

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**MİKROALG EKSTRAKTLARININ BAZI BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE
BİYOFİLM VE ÇEVREYİ ALGILAMA SİSTEMİ İNHİBİSYON
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Hasan Emre YILMAZ

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLER
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

TEMMUZ 2023

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**MİKROALG EKSTRAKTLARININ BAZI BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE
BİYOFİLM VE ÇEVREYİ ALGILAMA SİSTEMİ İNHİBİSYON
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Hasan Emre YILMAZ

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLER
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

TEMMUZ 2023

ANTALYA

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

**MİKROALG EKSTRAKTLARININ BAZI BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE
BİYOFİLM VE ÇEVREYİ ALGILAMA SİSTEMİ İNHİBİSYON
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Hasan Emre YILMAZ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLER
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından FDK-2021-5589 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKROALG EKSTRAKTLARININ BAZI BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE
BİYOFİLM VE ÇEVREYİ ALGILAMA SİSTEMİ İNHİBİSYON
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan Emre YILMAZ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLER
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 05/07/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY (Danışman)
Prof. Dr. Zehra Arzu BECER
Prof. Dr. Süleyman AKHAN
Prof. Dr. Aysun ERGENE
Doç. Dr. Sırma ÇAPAR DİNÇER

ÖZET

MİKROALG EKSTRAKTLARININ BAZI BALIK PATOJENLERİ ÜZERİNE BİYOFİLM VE ÇEVREYİ ALGILAMA SİSTEMİ İNHİBİSYON ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan Emre YILMAZ

Doktora Tezi, Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

Temmuz 2023; 106 sayfa

Su ürünleri yetiştiricilik sektöründe, üretim sistemleri içerisindeki hastalıkla ilişkili bakterilerin kontrol altında tutulması oldukça önemlidir. Bakteriyel hastalıkların kontrol edilememesi ciddi ve büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir.

Günümüzde bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde antibiyotikler oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin aşırı ve rutin kullanımı sonucu açığa çıkan antibiyotik direnci hastalıkların tedavisini zorlaştırmaktadır. Bu durumun önüne geçebilmek için yeni ve alternatif yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bakteriyel çevreyi algılama sisteminin (quorum sensing-QS) ve biyofilm oluşumunun engellenmesi son yıllarda üzerine çalışmalar yapılan alternatif bir tedavi yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Böylece patojeniteyi büyük oranda tetikleyen ve etki gücünü artıran mekanizmalar inhibe edilerek hastalıkların önüne geçilebilmektedir.

Bu çalışma kapsamında bir siyanobakteri türü olan *Arthrospira platensis* ve mikroalg *Nannochloropsis* sp.'in dört farklı çözücü (metanol, etanol, kloroform ve su) kullanılarak ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktların balık patojenlerinden *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas hydrophila* ve *Yersinia ruckeri* üzerine olan biyofilm inhibisyonu (antibiyofilm) ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu (anti quorum sensing) özellikleri araştırılmıştır.

Yapılan tez çalışması sonucunda en güçlü antibakteriyel etki gösteren ekstraktlar *Nannochloropsis* sp. kloroform (256-512 µg/mL), *A. platensis* kloroform (512-1024 µg/mL) ve *A. platensis* metanol (512-2048 µg/mL) ekstraktları olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapısını en fazla inhibe eden ekstraktlar kloroform ekstraktları (128-4096 µg/mL arası denenen tüm konsantrasyonlarda) olarak belirlenmiştir. Bakterilerin hücre yüzey hidrofobikliğini en çok azaltan ekstraktlar yine kloroform ekstraktları (128-4096 µg/mL arası denenen tüm konsantrasyonlarda) olmuştur. Bakteriler tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin degradasyonu analizinde etkili ekstraktların *Nannochloropsis* sp. etanol (2048 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp. metanol (2048 µg/mL) ekstraktları olduğu görülmüştür. Cam yüzeyinde oluşturulan biyofilm yapılarını en fazla inhibe eden ekstraktlar *Nannochloropsis* sp. kloroform (128-256 µg/mL), *Nannochloropsis* sp metanol (2048 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp etanol (2048 µg/mL) ekstraktları olarak belirlenmiştir. Biyofilm sökülmesinin ışık mikroskobu ile görüntülenmesi analizlerinde olgun biyofilm yapısı üzerine etkili olan ekstraktlar kloroform (128-512 µg/mL) ve metanol (512-2048 µg/mL) ekstraktları olmuştur. QS moleküllerinin inhibisyonu çalışmalarında

Chromobacterium violaceum'un (ATCC 12472) üretmiş olduğu violacein pigmentini inhibe eden en etkili ekstraktlar etanol (1024-2048 µg/mL), metanol (1024-2048 µg/mL) ve su (1024-4096 µg/mL) ekstraktları olmuştur. *Agrobacterium tumefaciens*'in (NT1) kullanıldığı çalışmada ise QS moleküllerini en fazla inhibe eden ekstraktlar etanol (1024-4096 µg/mL) ve kloroform (64-512 µg/mL) ekstraktları olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında elde edilen ekstraktların antibakteriyel, antibiyofilm ve QS inhibisyonu özellikleri olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Biyofilm, İnhibisyon, Mikroalg, Çevreyi Algılama Sistemi (Quorum Sensing),

JÜRİ: Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

Prof. Dr. Zehra Arzu BECER

Prof. Dr. Süleyman AKHAN

Prof. Dr. Aysun ERGENE

Doç. Dr. Sırma ÇAPAR DİNÇER

ABSTRACT

DETERMINATION OF BIOFILM AND QUORUM SENSING INHIBITION CHARACTERISTICS OF MICROALGAL EXTRACTS ON SOME FISH PATHOGENS

Hasan Emre YILMAZ

PhD Thesis in Basic Aquatic Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY

July 2023; 106 pages

In aquaculture, it is very important to keep the bacterial flora associated with the disease in production systems under control. As a result of the failure to control the bacterial flora, diseases that cause serious and great economic losses may occur.

