurens, 2010).

Mikroalglerin hücrelerinde klorofil ve karotenoid gibi pigmentlerde bulunmaktadır. Alglerde bulunan klorofiller gıda ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı alg türleri antibiyotik, antitoksidan ve toksin gibi biyoaktif bileşikler de oluşturabilirler (Harun vd., 2010). Alglerdeki karotenoidler ise fotosentezde önemli bir yeri olan pigmentlerdir. Bunlar ışığı toplayan, fotosentez kompleksinin yapısını ve sürekliliğini sağlayan, reaktif oksijen türlerini uzaklaştıran ve fazla enerjiyi de dağıtmakta görevli olan yapılardır (Del Campo vd., 2007). Alglerdeki pigment maddeleri 3 grupta incelenmektedir (Hoult ve Paya, 1996): Klorofil: Klorofil a bütün alg gruplarında, klorofil b yeşil alglerde, klorofil c esmer alglerde, klorofil d kırmızı alglerde bulunur (Dural, 1989; Aysel ve Erdoğan, 1995; Cirik ve Cirik, 2011). Sarı kahverengi karotenoid maddeler: Karoten bazı alg gruplarında, ksantofil ise *Chromophycophyta* (=Chromophyta) 'da bulunmaktadır (Aysel ve Erdoğan, 1995). Mavi kırmızı renkli, suda eriyebilen fikobilinler: Fikosiyanin ve fikoeritrin, *Cyanophyceae* ve *Rhodophyceae*'de bulunur (Guner vd., 1984). Depo maddeleri: Lügol ile boyandığında mavi-kahverengi renk alan nişasta plastidlerde bulunur (Cirik ve Cirik, 2011). Kahverengi alglerde ise vakuolde laminarin oluşturulmaktadır. Yağlar ise bütün alg gruplarında bulunur (Atay, 1978; Hoult ve Paya, 1996; Cirik ve Cirik, 2011).

1.4. Alglerin Ekolojisi

Fotosentez yapan alglerin deniz ekosisteminde önemi oldukça fazladır (Dural, 1990). Algler çevre etkisine bağlı olarak çok çeşitli coğrafik dağılım gösterir. Ötrofikasyona doğrudan etkisi bulunmaktadır. Bunun sonucunda aşırı alg patlamaları görülmektedir. Bu da suyun renginde, kokusunda ve ekolojik dengesinde bozulmalara neden olmakta, birçok sucul canlı için toksik etkiye sebep olduğundan ölümler görülmektedir (Round, 1973; Eliot vd., 1982; Mchugh, 2003).

Algler enerji döngüsünde büyük bir öneme sahiptir. Alg biyokütlesi, farmasötik madde kaynağı fitokolloidlerin ekstraksiyonunda ve gıda katkı maddesi olarak değerlendirilmektedir (Ramaraj vd., 2014). Makro ve mikro alglerden birçok ürün elde edilmekte ve bunlar genel olarak aminoasit, protein, vitamin, mineral, karbonhidrat ve yağ asitleridir. Ayrıca, tatlı su alglerinden üretilen primer veya sekonder metabolitler biyoaktif bileşik olma potansiyelindedir. Geçmişten günümüze kadar birçok alg türü üzerine çalışmalar yapılmış ve biyolojik aktiviteleri kimyasal olarak benzersiz olan birçok veri elde edilmiştir (Ryan vd., 2010). Flamentli yeşil algler tatlı sularda yaşayan önemli bir alg topluluğudur. Deniz ve tatlısularda birçok organizmanın yaşaması için besin kaynağıdır ve tatlısularda en yaygın bulunan flamentli makroalg grubudur. Denizlerde yaşayan makro alglerle ilgili çalışmalar fazla olmakla birlikte,

tatlı su ortamlarında gelişen makroalglerle ilgili çalışmalar çok daha azdır (Bharadwaj vd., 2014; Ge vd., 2018; Mitova, 1999; Tipnee vd., 2015; Wongsawad ve Peerapornpisal, 2015).

1.4.1. Alglerin dağılımına etki eden ekolojik faktörler

Algler dünyanın hemen hemen her yerine yaşayabilmektedirler. Dünyanın her yerinde geniş dağılım göstermeleri bazı ekolojik faktörlere dayanmaktadır (Kuitzing, 1849; Dural, 1990). Fotosentez ile ilk üretimi gerçekleştiren algler, gıda zincirinin ilk halkasını oluşturdıkları için deniz ekosisteminde çok önemli rolleri bulunmaktadır (Dural, 1990). Algler çevrenin fiziksel ve kimyasal değişimlerine bağlı olarak coğrafik bir dağılım göstermektedir. İnsan faaliyetleri, evsel, endüstriyel ve tarımsal atıklar son yıllarda ötrofikasyona (besin maddelerinin büyük oranda çoğalması sonucu bitki varlığının aşırı şekilde artması) doğrudan etkide bulunmaktadır. Bunun yanı sıra atmosferden suya karışan azot, yağmur sularının taşıdığı besin maddeleri ve drenaj yoluyla ortama taşınan maddeler kirlenme sürecini hızlandıran doğal gelişimlerdir. Ötrofikasyonun en belirgin sonuçlarından biri aşırı alg patlamalarının görülmesidir. Fitoplankton populasyonlarının artışı suyun renginin, kokusunun ve ekolojik dengesinin bozulmasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra alglerin aşırı gelişmesi, sucul ortamdaki birçok canlı için toksik etkilere neden olduğundan ölümlere sebep olmaktadır (Eliot vd., 1982; Mchugh vd., 2003; Round, 1973).

1.5. Ekonomik Önemleri

Ekonomik önemleri olan algler üç gruba ayrılmaktadır. Yeşil algler (*Chlorophyceae*), siyanobakteriler (*Spirulina* spp.), kahverengi algler (*Phaeophyceae*) ve kırmızı algler (*Rhodophyceae*). Bu alg türleri arasında kırmızı alglerin ürünü olan ve sonradan öneminin daha çok arttığı bir ürün üretilmiştir. Kırmızı alglerden üretilen bu ürün agar'dır. Önceleri Uzak Doğuda üretilen bu ürün daha sonra Avrupa'da tanınmaya başlamış ve o zamanlarda Avrupa'da marmelatları katılaştırması için kullanılmıştır (Jensen, 1966). Kahverengi algler de kırmızı algler kadar oldukça önemlidir. Kahverengi alglerden elde edilen ürünler arasında aljinik asit ve aljinatlar yer almaktadır. Elde edilen bu ürünlerin değerinin anlaşılması 1897 yılında Stanford'un yaptığı çalışmalar sonucu olmuştur. 1929 yılına gelindiğinde ise aljinik asit ve aljinatların üretimi Amerika'da başlamıştır ve ürünlerin üretimi bir endüstri kolu olarak kabul edilmiştir (Myklestad, 1963).

Biyoteknolojik çalışmalarda küf ve mantarların kullanılmasının yanında alglerin de tercih edildiği görülmektedir. Bu çalışmalar üzerinde alglerin tercih edilmesinin en önemli nedenleri ise, günde kendi ağırlıklarını yaklaşık olarak iki katına kadar çıkartabiliyor olmaları, biyoteknolojik işlemler sürecinden geçişlerinin daha kolay olması, düşük bir maliyette olmaları,

çok sayıda yararlı maddeler içermeleri ve çevresel etkenlere karşı bir direnç gösterebilmelerinden dolayıdır. Alglerden elde edilen bu ürünler, bitki gelişimini %23 artırır. Algler, daha pek çok alanda kullanılır. Alginatlar, tıp ve onun için gerekli olan ilaç sanayiinde, ilaçların ana maddesi olarak da kullanılmaktadır. Yardımcı madde olarak, ilk planda yağ ve mumların sulu çözeltilerinin yüksek akıcılık özelliğine sahip oldukları için tercih ediliyorlar. Tabletlerde dolgu ve ayrışma maddesi olarak ve yağ maddesi bol olan kremlerin yapımlarında kullanılıyorlar. *Chlorella* üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda, bu mikroalgin karaciğer üzerinde çok etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Yağ alımı gibi karaciğer metabolizmasıyla bağlantılı, kan kolesterolü ve trigliseritlerin düzeylerini düşürür (Tübitak, 2003).

Denizlerin en önemli canlı kaynaklarından biri olan alglerden gıda, tarım, kozmetik, tıp, eczacılık ve endüstri dallarında yararlanılmaktadır. Algler, özellikle yeni farmasötik ajanların geliştirilmesinde önem taşıyan yüksek biyolojik aktiviteli sekonder metabolitlere sahiptirler (Gümüş, 2006; Cirik ve Cirik, 2011).

Çok hücreli ökaryotik organizmalardan olan makro algler denizlerin önemli canlılarından biridir. Dünya genelinde, 43 ülkede üretilen 28 milyon ton deniz yosunun 800 bin tonluk kısmı doğadan toplanırken %94'ü yetiştiricilik yoluyla elde edilmektedir (Ak, 2015).

Mikroalgler, mikroskobik canlılardır ve binlerce türüne tatlı sularda ve denizlerde rastlanır. Mikroalglerin beslenme amacı ile kullanılması fikri ilk kez, İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra ortaya atılmıştır. 1955'te Tokyo'da dünyanın ilk mikroalg (*Chlorella*) çiftliği kurulmuştur. Fransız Petrol Enstitüsü, 1965'te Güney Sahra'nın yerlilerinin Çat Gölü çevresinde oluşan *Spirulina* alglerini güneşte kuruttuktan sonra sebze olarak yediklerini gözlemlemiş ve mikroalgler üzerinde araştırmalara başlamıştır (Erdin ve Erdin, 2016).

Mikroalglerin tarıma elverişli olmayan arazilerde yetiştirilebilmesi önemli bir avantaj oluşturmaktadır. Ayrıca karasal bitkilere göre üretim süre ve döngüleri çok kısadır. Fermentasyon proseslerinin iklim koşullarından bağımsız olması, ayrıca "rekombinant biyoteknoloji" uygulamaları ile yeni suşların geliştirilmesi sonucunda yüksek miktarda, farklı, değerli tek hücre yağlarının üretilmesi diğer avantajlarıdır. Fotototrofik mikroalg üretimi ve işlenmesi için dünya çapında gelişmiş çeşitli teknolojiler kullanılmaktadır (Becker, 1994).

Algler renklerine göre, klorofil a, b ve c, β -karoten, astaksantin, fikosiyanin, ksantofil gibi önemli pigmentler üretirler. Bu pigmentlerin bir kısmı gıda sanayinde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Tüketicilerde sentetikler yerine doğal ürünlere doğru artan taleple birlikte

mikroalgler doğal renklendiriciler için önemli bir kaynak olarak gösterilmektedir (Begum vd., 2016).

Günümüzün en önemli sorunlarından biri olan küresel ısınma sera gazlarının etkisinden dolayı yaşanmakta ve fosil yakıtları kullanmaya devam ettiğimiz sürece atmosferde bu gazların birikmesinin önüne geçilemeyecektir. İşte tam da bu noktada mikroalgler devreye girmekte ve onlardan elde edilecek biyoenerjiyle hem sera gazlarının azaltılması hem de fosil yakıtlara alternatif olan bu enerji sayesinde küresel ısınmanın önüne geçileceği düşünülmektedir. Artan sanayileşme ve nüfus nedeniyle enerjiye duyulan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu enerjinin karşılanabilmesi için petrol, kömür, doğal gaz, hidro ve nükleer enerji santrallerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yukarıdaki enerji kaynaklarına alternatif olarak ve daha çevre dostu olan mikroalglerden farklı tiplerde yenilenebilir biyoyakıtlar üretilmektedir. Kısaca bu enerji tipleri algal biyokütlenin anaerobik parçalanması sonucu metan gazı üretimi, mikroalgal yağlardan biyodizel üretimi ve fotobiyotik olarak biyohidrojen üretimi şeklindedir (Hossain vd., 2008).

1.6. Mikroalglerin Antimikrobiyal Önemi

Bakteriyel enfeksiyonlar hem insanlarda hem de sucul organizmalarda ciddi sorunlara yol açmaktadır (Kandhasamy ve Arunachalam, 2008). Enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ilaçların bazı sınır değerleri bulunmaktadır. Bu sınır değerler, kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin direnç kazanmasını engellemek içindir. Bu sınır değerlerini de belirleyebilmek için bazı farmakokinetik testlere ihtiyaç duyulur (Al-Haj vd., 2009).

Antimikrobiyal maddeler, biyolojik kökenli, çok az yoğunluktaki değerlerde bile bakteri ve fungus çoğalmasını engelleyen bakteriostatik veya fungustatik etkilere sahip sekonder metabolitlerdir. Bunlar bakteri çoğalmasını engelleyici etkilerinin yanında bakterinin ölümünü sağlayan bakteriyosidal veya fungisidal gibi maddeler de içerebilir (Evrin vd., 2010).

Mikroalgler antimikrobiyal özellikteki maddeler üretebilen canlılardır. Yağ asitleri ve hidroksil doymamış yağ asitleri, glikolipitler, steroidler, fenolikler ve terpenoidler potansiyel antibiyotikler olduğu bilinmektedir (MacMillan ve diğerleri, 2002; Shanab, 2007; Tan, 2007). *Skeletonema costatum*' un yağ asitlerini kullanarak çeşitli deniz bakterilerini inhibe ettiği bildirilmiştir. *Chaetoceros muelleri*'in elde edilen ekstraktların mikrobiyal aktivitesi lipid bileşenleridir (Mendiola vd., 2007). *Chlamydomonas reinhardtii*, linolenik, linoleik, oleik ve palmitoleik asit gibi doymamış yağ asitlerine ve palmitik, stearik, miristik asit gibi doymuş yağ asitlerine sahiptir. *C. reinhardtii*'nin yağ asidi ekstraktlarının antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Sudalayandi ve diğerleri, 2012). *S. platensis*'in metanolik ekstraktından elde

edilen aktif yağ asidi olan Y-linolenik asitin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Demule ve diğerleri, 1996; Xue ve diğerleri, 2002). Gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı EPA (Eikozapentaenoik Asit) sentezleyebilen *Phaeodactylum tricornutum*, bunu yaparken mikromol düzeydeki EPA oranının yeterli olduğu tespit edilmiştir (Ward ve Singh, 2005). Antimikrobiyal aktivite de bu yağ asitlerinin zincir uzunlukları ve doymamışlık derecesine göre değerlendirilmektedir (Jüttner, 2001). Bundan dolayı serbest yağların kompozisyonu ve konsantrasyonu oldukça önemlidir (Benkendorff vd., 2005). Antimikrobiyal etki üzerine bir başka tespit ise sudaki bakterilere karşı *Scenedesmus costatum* 'un sentezlediği bazı bileşikler sayesinde bu etkinin varlığı ortaya konulmuştur. Ayrıca kolestrol gibi bileşiklerin yine antimikrobiyal özellikte olduğu tespit edilmiştir (Mendiola vd., 2007).

Mikroalglerdeki karbonhidratlar; nişasta, glikoz, şeker ve diğer polisakaritler şeklinde bulunabilir. Çoğu mikroalg polisakarit üretir. Beş tatlı su alg türü olan *Anabaena sphaerica*, *Chroococcus turgidus*, *Oscillatoria limnetica*, *Spirulina platensis* ve *Cosmarium leave* türlerinin, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Streptococcus faecalis*'e karşı antibakteriyel aktivite ye sahip polisakaritler içerdiği bildirilmiştir (Abdo vd, 2012). Alg türlerinin üretmiş olduğu pek çok farklı polisakarit arasında galaktanlar, fukoidan, laminarin ve aljinat önemli yer tutmaktadır (Ferreira vd, 2012). Laminerinler antibakteriyel özelliklere sahip kahverengi alglerde bulunan başlıca polisakaritlerden biridir (O'Doherty vd, 2010).

Mikroalgler tarafından üretilen ana karotenoidler, *Dunaliella salina*'dan p-karoten ve *Haematococcus pluvialis*'ten astaksantindir. Suda çözünen fikobiliproteinlerden; *Spirulina* (*Arthrospira*) türleri tarafından üretilen fikosiyanin (mavi) *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *E. coli*, *Bacillus* spp., ve *Pseudomonas* spp. türleri üzerine antibakteriyel etkiye sahiptir (Muthulakshmi vd., 2012; Murugan, 2012). *Anabaena cylindrical* ve tatlı sularda yaşayan filamentöz siyanobakteri olan *Westiellopsis* spp. tarafından üretilen fikosiyaninin Gram pozitif ve Gram negatifler üzerine etkisi olduğu bildirilmiştir (Sabarinathan vd., 2008; Abdo vd., 2012, Pradhan vd., 2014). (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Farklı alglerden elde edilen antibakteriyel bileşikler ve etki gösterdikleri bakteriyel patojenler (Pradhan vd., 2014).

Antibakteriyel içerik	mikroalg türü	Bakteriyel Patojen	Kaynaklar
Pigmentler	<i>Anabaena cylindrica</i> <i>Chlorococcum humicola</i> , <i>Spirulina platensis</i> , <i>Nostoc</i>	<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>E. coli</i> , <i>Enterobacteria aerogens</i>	Jaya Prakash et al. (2007) Bhagavathy et al. (2011) Muthulakshmi et al. (2012) Fan et al. (2013)
Yağ asidi ve yağlar	<i>Dunaliella salina</i> , <i>Haematococcus pluvialis</i> , <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , <i>Chaetoceros muelleri</i> , <i>Spirulina platensis</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , MRSA, <i>L'stonella anguillarum</i> , <i>Lactococcus garvieae</i> , <i>Vibrio</i> spp.	Xue et al. (2002), Herrero et al. (2006) Santoyo et al. (2009)
Karbonhidratlar	<i>Anabaena sphaerica</i> , <i>Chroococcus turgidus</i> , <i>Oscillatoria limnetica</i> , <i>S. platensis</i> , <i>Porphyridium cruentum</i>	<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>S. faecalis</i>	O'Doherty et al. (2010) Abdo et al. (2012)
Polifenoller	<i>Anabaena sphaerica</i> , <i>Chroococcus turgidus</i> , <i>Oscillatoria limnetica</i> , <i>Spirulina platensis</i>	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>E. coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>	Gao and Zhang (2010) Klejdus et al. (2010) Shu et al. (2011) Abdo et al. (2012) Hetta et al. (2014)

Genel olarak mikroalglerin antimikrobiyal aktivitesi çeşitli kimyasal sınıflara ait bileşiklerle ifade edilmektedir. Bu bileşikler indoller, terpenler, asetojenenler, fenoller, yağ asitleri ve uçucu halojen hidrokarbonlar, pigmentlerdir (Mayer ve Hamans, 2005; Cardozo vd., 2007). Buna ek olarak *Dunaliella*'nın çeşitli ekstrelerinde tespit edilen antimikrobiyal aktivite içeriğinde sadece yağ asidinin olmadığı aynı zamanda α - ve β -iyonon, β -siklositrat, neofitadin ve fenol gibi bileşiklerde görülmüştür (Herrero, 2006). Mikroalglerin antimikrobiyal aktivite

özelliğinden yararlanılarak sentetik kökenli antimikrobiyal bileşikler geliştirilmiş ve bu bileşikler gıda ve yem sanayinde katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Tramper vd., 2003).