Today, antibiotics are widely used in the treatment of fish diseases. Antibiotic resistance, which emerges as a result of excessive and routine use of antibiotics, complicates the treatment of diseases. In order to prevent this situation, it is necessary to develop new and alternative methods. Inhibition of the bacterial quorum sensing and biofilm formation has emerged as an alternative treatment method that has been studied in recent years. Thus, diseases can be prevented by inhibiting the mechanisms that greatly trigger pathogenicity and increase the potency.

In this study, extraction was carried out using four different solvents (methanol, ethanol, chloroform and water) from *Arthrospira platensis* cyanobacteria and *Nannochloropsis* sp. microalgae. Biofilm inhibition (antibiofilm) and quorum sensing inhibition (anti quorum sensing) properties of the extracts on *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* fish pathogens were investigated.

As a result of the thesis study, the extracts with the strongest antibacterial effect were determined as *Nannochloropsis* sp. chloroform (256-512 µg/mL), *A. platensis* chloroform (512-1024 µg/mL) and *A. platensis* methanol (512-2048 µg/mL) extracts. The extracts that the most inhibited the biofilm structure formed by the bacteria were determined as chloroform extracts (at all concentrations tested between 128-4096 µg/mL). The extracts that reduced the cell surface hydrophobicity of the bacteria the most were chloroform (at all concentrations tested between 128-4096 µg/mL) extracts. *Nannochloropsis* sp. ethanol (2048 µg/mL) and *Nannochloropsis* sp. methanol (2048 µg/mL) extracts were found to be the most effective extracts in the analysis of exopolysaccharides degradation produced by bacteria. *Nannochloropsis* sp. chloroform (128-256 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. methanol (2048 µg/mL) and *Nannochloropsis* sp. ethanol (2048 µg/mL) extracts were determined as the extracts that inhibited the biofilm structures formed on the glass surface the most. The extracts that have been most effective on mature biofilm structure in the analysis of biofilm eradication are chloroform extracts (128-512 µg/mL) and methanol extracts (512-2048 µg/mL) when viewed under a light microscope. In the inhibition studies of QS molecules, the most effective extracts

inhibiting violacein pigment produced by *Chromobacterium violaceum* (ATCC 12472) were ethanol (1024-2048 µg/mL), methanol (1024-2048 µg/mL) and water (1024-4096 µg/mL) extracts. In the study using *Agrobacterium tumefaciens* (NT1), it was determined that the extracts with the highest inhibition of QS molecules were ethanol (1024-4096 µg/mL) and chloroform (64-512 µg/mL) extracts.

As a result, it was determined that the extracts obtained in this thesis study had antibacterial, antibiofilm and QS inhibition activities.

KEYWORDS: Biofilm, Inhibition, Microalgae, Quorum Sensing.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY
Prof. Dr. Zehra Arzu BECER
Prof. Dr. Süleyman AKHAN
Prof. Dr. Aysun ERGENE
Assoc. Prof. Dr. Sırma ÇAPAR DİNÇER

ÖNSÖZ

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak hazırlanmış olup, bazı mikroalg ekstraktlarının *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* balık patojenlerine karşı biyofilm ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu özelliklerinin belirlenmesini kapsamaktadır.

Doktora eğitimim süresince maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen, araştırmam için laboratuvar ortamı sağlayan, akademide karşılaşacağım zorlukların nasıl üstesinden gelebileceğim konusunda yol gösteren sayın danışman hocam Doç. Dr. İ. Tülay ÇAĞATAY'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarımda laboratuvar imkanlarını sunan Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Avlama ve İşleme Bölümü'nde öğretim üyesi olan Sayın Prof. Dr. Pınar YERLİKAYA KEBAPÇIOĞLU ve Doç. Dr. Osman Kadir TOPUZ'a teşekkür ederim.

Doktora süreci boyunca her konuda desteklerini esirgemeyen Yiğit TAŞTAN, Arş. Gör. Alper YILDIZ, Arş. Gör. B. Elif ARSLAN, İdris KORALTAN, Güler Sıla DUMAN, Doğukan KARACA, Edafe ODIOKO, Yusuf AKTOP, Kerem GÖKDAĞ ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca aldığım kararlarda bana destek olan ve tüm süreçte yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Doktora eğitimim maddi olarak 'YÖK 100/2000 Doktora Bursu' ve 'TÜBİTAK BİDEB 2211-A Yurtiçi Genel Doktora Burs Programı' kapsamında desteklenmiştir.

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından FDK-2021-5589 nolu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	vi
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Türkiye’de Su Ürünleri Sektörü.....	3
2.2. Su Ürünleri Sektöründe Karşılaşılan Bazı Önemli Bakteriyel Hastalıklar	4
2.2.1. <i>Aeromonas hydrophila</i> enfeksiyonları	4
2.2.2. <i>Lactococcus garvieae</i> enfeksiyonları	5
2.2.3. <i>Yersinia ruckeri</i> enfeksiyonları	7
2.3. Bakterilerde Çevreyi Algılama Sistemi (Quorum Sensing-QS)	8
2.3.1. Çevreyi algılama sistemi (quorum sensing-QS) ve patojenite ile ilişkisi	10
2.4. Bakteriyel Biyofilmler	11
2.4.1. Bakteriyel biyofilmlerin yapısı ve oluşumu	11
2.4.2. Bakteriyel biyofilmlerin su ürünleri sektöründeki rolü.....	12
2.5. Mikroalglerin Genel Özellikleri.....	13
2.6. <i>Nannochloropsis</i> sp.’nin Sistematığı ve Genel Özellikleri	14
2.6.1. <i>Nannochloropsis</i> sp.’nin biyoaktif bileşenleri	14
2.6.2. <i>Nannochloropsis</i> sp.’nin kullanım alanları	15
2.7. <i>Arthrospira platensis</i> ’in Sistematığı Ve Genel Özellikleri.....	15
2.7.1. <i>Arthrospira platensis</i> ’in biyoaktif bileşenleri	15
2.7.2. <i>Arthrospira platensis</i> ’in kullanım alanları	16
2.7.3. Mikroalglerin antimikrobiyal, biyofilm inhibisyonu (antibiyofilm) ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu (anti-QS) üzerine yapılmış çalışmalar	16
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Mikroorganizmaların Üretimi	19
3.2. Mikroalglerin Üretimi	19

3.3.	Mikroalglerin Ekstraksiyonu.....	21
3.4.	Mikroalg Ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi.....	21
3.5.	Biyofilm İnhibisyonu (Antibiyofilm) Analizleri.....	22
3.5.1.	Mikroplaka Yöntemi	22
3.5.2.	Hücre Yüzey Hidrofobikliği (HYH) İnhibisyon Analizi	23
3.5.3.	Ekstraselüler Polisakkarit Madde (EPS) Degredasyon Analizi	24
3.5.4.	Işık Mikroskobu Analizi	24
3.6.	Çevreyi Algılama Sistemi İnhibisyonu (AntiQS) Analizleri	25
3.6.1.	Violacein inhibisyonunun kalitatif ve kantitatif analizi	25
3.6.2.	Açıl homoserin lakton (AHL) moleküllerinin inhibisyonu.....	26
3.7.	Mikroalg Biyoaktif Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi	26
3.7.1.	Fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi	26
3.7.2.	Mikroalg ekzopolisakkaritlerin miktarının belirlenmesi.....	27
4.	BULGULAR	28
4.1.	Mikroalglerin Üretimi	28
4.2.	Mikroorganizmaların Üretimi	29
4.3.	Mikroalglerin Ekstraksiyonu.....	29
4.4.	Mikroalg Ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi.....	31
4.5.	Biyofilm İnhibisyonu (Antibiyofilm Aktivite) Analizleri.....	36
4.5.1.	Mikroplaka yöntemi	36
4.5.2.	Hücre yüzey hidrofobikliği (HYH) inhibisyon analizi	41
4.5.3.	Ekstraselüler polisakkarit madde (EPS) degredasyon analizi	45
4.5.4.	Işık mikroskobu analizi	50
4.6.	Çevreyi Algılama Sistemi İnhibisyonu (AntiQS) Analizleri	62
4.6.1.	Violacein inhibisyonunun kalitatif analizi	62
4.6.2.	Violacein inhibisyonunun kantitatif analizi	63
4.6.3.	Açıl homoserin lakton (AHL) moleküllerinin inhibisyonu.....	65
4.7.	Mikroalg Biyoaktif Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi	78
4.7.1.	Fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi	78
4.7.2.	Mikroalg ekzopolisakkaritlerin miktarının belirlenmesi.....	80

5. TARTIŞMA.....	81
5.1. Mikroalg Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkileri	82
5.2. Mikroalg Ekstraktlarının Biyofilm İnhibisyon Özellikleri	83
5.3. Mikroalg Ekstraktlarının Hücre Yüzey Hidrofobikliği (HYH) Üzerine Etkisi	84
5.4. Mikroalg Ekstraktlarının Ekstraselüler Polimerik Madde Üzerine Etkisi	86
5.5. Test Bakterilerinin Cam Yüzeyinde Oluşturduğu Biyofilm Yapılarının Görüntülenmesi ve Mikroalg Ekstraktlarının Biyofilm Üzerine Etkisi	88
5.6. Mikroalg Ekstraktlarının <i>C. violaceum</i> (ATCC 12472) Bakterisinin Ürettiği Violacein Pigment Miktarı Üzerine Etkisi	88
5.7. Mikroalg Ekstraktlarının Test Bakterilerince Üretilen AHL Molekülleri Üzerine Etkisi	89
5.8. Mikroalg Ekstraktlarının Total Fenolik Ve Ekstraselüler Polisakkarit İçeriği	90
6. SONUÇLAR.....	92
7. KAYNAKLAR.....	94
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora tezi olarak sunduğum “Mikroalg Ekstraktlarının Bazı Balık Patojenleri Üzerine Biyofilm ve Çevreyi Algılama Sistemi (Quorum Sensing) İnhibisyon Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

05/07/2023

Hasan Emre YILMAZ



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

km	: Kilometre
mg	: Miligram
°C	: Derece santigrat
µL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
µm	: Mikrometre
g	: Gram
µg	: Mikrogram
L	: Litre
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
BİK	: Biyofilm inhibisyon konsantrasyonu
EPS	: Ekzopolisakkaritler
HYH	: Hücre yüzey hidrofobikliği
QS	: Quorum sensing (çevreyi algılama)
AHL	: Açıl homoserin lakton

Bu tezde ondalık ayırıcı olarak virgöl (21,01) kullanılmıştır.