1.6.1. Quorum sensing

Mikroorganizmalar kendi aktivitelerini yönetebilmek için küçük ve yayılabilen sinyal molekülleri üretirler. Bu aktiviteyi meydana getiren mekanizmaya “çoğunluk algılama” veya “quorum sensing” denilmektedir. Mikroorganizmalar bu mekanizma sayesinde üretilen sinyal moleküllerin yoğunluğu ölçebilmektedir ve çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını tayin edebilmektedir. Bir hücreden diğer bir hücreye aktarılan bu sinyal molekülleri sayesinde mikroorganizmalar kolonisel davranışlar sergileyebilmektedirler (Annous vd., 2009; Gün ve Ekinci, 2009).

Quorum sensing (QS) ilk olarak 1970’ lerde *Vibrio fischeri* türünde karakterize edilmiştir (Nealson vd., 1970). QS sistemleri bakterilerde lüminesans oluşumu, biyofilm oluşumu, antibiyotik üretimi, virülans faktörü ifadesi, pigment üretimi, bitki-mikrop etkileşimleri ve hareketlilik gibi fonksiyonların gerçekleşmesini sağlayan bir tür sinyal molekül sistemidir. (Hasting, vd., 1971; Schauder, vd., 2001).

QS molekülleri tarafından aktive olan biyofilm oluşumu, bakterilerin canlı veya cansız yüzeylere tutunmalarını sağlayan, kendi ürettikleri hücre dışı polimerik yapıdaki bir matriksten (ekzopolisakkarit=EPS) oluşur. Bakteriler mikrokoloniler şeklinde üretmiş oldukları bu EPS içerisine gömülü olarak yaşamlarına devam ederler. (Donlan ve Costerton, 2002). Biyofilm oluşumu bakterilerin çevresel stres faktörlerine karşı (antibiyotik, immun sistem, pH değişiklikleri vb) direnç göstermelerini sağlar. Bu oluşum bakteri açısından bakıldığında onu koruyan bir kalkan gibi görev yapması nedeni ile pozitif bir etkiye sahiptir (Wolfaardt vd., 1994; Rittmann vd., 2004), ancak insan ve hayvan sağlığı açısından değerlendirildiğinde klinikte oldukça zararlıdır. Epidemiyolojik çalışmalar biyofilm oluşumunun insanlarda görülen infeksiyonların %60’ından fazlasına neden olduğunu göstermiştir. Biyofilm oluşumu, insanlarda oluşan infeksiyonun oldukça uzun sürmesine ve tedaviye karşı dirence sebep olur. Biyofilm oluşturan bakteriler, konağın bağışıklık sistemine ve antibiyotiklere karşı oldukça dayanıklıdır (Brown vd., 1988; Costerton vd., 1995; Beveridge vd., 1997; Jesaitis vd., 2003; Leid vd., 2005).

Biyofilmler, üst solunum yolu infeksiyonları (*Pseudomonas aeruginosa*) (Govan ve Deretic, 1996), üriner sistem infeksiyonları (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) (Kahlmeter, 2003), katater ve diğer cihazlarla ilişkili infeksiyonlar (*E. coli*, *Enterococcus*

faecalis) (Sandoe vd., 2002; Ferrières vd., 2007; Jacobsen vd., 2008; Fey ve Olson, 2010; Reyes ve Zervos, 2013) gibi birçok kronik enfeksiyona neden olmaktadır. Özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda, biyofilm oluşturan patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlar ciddi semptomlara ve ölüme yol açabilmektedir (Kostakioti vd., 2013). Bu enfeksiyonların etkili bir şekilde önlenmesi için biyofilm oluşumunu engelleyen metodların kullanılması gerekmektedir.

Son yıllarda araştırmacılar biyofilm oluşumunu önlemek için yeni ajanların keşfi konusunda büyük çaba göstermektedirler. Biyofilm oluşumunu indükleyen mekanizmalardan birisi olan QS moleküllerinin baskılanması bu anlamda akılcı bir çözüm olarak karşımıza çıkmaktadır. Nitekim kırmızı bir makroalg olan *Delisea pulchra*'nın ürettiği olduğu furanon bileşiklerinin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia liquefaciens* de quorum sensing moleküllerini inhibe ettiği de gösterilmiştir (Manefield vd., 1999). Bununla birlikte furanon türevleri insan ve diğer memeli hayvanlarda toksik etki göstermektedir (Hentzer ve Givskov, 2003a). Bu nedenle alternatif ürün arayışlarının devam etmesi gerekmektedir.

1.6.2. Anti-quorum sensing

QS üzerine gerçekleştirilen çoğu araştırmanın odak noktası mikroorganizmaların çoğunluk algılama mekanizması üzerinedir. Bu mekanizmanın belirlenmesi ve mekanizmanın işlevini bozma çalışmaları ağırlıkta olup bu sayede mikroorganizmaların kontrol altına alınması amaçlanmaktadır. Hücreler arası iletişimin engellenmesi üzerine gerçekleştirilen çalışmalar “Quorum Quenching” (QQ) olarak ifade edilmektedir. QQ ve QS mekanizmaları birbirinin antagonisti olan bir işlemdir. Mikroorganizmaların patojenitesi ve biyofilm oluşumlarının önüne geçilebilmesi için birçok enzim ve inhibitör kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak klinikler ve gıda fabrikalarında biyofilm oluşumun engellenmesi için QQ ve QS moleküllerinin mikroorganizmalar tarafından üretilmesinin durdurulması, inhibisyonu veya moleküllerin parçalanması gibi araştırmalar gerçekleştirilmektedir (Ulrich, 2004; Song vd., 2014).

Anti-çoğunluk algılayıcı (anti-QS) ajanlar olarak adlandırılan hücre-hücre iletişimini önleyen bileşiklerin keşfi, enfeksiyon ile mücadele için yeni ufuklar açmaktadır (Hentzer ve Givskov, 2003b; Smith ve Iglewski, 2003).

Anti-QS ajanları ilk kez kırmızı deniz yosunu *Delisea pulchura*'da tanımlanmıştır (Manefield vd., 1999). Bu yosunun halojenli furanonları, AHL'leri (QS molekülü), LuxR'nin rekabetçi inhibisyonu yoluyla bloke eden bileşikler içerdiği bulunmuştur (Manefield vd., 2002). Ayrıca *Delisea* furanonlarının *Vibrio* türlerindeki ışık emisyonunu azalttığı (Givskov vd., 1996),

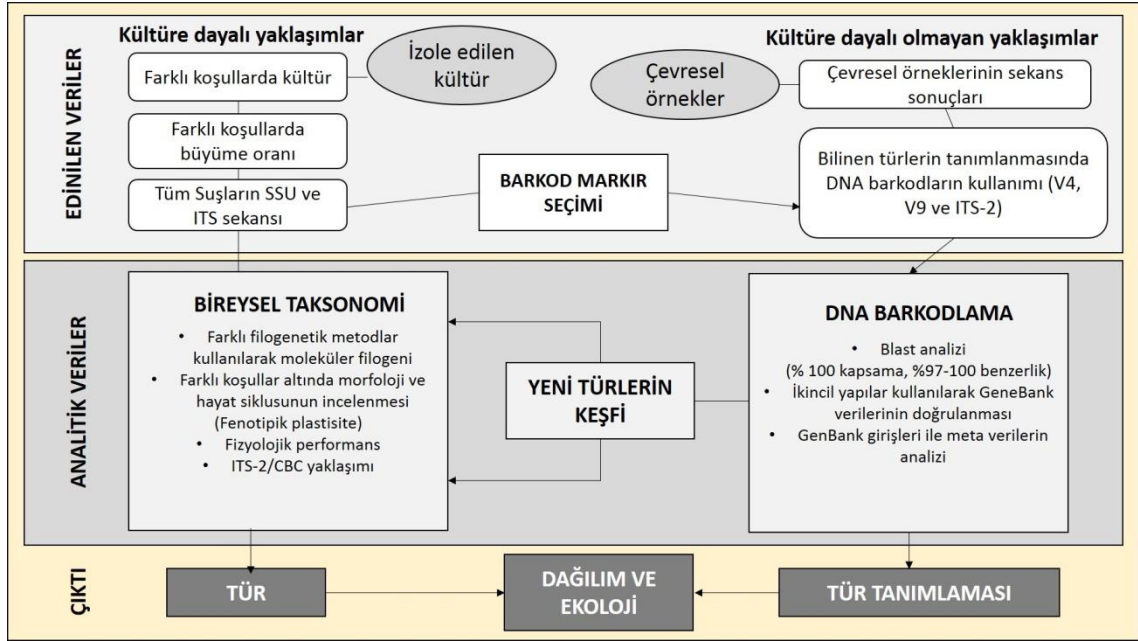
Bakterilerdeki QS inhibisyonunu sağlayan çeşitli doğal ajanların keşfi infeksiyonların tedavisinde de önemli bir adım olacaktır. Biyolojik materyallerin (bitki, mantar, yosun ekstraktları) QS inhibisyon potansiyellerinin araştırmalarında *C. violaceum* bakterisi ve QS tarafından indüklenen mor pigment oluşumu araştırmacılara büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Bu bakteride pigment oluşumunu inhibe eden ürünler potansiyel anti-QS molekülleri olarak nitelendirilebilmektedir. *C. violaceum*' de anti-QS mekanizmaları genel olarak aşağıdaki prensiplere dayanır:

1. CviI tarafından üretilen AHL' ler, doğal veya sentetik moleküller tarafından rekabete sokularak inhibe edilir. Bu ürünler CviR' nin bağlanma ucu ile inaktif kompleksler oluşturarak CviR' nin fonksiyonunu engeller.
2. Çeşitli enzimler (laktonazlar, asilazlar ve oksidoredüktazlar) ile AHL moleküllerinde biyotransformasyona neden olur. Böylece QS yanıtının zayıflatılması ya da inaktivasyonu sağlanır.

Özellikle ilk bahsedilen inhibisyon mekanizması üzerinde oldukça fazla sayıda çalışma bulunmaktadır. *C. violaceum* QS molekülleri, çeşitli sulu ve organik bitki ekstraktları ile inhibe edilebilmiştir. Bununla birlikte, bitki ekstraktında görülen inhibitör etken maddeler tam olarak tanımlanmamıştır (Duran vd., 2016). İçeriği tanımlanabilen bitkisel ekstraktlar da bulunmaktadır. Bunlar arasında vanilya, zencefil, anason, kaju fıstığı yer almaktadır. Bu ekstraktlarda ortak olan yapılar değişken uzunluktaki para- veya meta-alifatik yan zincirleri içeren aromatik fenolik halkalardır (Choo vd., 2006; Chong vd., 2011; Castillo-Juárez vd., 2013; Zhou vd., 2013; Kumar vd., 2014, Duran vd., 2016).

1.7. Alg Türlerinde Moleküler Tanı Yöntemleri

Alg taksonomisi algal genetik, fizyoloji ve ekoloji ile birlikte değerlendirilmelidir. Tanımlama hataları genellikle organizmaların küçük olmasından kaynaklanır. Ayrıca taksonomik uzmanlık olmadan ayırt edilmesi zor olan morfolojilerden kaynaklanır. Algler, ekosistem süreçlerini anlamak, korumak için önemli su organizmalarıdır. Suculların doğru ekolojik ve biyolojik değerlendirmeleri habitatların koşullarının doğru yorumlanması için anlamlı bir algal tanımlama gerektirir (Rimet, 2012). Alglerin taksonomik olarak tanımlanması onları evrimsel ve ekolojik olarak ilişkilendirmesini sağlar (Stevenson, 2006; Bellinger ve Sigeo 2010; Schneider vd., 2011). Doğru bir taksonomik tanımlama tutarlılık sağlar ve coğrafi ekolojik çıkarımların aktarılabilirliği açısından önemlidir (Kahlert vd., 2008).

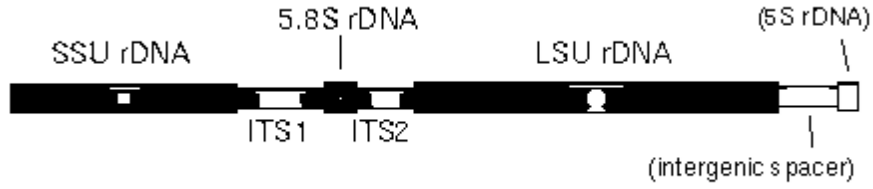


Şekil 1.4. Yeşil alglerin tanımlamasında (Darienکو vd. 2015) tarafından kullanılan tanımlama şeması.

Türlerin moleküler tanımlanması 2 şekilde yapılabilir; kültür sonrası ve kültüre edilmeden tanımlama gibi. Bu iki yöntemeye dayalı tiplendirme aşamalarına Şekil 1.4.' te yer verilmiştir.

Hücrelerde ribozomal RNA büyük ve küçük alt birimden oluşur. Ökaryot hücrelerdeki büyük alt birim (LSU) 5S, 5.8S ve 28S' den, küçük alt birim (SSU) ise 18S' den meydana gelir. Ribozomal DNA içerisindeki ITS (Internal Transcribed Spacers) bölgeleri tekrarlanan bölgedir. (Vrain vd., 1992; Powers ve Harris, 1993; Curran ve Driver, 1994; Reid, 1994; Hominick vd., 1996). 18S ile 5.8S arasında yer alan ITS1 ve 5.8S ile 28S arasında yer alan ITS2 ribozomal RNA (rRNA) genleri dizi analizlerinde sıklıkla kullanılan hedef DNA bölgeleridir (Şekil 1.4). Başlangıçta ITS bölgeleri cinsler arası ayrımlarda kullanılırken artık türüçi ayrımlarda da kullanılabilmektedir. (Petersen ve Vrain, 1996). SSU rDNA'nın çoğaltılması ve sıralanması çeşitli habitatlardaki çeşitli mikrobiyal tayinde yaygın olarak kullanılmaktadır. (Hugenholtz vd., 1998; Roesch vd., 2007; Brown vd., 2009). Bu gen bölgeleri ve bunlara ilavete *tufA*, *rbcL* gen bölgelerinin dizi analizine dayalı tanımlamada yeşil alg türlerinde en sık kullanılan bölgeler arasında yer almaktadır. Çizelge 1.4' te alg türlerinin DNA

bazlı tanımlamasında kullanılan gen bölgeleri ve yapılan çalışmalar verilmiştir (Leliaert vd., 2014).



Şekil 1.5. Nükleer ribozomal operon üzerinde yer alan gen bölgeleri.

Çizelge 1.4. DNA bazlı tür sınıflandırması ve / veya temel algal gruplarından yeşil alglerde barkodlama için kullanılan ana markırlar (Leliaert vd, 2014).

Alg grupları	Marker			Kaynaklar
	Plastid	Mitokondrial	Nükleer	
Yeşil algler	<i>tufA</i> , <i>rbcL</i>		SSU rDNA, LSU rDNA, rDNA ITS	Verbruggen <i>et al.</i> , 2007; Leliaert <i>et al.</i> , 2009; Hall <i>et al.</i> , 2010; Luo <i>et al.</i> , 2010; Saunders & Kucera, 2010; Škaloud & Peksa, 2010; Fucikova <i>et al.</i> , 2011; Rindi <i>et al.</i> , 2011; Škaloud & Rindi, 2013; Subirana <i>et al.</i> , 2013.

Bu çalışmada çeşitli tatlı su örneklerinden izole edilen 7 alg türünün antimikrobiyal, antifungal ve anti-QS aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu 7 alg türünün hastane kaynaklı MRSA türü üzerine antimikrobiyal aktivitesi de test edilmiştir.

2. MATERYAL METOD

Su örnekleri: Bu çalışmada kullanılan 60 adet tatlı su örneği Kütahya ilinin merkez ilçesi ve köylerinde bulunan tatlı su kaynaklarından, katı atık ünitesinden ve mezbaha atık su çıkışından toplanmıştır. Bu su örneklerinden alg kültürlerinin elde edildiği kaynaklar ve koordinatları Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Su örneklerinin alındığı bölgeler ve koordinatları.

Örnek kodu	Kaynağı	Koordinatlar	Örneğin alındığı tarih
B1	Mezbaha	39°26’10’’ K 30°1’27’’ D	08/02/2016
B6	Toki Yedigöller	39°26’23’’ K 29°58’50’’ D	07/03/2016
B27	DPÜ Büyük Gölet	39°28’29’’ K 29°54’5’’ D	25/04/2016
T14	DPÜ Küçük Gölet	39°28’50’’ K 29°53’57’’ D	02/05/2016
T15	DPÜ Taş Şelale	39°28’51’’ K 29°53’51’’ D	02/05/2016
T16	DPÜ Taş Şelale Birikintisi	39°28’51’’ K 29°53’51’’ D	02/05/2016
K3	Aritma Yoğunluk Havuzu	39°26’19’’ K 30°1’23’’ D	15/02/2016

Çalışmada kullanılan standart bakteri örnekleri Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu’ndan temin edilmiştir (Çizelge 2.2). MRSA suşları Evliya Çelebi Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü’nden temin edilmiştir.

Çizelge 2.2. Antimikrobiyal ve anti-QS aktivitenin belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar.

Mikroorganizma İsmi	Kodu
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258
<i>Chromobacterium violaceum</i>	ATCC 12472

Besiyerleri

Besiyeri 1. P49 Medium Agar

MgSO ₄ 7H ₂ O	4.0 g
Na ₂ glycerophosphate5H ₂ O	5.0 g
KCl	5.0 g
Glycylglycine	5.0 g
P-IV metal solution	6 mL
NH ₄ NO ₃	1.0 g
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.74 g
Yeast extract	0.2 g
Tryptone	0.4 g
Vitamin B ₁₂	1 mL
Biotin vitamin solution	1 mL
Thiamine vitamin solution	1 mL
Saf su	1000 mL

Besiyeri 2. Modified Bold 3N Medium

NaNO ₃	10.0 g
CaCl ₂ 2H ₂ O	1.0 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	3.0 g
K ₂ HPO ₄	3.0 g
KH ₂ PO ₄	7.0 g
NaCl	1.0 g
P-IV metal solution	6.0 mL
Soilwater	40 mL
Vitamin B ₁₂	1 mL
Biotin vitamin solution	1 mL
Thiamine vitamin solution	1 mL
Saf su	1000 mL

Besiyeri 3. Nutrient Agar

Nutrient broth	8 g
Agar	15.0 g
Saf su	1000 mL

Besiyeri 4. Nutrient Broth

Nutrient broth	8g
Saf su	1000 mL

Besiyeri 5. LB Broth

LB broth	20 g
Agar	15 g
Saf su	1000 mL

Besiyeri 6. Mueller-hinton agar

Mueller-hinton broth	21 g
Agar	15 g
Saf su	1000 mL

Çözeltiler**Çözelti 1. Fizyolojik Tuz Çözeltisi**

NaCl	8.5 g
Saf su	1000 mL

Çözelti 2. Mc Farland Standardı

BaCl ₂ (%1.175, 0.048 M)	0.5 mL
H ₂ SO ₄ (%1, 0.18 M)	99.5 mL

Hazırlanan çözeltinin absorbans değeri 0.08-0.10 aralığında olacak şekilde spektrofotometrede 625 nm dalga boyunda okutulur ve 0.5 Mc Farlan standardı elde edilir.