Kısaltmalar

TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
Min	: Minimum
Mak	: Maksimum
TSA	: Trypton Soy Agar
TSB	: Trypton Soy Agar

LB : Luria-Bertani besiyeri

LBA : Luria-Bertani agar besiyeri

dk : Dakika



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>A. hydrophila</i> 'nın neden olduğu gökkuşağı alabalığında (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) hemorajik ülser enfeksiyonu (A) (Shahi vd. 2013), <i>Carassius gibelio</i> 'da frunkulozis enfeksiyonu (B) (Bannai 2013).....	5
Şekil 2.2. <i>L. garvieae</i> 'nin neden olduğu gökkuşağı alabalığında (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) laktokokkozis enfeksiyonu (A, deride kararma; B, çift taraflı ekzoftalmus; C, korneada opaklaşma; D, ileri seviyede göz kaybı; E-F, vücutta yaralanmalar; G, sindirim sisteminde asitleşme) (Öztürk vd. 2013)	6
Şekil 2.3. <i>Y. ruckeri</i> 'nin neden olduğu gökkuşağı alabalığında (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) yersiniozis enfeksiyonu (A, ağızda kanama; B, boğazda kanama; C, pelvik yüzgeç kaidesinde kanama; D, anüste prolapsus) (Balta vd. 2016)	8
Şekil 2.4. Bakterilerde çevreyi algılama sistemi (Clark vd. 2019)	9
Şekil 2.5. Biyofilm oluşum evreleri (Abu Bakar vd. 2018).....	12
Şekil 4.1. Mikroalglerin üretim aşaması	28
Şekil 4.2. Katı ve sıvı besiyerine ekilen mikroorganizmalar	29
Şekil 4.3. Mikroalglerin ekstraksiyon aşamaları (A, ekstraktların santrifüjlenmesi; B, rotary evaporatör kullanılarak çözücünün uzaklaştırılması; C, kuru ekstraktın tartılması).	30
Şekil 4.4. Su ekstraktlarının liyofilizatör ile kurutulma aşamaları (A, dondurulan sulu ekstraktların kurutma işlemi başlangıcı; B, suyu tamamen uçurulmuş kuru ekstraktlar).	31
Şekil 4.5. Çalışmada kullanılan bakteriler üzerine <i>Nannochloropsis</i> sp. ve <i>A. platensis</i> 'ten elde edilen etanol ve kloroform ekstraktlarının MİK değerlerinin belirlenmesi çalışması (A, <i>A. hydrophila</i> ; B, <i>L. garvieae</i> ; C, <i>Y. ruckeri</i> ; D, Mikroalglerden elde edilen su ekstraktları; AH, <i>A. hydrophila</i> ; LG, <i>L. garvieae</i> ; YR, <i>Y. ruckeri</i> ; NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).	35
Şekil 4.6. <i>A. hydrophila</i> 'nın biyofilm inhibisyon oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	37
Şekil 4.7. <i>L. garvieae</i> 'nin biyofilm inhibisyon oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	38

Şekil 4.8. <i>Y. ruckeri</i> 'nin biyofilm inhibisyon oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	40
Şekil 4.9. <i>A. hydrophila</i> 'nın hidrofobiklik oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	41
Şekil 4.10. <i>L. garvieae</i> 'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	43
Şekil 4.11. <i>Y. ruckeri</i> 'nin hidrofobiklik oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	44
Şekil 4.12. Mikroalg ekstraktlarının <i>A. hydrophila</i> üzerine olan EPS degradasyon yüzdeleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	46
Şekil 4.13. Mikroalg ekstraktlarının <i>L. garvieae</i> üzerine olan EPS degradasyon yüzdeleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	48
Şekil 4.14. Mikroalg ekstraktlarının <i>Y. ruckeri</i> üzerine olan EPS degradasyon yüzdeleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	49
Şekil 4.15. <i>A. hydrophila</i> 'nın cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B,	

metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır).....	52
Şekil 4.16. <i>A. hydropila</i> 'nın cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve <i>A. platensis</i> ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır)	53
Şekil 4.17. <i>L. garvieae</i> 'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır).....	55
Şekil 4.18. <i>L. garvieae</i> 'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve <i>A. platensis</i> ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır).....	56
Şekil 4.19. <i>Y.ruckeri</i> 'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır).....	58
Şekil 4.20. <i>Y.ruckeri</i> 'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve <i>A. platensis</i> sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır).....	59
Şekil 4.21. <i>A. hydrophila</i> 'nın oluşturduğu olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkisi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol).....	60
Şekil 4.22. <i>L. garvieae</i> 'nin oluşturduğu olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkisi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol).....	61
Şekil 4.23. <i>Y. ruckeri</i> 'nin oluşturduğu olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkisi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol).....	62
Şekil 4.24. 4-NPO pozitif kontrolünün violacein pigmenti inhibisyonu kalitatif analizi	63
Şekil 4.25. Mikroalg ekstraktlarının violacein pigmenti inhibisyonu kalitatif analizi (A, <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktları soldan sağa doğru azalan konsantrasyonlarla; B, <i>A. platensis</i> ekstraktları soldan sağa doğru azalan konsantrasyonlarla)	63