2.1. Metod**2.1.1. Su örneklerinin toplanması ve mikroalg türlerinin izolasyonu**

Bu çalışmada Kütahya'da bulunan çeşitli tatlı su kaynaklarından, katı atık ünitesinden ve mezbaha atık su çıkışından 60 adet su örneği toplandı. Örnekler 2016 yılının Şubat- Haziran aylarında toplanıp, steril numune kaplarında laboratuara getirildi. Su örnekleri hiç bekletilmeden çalışmaya başlandı. Su örnekleri 30 mL olacak şekilde falkon tüplerinde 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün üzerinden 20 mL alınarak atıldı ve tekrar aynı su örneğinden toplamda 40 mL olacak şekilde 30 mL daha eklendi, ikinci kez 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Son kez üzerinden 30 mL alınarak atıldı, aynı su örneğinden 40 mL eklenerek 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Tüplerin dipte kalan kısmından 100 µL P49 Agar ve Modified Bold 3N Agar besiyerlerine aktarılarak yayma yöntemi ile ekim yapıldı. Yapay ışık kaynağı olarak floresan lambalar kullanıldı. Işık yoğunluğu 130 µmol foton/m²·sn olarak ölçüldü (Lux METER)(LX-101). Işık 18:6 saatlik dilimlerinde kullanıldı. Isı 23±2 °C olacak şekilde ayarlandı. Yaklaşık 3 hafta inkübasyon süresi sonunda oluşan yeşil renkli koloniler mikrolg olarak kabul edildi.

2.1.2. Alglerin çoğaltılması

Su örneklerinden izole edilerek katı besiyerinde pasajlanan algler sıvı besiyerlerinde çoğaltıldı. Önce 10 mL P49 Medium ve Modified Bold 3N Medium sıvı besiyerlerine algler inoküle edildi. Hazırlanan boru sistemi ile alglere sürekli hava verildi. Yaklaşık 3 haftanın

ardından çoğalan algler 50 mL'lik sıvı besiyerlerine aktarıldı. 50 mL'de çoğalan algler 200 mL'ye ve 200 mL de çoğalan algler 1000 mL aktararak çoğaltma yapıldı.

2.1.3. Alglerin kurutulması

1000 mL' deki çoğalmanın ardından alglerin hava bağlantısı kapatılarak dibe çökmesi sağlandı. Üstte kalan sıvı besiyeri atılarak örnekler birkaç kez steril distile su ile yıkandı. Daha sonra algler petrilere dökülerek 40 °C etüvde kurutuldu. Etüvde kuruyan algler havanda dövülerek toz haline getirildi ve antimikrobiyal ve anti çoğunluk algılama aktivitelerini belirlemek için hazır hale getirildi.

Su örneklerinden izole edilerek sıvı besiyerine çoğaltılan alglerin kurutma prosesi sonrası ağırlıkları; B1 0.8 gr, B6 0.5240 gr, B27 0.6954 gr, T14 0.35 gr, T15 0.8380 gr, T16 0.03628 gr ve K3 1.51 gr olarak belirlendi.

2.1.4. Alg ekstratlarının hazırlanması

Toz haldeki algler kurutma kâğıdından yapılan kartuşların içine boşaltılarak ağızları zımba ile sıkıca kapatıldı. Zımba ile kapatılan tarafa ip bağlanarak 250 mL' lik erlenlerden içeri sarkıtıldı. Erlenlere önce 100 mL ethanol ilave edilerek 35 °C 150 rpm' e ayarlanmış inkübatörde 4 saat bekletildi. 4 saatin sonunda çözücüdeki kartuşlar ethanolün uçması için petrilere alındı (Nair ve Chanda; 2005). Darası alınan erlenlere ekstratlar alınarak 37 °C' de ethanolün uçması beklendi. Ethanol uçtuktan sonra tartım yapılarak ne kadar ekstrat elde edildiği hesaplandı. Kartuş daha sonra sırası ile methanol, kloroform ve su ile muamele edilerek aynı işlemler tekrarlandı.

2.1.5. Alglerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Antibakteriyal aktivitenin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Bunun için hazırlanan ekstratlardan eppendorflara 200 µg örneklerden alınarak 500 µL DMSO ile çözdürüldü. Deneyde kullanılacak olan mikroorganizmaların bulanıklığı 0.5 Mc Farland standardına göre ayarlandı. 0.5 Mc Farland standardına göre hazırlanan *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida krusei* mueller hinton agara, steril eküvyonlar kullanılarak inoküle edildi. 15 dakika bekletilen petrilere yüzeyine steril kâğıt diskler yerleştirildi. Bu kâğıt disklerin üzerine alg ekstratları 30 µL olacak şekilde emdirildi. Tekrar 15 dakikalık sürenin sonunda petrilere 37 °C' de 48 saat inkübasyona bırakıldı.

2.1.6. Metisilin dirençli *S. aureus* türleri üzerine antimikrobiyal etkinin değerlendirilmesi

ATCC *S. aureus* türüne etkili olan alg türleri ve ekstraktları belirlenerek 18 adet hastane kaynaklı MRSA türleri üzerine etkileri araştırıldı. Bu amaçla T16 alg türünün tekrar çoğaltım prosesi gerçekleştirildi. T16 alg türünün *S. aureus* suşuna en etkili olduğu saptanan etanol ekstraktı hazırlandı ve antimikrobiyal çalışmada kullanılmak üzere 1 mg/mL olacak şekilde DMSO ile çözdürüldü. MRSA suşları yoğunlukları McFarland 0.5 olacak şekilde seyreltildi ve MHA üzerine ekildi 6 mm çapındaki diskler yerleştirilerek üzerine 10 µL alg ekstraktı damlatıldı. Petriler 24 saat 37 C' de inkübe edildi. Bu sürenin sonunda zon çapları ölçülerek değerlendirme yapıldı.



Şekil 2.1. T16 numaralı algin katı ve sıvı besi ortamında çoğaltılması ve etanol ekstraktının eldesi.

2.1.7. *C. violaceum*' un anti-çoğunluk algılama (anti-QS) aktivitesinin belirlenmesi

C. violaceum' un anti-qs aktivitesinin belirlenmesi için *C. violaceum* türü 0.5 McFarland standardına göre yoğunluğu ayarlandı ve MHA üzerine ekim yapıldı. Ekimi yapılan *C. violaceum* türünün üzerine 6 mm çapındaki diskler yerleştirilerek üzerine 1 mg/mL olacak şekilde DMSO ile çözülen alg ekstratları (etanol, metanol, kloroform ve su) 10 µL olacak şekilde damlatıldı. Pozitif kontrol olarak eritromisin 15 mcg (oxid) , negatif kontrol olarak DMSO kullanıldı. Petriler 48 saat 28 °C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda disklerin etrafında pigment oluşum özelliğini kaybetmiş beyaz kolonilerin varlığı değerlendirildi. Kolonilerin beyaz renk oluşumu pozitif, mor renk oluşları negatif olarak değerlendirildi.

2.1.8. Moleküler karakterizasyon

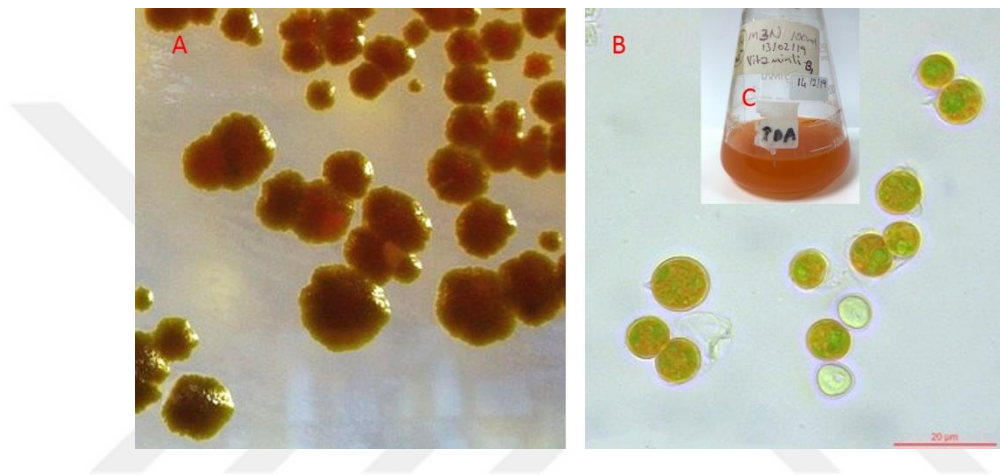
Bu çalışmada alglerin DNA ekstraksiyonları sonrasında ribosomal RNA büyük alt grubuna ait gen bölgeleri (LSU) PZR ile çoğaltıldı. Çoğaltılma amacı ile LSUalgF- LSUalgR primerleri kullanıldı (Şentürk, 2016). Morfolojik veriler ve gen dizi sekanslarının BLAST veri sonuçları ortak değerlendirilerek izole edilen alg türleri tanımlandı.



3. BULGULAR

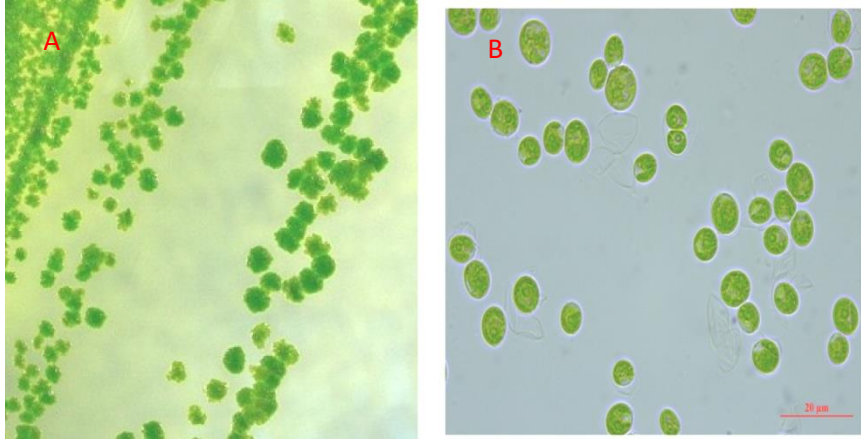
3.1. Alglerin Makroskopik ve Mikroskopik Bulguları

Su örneklerinden 7 adet alg kültürü saf olarak elde edildi. Bu örnekler sırası ile B1, B6, B27, T14, T15, T16, ve K3' tür. Bu alglerin m3N-BBM agar ve P49 agardaki koloni morfolojileri ve kolonilere ait mikroskopik görüntülere Şekil 3.1., 3.2., 3.3, 3.4., 3.5., 3.6., 3.7.de yer verildi.



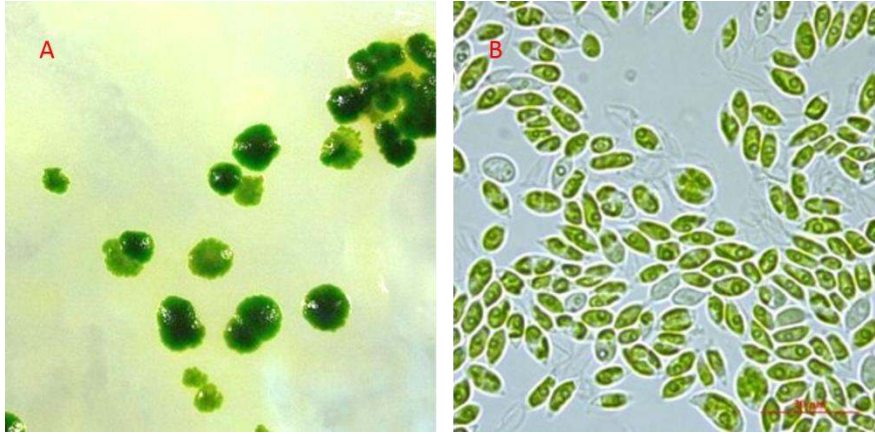
Şekil 3.1. B1 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B), m3N-BBM sıvı besiyerinde üreme (C).

B1 kodlu alg türü makroskopik olarak katı besiyerinde incelendiğinde; üremenin ilk evrelerinde yeşil koloni formasyonuna sahip olduğu bununla birlikte inkübasyon periyodunun uzamasına bağlı olarak besin maddelerinin azalması sonrası kırmızı renge dönüştüğü tespit edildi. Mikroskopik olarak bakıldığında ise; yeşil-kahverengi renkte, kok şeklindedir.



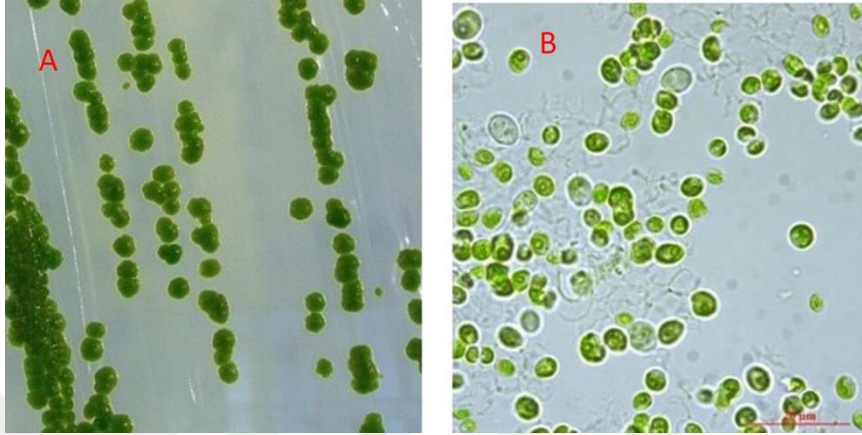
Şekil 3.2. B6 nolu mikroalg türünün P49 katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).

B6 kodlu alg türü makroskopik olarak katı besiyerinde incelendiğinde; açık yeşil renkte, kenarlarının oldukça girintili-çıkıntılı, yüzeylerinin pürüzlü olduğu tespit edildi. Mikroskopik olarak incelendiğinde ise; kokobasil oldukları tespit edildi.



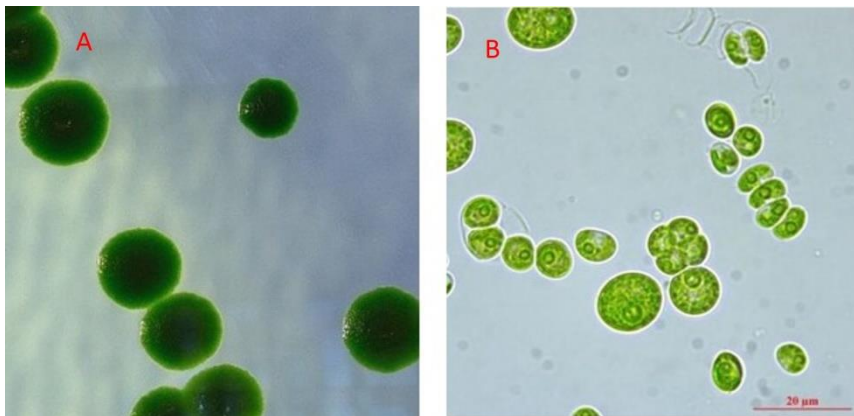
Şekil 3.3. B27 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).

B27 kodlu alg türü makroskobik olarak katı besiyerinde incelendiğinde; açık yeşil ve koyu yeşil kolonilerin olduğu, yüzeylerinin pürüzlü olduğu tespit edildi. Mikroskopik incelemesi yapılan B27 kodlu türün mekik şeklinde olduğu tespit edildi.



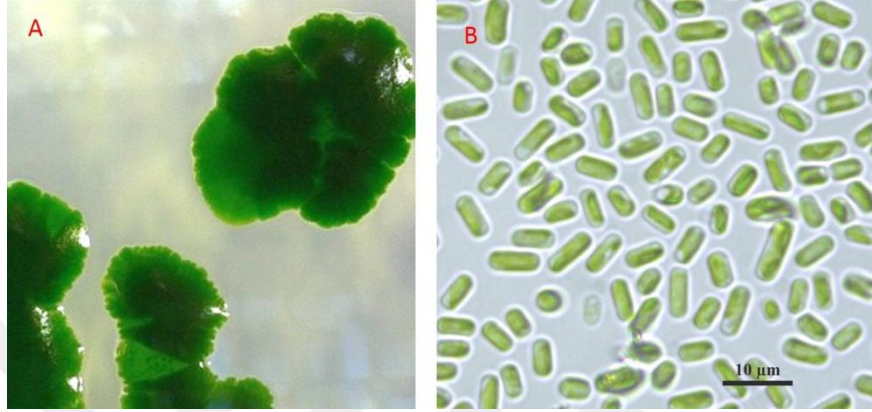
Şekil 3.4. T14 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).

T14 kodlu alg türü makroskobik olarak katı besiyerinde incelendiğinde; yüzeyleri pürüzlü, açık yeşil renkte, kubbeli formda oldukları tespit edildi. T14 türü mikroskopik olarak incelendiğinde; kokobasil formda olduğu tespit edildi.



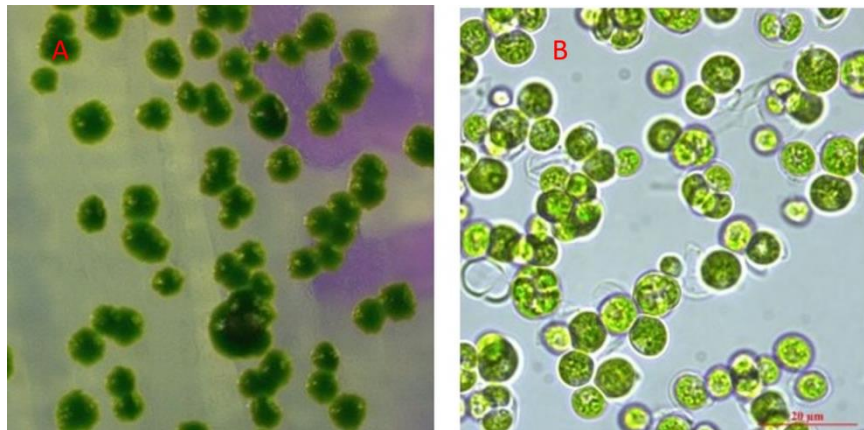
Şekil 3.5. T15 nolu mikroalg türünün P49 katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskopik morfolojisi (x100)(B).

T15 kodlu alg türü makroskobik olarak katı besiyerinde incelendiğinde; ortası koyu yeşil kenarları açık yeşil, yüzeyleri düğme şeklinde ve pürüzlü kononiler tespit edildi. Mikroskobik olarak incelendiğinde ise; kokobasil formda oldukları tespit edildi.



Şekil 3.6. T16 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskobik morfolojisi (x100)(B).

T16 kodlu alg türü katı besiyerinde makroskobik olarak incelendiğinde; kenarları açık yeşil ve girintili-çıkıntılı, ortası koyu yeşil, yüzeyi düğme şeklinde koloniler tespit edildi. Mikroskobik olarak incelendiğinde ise; basil şeklinde oldukları tespit edildi.



Şekil 3.7. K3 nolu mikroalg türünün m3N-BBM katı besiyeri üzerindeki koloni morfolojisi (A) ve mikroskobik morfolojisi (x100)(B).

K3 kodlu alg türü katı besiyerinde makroskobik olarak incelendiğinde; açık yeşil renkte, kubbe şeklinde yükselteleri olan koloniler tespit edildi. Mikroskobik olarak incelendiğinde ise; dairesel şekillerinin olduğu tespit edildi.