Şekil 4.26. Pozitif kontrol olan 4-NPO eklenmiş örneklerde üretilen violacein pigmentinin 580 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri (PK, pozitif kontrol). ..	64
Şekil 4.27. Pozitif kontrol olan 4-NPO eklenmiş örneklerde üretilen violacein pigmentinin 580 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri.....	64
Şekil 4.28. Mikroalg ekstraktlarının violacein pigment üretimini inhibe etme oranları.	65
Şekil 4.29. <i>A. hydrophila</i> için AHL moleküllerinin <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu yarı yarıya azalmaktadır).....	67
Şekil 4.30. <i>A. hydrophila</i> için AHL moleküllerinin <i>A. platensis</i> sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu yarı yarıya azalmaktadır).....	68
Şekil 4.31. <i>L. garvieae</i> için AHL moleküllerinin <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu yarı yarıya azalmaktadır).....	69
Şekil 4.32. <i>L. garvieae</i> için AHL moleküllerinin <i>A. platensis</i> ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu azalmaktadır)	70
Şekil 4.33. <i>Y. ruckeri</i> için AHL moleküllerinin <i>Nannochloropsis</i> sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu azalmaktadır)	72
Şekil 4.34. <i>Y. ruckeri</i> için AHL moleküllerinin <i>A. platensis</i> sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu azalmaktadır)	72
Şekil 4.35. Mikroalg ekstraktlarının <i>A. hydrophila</i> - bulunan petrilere X-Gal miktarını gösteren i absorbans değerleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)	73
Şekil 4.36. Mikroalg ekstraktlarının <i>A. hydrophila</i> bulunan petrilere X-Gal inhibisyon oranları (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	74
Şekil 4.37. Mikroalg ekstraktlarının <i>L. garvieae</i> bulunan petrilere X-Gal miktarını gösteren absorbans değerleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A.</i>	

<i>platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)	75
Şekil 4.38. Mikroalg ekstraktlarının <i>L. garvieae</i> bulunan petrilerde X-Gal inhibisyon oranları (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	76
Şekil 4.39. Mikroalg ekstraktlarının <i>Y. ruckeri</i> bulunan petrilerde X-Gal miktarını gösteren absorbans değerleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)	77
Şekil 4.40. Mikroalg ekstraktlarının <i>Y. ruckeri</i> bulunan petrilerde X-Gal inhibisyon oranları (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	78
Şekil 4.41. Hazırlanan gallik asit standart çözeltileri ile elde edilen kalibrasyon grafiği	79

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Türkiye su ürünleri üretimi miktarları (TÜİK 2022)	3
Çizelge 2.2. <i>A. hydrophila</i> 'nın taksonomisi	4
Çizelge 2.3. <i>L. garvieae</i> 'nin taksonomisi	5
Çizelge 2.4. <i>Y. ruckeri</i> 'nin taksonomisi.....	7
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve içerikleri	19
Çizelge 3.2. BG-11 besiyeri içeriği.....	19
Çizelge 3.3. Walne besiyeri içeriği	20
Çizelge 3.4. MİK çalışmasında kullanılan ekstrakt konsantrasyonlarının kuyucuklara göre dağılımı (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	33
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan bakteriler üzerine <i>Nannochloropsis</i> sp. ve <i>A. platensis</i> den elde edilen etanol, metanol, kloroform ve su ekstraktlarının MİK değerleri.....	35
Çizelge 4.2. <i>A. hydrophila</i> 'nın hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı) renkleri sil.....	37
Çizelge 4.3. <i>L. garvieae</i> 'nin biyofilm inhibisyon oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	39
Çizelge 4.4. <i>Y. ruckeri</i> 'nin biyofilm inhibisyon oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	40
Çizelge 4.5. <i>A. hydrophila</i> 'nın hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	42

Çizelge 4.6. <i>L. garvieae</i> 'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	43
Çizelge 4.7. <i>Y. ruckeri</i> 'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	45
Çizelge 4.8. <i>A. hydrophila</i> 'nın EPS degradasyon oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	47
Çizelge 4.9. <i>L. garvieae</i> 'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	48
Çizelge 4.10. <i>Y. ruckeri</i> 'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	50
Çizelge 4.11. Ekstraktların total fenolik bileşik içeriklerinin gallik asit eşdeğer miktarları (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı)	79
Çizelge 4.12. Ekstraktların ekzopolisakkarit miktarlarının 595 nm dalgaboyunda ölçülen absorbans değerleri (NE, <i>Nannochloropsis</i> sp. etanol ekstraktı; NM, <i>Nannochloropsis</i> sp. metanol ekstraktı; NK, <i>Nannochloropsis</i> sp. kloroform ekstraktı; NS, <i>Nannochloropsis</i> sp. su ekstraktı; APE, <i>A. platensis</i> etanol ekstraktı; APM, <i>A. platensis</i> metanol ekstraktı; APK, <i>A. platensis</i> kloroform ekstraktı; APS, <i>A. platensis</i> su ekstraktı).....	80

1. GİRİŞ

Su ürünleri sektörü, artan dünya nüfusunun hayvansal protein gereksinimini karşılamak için önemli bir üretim sektörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) verilerine göre dünya üzerinde gelişmiş sektörlerin içerisinde yer almaktadır. Su ürünleri yetiştiricilik sektöründen elde edilen üretim, toplam su ürünleri üretiminin %30'unu kapsamaktadır (Davenport vd. 2003). Su ürünleri yetiştiricilik sektörünün gelişmesini olumsuz etkileyen faktörler sırasıyla su kaynaklarının azalması, su kaynaklarının kirletilmesi, doğal stokların azalması, canlı transferi sırasında meydana gelen ölümler ve yetiştirme sistemlerinde meydana gelen hastalıklar olarak sıralanabilmektedir. Bunlardan en önemlisi mikrobiyal hastalıkların oluşturduğu etkidir. Bu nedenle mikrobiyal hastalıkların önüne geçilmesi ekonomi ve insan sağlığı açısından oldukça önemlidir (Leung ve Bates 2012; Santhakumari vd. 2016).