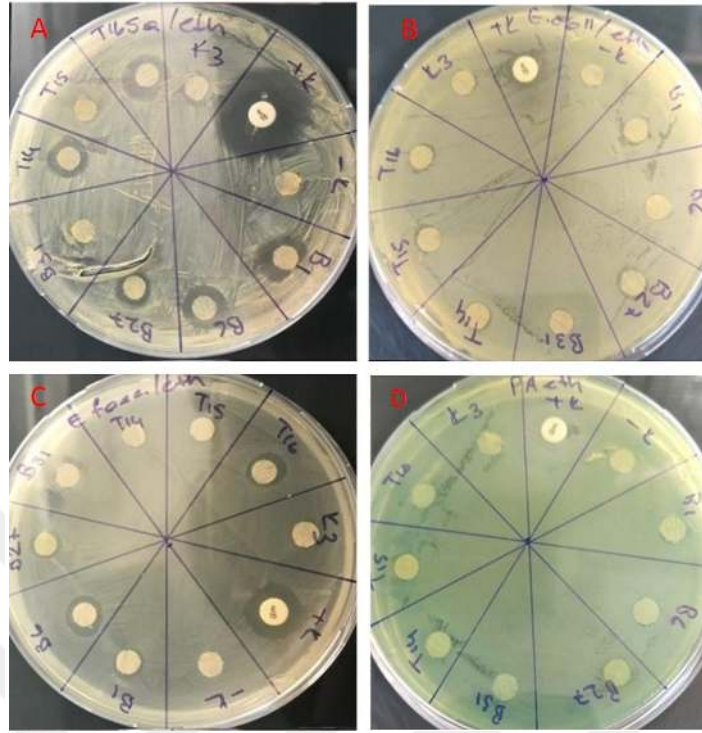
3.2. Alg Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkinliğinin Değerlendirilmesi

S. aureus, *E. faecalis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterileri insanlarda ve hayvanlarda patojen etkilere sahip enfeksiyöz karakterde bakterilerdir. Bu çalışmada alg ekstraktlarının bu patojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkinliği araştırıldı. Ayrıca patojen karakterde bir maya türü olan *Candida krusei* türü üzerine alg ekstraktlarını antifungal etkinliği incelendi. Çalışma kapsamında izole edilen 7 adet alg türüne (B1, B6, B27, T14, T15, T16, K3) ait etanol, metanol, kloroform ve su ekstraktları kullanıldı. Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkinliğin gözlemlendiği besiyerlerine ilişkin görseller Şekil 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11,'de veriler ise çizelge 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4 'de verildi. Maya üzerine antimikrobiyal etkinlik saptanamadı.

Çizelge 3.1. Antimikrobiyal etkinlikte zon çapları.

Zon çapları (mm)	Antimikrobiyal etkinlik
6-9	Zayıf
10-12	Orta
13-15*	İyi

(*Bakteri türlerinin antibiyotik duyarlılık çapları esas alınarak değerler oluşturulmuştur.)



Şekil 3.8. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin etanol ekstraktlarının *S. aureus* (A), *E. coli* (B), *E. faecalis* (C) ve *P. aeruginosa* (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.

Çizelge 3.2. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.

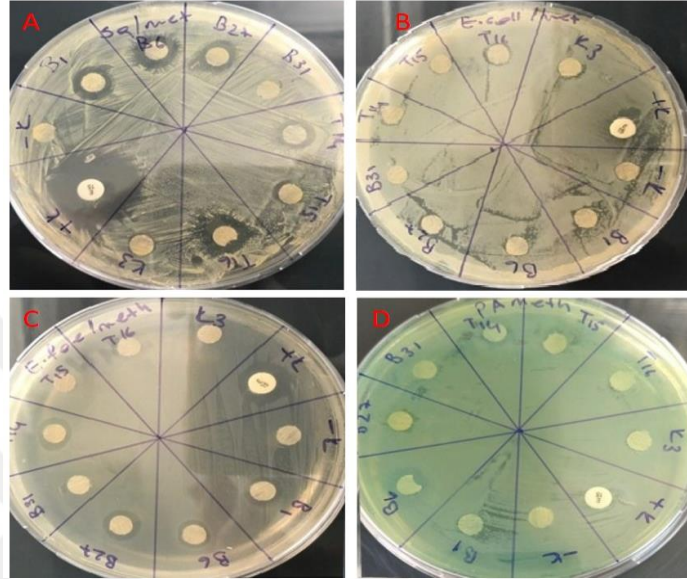
Alg türleri	Bakteriler*				Maya
	Gram negatif		Gram pozitif		Candida krusei ATCC 6258
	Escherichia coli ATCC 25922	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Staphylococcus aureus ATCC 29213	Enterococcus faecalis ATCC 29212	
B1	-	-	13	7	-
B6	-	-	11	10	-
B27	-	-	9	8	-
T14	-	-	11	7	-
T15	-	-	-	7	-
T16	-	-	12	9	-
K3	-	-	8	8	-
K+	-	-	24	13	-
K-	-	-	-	-	-

*Test içindeki disklerin çapı 6 mm' dir. Pozitif kontrol (K+): eritromisin 15 mcg (oxoid).

Negatif kontrol (K-): DMSO.

Etanol ekstratı hazırlanan alglerin antimikrobiyal aktivitesi tabloda görüldüğü üzere; en iyi sonucu Gram pozitif bakterilerde vermiştir. *S. aureus* türüne karşı B1, B6, T14 ve T16 kodlu

algler iyi derecede antimikrobiyal aktivite, B27 ve K3 kodlu algler ise orta derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *E. faecalis* türüne karşı B6 iyi derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir.



Şekil 3.9. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin metanol ekstraktlarının *S. aureus* (A), *E. coli* (B), *E. faecalis* (C) ve *P. aeruginosa* (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.

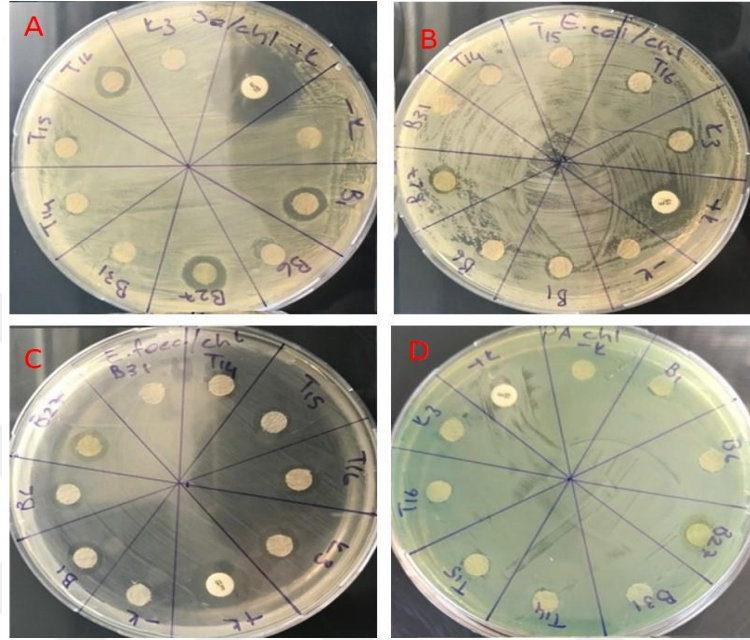
Çizelge 3.3. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.

Alg türleri	Bakteriler*				Maya
	Gram negatif		Gram pozitif		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Candida krusei</i> ATCC6258
B1	-	-	10	9	-
B6	-	-	11	9	-
B27	7	-	10	10	-
T14	-	-	10	9	-
T15	6	-	6	-	-
T16	8	-	12	9	-
K3	-	-	6	-	-
K+	-	-	24	12	-
K-	-	-	-	-	-

*Test içindeki disklerin çapı 6 mm' dir. Pozitif kontrol (K+): eritromisin 15 mcg (oxoid).

Negatif kontrol (K-): DMSO.

Metanol ekstratı hazırlanan alglerden *S. aureus* türüne karşı iyi derecede aktiviteyi B1, B6, B27, T14 ve T16 kodlu agler göstermiştir. *E. faecalis* türüne karşı iyi derecede antimikrobiyal aktiviteyi ise B27 kodlu alg göstermiştir.



Şekil 3.10. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin kloroform ekstraktlarının *S. aureus* (A), *E. coli* (B), *E. faecalis* (C) ve *P. aeruginosa* (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.

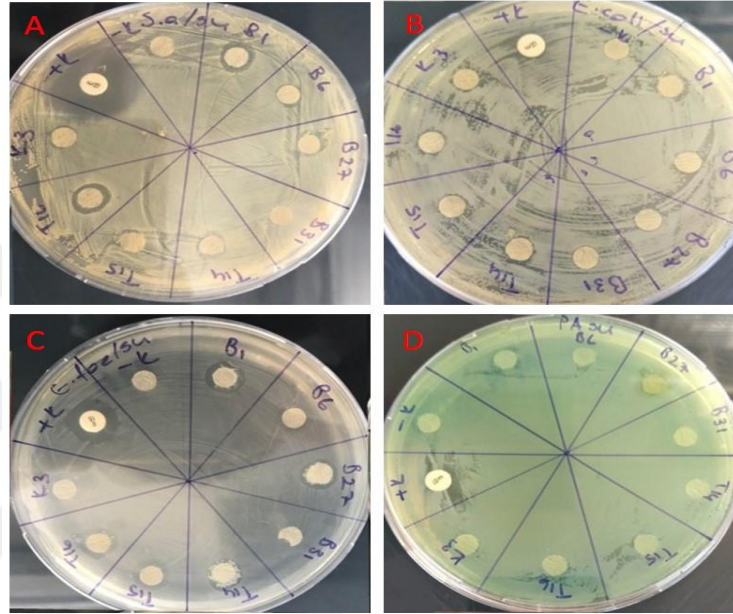
Çizelge 3.4. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.

Alg Türleri	Bakteriler*				Maya
	Gram negatif		Gram pozitif		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Candida krusei</i> ATCC6258
B1	7	-	13	9	-
B6	-	-	-	9	-
B27	8	-	11	9	-
T14	-	-	6	8	-
T15	7	-	6	9	-
T16	-	-	10	9	-
K3	8	-	6	9	-
K+	12	-	23	13	-
K-	-	-	-	-	-

*Test içindeki disklerin çapı 6 mm' dir. Pozitif kontrol (K+): eritromisin 15 mcg (oxoid).

Negatif kontrol (K-): DMSO.

Kloroform ekstratı hazırlanan alglerden *S. aureus* türüne karşı iyi derecede antimikrobiyal aktiviteyi B1, B27 ve T16 kodlu algler göstermiştir. *E. faecalis* türüne karşı ise B1, B6, B27, T15, T16 ve K3 kodlu alglerde orta derecede antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir.



Şekil 3.11. Çalışma kapsamında izole edilen alg türlerinin su ekstraktlarının *S. aureus* (A), *E. coli* (B), *E. faecalis* (C) ve *P. aeruginosa* (D) türleri üzerine antimikrobiyal etkinliği.

Çizelge 3.5. Alg türlerinin kloroform ekstraktlarının test mikroorganizmalarına karşı gösterdiği antimikrobiyal ve antifungal aktivite.

Alg türleri	Bakteriler*				Maya
	Gram negatif		Gram pozitif		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Candida krusei</i>
	ATCC 25922	ATCC 27853	ATCC 29213	ATCC 29212	ATCC6258
B1	-	-	9	10	-
B6	-	-	6	7	-
B27	-	-	6	8	-
T14	-	-	8	9	-
T15	-	-	-	9	-
T16	-	-	9	10	-
K3	-	-	6	9	-
K+	-	-	22	13	-
K-	-	-	-	-	-

*Test içindeki disklerin çapı 6 mm' dir. Pozitif kontrol (K+): eritromisin 15 mcg (oxoid).

Negatif kontrol (K-): DMSO.

Su ekstratı hazırlanan alglerden *S. aureus* türüne karşı B1, T14 ve T16 kodlu alglerde orta derecede antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir. *E. faecalis* türüne karşı ise B1, T14, T15, T16 ve K3 kodlu alglerde orta derecede antimikrobiyal aktivite belirlenmiştir.

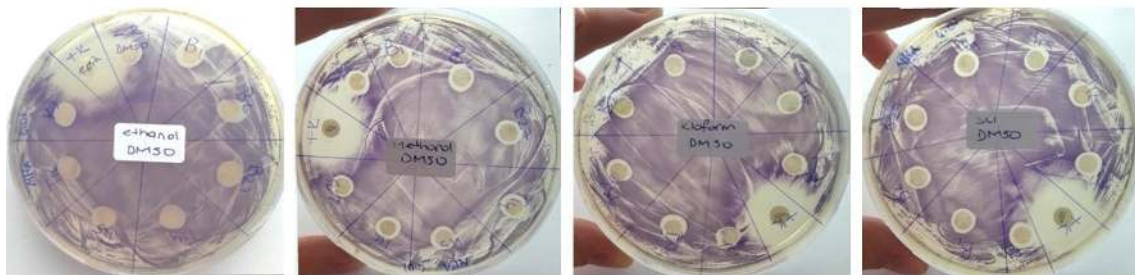
Antimikrobiyal testlerde kullanılan 7 alg türünün *C. krusei* türüne karşı antifungal etkinliği saptanmamıştır.

3.3. Metisilin Dirençli *S. aureus* Türleri Üzerine Antimikrobiyal Etkinin Değerlendirilmesi

Bir önceki çalışma bulgularında *S. aureus* türleri üzerine etkili olduğu görülen T16 numaralı alg türü tekrar üretilerek etanol ile ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Ekstrakt antimikrobiyal çalışmada kullanılmak üzere 1 mg/mL olacak şekilde DMSO ile çözdürüldü. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Etanol ekstratı hazırlanan T16 kodlu alg türünün metisilin dirençli *S. aureus*' a karşı antimikrobiyal aktivitesi gözlenmedi.

3.4. Alg Ekstraktlarının *C. violaceum* Üzerine Anti-QS Aktivitesinin Belirlenmesi

C. violaceum suşu, QS tarafından indüklenen mor pigment oluşturma kapasitesine sahiptir. Bu özelliği nedeni ile indükatör özellik taşımaktadır. Bu bakteride pigment oluşumunu inhibe eden ürünler potansiyel anti-QS molekülleri olarak nitelendirilebilmektedir. Bu çalışmada alg ekstraktlarının anti-QS özelliklerinin belirlenmesinde *C. violaceum* ATCC 12472 suşu kullanıldı. Ekstraktların tamamında *C. violaceum* suşuna karşı antimikrobiyal aktivite gözlenmesine karşın anti-QS kapasitesinin belirteci olan renksiz koloni formasyonuna rastlanmadı (Chenia H.Y., 2013). Zon çapları ayrıntılı değerlendirildiğinde çözücü olarak kullanılan DMSO'nun da *C. violaceum* suşu üzerine az da olsa inhibitör etkisi olduğu belirlendi.

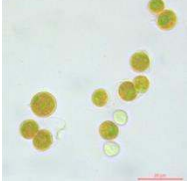
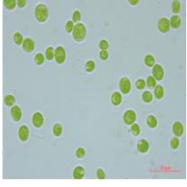
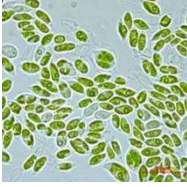


Şekil 3.12. Su örneklerinden izole edilen alg ekstraktlarının MHA besiyerindeki *C. violaceum* üzerine anti-QS aktivitesinin belirlenmesi.

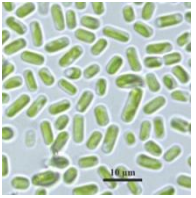
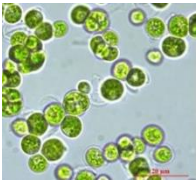
3.5. Moleküler Karakterizasyon

Bu çalışmada izole edilen yedi adet alg türünün moleküler tanısında alglerin ribosomal RNA büyük alt gruplarını (LSU) hedef alan gen bölgesi LSUalgF- LSUalgR primerler dizileri kullanılarak çoğaltıldı ve dizi analizleri gerçekleştirildi. Gen dizlerinin BLAST analizinde B1 ve T15 kültürleri için temiz bir okuma elde edilemedi. Bu nedenle bu iki türün moleküler karakterizasyonu yapılamadı. T16 türü dışındaki diğer türler *Scenedesmus* sp. olarak belirlendi. T16 LSU gen bölgesinin gen dizisine en yakın tür GenBankasında %92 benzerlikle *Stichococcus bacillaris* olarak belirlendi. Bu tür için ITS gen bölgesinin de sekanslanması ve filogenetik çalışmaların genişletilmesinin uygun olacağı kanısına varıldı (Tablo 3.5).

Çizelge 3.6. İzole edilen algerin mikroskobik morfolojileri, moleküler karakterizasyonu amacı ile yapılan sekans verileri ve bu değerlendirmeler doğrultusunda olası tür isimleri.

No	Örnek Kodu		Sekans veri sonuçları	Blast sonuçları
1	B1		Sekans dizi analizine göre değerlendirilemedi.	-
2	B6		AGACCGATAGCGAACCAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTTAAAAAGTGCTTGAAATTGTTGAGGGGGAAGCGTTTG AATGCTAGGGTGCGCCTAGGCTTATGGGTTCTTAACGGAGCTCTGTATGTGCTAGGTGCTGGCCAGCATGGGTTAGGCTAGTGGGATAAAAGCTGG GATTGTTACCCGGTCTATGCCACTGGCTTGACCAAGGCGTGAAGACTGCCCTTGCTTCGGGAACTGCAGTCTCAAGATGCTGGCAAAAGGCTTTC AACCGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATGTATGCGAGTTGGTGGGTGGAAAACCCATGAAGCGTAAGGAACTGACTGGTGGG ATGGCCTGTGCCTGCACCATCGACCGACCATGCGTTTCTGCAAAAGGTTTGAGTGCGAGCATACACGTTGGGACCCGAAAGATGGTGAACATATGCCT	<i>Scenedesmus</i> sp.
3	B27		CGTGAGGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTTAAAAAGTGCTTGAAATTGTTGAGGGGGAAGCGTTTGAATGCTAGAGTGCGCCTAGGC TTATGGGTTCTTAACGGAGCTCTGTATGTGCTAGGTGCTGGCCAGCATGGGTTAGGCGAGCGGGATAAACGCTGGGGTTGATACCCGGTCTATGCC GCTTGCTTGACCAAGGCGTGAAGACTGCCCTTGCTTCGGGAACTGCAGTCTCAAGATGCTGGCAAAAGGCTTTCACCGACCCGTCTTGAAACAC GGACCAAGGAGTCTAACATGTATGCGAGTTGGTGGGTGAAAAACCCATGAAGCGTAAGGAACTGACTGGTGAGATGGCCTGTGCCTGCATCATC GACCGACCATGCGTTTCTGCAAAAGGTTTGAGTGCGAGCATACCTGTTGGGACCCGAAAGATGGTGAA	<i>Scenedesmus</i> sp.

Çizelge 3.6. (devamı). İzole edilen algerin mikroskopik morfolojileri, moleküler karakterizasyonu amacı ile yapılan sekans verileri ve bu değerlendirmeler doğrultusunda olası tür isimleri.

4	T14		GACCGATAGCGAACAAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTTAAAAAGTGCTTGAAATTGTTGAGGGGGAAGCGTTTGAATGCTCGGGTGCCTCAGGCTTATGGGTCCTAACGGGGCTCTGTATGTGCTGAGTGCTGGCCAGCATGGGTTAGGCTAGTGGGACAAAAGCGTGGTTGATACCATGCCGCTGCCACTGGCTTGACCAAGGCGTGAAGACTGCCCTTGCTTCGGGAAGTGCAGTCTCAAGATGCTGGTGAAAGGCTTCAACCGACCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATGTATGCGAGTTGGTGGGTGGAAAACCATGAAGCGTAAGGAACTGACTGGTGGGATGGCCTGTGCCTGCACCATCGACCGACCATGCGTTTCTGCAAAAGGTTTGAGTGCGAGCATACCTGTTGGGACCCGAAAGATGGTGAATATGCCT	<i>Scenedesmus</i> sp.
5	T15		Sekans dizi analizine göre değerlendirilemedi.	-
6	T16		TCAACCTTTCCAGAAGATCATGGTCGGTCGATGGTGCAGGCTTTGAGGGCCCTCCACCAAGTCAGGTTACTTGCGCTTCATGGGTTTTCCACCCACC AACTCGCATACATGTTAGACTCCTTGGTCCGTGTTTCAAGACGGGCAGATTGGAAGCCTACGCCAGCATCCTGAGCGCGCAGTTGGGCGAACCCAC GCAGAGCGCGCGCTTGAGACCTCGATCGGCGGAGCGACATTGGCAGCCTATCAACGGCCACTTTTCTCCGCTCCACCAATCGATGCTGACCAGCAC CCAGCACATACAGCACGCCGTAAGGGCGAGCATCAGCCTGGGCGCACACGCGACTTCCAATCCCTTCCCTTCAACAATTTCAAGTACTTTTTAACT CTCTTTTCAAAGTTCTTTTCATCTTTCCCTCACGGTACTTG	<i>Stichococcus bacillaris</i>
7	K3		AACAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTTAAAAAGTGCTTGAAATTGTTGAGGGGGAAGCGTTTGAATGCTAGGGTG CGCCTAGGCTTATGGGTTCTTAACGGAGCTCTGTATGTGCTAGGTGCTGGCCAGCATGGGTTAGGCTAGTGGGATAAAAGCTGGGATTGTTACCCG GTCTATGCCACTGGCTTGACCAAGGCGTGAAGACTGCCCTTGCTTCGGGAAGTGCAGTCTCAAGATGCTGGCAAAAGGCTTTCAACCGACCCGTC TTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATGTATGCGAGTTGGTGGGTGGAAAACCATGAAGCGTAAGGAACTGACTGGTGGGATGGCCTGTGCC TGCACCATCGACCGACCATGCGTTTCTGCAAAAGGTTTGAGTGCGAGCATACAGTTGGGACCCGAAAG	<i>Scenedesmus</i> sp.

Gen dizlerinin BLAST analizinde B1 ve T15 kültürleri için temiz bir okuma elde edilemediği için bu iki türün moleküler karakterizasyonu yapılamadı. T16 türü dışındaki diğer türler *Scenedesmus* sp. olarak belirlendi. T16 LSU gen bölgesinin gen dizisine en yakın tür Gen Bankasında %92 identiklikle *Stichococcus bacillaris* olarak belirlendi. Bu tür için ITS gen bölgesinin de sekanslanması ve filogenetik çalışmaların genişletilmesinin uygun olacağı kanısına varıldı(izelge 3.6.).



4. TARTIŞMA SONUÇ

Doğal kaynaklardan gelen antimikrobiyallerin araştırılması ve uygun antimikrobiyal ajanlar olarak işlev görebilecek sentetik bileşikler tanımlama çabaları sürmektedir. Bu bileşikler bakteri, mantar veya virüs dâhil olmak üzere insan patojenlerine karşı önemli terapötik etkilere sahiptir. Yeni antimikrobiyal bileşiklerin keşfi için çeşitli mikroalglerin ekstraktları ile araştırmalar yapılmış ve bunlardan bazılarının potansiyel bir antimikrobiyal ürün kaynağı olarak kullanılabileceği ortaya konulmuştur (Alghazeer vd., 2013; Mendes vd., 2013; Al-Saif vd., 2014).

Prakash ve arkadaşlarının ve Radhika ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalara göre (Prakash vd., 2011; Radhika vd., 2012), antimikrobiyal aktivite, hem alg türlerine hem de ekstraksiyonları için kullanılan çözücülere bağlıdır. Alg özlerinin antimikrobiyal aktivitesi genellikle inorganik çözücülere kıyasla daha yüksek bir etkinlik sağlayan çeşitli organik çözücüler kullanılarak tahlil edilir (Cordeiro vd., 2006; Tuney vd., 2006). Klorofiller ve β -karoten, mikrobiyal büyüme inhibitörleri olarak etkin bir şekilde rol oynadığı bilinen ana pigmentlerdir (Bhagavathy vd., 2011). *S. aureus* içeren bazı ortamlarda antibakteriyel etkisi olan mikroalgden pigmentler de bildirilmiştir (Jaya vd., 2007; Fan vd., 2013).

Scenedesmus sp. farmasötik açıdan bakıldığında, iyi bir yeni biyoaktif bileşik kaynağı olan antimikrobiyal maddeler ürettiği rapor edilmiştir. *Scenedesmus* sp.'nin gıda kaynaklı patojen *S. aureus*'a karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Ördög vd., 2004; Ghasemi vd., 2004; Abedin vd., 2008; Desbois ve Smith 2010; Catarina vd., 2011; Bhagavathy vd., 2011; Beena ve Krishnika, 2011; Najdenski vd., 2013). *S. dimorphus*' un metanolik özünün *B. subtilis* ve *A. hydrophila*'nın büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiği etanolik özütlerinin ise *B. subtilis* üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Prakash vd., 2011; ve Radhika vd., 2012). Alg ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili önceki çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, metanolik ekstraktın bakteri suşlarına karşı daha etkili olduğu görülmektedir. Antimikrobiyal aktivitenin alg türleri ile değiştiğini ve farklı *Scenedesmus* türlerinden elde edilen ekstraktların bakteri suşlarını farklı verimlilikte inhibe ettiğini göstermektedir. Yapılan başka bir çalışmada, *S. dimorphus*' un metanolik ekstraktın, *A. hydrophila*'nın büyümesini kuvvetle inhibe ettiği görülmüştür. Etanolik ekstraktın tersine *A. hydrophila* dışında incelenen tüm bakteri suşlarının büyümesini de inhibe ettiği saptanmıştır (Kulik, 1995; ve Rizk, 2006). Organik çözücülerin kullanılmasının, antimikrobiyal aktiviteler için bileşik çıkarmada su bazlı yöntemlere kıyasla her zaman daha yüksek bir etkinlik sağladığı düşünülmektedir (Masuda, 1977; Lima-Filho, 2002).

Mikroalglerin farmakolojik bileşiklerin kaynağı olarak ilk çalışmaları antibiyotikler ile yapıldı ve *Chlorella vulgaris*' in kendi büyümesini engelleyen bir madde ürettiğini gözlemlenmiştir (Pratt, 1940). Bu durum İkinci Dünya Savaşı sırasında antibiyotik aktivitesi ve bu oto inhibitörün aktivitesi üzerine araştırmalar yapılmasını sağlamıştır (Pratt vd., 1944). Yağ asitleri, yeşil alg *Stichococcus bacillaris* ve *Protosiphon botryoides*' te antibiyotik aktivitesi olan bileşikler olarak da Harder ve Opperman (1953) tarafından tespit edilmiştir. Böylelikle yağ asitlerinin in vitro antibiyotik aktiviteye sahip oldukları kabul edilmiştir (Desbois ve Smith, 2010).

Etanol ekstratı hazırlanan alglerin antibiyogram testlerinde *S. aureus*' a karşı zon çapı 13 mm ile B1 ve 12 mm ile T16 algleri iyi derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *S. aureus*' a karşı T15 kodlu alg antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Yine aynı şekilde etanol ekstratı hazırlanan algler *E. coli* ve *P. aeruginosa* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Metanol ekstratı hazırlanan alglerin antibiyogram testlerinde *S. aureus*' a karşı 12 mm zon çapı ile T16 kodlu alg iyi derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Etanol ile hazırlanan alg ekstratlarından farklı olarak metanol ekstratları *E. coli*' ye karşı B27 (7 mm), T15 (6 mm) ve T16 (8 mm) zayıf derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Kloroform ekstratı hazırlanan alglerin antibiyogram testlerinde antimikrobiyal aktiviteyi *S. aureus*' a karşı 13 mm zon çapı ile B1 kodlu alg iyi derecede göstermiştir. B27 kodlu alg ise 11 mm zon çapı ile orta derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *E. coli*' ye karşı B1 (7 mm), B27 (8 mm), T15 (7 mm), K3 (8 mm) az derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Su ekstratı hazırlanan alglerin antibiyogram testlerinde *S. aureus*' a karşı B1 (9 mm) ve T16 (9 mm) kodlu algler zayıf derecede antimikrobiyal aktivite, *E. faecalis*' e karşı ise 10 mm zon çapı ile yine B1 ve 10 mm zon çapı ile T16 kodlu alg göstermiştir. Antibiyogram testlerinin sonucuna göre B1, B6, B27, T14, T15, T16 ve K3 kodlu alglerin gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edildi. Gram negatif bakterilere karşı ise antimikrobiyal aktivite tespit edilemedi. B1, B6, B27, T14, T15, T16 ve K3 kodlu alglerin *C. krusei* türüne karşı da antimikrobiyal aktivitesi tespit edilemedi.

Alglerin antibakteriyal etkinliğinin yanında antifungal etkileride araştırılmıştır. Çin'de Zhanjiang kıyı şeridinde toplanan *Caulerpa racemosa* alg türünden izole edilen Caulerprenylol B nadir bulunan bir antifungal paraksilendir. Bu bileşiğin in vitro fungal taramasına bakılarak, *T. rubrum*' a türüne karşı 4 mg/mL konsantrasyonundaki Caulerprenylol B' nin oldukça güçlü bir antifungal etkinliğinin olduğu ortaya konmuştur (Liu vd., 2013). *Penicillium capitatus*' tan edilen iki triterpen sülfat esteri kapisteronlar (A ve B) izole edilmiştir. Kapisteron A ve B, sırasıyla LD50 konsantrasyonlarında 0.03 ve 0.94 mg / mL'lik deniz mantarı patojeni *Lindra*

thallasiae' ye karşı güçlü antifungal aktivite göstermiştir (Puglisi vd., 2004). 22 üyeli siklik bir lakton olan Lobophorolide, kahverengi deniz yosunu *Lobophora variegata*' dan izole edilmiştir. Bu alg türü Bahama adalarındaki çeşitli resif lokasyonlarında 6-30 m derinliklerde toplanmıştır. Lobophorolid, sırasıyla 0.135 ve 0.034 mg / mL IC50 değerleri ile patojenik ascomycete *Lindra talasiae* ve saprofitik *Dendryphiella salina*' ya karşı güçlü antifungal aktivite sergilemiştir. Bu bileşik ayrıca sırasıyla IC50 değerleri 1.3 ve 0.5 mg / mL olan yabani ve amfoterisin dirençli tür olan *C. albicans*' a karşı antifungal aktivite göstermiştir (Kubaneck vd., 2003).

Etanol, metanol, kloroform ve su ekstratları hazırlanan alglerin antifungal test sonuçlarına göre; 7 alg türünde de *C. krusei*' ye karşı antifungal aktivitesinin olmadığı tespit edilmiştir.

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), hastane enfeksiyonları arasında yer almaktadır ve 1961 yılından beri artan bir oranda görülmektedir. MRSA' ya karşı tedavi amaçlı olarak kullanılan glikopeptid antibiyotik olan vankomisine karşı, son zamanlarda orta duyarlı (VISA) ve dirençli (VRSA) bakteri suşlarının ortaya çıkmasından sonra enfeksiyonlarda önemli derecede artış gözlenmiştir (Jones, 2006). Stafilokoklarda metisilin direnci çeşitli mekanizmalarla meydana gelebilir (Franciulli vd., 1991). Bunlar içinde en sık görüleni, stafilokokların yeni bir penisilin bağlayan protein (PBP) kazanmaları ile oluşan dirençtir (Hartman vd., 1984). Bu mekanizma ile metisiline dirençli olan stafilokoklarda, duyarlı olanlardan farklı olarak ilave bir PBP vardır. PBP 2a adı verilen bu enzimin beta laktam antibiyotiklere afinitesi diğer PBP'lerden daha düşüktür. Bu nedenle metisilin dirençli bakteri beta laktam antibiyotiklerle karşılaştığı zaman diğer tüm PBP'ler antibiyotik tarafından bloke edilir, ancak bu enzim düşük afinite nedeniyle beta laktam antibiyotiği bağlamaz ve bakteri duvar sentezini devam ettirir. Ortamda beta laktam antibiyotik olsa da olmasa da PBP 2a sentezlenir, ancak ortamda antibiyotik yok ise fonksiyon göstermez. PBP 2a miktarı ile bakterinin metisiline direnç düzeyi arasında bir ilişki yoktur (Hartman vd., 1984). Hastane enfeksiyonları arasında yer alan MRSA sadece hastane kökenli olmamakla birlikte aynı zamanda toplum kökenli olarak görülmekte ve sorumlu etkenin giderek artış göstermesinden dolayı buna karşı koyabilecek antibiyotiklerin geliştirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple, ülkemizde bu mücadelede başarılı olabilmek için çeşitli antibiyotikler kullanıma geçmiştir. Bunlardan bazıları ise daptomisin, linezolid ve tigesiklidir (Küçükbayrak ve Özdemir, 2006).

Hastane orijinli MRSA türünde antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için T16 kodlu alg türünün etanol ekstratı kullanılmıştır. Etanol ekstratı hazırlanan T16 kodlu alg türünün metisilin dirençli *S. aureus*' a karşı antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir.

Mikroorganizmalar uygun koşullar oluştuğunda canlı hücreler veya cansız yapılar üzerine yapışarak kendi ürettikleri EPS içinde bölünüp çoğalarak biyofilm oluşturabilirler. Biyofilm oluşumu, insanlarda oluşan enfeksiyonun devamlılığı ve tedavide karşılaşılan zorluklar açısından önemlidir. Biyofilm içerisinde büyüyen bakteriler, olumsuz çevre şartlarına, konağın bağışıklık sistemine (opsonizasyon ve fagositoza) ve antibiyotiklere karşı oldukça dayanıklıdır (Brown vd., 1988; Costerton vd., 1995; Beveridge vd., 1997; Jesaitis vd., 2003; Leid vd., 2005). Bakterilerin uygun bir yüzeye tutunmalarının ardından biyofilm oluşumunun başlaması = Quorum Sensing (QS, Çevreyi Algılama Sistemi)' denilen bir haberleşme sisteminden gelen çeşitli kimyasal sinyallere bağlıdır. Bu sistem ile bakteriler çevrelerindeki kimyasal sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçerek, çevrelerindeki bakteriyel popülasyonun yoğunluğunu belirlerler. Yüzeye tutunan bakterilerin sayısı arttıkça otoindükleyici olarak işlev gören bazı sinyal moleküllerinin lokal ekstraselüler konsantrasyonları da artmakta ve bu durum çevrede bulunan bakteriler için o bölgede bir hücresel kümelenmenin başladığı anlamına gelmektedir. Yüzeyle etkileşimden sonra bakteriler bir araya gelip tek tabakalı hücre hatları ve ardından mikrokoloniler oluştururlar. Mikrokoloniler ise daha sonra olgun biyofilm oluşturmak üzere farklılaşırlar (Taga ve Bassler, 2003; March ve Bentley, 2004). Kırmızı bir makroalg olan *Delisea pulchra*'nın üretmiş ve veziküllerinde depolamış olduğu furanon bileşiklerinin insan patojeni *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia liquefaciens*'de quorum sensing moleküllerini inhibe ettiği de gösterilmiştir (Manefield vd. 1999). Nitekim furanon türevleri insan ve diğer memelilerde toksik etki göstermektedir (Hentzer ve Givskov, 2003).

Geçtiğimiz birkaç yılda, QS' nin inhibisyonu tıp, endüstri ve biyoteknoloji alanındaki uygulamaları nedeniyle yoğun bir araştırma alanı haline gelmiştir. QS sisteminin inhibisyonu, özellikle antibiyotiğe dirençli suşların neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede, antipatojenik ajanların geliştirilmesi için yeni bir strateji olarak kabul edilmektedir. Bundan dolayı, gıda güvenliğini ve kalitesini güvence altına almak için iyi bir strateji, QS' yi inhibe ederek gıda bakteri patogenezi düzenlemek olabilir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde bulunan toprak kaynaklı gram-negatif bir bakteri olan *Chromobacterium violaceum*, otoindüktörü N-heksanoilhomoserin laktonu kullanılarak QS' nin bir sonucu olarak menekşe pigmentli violaceini sentezler. Bu nedenle, *C. violaceum*, QS karşıtı özellik için doğal ürünler ararken model bakteri olarak kullanılmıştır (Lichstein ve van de Sand, 1945; Choo vd., 2006; Rasko ve Sperandio, 2010).

Chromobacterium violaceum, QS mekanizmasını engelleyebilecek maddeleri bulmak için kullanılan iyi bilinen bir biyoindikatördür (McLean vd., 2004). Tropikal ve subtropikal bölgelerin toprak ve suyunda yaygın olarak bulunan gram negatif β -proteobakteridir (Dessaux vd., 2004; Zinger-Yosovich vd., 2006). *C. violaceum* türünde QS oluşumu, elastaz üretimi (Zins vd., 2001), biyofilm oluşumu (Durán vd., 2016), siyanür (De Almeida vd., 2003) veya violacein üretimi (Durán vd., 2016) gibi çeşitli özellikleri etkiler. Violacein, CviR – CviI kontrolü altında üretilen mor renkli antimikrobiyal bir pigmenttir (McClellan vd., 1997; Morohoshi vd., 2008; Kothari vd., 2017). Kolayca gözlenebilir ve ölçülebilir olduğundan, çeşitli maddelerin QS üzerindeki etkisini ölçmek için bir araç olarak kullanılır.