Su ürünleri yetiştiriciliği yapılan kültür sistemlerinde bakteriyel enfeksiyon ajanlarının kontrol edilememesi nedeniyle çeşitli ve bazen oldukça ciddi hastalık problemleri yaşanmaktadır. Akut ya da kronik balık hastalık enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak çeşitli antibiyotikler (florokinolonlar, eritromisin, kanamisin, penisilin vs.) kullanılmaktadır. Bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek ve önlemek için rutin kullanılan gelişigüzel antibiyotikler, balık patojen bakterileri arasında direnç gelişmesine yol açmakta ve bu tür antibiyotikleri etkisiz hale getirmektedir (Defoirdt vd. 2007). Yaşanan bu problemten dolayı araştırmacılar yeni alternatif önleme, koruma ve tedavi yöntemlerine yönelmiştir. Bu yöntemler arasında son yıllarda popüler olan faj terapisi, probiyotik kullanımı ve antimikrobiyal ajanların kullanımı yer almaktadır. Bunların yanında bakterilerin çevreyi algılama sistemini inhibe eden ve biyofilm formunu bozan özellikteki ilaç geliştirme çalışmaları önemli bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır (De Smet ve Contreas 2005; Abraham vd. 2011).

Çevreyi algılama sistemi (çoğunluk algılama sistemi, quorum sensing-QS), prokaryot canlıların hücre yoğunluğuna bağlı olarak sinyal molekülleri aracılığıyla haberleşmesi olarak tanımlanmaktadır. (Williams vd. 2000). İlk kez biyoluminesans özelliğinin açığa çıkması ile *Vibrio fischeri* bakterisinde keşfedilmiştir (Stevens ve Greenberg 1997). Bakterilerde bulunan çevreyi algılama sistemi, bakterilerin koloni yaşamını düzenleme, ortamdaki yabancı mikroorganizmaların tespiti, simbiyozis, virülans genlerin ifadesi, patojenite ve biyofilm oluşturma gibi bakteri için hayati öneme sahip davranışsal mekanizmalarda kilit rol oynamaktadır (De Kievit ve Iglewski 2000; McGowan vd. 2005; Doğru 2012). Bunlar arasından özellikle virülans faktörlerin sentezi ve biyofilm oluşturma gibi konular patojenite açısından ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle QS sistemini inhibe eden moleküller bakteriyel patojeniteyi engelleme konusunda önem taşımaktadır. Bu tip bileşikler ne bakteriyi öldürmekte ne de büyümelerini durdurmaktadır. Bu bağlamda QS sistemini inhibe eden moleküllerin antibiyotiklere göre daha az direnç oluşturmaları beklenmektedir (De Kievit vd. 2001; Rogers vd. 2010; Davies 2003).

Bakteriyel biyofilm, serbest hücrelerin bir yüzeye ve ardından birbirine tutunmasıyla oluşan karmaşık biyolojik sistemlerdir. Biyofilm yapısı ekstraselüler polisakkarit madde (EPS) içerisine gömülü olarak bulunan polisakkaritler, lipidler ve çevresel DNA (eDNA) içermektedir (Flemming ve Wingender 2010). Biyofilm, serbest hücrelerin bir yüzeye ve ardından birbirine tutunmasıyla oluşan karmaşık biyolojik sistemlerdir. Biyofilm yapısı ekstraselüler polisakkarit madde (EPS) içerisine gömülü olarak bulunan polisakkaritler, lipidler ve çevresel DNA (eDNA) içermektedir (Flemming ve Wingender 2010). Biyofilm, serbest hücrelerin bir yüzeye ve ardından birbirine tutunmasıyla oluşan karmaşık biyolojik sistemlerdir.

bakteriler için sıcaklık ve pH değişimleri, kuraklık, oksidasyon, ultraviyole radyasyonu ve metal iyonları gibi çevresel faktörlere karşı koruma sağlar. Aynı zamanda bakterilerin konak immün sisteminden kaçmasını ya da immün sisteme adapte olmasını ve serbest yaşayan bakterilere göre antibiyotik tedavilerine karşı 10000 kat daha fazla direnç oluşturabilmesini sağlamaktadır (Caraher vd. 2007; Roilides vd. 2015; Stewart 2015). Aynı zamanda yapılan araştırmalar sonucunda birçok mikrobiyolojik enfeksiyonun biyofilm kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Rogers vd. 2010; Davies 2003).

Mikroalgler, tek hücreli olup boyutları 1-100 µm arasında değişmektedir. Siyanobakteriler (mavi-yeşil algler) ise prokaryotik mikroorganizmalar olup 1 µm'ın altından başlayıp 100 µm arasında hücre boyutuna sahip olabilmektedirler (Mehdizadeh Allaf ve Peerhossaini 2022). Diğer bitki türlerinde olduğu gibi büyümek ve gelişmek için CO₂, su, güneş ışığı ve fosfora gereksinim duyarlar. Bununla birlikte mikroalgler, güneş ışığını daha verimli kullanarak hızlı gelişebilir ve az miktardaki suyu kullanarak sağlıklı biyokütleler oluşturabilirler (Akyurt ve Şahin 2010; Saber vd. 2016). Makromoleküller açısından zengin olan mikroalglerde lipid (%4-55), karbonhidrat (%6-57) ve protein (%10-63) yüksek oranlarda bulunmaktadır (Mata vd. 2010; Hariskos vd. 2014). Özellikle içerdikleri çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve çeşitli metabolik moleküller mikroalglerin gıda, tarım, kozmetik, su ürünleri yetiştiriciliği, hayvancılık, tekstil ve ilaç sanayi gibi birçok alanda kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Aktar ve Cebe 2010; Ryckebosch vd. 2014).

Enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı artan antibiyotik direnci nedeniyle yeni biyoaktif bileşiklerin/ajanların araştırılması günümüzün en önemli konuları arasındadır. Bu tip ajanların önemli kaynaklarından birkaç tanesi mikroalgler, makroalgler, süngerler, denizel bakteriler ve funguslar gibi sucul organizmalardır (Motuhi vd. 2016). 2015 yılında 1340 yeni denizel doğal ürün bildirilmiş ve kanser, patojenler (virüs, bakteri ve fungus), hipertansiyon, yüksek kolesterol ve diğer hastalıklar üzerine potansiyel etkileri araştırılmıştır (Blunt vd. 2017). Bu etkiye sahip peptid, alkaloid, terpenoid, halojenlenmiş bileşikler, lipid ve nükleozoidler gibi 262 denizel doğal ürün belirlenmiştir. Mikroalgler ve bazı siyanobakteriler de bu biyoaktif bileşiklerin zengin bir kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır (Shannon ve Abu-Ghannam 2016; Choundhary vd. 2017).

Bu tez çalışmasında *A. platensis* ve *Nannochloropsis sp.* mikroalglerinden elde edilen ekstraktların, su ürünleri yetiştiriciliği ve işleme alanında karşılaşılan, ekonomi ve balık sağlığı açısından önemli sorunlara yol açan 3 farklı balık patojeni olan *L. garvieae*, *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri* üzerinde antibiyofilm ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu özellikleri araştırılmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Türkiye’de Su Ürünleri Sektörü

Küreselleşen dünya ekonomisinde ülke ekonomilerinin rekabeti zirve noktasına ulaşmaktadır. Bu rekabet anlayışında ayakta kalan ekonomilerin sürdürülebilirliği temel aldığı görülmektedir. Rekabete ayak uydurmaya çalışan ülkelerin öne çıkan potansiyellerini değerlendirebilmesi ve ellerindeki sektörleri etkili şekilde kullanabilmeleri önemlidir. Gelişmekte olan ülkeler arasında yer alan Türkiye’de ise özellikle su ürünleri sektörü için önemli potansiyeller bulunmaktadır. (Kuşat 2019; Arslan ve Yıldız 2021).

Türkiye 8.333 km kıyı şeridinde, 342.377 hektarlık baraj göllerine ve 177.714 km nehirlerle sahiptir. 25 milyon hek deniz ve iç su yüzey alanına sahip olmakla birlikte bu alan sahip olduğu tarım alanına yakın olduğu bilinmektedir. Bu nedenle su ürünleri sektörü için bu kaynakların aktif olarak kullanımı ve gelecek nesillere korunmuş temiz kaynakları bırakabilmek hayati öneme sahiptir (Anonim 2012).

Türkiye’de su ürünleri üretimi yetiştiricilik ve avcılık olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Özellikle yetiştiricilik sektöründe üretilen su ürünleri miktarı her geçen gün artmaktadır (Arslan ve Yıldız 2021). Türkiye’de su ürünleri üretim miktarı 2022 yılında bir önceki yıla göre %6,2 oranında artış göstererek 849.808 tona yükselmiştir. Bu üretimin %60,6’sını su ürünleri yetiştiriciliği %30’unu avcılık yoluyla deniz balıklarının avcılığı, %3,9’unu iç su ürünlerinin avlanması ve %5,6’sını diğer deniz ürünlerinin avcılığı oluşturmaktadır (TÜİK 2022). Türkiyede su ürünleri yetiştiriciliği 2021 yılında önceki yıla göre %9,1’lik artış göstererek 368.742 tonu denizlerde, 146.063 tonu iç sularda olmak üzere toplamda 514.805 ton olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 2.1). Yetiştirilen balık türleri arasında en büyük payı iç sularda 145.649 ton ile alabalık alırken denizlerde ise en büyük payları 152.469 ton ile çipura ve 152.469 ton ile levrek almıştır (TÜİK 2022).

Çizelge 2.1. Türkiye su ürünleri üretimi miktarları (TÜİK 2022)

Yıl	Toplam	Deniz ürünleri (Ton)	Yetiştiricilik üretimi (Ton)	İç su ürünleri (Ton)
2009	622.962	425.046	158.729	39.187
2010	653.080	445.680	167.141	40.259
2011	703.545	477.658	188.790	37.097
2012	644.852	396.322	212.410	36.120
2013	607.515	339.047	233.394	35.074
2014	537.345	266.078	235.133	36.134
2015	672.241	397.731	240.334	34.176
2016	588.715	301.464	253.395	33.856
2017	630.820	322.173	276.502	32.145

Çizelge 2.1'in devamı

2018	628.631	283.955	314.537	30.139
2019	836.524	431.572	373.356	31.596
2020	785.811	331.281	421.411	33.119
2021	799.844	295.018	471.686	33.140
2022	849.808	301.747	514.805	33.256

2.2. Su Ürünleri Sektöründe Karşılaşılan Bazı Önemli Bakteriyel Hastalıklar**2.2.1. *Aeromonas hydrophila* enfeksiyonları**

Aeromonas hydrophila, bakteriyal hemorajik septisemi (motil aeromonas septisemi) hastalığına neden olan, *Vibrionaceae* familyasına ait, çubuk şeklinde, fakültatif anaerobik, gram negatif ve hareketli bakterilerdir (Çizelge 2.1). Optimum üreme sıcaklıkları 28-37°C olmakla birlikte maksimum 45°C sıcaklıklara kadar hayatta kalabilirler. pH 5,5 in üzerinde en iyi üreme gözlenmektedir. Tripton soy agar (TSA) besiyerinde, pH 5,5 in üzerinde ve 20-25°C'de 24-48 saat inkübe edilerek üretilirler. TSA besiyeri üzerinde 2-3 mm çapında, hafif kabarık, krem renkli ve yuvarlak koloniler oluştururlar. Yetiştiricilik yapılan işletmelerde fırsatçı patojenler olarak ortaya çıkmakta ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. (Aksoy 2009; Cipriano ve Austin 2011; Austin ve Austin 2016).