Bu çalışmada *C. violaceum* suşu alg ekstraktlarının anti-QS kapasitelerinin ölçümü amacı ile kullanıldı. Ekstraktların tamamında *C. violaceum* suşuna karşı antimikrobiyal aktivite gözlenmesine karşın anti-QS özelliğine rastlanmadı. Zon çapları ayrıntılı değerlendirildiğinde çözücü olarak kullanılan DMSO'nun da *C. violaceum* suşu üzerine az da olsa inhibitör etkisi olduğu belirlendi. Kirkwood ve ark., (2018) antimikrobiyal etkinlik çalışmalarında çözünmesi güç ekstraktlar için kullanılan DMSO' nun *Mycobacterium abscessus* bakterisi üzerine inhibitör etki gösterdiğini bildirmişler ve DMSO kullanılması halinde seyreltilerek kullanılmasının uygun olacağı kanısına varmışlardır (Kirkwood vd., 2018). Çalışmamızda *C. violaceum* suşu antimikrobiyal etkinlik amacı ile kullanılmadığından DMSO'nun bakteri üzerine inhibitör etkisi gözardı edilebilmiştir. Bununla birlikte incelenen petrilerde renksiz koloni formasyonuna rastlanmamıştır, Buna bağlı olarak etanol, metanol, kloroform ve su alg ekstraktlarının uygulandığı *C. violaceum* suşu üzerine alglerin anti-QS etkinliği olmadığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdo, S. M., Hetta, M. H., El-Senousy, W. M., Salah El Din, R. A., ve Ali, G. H. (2012). Antiviral activity of freshwater algae, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2, 21-25.
- Abedin, R. M. A. ve Taha, H. M. (2008). “Antibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae, Evaluation of Medium Components by Plackett – Burman Design for Antimicrobial Activity of *Spirulina Platensis*”. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3 (1), 22 - 31.
- Ahmad, F., Khan, A. U. ve Yasar, A. (2013). “Transesterification of oil extracted from different species of algae for biodiesel production”. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 7 (6), 358-364.
- Ahmer, B. M. M. (2004). Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Molecular Microbiology*, 52, 933–945.
- Ak, İ. (2015). Sucul ortamın ekonomik bitkileri; Makroalgler, *Dünya Gıda Dergisi*, Aralık: 87-97.
- Alghazeer, R., Whida, F., Abduehrman, E., Gammoudi, F., ve Naili, M. (2013). In vitro antibacterial activity of alkaloid extracts from green, red and brown macroalgae from western coast of Lybia, *African Journal of Biotechnology*, 12, 7086-7091.
- Al-Haj, N. A., Mashan, N. I., ve Shamudin, M. N. (2009). Antibacterial activity in marine algae *Eucheuma denticulatum* against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*, *Research Journal of Biological Sciences*, 4(4), 519-524.
- Al-Salif, S. S. A., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H. A., ve Aref, I. A. (2014). Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red Sea, Saudi Arabia, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21, 57–64.
- Andersen, A. R. (2005). *Algal Culturing Techniques*, Elsevier Academic Press 30 Corporate Drive, Suite 400, Burlington, MA 01803, USA, 100-250 s.
- Andersen, R. A. (2013). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*, Second Edition, Edited by Amos Richmond and Çiang Hu. John Wiley & Sons, Ltd. by Blackwell Publishing Ltd.
- Andersen, R. A., Barr, D. J. S., Lynn, D. H., Melkonian, M., Moestrup ve Sleigh, M. A. (1991). Terminology and nomenclature of the cytoskeletal elements associated with the flagellar/ciliary apparatus in protists, *Protoplasma* 164, 1-8.
- Andersen, R. A., Saunders, G. W., Paskind, M. P., ve Sexton, J. P. (1993). Ultrastructure and 18S rRNA gene sequence for *Pelagomonas calceolata* gen. et sp. nov. and the description of a new algal class, the Pelagophyceae classis nov. *J. Phycol.*, 29, 701-716.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Annous, B. A., Fratamico, P. M., ve Smith, J. L. (2009). Quorum sensing in biofilms: why bacteria behave the way they do, *Journal of Food Science*, 74:24-37.
- Aysel, V., ve Erdoğan, H. (1995). Check list of Black Sea seaweeds, Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 19, 545-554.
- Bai, A. J., ve Rai, V. R. (2011). Bacterial quorum sensing and food industry, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 184-194.
- Balch, W. M., Bowler, B. C., Drapeau, D. T., Poulton, A., ve Holligan, P. (2010). Biominerals and the vertical flux of particulate organic carbon from the surface ocean, *Geochem. Res. Letters* 37, 1-6.
- Baldauf, S. (2003). The deep roots of eukaryotes, *Science* 300 (5626), 1703—1706.
- Ball, S., Colleoni, C., Cenci, U., Raj, J. N., ve Tirtiaux, C. (2011). The evolution of glycogen and starch metabolism in eukaryotes gives molecular clues to understand the establishment of plastid endosymbiosis. *J. Exper Bor*, 62, 1775— 1801.
- Barsanti, L., ve Gualtieri, P. (2006). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, CRC Press, Boca Raton, New York.
- Bassler, B. L. (1999). How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing, *Current Opinion in Microbiology*, 2, 582-587.
- Bassler, B. L., Losick, R. (2006). *Bacterially Speaking*, Elsevier Inc. 240, 237-246.
- Bassler, B. L., Wright, M., Showalter, R. E., ve Silverman, M. R. (1993). Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. *Molecular Microbiology*, 9, s. 773-786.
- Baurain, D., Brinkmann, H., Petersen, J., Rodriguez-Ezpeleta, N., Stechmann, A., Demoulin, V., Roger, A.J., Berger, G., Lang, B. F., ve Phillipe, H. (2010). Phylogenomic evidence for separate acquisition of plastids in cryptophytes, haptophytes and stramenopiles, *Mol. Biol. Evol.* 27, 1698— 1709.
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Beena, B. N. ve Krishnika, A. (2011). “Antibacterial activity of freshwater microalga (*Scenedesmus* sp.) against three bacterial strains”, *Journal of Bioscience Resources*, 2 (4), 160-165.
- Begum, H., Yusoff, F. M., Banerjee, S., Khatoon, H., Shariff, M. (2016). Availability and utilization of pigments from microalgae, *Crit Rev Food Science Nutr*, 56 (13), 2209-2222.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bellinger, E., Sigeo, D. (2010). *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators*, John Wiley ve Sons, New York, 495.
- Benkendorff, K., Davis, A. R., Rogers, C. N., Bremner, J. B. (2005). Free fatty acids and sterols in the benthic spawn of aquatic molluscs, and their associated antimicrobial properties, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 316, 29–44.
- Beveridge, T. J., Makin, S. A., Kadurugamuwa, J. L., Li, Z. (1997). Interactions Between Biofilms and the Environment FEMS Microbiol Rev, 20, 291–303.
- Bhagavathy, S., Sumathi, P., ve Jancy, S. B. I. (2011). “Green algae *Chlorococcum humicola*- a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity”, *Asian Journal of tropical biomedicine*, S1-S7.
- Bharadwaj, M., Shrivastava, A. K., Shrivastava, R. (2014). Phycochemical and antimicrobial study of vigorous freshwater alga *Mougeotia*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 3(4), 1020-1024.
- Biller P., Ross, A. B., Skill S. C., Lea-langton, A., Balasundaram, B., Hall, C., Riley, R., Llewellyn, C. A. (2012). “Nutrient recycling of aqueous phase for microalgae cultivation from the hydrothermal liquefaction process”, *Algal Research*, 1 (1), 70-76.
- Biller, P., Ross, B. (2011). “Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content.”, *Bioresource Technology*, 102 (1), 215-25.
- Borowitzka, M. A. (1999). “Commercial production of microalgae:ponds, tanks, tubes and fermenters”, *Journal of Biotechnology*, 70, 313-321.
- Bowen, H. J. M. (1966). *Trace Elements in Biochemistry*, Academic Press, London and New York.
- Brennan, L. ve Owende, P. (2010). “Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14 (2), 557-577.
- Brown, M. R., Allison, D. G., Gilbert, P. (1988). Resistance of Bacterial Biofilms to Antibiotics: A Growth-Rate Related Effect *J Antimicrob Chemother*, 22/6, 777–780.
- Brownlee, I. A., Allen, A., Pearson, J. P., Dettmar, P. W., Havler, M. E., Atherton, M. R., Onsøyen, E. (2005). Alginate as a source of dietary fiber, *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 45, 497-510.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Burki, F., Kudryavtsev, A., Matz, M. V., Aglyamova, G. V., Bulman, S. S., Fiers, M., Keeling, P. J., ve Pawlowski, J. (2010). Evolution of Rhizaria: new insights from phylogenomic analysis of uncultivated protists, *BMC Evol. Biol.* 10: 377. Available at <http://www.biomedcentral.com/14712148/10/377>, Accessed on 4 December 2012.
- Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., Campos, S., Torres, M. A., Souza, A. O., Colepicolo, P., Pinto, E. (2007). Metabolites from algae with economical impact, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, Toxicology & Pharmacology*, 146, 60-78.
- Catarina-Guedes, A., Catarina, R. B., Helena, M. A., Claudia, I. P. ve Francisco, X. M. (2011). "Microalgal and cyanobacterial cell extracts for use as natural antibacterial additives against food pathogens", *International Journal of Food Science and Technology*, 46 (4), 862-870.
- Chapman, C. (1973). "The algae" Macmillan Press , London (ISBN 978-1-349-27910-4, eBook).
- Charles, D. F., Knowles, C., Davis, R. S. (2002). Protocols for the analysis of algal samples collected as part of the U.S. Geological Survey National Water-Quality Assessment Program, Report No. 02-06.
- Chenia, H. Y. (2013). Anti-quorum sensing potential of crude *Kigelia africana* fruit extracts *Sensors (Basel)*, 27, 13(3), 2802-17.
- Choo, J. H., Rukayadi, Y., Hwang, J. K. (2006). Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract, *Lett Appl Microbiol*, 42(6), 637-41.
- Cirik, Ş., Cirik, S. (2011). Su bitkileri I-Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi ve Yetiştirme Teknikleri, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, 58, 135-145.
- Cirik, Ş. (1981). Algae in Turkish sea and their means of evaluation, *Çevre Haberleri Boğaziçi Üniversitesi Yayınları*, İstanbul, 9, 65-68.
- Cooper, G. M. (2000). Transport of Small Molecules. Chapter 12. The Cell Surface, The Cell: A Molecular Approach. 2nd ed. Sinauer Associates; Sunderland, MA, USA.
- Cordeiro, R. A., Gomes, V. M., Carvalho, A. F. U., ve Melo, V. M. M. (2006). "Effect of Proteins from the Red Seaweed *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux on the Growth of Human Pathogen Yeasts", *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(6), 915-921.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial Biofilms, *Annu Rev Microbiol*, 49, 711-745.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Curran, J., Driver, F. (1994). Molecular taxonomy of Heterorhabditis, Genetics of Entomopathogenic NematodeBacterium Complexes, Luxembourg, European Commission Publication EUR, 15681, 178-187.
- Darienko, T., Gustavs, L., Eggert, A., Wolf, W., Pröschold, T. (2015). Evaluating the Species Boundaries of Green Microalgae (Coccomyxa, Trebouxiophyceae, Chlorophyta) Using Integrative Taxonomy and DNA Barcoding with Further Implications for the Species Identification in Environmental Samples, PLoS One, 16; 10(6), e0127838.
- De Almeida, D. F., Hungria, M., Guimaraes, C. T., Antonio, R. V., Almeida, F. C., de Almeida, L. G. P., de Almeida, R., Alves-Gomes, J. A., Andrade, E. M., Araripe, J. (2003). The complete genome sequence of Chromobacterium violaceum reveals remarkable and exploitable bacterial adaptability, Proc. Natl. Acad. Science USA, 100, 11660–11665.
- De Clerck, O., Guiry, M. D., Leliaert, F., Samyn, Y., Verbuggen, H. (2013). Algal taxonomy: a road to nowhere? J. Phycol, 49, 215–25.
- De Oliveira, M. A. C. L., Monteiro, M. P. C., Robbs, P. G., ve Leite, S. G. F. (1999). “Growth and chemical composition of Spirulina maxima and Spirulina platensis biomass at different temperatures”, Aquaculture international, 7 (4), 261-275.
- Demirbaş, A. (2011). “Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems”, Applied Energy, 88 (10), 3541-3547.
- Demirel, G., Fındık, D., Dagi, H. T., Arslan, U. (2014). Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Genotypes Among University Students in TURKEY, Southeast Asian J Trop Med Public Health, 45(6), 1401-1409.
- Demule, M. C. Z., Decaire, G. Z., Decano, M. S. (1996). Bioactive substances from *Spirulina platensis* (cyanobacteria). Int. J. Exp. Bot. 58, 93-96.
- Desbois, A. P., ve Smith, V. J. (2010). “Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential”, *Applied Microbiology Biotechnology*, 85(6), 1629-42.
- Dessaux, Y., Elmerich, C., Faure, D. (2004). La violacéine: Une molécule d'intérêt biologique, issue de la bactérie tellurique Chromobacterium violaceum, Rev. Méd. Interne, 25, 659–662.
- Dong, Y., Zhang, L. (2005). Quorum Sensing and Quorum-Quenching Enzymes, The Journal of Microbiology, 104, 101-109.
- Donlan, R. M., Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms, Clin Microbiol Rev, 15/2, 167–193.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dragone, G., Fernandes, B., Vicente, A., Teixeira, J. (2010). “Third generation biofuels from microalgae”, Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, 1355-1366.
- Drummond, C. S., Hall, J., Karol, K., Delwiche, C. F., Mccourt, R. M. (2005). Phylogeny of *Spirogyra* and *Sirogonium* (Zygnematophyceae) based on rbcL Sequence Data. J. Phycol. 41, 1055–64.
- Dural, B. (1989). Taxonomic investigation of the order Ulvales in Çandarlı Bay II. *Ulvaceae* A. *Ulva* L. species, Doğa Turkish Journal of Botany, 13, 474-486.
- Dural, B. (1990). Taxonomy and Ecology of Algae in Between Eskifoça and Çeşme, PhD Thesis, Aegean University Faculty of Science, s. 278.
- Durán, N., Justo, G. Z., Durán, M., Brocchi, M., Cordi, L., Tasic, L., Castro, G. R., Nakazato, G. (2016). Advances in *Chromobacterium violaceum* and properties of violacein-Its main secondary metabolite: A review, Biotechnol. Adv., 34, 1030–1045.
- Economou, A., Williams, P., Downie, J. A. (1999). Analysis of quorum-sensing dependent control of rhizosphere-expressed (rhi) genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*, Journal of Bacteriology, 181, s. 3816-3823.
- Eliot, W., Stoching, C. R., Barbour, M. G., Rost, T. L. (1982). Botany: An Introduction to Plant Biology 6nd. Edition, Wiley, England.
- Evrin, T., Çakı, Z., Öztürk, M., Taşkın, M., Kurt, O. (2010). Antimicrobial and antitumoural activities of marine algae, Review of Hydrobiology, 3(1), 37-50.
- Fan, M., Liao, Z., Wang, R. ve Xu, N. (2013). “Isolation and antibacterial activity of anabaena phycocyanine”, *African Journal of Biotechnology*, 121, 869-1873.
- FAO, (2009). “Algae-based Biofuels: A Review of Challenges and Opportunities for Developing Countries” Environment, Climate Change and Bioenergy Division, Rome, s. 59.
- Fensome, R. A., Taylor, F. J. R., Norris, G., Sarjeant, W. A. S., Wharton, D. I., ve Williams, G. L. (1993). A classification of living and fossil dinoflagellates, American Museum of Natural History, Micropaleontology, Special Publication 7, 1-351.
- Ferreira, L. G., Nosedá, M. D., Gonçalves, A. G., Ducatti, D. R., Fujii, M. T., Duarte, M. E. (2012). Chemical structure of the complex pyruvylated and sulfated agarar from the red seaweed *Palisada flagellifera* (Ceramiales, Rhodophyta), Carbohydr. Res. 347(1), 83-94.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ferrières, L., Hancock, V., Klemm, P. (2007). Biofilm Exclusion of Uropathogenic Bacteria by Selected Asymptomatic Bacteriuria *Escherichia coli* Strains, *Microbiology*, 153, 1711–1719.
- Fey, P. D., Olson, M. E. (2010). Current Concepts in Biofilm Formation of *Staphylococcus epidermidis*, *Future Microbiology*, 5/6, 917–933.
- Foster, P. G., Cox, C. J. ve Embley, T. M. (2009). The primary divisions of life: a phylogenomic approach employing composition-heterogeneous methods, *Phil. Trans. R. Soc. B.* 364, 2197—2207.
- Francioli, M. J., Bille, M. P., Glauser. ve Moreillon, P. (1991). Beta-lactam resistance mechanisms of methicillin-resistant *S. aureus*, *J Infec Dis*, 163, 514-23.
- Francois, R., Honjo, S., Krishfield, R. ve Manganini, S. (2002). Factors controlling the flux of organic carbon to the bathypelagic zone of the ocean. *Global Biogeochem, Cycles* 16. doi:10.1029/2001GB001722.
- Fucikova, K., Rada, J. C., Lukesova, A., ve Lewis, L. A. (2011). Cryptic diversity within the genus *Pseudomuriella hanagata* (*Chlorophyta*, *Chlorophyceae*, *Sphaeropleales*) assessed using four barcode markers, *Nova Hedwigia*, 93, 29–46.
- Fuqua, C., Greenberg, E. P. (1998). Self perception in bacteria: quorum sensing with acylated homoserine lactones, *Current Opinion in Microbiology*, 1, s.183-189.
- Gamal, A. A. (2010). Biological importance of marine algae, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18, 1- 25.
- García-Aljaro, C., Eberl, L., Riedel, K., Blanch, A. R. (2008). Detection of quorum-sensing-related molecules in *Vibrio scophthalmi*, *BMC Microbiolog*, 2, 1-11.
- Ge, S., Madill, M., Champagne, P. (2018). Use of fresh water macroalgae *Spirogyra* sp. for the treatment of municipal wastewaters and biomass production for biofuel applications. *Biomass and Bioenergy*, 111, 213-223.
- Geitler, I. (1932). *Cyanophyceae*, Kryptogamen-Flora von Deutschlands, Österreich und der Schweiz, 1196 pp. Reprinted by Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.
- Gera, C., Srivastava, S. (2006). Quorum-sensing: The phenomenon of microbial communication, *Current Science*, 674, 666-677.
- Ghasemi, Y., Yazdi, M., Shafiee, A., Amini, M., Shokravi, S. ve Zarrini, G. (2004). “Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua*”, *Pharmaceutical Biology*, 42, 318-322.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Givskov, M., de Nys, R., Manefield, M., Gram, L., Maximilien, R., Eberl, L., Molin, S., Steinberg, P. D., ve Kjelleberg, S. (1996). Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling, *Journal of Bacteriology* 178, 6618-6622.
- Gonza'lez, J. E., Keshavan, N. D. (2006). Messing with Bacterial Quorum Sensing, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 868, 859-875.
- Govan, J. R., Deretic, V. (1996). Microbial Pathogenesis in Cystic Fibrosis: Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*, *Microbiol Rev*, 60/3, 539-574.
- Graham, L. E., Graham, J. M. ve Wilcox, L. W. (2009). *Algae*, 2nd edn. 616 pp. Benjamin Cummings, San Francisco, CA.
- Green, B. R. (2011). After the primary endosymbiosis: an update on the chromalveolate hypothesis and the origins of algae with Chl c. *Photosynt. Res.* 107, 103-115.
- Gribaldo, S., Poole, A. M., Daubin, V., Fortere, P. ve Brochier-Armanet, C. (2010). The origin of eukaryotes and their relationship with the Archaea: are we at a phylogenomic impasse? *Nature Rev. Microbiol*, 8, 743-752.
- Guner, H., Aysel, V. (1977). A taxonomic study on some species *Ulva* (Chlorophyta) in Izmir Bay, *Ege University Journal of Faculty of Science B1*, 241-251.
- Guner, H., Aysel, V. (1978). Some qualitative and quantitative studies on algal communities in Aegean and Marmara sea. 1. *Ulva lactuca* L. (Chlorophyta), *Aegean University Journal of Faculty of Science*, 2 (1), 55-71.
- Guner, H., Aysel, V., Sukatar, A., Ozturk, M. (1984). Check list of İzmir Bay marine algae: II. Phaeophyceae, Chlorophyceae and Cyanophyceae" *Aegean University Journal of Faculty of Science*, 7 (1), 57-65.
- Guner, H., Aysel, V. (1989). Tohumuz Bitkiler I. Cilt Algler, *Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir*, s. 45-56.
- Guo, Q., Wu, Q., Bai, D., Liu, Y., Chen, L., Jin, S., Wu, Y., Duan, K. (2016). Potential Use of Dimethyl Sulfoxide in Treatment of Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother*, 60 (12), 7159-7169.
- Gümüş, G. (2006). *Deniz Marulunun Kimyasal Kompozisyonunun Araştırılması*, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*.
- Gün, İ. ve Ekinci, F. Y. (2009). Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam, *GIDA*, 34, 165-173.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hackett, J. D., Yoon, H. S., Li, S., Reyes-Prieto, A., Rümmele, S. ve Bhattacharya, D. (2007). Phylogenomic analysis supports the monophyly of cryptophytes and haptophytes and the association of Rhizaria with Chromalveolates, *Mol. Biol. Evol.* 24, 1702-1713.
- Hall, J. D., Fucikova, K., Lo, C., Lewis, L. A. ve Karol, K. G. (2010). An assessment of proposed DNA barcodes in freshwater green algae, *Cryptogamie Algologie*, 31, 529–555.
- Harder, R., Opperman, A., (1953). Über antibiotische Stoffe bei den Grünalgen *Stichococcus bacillaris* und *Protosiphon botryoides*. *Archiv für Mikrobiologie* 19, 398–401.
- Hartman, B. J. ve Tomasz, A., Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *S. aureus*. *J Bact* (1984); 158, 513-516.
- Hastings, J. W., Greenberg, E. P. (1999). Quorum sensing: the explanation of a curious phenomenon reveals a common characteristic of bacteria, *Journal of Bacteriology*, 181, 2667-2668.
- Henke, J. M., Bassler, B. L. (2004), Bacterial social engagements, *Trends in Cell Biology*, 14, s. 648-656.
- Hentzer, M., Givskov, M. (2003a). Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections, *Journal of Clinical Investigation*, 112, s. 1300-1307.
- Hentzer, M., Wu, H., Andersen, J. B. (2003b). Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors, *The EMBO Journal* 22, 3803-3815.
- Herrero, M., Ibañez, E., Cifuentes, A., Reglero, G., Santoyo, S. (2006). *Dunaliella salina* microalga pressurized liquid extracts as potential antimicrobials, *Journal of Food Protection*, 69, 2471-2477.
- Hominick, W. M. A. P., Reid, D. A., Bohan, B., Briscoe, R. (1996). Entomopathogenic nematodes: Biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity, *Biocontrol Science and Technology*, 6, 317-331.
- Hoppe, Heinz, A., Levring, T., Tanoka, Y. (1979). *Marine Algae in Pharmaceutical Science*, de Gruyter, Berlin, New York.
- Hossain, S., Salleh, A., Boyce, A. N., Chowdhury, P. ve Naquiuddin, M. (2008). Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 4 (3), 250-254.
- Hoult, J. R. S., Paya, M. (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential, *General Pharmacology*, 27, 713-722.
- <https://www.tech-worm.com/enfeksiyon-nedir-enfeksiyon-hastaliklari-nelerdir/> 04/07/2018.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., Chen, G. (2010). "Biodiesel production by microalgal biotechnology", *Applied Energy*, 87 (1), 38-46.
- Hugenholtz, P., Goebel, B. M., Pace, N. R. (1998). Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity, *J. Bact*, 180, 4765-4774.
- Illman, A. M., Scragg, A. H., Shales, S. W. (2000). "Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium", *Enzyme and microbial technology*, 27 (8), 631-635.
- Jacob-Lopes, E., Guillermo, L., Mérida, R., Queiroz, M. I., Zepka, L. Q. (2015). "Microalgal Biorefineries", In: E. Jacob-Lopez, L. Q. Zepka, Editors, "Biomass production and Uses", InTech.
- Jacobsen, S. M., Stickler, D. J., Mobley, H. L., Shirtliff, M. E. (2008). Complicated Catheter Associated Urinary Tract Infections Due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*, *Clin Microbiol Rev*, 21/1, 26-59.
- Jaya, P. G. M., Seshikala, D., Singara, C. M. A. (2007). "Antibacterial Activity and Biomolecular Composition of certain Freshwater Micro-algae From River Godavari (India)", *Science World Journal*, 2(3), 19-23.
- Jékely, G. (2009). Evolution of phototaxis, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Science* 364, 2795—2808.
- Jensen, A. (1966). Carotenoids of Norwegian brown seaweeds and seaweeds meals, Norwegian institute of seaweed research, report No:31, 1-138.
- Jesaitis, A. J., Franklin, M. J., Berglund, D., Sasaki, M., Lord, CI., Bleazard, J. B., Duffy, J. E., Beyenal, H., Lewandowski, Z. (2003). Compromised Host Defense on *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Characterization of Neutrophil and Biofilm Interactions, *J Immunol*, 171/8, 4329-4339.
- Jones, R. N. (2006). Microbiology of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bacterial/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains, *Clin Infect Dis*; 42(Suppl), 13-24.
- Jüttner, F. (2001). Liberation of 5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenoic acid and other polyunsaturated fatty acids from lipids as a grazer defense reaction in epilithic diatom biofilms, *Journal of Phycology* 37, 744-755.
- Kahlmeter, G., (2003). An International Survey of the Antimicrobial Susceptibility of Pathogens from Uncomplicated Urinary Tract Infections: The ECO.SENS Project, *J Antimicrob Chemother*, 51/1, 69-76.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kallmayer, V., Lanzendoerfer, G., Meiring, U., Mocigemba, N., Riedel, H., Schaefer, J. (2007). Cosmetic preparations containing violacein as dye, Ger Offen DE 102005051869 (A1).
- Kandhasamy, M., Arunachalam, K. D. (2008). Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India, African Journal of Biotechnology, 7(12), 1958-1961.
- Karaboz, İ. ve Sukatar, A. (2004). Bakterilerde sosyal davranışlar (bakterilerde iletişim mekanizmaları), Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2, 23-32.
- Kermarrec, L., Franc, A., Rimet, F., Chaumeil, P., Humbert, J. F., Bouchez, A. (2013). Next generation sequencing to inventory taxonomic diversity in eukaryotic communities: a test for freshwater diatoms, Mol. Ecol. Resour. 13, 607–19.
- Kirkwood, Z. I., Millar, B. C., Downey, D. G., Moore, J. E. (2018). Antimicrobial effect of dimethyl sulfoxide and *N, N*-Dimethylformamide on *Mycobacterium abscessus*: Implications for antimicrobial susceptibility testing, Int J Mycobacteriol, 7(2), 134-136.
- Kjelleberg, S. (1999). Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein, Microbiology, 145, s. 283-291.
- Knoll, A. H., Javaux, E. J., Hewitt, D., ve Cohen, P. (2006). Eukaryotic organisms in Proterozoic oceans. Phil. Trans. R. Soc. London B 361(1470), 1023—1038.
- Koonin, E. V. (2010). The origin and early evolution of eukaryotes in the light of phylogenomics, Genome Biol. 11, 209.
- Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., Hultgren, S. J. (2013). Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era, Cold Spring Harb Perspect Med, 3/4, a010306.
- Kreimer, G. (1994). Cell biology of phototaxis in flagellate algae, Int. Rev. Cytol. 148: 229-310.
- Kreimer, G. (1999). Reflective properties of different eyespot types in dinoflagellates, Protist 150, 311-323.
- Kubaneck, J., Jensen, P. R., Keifer, P. A., Sullards, M. C., Collins, D. O., Fenical, W., Seaweed resistance to microbial attack: a targeted chemical defense against marine fungi, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100 (2003) 6916-6921.
- Kuitzing, F. T. (1849). Species Algarum, F.A. Brockhaus, Lipsiae.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kulik, M. M. (1995). The potential for using cyanobacteria (bluegreen algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi, *European Journal of Plant Pathology*, 101, 585-599.
- Küçükbayrak, A., Özdemir, D. (2006). İki yeni protein sentez inhibitörü: Linezolid ve streptograminler (Kinopristin/Dalfoprustin), *İnfeksiyon Dergisi*, 20(2), 145-51.
- Lahaye, M. (1993). Gelling properties of water soluble polysaccharides from proliferating marine green seaweeds (*Ulva* sp.), *Carbohydrate Polymers*, 22, 261-265.
- Lee, R. E. (2008). *Phycology*, 4th edn. 547 pp. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- Leid, J. G., Willson, C. J., Shirtliff, M. E., Hassett, D. J., Parsek, M. R., Jeffers, A. K. (2005). The Exopolysaccharide Alginate Protects *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Bacteria from IFN- γ mediated Macrophage Killing, *J Immunol*, 175/11, 7512–7518.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., De Clerck, O. (2012). Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31, 1, 1-46.
- Leliaert, F., Verbruggen, H., Vanormelingen, P., Steen, F., Lopez-Bautista, J. M., Zuccarello, G. C., ve De Clerck, O. (2014). DNA-based species delimitation in algae. *European Journal of Phycology* 49, 179-196.
- Leliaert, F., Verbruggen, H., Wysor, B. ve De Clerck, O. (2009). DNA taxonomy in morphologically plastic taxa: algorithmic species delimitation in the *Boodlea* complex (Chlorophyta: Cladophorales), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53, 122–133.
- Lichstein, H. C., van de Sand, V. F. (1945). Violacein, and antibiotic pigment produced by *Chromobacterium violaceum*, *J Infec Dis*. 76(1), 47-51.
- Lima-Filho, J. V. M., Carvalho, A. F. F. U., Freitas, S. M. (2002). Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the Northeastern Brazilian Coast, *Brazilian Journal of Microbiology*, 33, 311-313.
- Liu, A. H., Liu, D. Q., Liang, T. J., Yu, X. Q., Feng, M. T., Yao, L. G., Fang, Y., Wang, B., Feng, L. H., Zhang, M. X., S. C. (2013). Caulerprenylols A and B, two rare antifungal prenylated para-xylenes from the green alga *Caulerpa racemosa*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23, 2491e2494.
- Luo, W., Proschold, T., Bock, C., ve Krienitz, L. (2010). Generic concept in *Chlorella*-related coccoid green algae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae), *Plant Biology*, 12, 545–553.
- MacMillan, J. B., Ernst-Russell, M. A., De Roop, J. S., Molinski, T. F. (2002). Lobocyclamides, A-C, lipopeptides from a cryptic cyanobacterial mat containing *Lyngbya confervoides*. *J. Org. Chem*, 67, 8210-8215.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Madigan, T. M., Martinko, J. M., Stahl, D. A., Clark, D. P. (2012). *Brock biology of microorganisms*, Thirteen edition.

Manefield, M., de Nys, R., Kumar, N., Read, R., Givskov, M., Steinberg, P., Kjelleberg, S. (1999). Evidence that Halogenated Furanones from *Delisea pulchra* Inhibit Acylated Homoserine Lactone (AHL)-Mediated Gene Expression by Displacing the AHL Signal from its Receptor Protein, *Microbiology*, 145, s. 283–291.

Manefield, M., Rasmussen, T. B., Henzter, M., Andersen, J. B., Steinberg, P., Kjelleberg, S., Givskov, M. (2002). Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover, *Microbiology*, 148, s. 1119-1127.

Manoylov, K. M., Stevenson, R. J. (2006). Density-dependent algal growth along N and P nutrient gradients in artificial streams, In Ognjanova-Rumenova, N. ve Manoylov, K. [Eds.]

Manton, ve von Stosch, H. A. (1966). Observations on the fine structure of the male gamete of the marine centric diatom *Lithodesmium undulatum*. *J. R. Microscop. Soc.* 85, 119- 134.

March, J. C., Bentley, W. E. (2004). Quorum Sensing and Bacterial Cross-Talk in Biotechnology. *Curr Opin Biotech*, 15/5: 495–502.

Marsh, T. L., Liu, W. T., Forney, J., Cheng, H. (1998). Beginning a molecular analysis of the eukaryal community in activated sludge, *Water Science Technol.* 37, 455–60.

Martinelli, D., Grossmann, G., Sequin, U., Brandl, H. ve Bachofen, R. (2004). Effects of natural and chemically synthesized furanones on quorum sensing in *Chromobacterium violaceum*, *BMC Microbiology* 4, 25.

Masuda, M., Abe, T., Sato, S. (1997). Diversity of halogenated secondary metabolites in the red alga *Laurencia nipponica* (Rhodomelaceae, Ceramiales), *Journal of Phycology*, 33, 196–208.

Mata, T. M., Martins, A. A., Caetano, N. S. (2010). “Microalgae for biodiesel production and other applications: A review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14 (1), 217-232.

Mattox, K. R. ve Stewart, K. D. (1984). Classification of the green algae: a concept based on comparative cytology, In: *Systematics of the Green Algae* (eds D.E.G. Irvine & D.M. John), s. 29-72. Academic Press, London.

Mayer, A. M. S., Hamann, M. T. (2005). Marine pharmacology in 2001–2002: marine compounds with antihelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems and other miscellaneous mechanisms of action, *Comparative Biochemistry and Phycology, Part C*. 140, 265-286.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- McClean, K. H., Winson, M. K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S. R., Camara, M., Daykin, M., Lamb, J. H., Swift, S., Bycroft, B. W. (1997). Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: Exploitation of violacein production and inhibition for the detection of N-acylhomoserine lactones, *Microbiology*, 143, 3703–3711.
- McFadden, G. I., Gilson, P. R. ve Sims, L. M. (1997). Preliminary characterization of carbohydrate stores from chlorarachniophytes (Division: Chlorarachniophyta), *Phycol. Res.* 45, 145—151.
- Mchugh, D. J. (2003). A Guide to the Seaweed Industry, Fao Fishers, Rome.
- McLean, R. J. C., Pierson, L. S., Fuqua, C. (2004). A simple screening protocol for the identification of quorum signal antagonists, *J. Microbiol. Methods*, 58, 351–360.
- Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Arumugam, M., Balasubramanian, T. (2012). In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 66-70.
- Melkonian, M., Reize, L. B. ve Preisig, H. R. (1987). Maturation of a flagellum/basal body requires more than one cell cycle in algal flagellates: studies on *Nephroselmis olivacea* (Prasinophyceae), In: *Algal Development, Molecular and Cellular Aspects* (eds W. Weissner, D.G. Robinson & R.C. Starr), pp. 102-113. Springer, Berlin, Germany.
- Mendes, M., Pereira, R., Sousa-Pinto, I., Carvalho, A. P. ve Gomes, A. M. (2013). Antimicrobial activity and lipid profile of seaweed extracts from the North Portuguese Coast. *International Food Research Journal*, 20, 3337- 3345.
- Mendiola, J. A., Torres, C. F., Martin-Alvarez, P. J., Santoyo, S., Torre, A., Arredondo, B. O., Senorans, F. J., Cifuentes, A., Ibanez, E. (2007). Use of supercritical CO₂ to obtain extracts with antimicrobial activity from *Chaetoceros muelleri* microalga, A correlation with their lipidic content. *European Food Research and Technology* 224, 505-510.
- Mercer, P., Armenta, R. E. (2011). “Developments in oil extraction from microalgae”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113 (5), 539-547.
- Miao, X., Wu, Q. (2006). “Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil.”, *Bioresource Technology*, 97 (6), 841-846.
- Mitova, M. I., Usov, A. I., Bilan, M. I., Stefanov, K. L., Dimitrova-Konaklieva, S. D., Tonov, D. P., Popov, S. S. (1999). Sterols and polysaccharides in freshwater algae *Spirogyra* and *Mougeotia*. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54, 1016-1020.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Moestrup, Q. (2000). The flagellate cytoskeleton, Introduction of a general terminology for microtubular flagellar roots in protists, In: *The Flagellates. Unity, Diversity and Evolution* (eds B.S.C. Leadbeater & J.C. Green), s. 69—94. Taylor & Francis, London.
- Morohoshi, T., Kato, M., Fukamachi, K., Kato, N., Ikeda, T. (2008). N-Acylhomoserine lactone regulates violacein production in *Chromobacterium violaceum* type strain ATCC 12472. *FEMS, Microbiol. Lett.* 279, 124–130.
- Murugan, T. (2012). Antibacterial activity of C-phycocyanin against clinical isolates by disc diffusion method. *J. Pharm. Res.* 5(6), 3020- 3021.
- Muthulakshmi, M., Saranya, A., Sudha, M., Selvakumar, G. (2012). Extraction, partial purification, and antibacterial activity of phycocyanin from *Spirulina* isolated from fresh water body against various human pathogens, *J. Algal Biomass Util*, 3(3), 7-11.
- Myklestad, S. (1963). Experiments with seaweed as supplemental fertilizer, Bergaman press, London, 432-438p.
- Nagle, N., Lemke, P. (1990). “Production of methyl ester fuel from microalgae”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 24-25 (1), 355-361.
- Najdenski, H. M., Gigova, L. G., Iliev, I. I., Pilarski, P. S., Lukavský, J., Tsvetkova, I. V., Ninova, M. S. ve Kussovski, V. K. (2013). “Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria”, *International Journal of Food Science & Technology*, 48, 1533–1540.
- Nealson, K. H., Platt, T., Hastings, J. W. (1970). Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system, *Journal of Bacteriology*, 104, s. 313-322.
- Negoro, M., Shioji, N., Miyamoto, K., Miura, Y. (1991). “Growth of microalgae in high CO₂ gas and effects of SO_x and NO_x”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 28-29, 877-86.
- O'Doherty, J. V., Dillon, S., Figat, S., Callan, J. J., Sweeney, T. (2010). The effects of lactose inclusion and seaweed extract derived from *Laminaria spp.* on performance, digestibility of diet components and microbial populations in newly weaned pigs, *Anim. Feed Sci. Technol*, 157, 173-180.
- Oswald, W. J. (1963). “Light efficiency of algae grown in sewage”, *American Society of Civil Engineers*, 128, 47-83.
- Oswald, W. J., Golueke, C. G. (1960). “Biological transformation of solar energy”, *Advance Applied Microbiology*, 2, 223-62.
- Oswald, W. J., Golueke, C. G. (1962). “The coming industry of controlled photosynthesis”, *American Journal of Public Health*, 52, 235-42.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ördög, V., Stirk, W. A., Lenobel, R., Bancirova, M., Strnad, M., Van, S. J., Szigeti, J. ve Nemeth, L. (2004). "Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites", *Journal of Applied Phycology*, 16, 309-314.
- Park, J. Y., Park, M. S., Lee, Y. C., Yang, J. W. (2015). "Advances in direct transesterification of algal oils from wet biomass", *Bioresource Technology*, 184, 267-275.
- Patil, V., Kållgvist, T., Olsen, E., Vogt, G. ve Gislergd, H. R. (2007). Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aguaculture feed, *Aguacult. Ind.* 15, 1-9.
- Pereira, L., Magalhaes, J. (2014). *Neto, Marine Algae, Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment, and Biotechnology* CRC Press, 2014.
- Pesci, E., Pearson, J., Seed, P., Iglewski, B. (1997). Regulation of las and rhl quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal of Bacteriology*, 179, s. 3127-3132.
- Petersen, D. J., Vrain, T. C. (1996). Rapid identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. hapla* and *M. fallax* using PCR primers to amplify their ribosomal intergenic spacer, *Fundamental and Applied. Nematology*, 19, 601-605.
- Pickett-Heaps, P. D. ve Marchant, H. J. (1972). The phylogeny of the green algae: a new proposal, *Cytobios* 6, 255-264.
- Powers, T. O., Harris, T. S. (1993). A polymerase chain reaction method for the identification of five major *Meloidogyne* species, *Journal of Nematology*, 25, 1-6.
- Pradhan, J., Das, B. K., Sahu, S., Marhual, N. P., Swain, A. K., Mishra, B. K., Eknath, A. E. (2012). Traditional antibacterial activity of freshwater microalga *Spirulina platensis* to aquatic pathogens, *Aquacult. Res.* 43, 1287- 1295.
- Prakash, J. W., Johnson, M. ve Solomon, J. (2011). "Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 170-173.
- Pratt, R., Daniels, T. C., Eiler, J. J., Gunnison, J. B., Kumler, W. D., Oneto, J. F., Strait, L. A., Spoehr, H. A., Hardin, G. J., Milner, H. W., Smith, J. H. C., Strain, H. H., (1944). Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. *Science* 99, 351–352.
- Pratt, R., (1940). Influence of the size of the inoculum on the growth of *Chlorella vulgaris* in freshly prepared culture medium. *American Journal of Botany* 27, 52–56.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Prygiel, J., Carpentier, P., Almeida, S., Coste, M., Druart, J. C., Ector, L., Guillard, D. (2002). Determination of the biological diatom index (IBD NF T 90-354): results of an intercomparison exercise. *J. Appl. Phycol.* 14, 27–39.
- Puglisi, M. P., Tan, L. T., Jensen, P. R., Fenical, W. (2004). Capisterones A and B from the tropical green alga *Penicillus capitatus*: unexpected anti-fungal defenses targeting the marine pathogen *Lindera thallasiae*, *Tetrahedron* 60, 7035e7039.
- Quinn, J., Li, H. H., Singer, J., Morimoto, B., Mets, L., Kindle, K. ve Merchant, S. (1993). The plastocyanin-deficient phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* Ac-208 results from a frame-shift mutation in the nuclear gene encoding preapoplastocyanin, *J. Biol. Chem.* 268, 7832-7841
- Radhika, D., Veerabahu, C. ve Priya, R. (2012). “Antibacterial activity of some selected seaweeds from the Gulf of Mannar Coast, South India”. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5(4), 89-90.
- Rajan, S. S. (2001). Introduction to Algae, Anmol Publications, New Delhi.
- Ramaraj, R., Tsai, D. D. W., Chen, P. H. (2014). An exploration of the relationships between microalgae biomass growth and related environmental variables. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 135, 44-47.
- Rasko, D. A., Sperandio, V. (2010). Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease, *Nat Rev Drug Discov.* 9(2), 117-28.
- Rasmussen, T. B., Bjarnsholt, T., Skindersoe, M. E., Hentzer, M., Kristoffersen, P., Kote, M., Nielsen, J., Eberl, L. ve Givskov, M. (2005). Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI Selector. *Journal of Bacteriology* 187, 1799-1814.
- Rasmussen, T. B., Manefield, M., Andersen, J. B., Eberl, L., Anthoni, U., Christophersen, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S. ve Givskov, M. (2000). How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1. *Microbiology* 146, 3237-3244.
- Rauha, J., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H. ve Vuorela, P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds, *Intern. J. Food Microbiol.* 56, 3-12.
- Raviraja, N. S., Nikolcheva, L. G., Barlocher, F. (2005). Diversity of conidia of aquatic hyphomycetes assessed by microscopy and by DGGE. *Microbiol. Ecol.* 49, 301–7.
- Reeb, V. C., Peglar, M. T., Yoon, H. S., Bai, J. R., Wu, M., Siu, P., Grafenberg, J. L., Reyes-Prieto, A., Rümmele, S., Gross, J. ve Bhattacharya, D. (2009). Interrelationships of chromalveolates within a broadly sampled tree of photosynthetic protists, *Mol. Phylogenet. Evol.* 53, 202-211.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Reyes, K., Zervos, M. (2013). Endocarditis Caused by Resistant Enterococcus, An Overview, *Curr Infect Dis Rep*, 15/4, 320–328.
- Rimet, F. (2012). Recent views on river pollution and diatoms, *Hydrobiologia* 683, 1–24.
- Rindi, F., Mikhailyuk, T. I., Sluiman, H. J., Friedl, T. ve Lopebautista, J. M. (2011). Phylogenetic relationships in Interfilum and Klebsormidium (Klebsormidiophyceae, Streptophyta), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58, 218–231.
- Rizk, M. A. (2006). Growth activities of the sugarbeet pathogens *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Rhizoctonia solani* Kühn. and *Fusarium verticillioides* Sacc. under cyanobacterial filtrates stress. *Plant Pathology Journal*, 5, 212-215.
- Rodelas, B., Lithgow, J. K., Wisniewski-Dye, F., Hardman, A., Wilkinson, A., Von Bodman, S. B., Bauer, W. D., Coplin, D. L. (2003). Quorum sensing in plantpathogenic bacteria, *Annual Review of Phytopathology*, 41, s. 455-482.
- Round, F. E. (1973). *The Biology of Algae* 2 nd. Edition, Edward Arnold, London.
- Ryan, W. H., Senthil, C., Ashish, B., Das, K. C. (2010). Effect of biochemical stimulants on biomass productivity and metabolite content of the microalga, *Chlorella sorokiniana*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162, 2400-2414.
- Sabarinathan, K. G., Ganesan, G. (2008). Antibacterial and toxicity evaluation of C-phycoerythrin and cell extract of filamentous freshwater cyanobacterium - *Westiellopsis* sp. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Science*, 12, 79-82.
- Sakayama, H., Miyaji, K., Nagumo, T., Kato, M., Hara, Y., Nozaki, H. (2005). Taxonomic reexamination of 17 species of *Nitella* subgenus *Tieffallenia* (Charales, Charophyceae) based on internal morphology of the oospore wall and Multiple DNA Marker Sequences, *J. Phycol.* 41, 195–211.
- Sandoe, J. A., Witherden, I. R., Au-Yeung, H. K., Kite, P., Kerr, K. G., Wilcox, M. H. (2002). Enterococcal Intravascular CatheterRelated Bloodstream Infection: Management and Outcome of 61 Consecutive Cases, *J Antimicrob Chemother*, 50, 577–582.
- Sarı H. (2005). Karbapenemlere dirençli Gram negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA /meropenem EDTA disk yöntemi ve modifiye Hodge test ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması, *Uzmanlık Tezi, Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul*.
- Saunders, G. W. ve Kucera, H. (2010). An evaluation of rbcL, tufA, UPA, LSU and ITS as DNA barcode markers for the marine green macroalgae, *Cryptogamie Algologie*, 31, 487–528.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Say, A. N., Keriş, Ü. D., Şen, Ü., Gürol, M. D. (2010). “Mikroalglerden Biyokütle Enerjisi Üretimi ve Türkiye”, 8. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu (UTES10), 263-271, Bursa, Türkiye, 1-5 Aralık.
- Sentürk, K. (2018). İzmir Çamaltı tuzlasından izole edilen halofilik mikroalglerin biyoteknolojide kullanım potansiyellerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Bursa Teknik Üniversitesi, Bursa, s. 65.
- Schlagermann, P., Göttlicher, G., Dillschneider, R., Rosello-Sastre, R., Posten, C. (2012). “Composition of algal oil and its potential as biofuel”, *Journal of Combustion*, 285185, 1-14.
- Schneider, S. C., Lawniczak, A. E., Picińska-Faltynowicz, J., Szoszkiewicz, K. (2011). Do macrophytes, diatoms and non-diatom benthic algae give redundant information? Results from a case study in Poland, *Limnologia* 42, 204–11.
- Shanab, S. M. M. (2007). Bioactive Allelo-chemical compounds from *Oscillatoria* Species (Egyptian isolates), *Int. J. Agric. Biol.* 9(4), 617- 621.
- Shiflett, A. M., ve Johnson, P. J. (2010). Mitochondrion-related organelles in eukaryotic protists, *Annu. Rev. Microbiol.* 64, 409-429.
- Skaloud, P. ve Peksa, O. (2010). Evolutionary inferences based on ITS rDNA and actin sequences reveal extensive diversity of the common lichen alga *Asterochloris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54, 36–46.
- Skaloud, P. ve Rindi, F. (2013). Ecological differentiation of cryptic species within an asexual protist morphospecies: a case study of filamentous green alga *Klebsormidium* (Streptophyta). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 60, 350–362.
- Sleigh, M. A. (1989). *Protozoa and Other Protists*, 342 s. Edward Arnold, London.
- Sluys, R. (2013). The unappreciated, fundamentally analytical nature of taxonomy and the implications for the inventory of biodiversity, *Biodivers. Conserv.* 22, 1095–105.
- Smayda, T. J. ve Reynolds, C. S. (2001). Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *J. Plankton Res.* 23, 447- 461.
- Smith, R. S., Iglewski, B. H. (2003). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target, *Journal of Clinical Investigation*, 112, s. 1460-1465.
- Song, X. N., Chneg, Y. Y., Li, W. W., Li, B. B., Sheng, G. P., Fang, C. Y., Wang, Y. K., Li, X. Y. ve Yu, H. Q. (2014). Quorum quenching is responsible for the underestimated quorum sensing effects in biological wastewater treatment reactors, *Bioresource Technology*. 171, 472–476.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. (2006). "Commercial applications of microalgae.", Journal of Bioscience and Bioengineering, 101 (2), 87-96.
- Stevens, A., Greenberg, E. (1997). Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: essential elements for activation of the luminescence genes, Journal of Bacteriology, 179, s. 557-562.
- Stevenson, R. J. (2006). Refining diatom indicators for valued ecological attributes and development of water quality criteria. In Ognjanova-Rumenova, N. & Manoylov, K. [Eds.]. Advances in Phycological Studies, Pensoft Publishers, Moscow, s. 365–83.
- Stewart, K. D., ve Mattox, K. R. (1984). Phylogeny of phytoflagellates. In: Phytoflagellates (ed. E.R. Cox), pp. 433-462. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Subirana, L., Péquin, B., Michely, S., Escande, M. L., Meilland, J., Derelle, E., Marin, B., Piganeau, G., Desdevises, Y., Moreau, H. ve Grimsley, N. H. (2013), Morphology, genome plasticity, and phylogeny in the genus *Ostreococcus* reveal a cryptic species, *O. mediterraneus* sp. nov. (Mamiellales, Mamiellophyceae), Protist, 164, 643–659.
- Sudalayandi, K., Kumar, A., Sessler, R., Sayre, R. T., Falcoa, V., Ihemere, U., Ndunguru, J., Narayanan, N. (2012). Determination of fatty acids and proteins from the fresh water alga *chlamydomonas reinhardtii* cc 2137 and its antagonism against aquatic bacteria, Pak. J. Bot. 44(6), 2139-2144.
- Sukatar, A. (2002). Alg Kültür Yöntemleri, Ege Üni. Fen Fak. Kitaplar Serisi No:184.
- Surette, M. G., Bassler, B. L. (1998). Quorum sensing in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95, s. 7046-7050.
- Sydney, E. B., da Silva, T. E., Tokarski, A., Novak, A. C., de Carvalho, J. C., Woiciehowski, A. L., Larroche, C., Soccol, C. R. (2011). "Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage", Applied Energy, 88 (10), 3291-3294.
- Tan, L. T. (2007). Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery, Phytochemistry 68, 954-979.
- Taga, M. E., Bassler, B. L. (2003). Chemical Communication Among Bacteria. Proc Natl Acad Science USA, 100/2: 14549– 14554.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. (2004). Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 88, Ankara, s. 34-48.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Takagi, M., Seaweeds as Medicine, in Advance of Phycology in Japan, Tokida J, Hirose H (Eds.), Gustav Fischer Verlag, Jena, 321-327, 1975.
- Tanka, Y., Application of metal binding properties of marine algae in medicine, In Proceedings of the Food-drugs from the Sea Symposium, Marine Technology Society, 351-357, 1969.
- Teplitski, M., Robinson, J. B. ve Bauer, W. D. (2000). Plants secrete substances that mimic bacterial *N*-acyl homoserine lactone signal activities and affect population densitydependent behaviors in associated bacteria, *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13, 637-648.
- Timme, R. E. ve Delwiche, C. E. (2010). Uncovering the evolutionary origin of plant molecular ptfocess: com- parison of Coleochaete (Coleochaetales) and Spirogyra (Zygnematales) transcriptomes, *BMC Plant Biology* 10, 96. doi:10.1186/1471-2229-10-96.
- Tipnee, S., Ramaraj, R., Unpaprom, Y. (2015). Nutritional evaluation of edible freshwater gren macroalga Spirogyra varians. *Emergent Life Sciences Research*, 1(2), 1-7.
- Tramper, J., Battershill, C., Brandenburg, W., Burgess, G., Hill, R., Luiten, E., Müller, W., Osinga, R., Rorrer, G., Tredici, M., Uriz, M., Wright, P., Wijffels, R. (2003). What to do in marine biotechnology? *Biomolecular Engineering*, 20, 467-471
- Tuney, I., Cadirci, B. H., Unal, D. ve Sukatar, A. (2006). “Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (izmir, Turkey)”, *Turkish Journal of Biology*, 30, 171-175.
- TÜBİTAK Bilim ve Teknik dergisi, Gülgün Akbaba, (2003). Biyoteknolojide Mikroalgler, No: 429, 28-32s.
- Ulrich, R. L. (2004). Quorum quenching: enzymatic disruption of N-acylhomoserine lactone-mediated bacterial communication in *Burkholderia thailandensis*, *Applied and Environmental Microbiology*. 70, 6173–6180.
- Uroz, S., Dessaux, Y., Oger, P. (2009). Quorum Sensing and Quorum Quenching: The Yin and Yang of Bacterial Communication, *ChemBioChem*, 209, 205– 216.
- Uzun E. O., Dawid I. B. (1980). Ökaryotlarda tekrarlanan genler, *Biyokimya Yıllık Yorumlar*, 49, 727-764.
- Van den Hoek, C., Mann, D. G., Jahns, H. M. (1995). Structure and characteristics of the Cyanophyta, In: *Algae: An Introduction to Phycology*, Cambridge University Press, Cambridge, p. 24-32.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vattem, D. A., Mihalik, K., Crixell, S. H. ve McLean, R. J. C. (2007). Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors, *Fitoterapia* 78, 302-310.
- Venil, C. K., Zakaria, Z. A., Ahmad, W. A., (2013). Bacterial pigments and their applications, *Process Biochem.* 48, 1065–1079.
- Verbruggen, H., Leliaert, F., Maggs, C. A., Shimada, S., Schils, T., Provan, J., Booth, D., Murphy, S., De Clerck, O., Littler, D. S., Litter, M. M. ve Coppejans, E. (2007). Species boundaries and phylogenetic relationships within the green algal genus *Codium* (Bryopsidales) based on plastid DNA sequences, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 240–254.
- Vrain, T. C., Wakarchuk, D. A., Levesque, A. C. ve Hamilton, R. I. (1992). Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology*, 15(6), 563-573.
- Ward, O. P., Singh, A. (2005). Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production, *Process Biochemistry* 40, 3627-3652.
- Walsh C. (2003). Where will new antibiotics come from? *Nat Rev Microbiol.* 1:65-70
- Wetherbee, R., Platt, S. J., Beech, P. L. ve Pickett-Heaps, J. I. D. (1988). Flagellar transformation in the heterokont *Epiphyxis pulchra* (Chrysophyceae): direct observations using image-enhanced light microscopy, *Protoplasma* 145, 47-54.
- Williams, P. J. L. B., Laurens, L. M. L. (2010). “Microalgae as biodiesel and biomass feedstocks: Review and analysis of the biochemistry, energetics and economics”, *Energy and Environmental Science*, 3 (5), 554-590.
- Willsie, A., Mathee, K. (2000). Screening South Florida waters for inhibitors of acylatedhomoserine lactones, Masters Thesis. Florida International University sensing inhibitory activity of key phenolic compounds of ginger and their derivatives, *Food Chem*, 159, 451–457.
- Wolfaardt, G. M., Lawrence, J. R., Robarts, R. D., Caldwell, S. J., Caldwell, D. E. (1994). Multicellular Organization in a Degradative Biofilm Community, *Appl Environ Microbiol*, 60/2, 434–446.
- Wongsawad, P., Peerapornpisal, Y. (2015). Morphological and molecular profiling of *Spirogyra* from Northeastern and northern Thailand using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(4), 382-389.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wopperer, J., Cardona, S. T., Huber, B., Jacobi, J. A., Valvano, M. A. A. L. E. (2006). Quorum-Quenching Approach To Investigate the Conservation of Quorum-Sensing-Regulated Functions within the *Burkholderia cepacia* Complex, *Applied and environmental microbiology*, 1580, 1579–1587.
- Wu, H., Song, Z., Hentzer, M., Andersen, J. B., Molin, S., Givskov, M. ve Hoiby, N. (2004). Synthetic furanones inhibit quorum-sensing and enhance bacterial clearance in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53, 1054-1061.
- Xu, R. ve Mi, Y. (2011). “Simplifying the process of microalgal biodiesel production through in situ transesterification technology”, *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 88 (1), 91-99.
- Xue, C. H., Saito, Y., Zhang, H., Li, Z., Cai, Z., Ou, Y., Lin, C. H., Imbs, A. B. (2002). Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*, *Food Chem*, 77, 9-13.
- Yang, E. C., Boo, G. H., Kim, H. J., Cho, S. M., Boo, S. M., Andersen, R. A. ve Yoon, H. S. (2012). Supermatrix data highlight the phylogenetic relationships of photosynthetic stramenopiles, *Protist* 163, 217-231.
- Yoldaş, M. A., Katırcıoğlu, H. ve Beyatlı, Y. (2003). Bazı Mavi-Yeşil Alglerin (Cyanophyta-Cyanobacteria) Poli- β -hidroksibütirat (PHB) Üretimi ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 20, 467-471.
- Yoon, H. S., Müller, K. M., Sheath, R. G., Ott, E. D. ve Bhattacharya, D. (2006). Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *J. Phycol.* 42, 482-492.
- Zani, S., Mellon, M. T., Collier, J. L., Zehr, J. P. (2000). Expression of *nifH* Genes in Natural Microbial Assemblages in Lake George, New York, detected by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 3119–24.
- Zeybek, N. (1984). Kriptogam’ların (Çiçeksiz Bitkilerin) Pratiği, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı İşleri, İzmir, s. 17-60.
- Zeybek, N., Zeybek, U., Saygıner, B. (2003). *Farmasötik Botanik*, Meta Basımevi, İzmir, s. 102-103.
- Zhou, J., Ashoori, F., Susuki, S. (1993). Protective effect of chlorogenic acid on paraquatinduced in the liver of rats by carbon tetrachloride or ⁶⁰Co-irradiation, *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 15, 119-125.
- Zhou, L., Zheng, H., Tang, Y., Yu, W., Gong, Q. (2013). Eugenol inhibits quorum sensing at sub-inhibitory concentrations, *Biotechnol. Lett.* 35, 631–637.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zinger-Yosovich, K., Sudakevitz, D., Imberty, A., Garber, N. C., Gilboa-Garber, N. (2006). Production and properties of the native *Chromobacterium violaceum* fucose-binding lectin (CV-IIL) compared to homologous lectins of *Pseudomonas aeruginosa* (PA-IIL) and *Ralstonia solanacearum* (RS-IIL), *Microbiology*. 152, 457–463.

Zins, M. M., Zimprich, C. A., Petermann, S. R., Rust, L. (2001). Expression and partial characterization of an elastase from *Chromobacterium violaceum*, *Vet. Microbiol.* 80, 63–74.

Zwart, G., Kamst-van Agterveld, M. P., van der Werff-Staverman, I., Hagen, F., Hoogveld, H. L., Gons, H. J. (2005). Molecular characterization of cyanobacterial diversity in a shallow eutrophic lake, *Environ. Microbiol.* 7, 365–77.