Çizelge 2.2. *A. hydrophila*'nın taksonomisi

Domain	Bacteria
Şube	Pseudomonadota
Sınıf	Gammaproteobacteria
Takım	Aeromonadales
Aile	<i>Aeromonadaceae</i>
Cins	<i>Aeromonas</i>
Tür	<i>Aeromonas hydrophila</i>

Hastalık belirtisi olarak balıklarda tankların kenarında durma ve halsizlik belirtileri gözlenmektedir. Bununla beraber hemorajik septisemi, kuyruk ve yüzgeçlerde erime, vücut yüzünde lezyonlar ve kızarıklıklar (yüzgeç diplerinde, anüste, alt çenede ve ağızda) görülebilmektedir (Şekil 2.1). (Aoki vd 1999; Aydın ve Ciltas 2004; Doukas vd. 1998; Timur ve Timur 2003; Fang vd. 2004). Etken oldukları hastalıkların tedavisi için kullanılan antibiyotiklere karşı hızlı bir şekilde direnç gösterirler (Timur ve Timur 2003).



Şekil 2.1. *A. hydrophila*'nın neden olduğu gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) hemorajik ülser enfeksiyonu (A) (Shahi vd. 2013), *Carassius gibelio*'da frunkulozis enfeksiyonu (B) (Bannai 2013)

2.2.2. *Lactococcus garvieae* enfeksiyonları

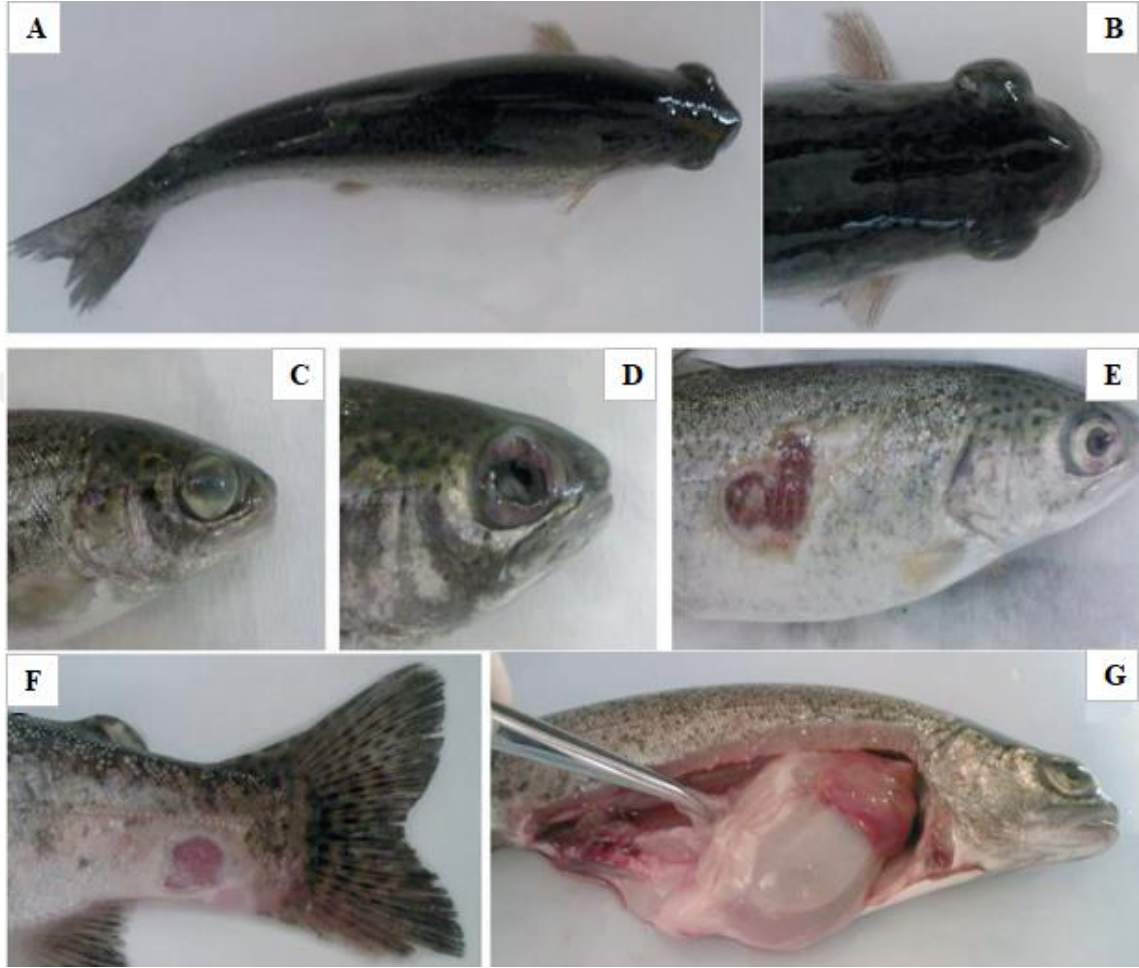
L. garvieae, laktokokkozis hastalığına neden olan hareketsiz, gram pozitif, kısa zincirli koklar şeklinde görülen ve fakültatif anaerob bir bakteridir (Çizelge 2.2). Oksidaz, indol, katalaz ve H₂ testleri negatif çıkmaktadır. Jelatin, kazein ve sodyum hippurati hidroliz edemezken koyun kanını hemoliz etmektedir. Kanı hemoliz etmeyen suşları da mevcut olup birçok karbonhidrattan (sellobiyoz, eskülin galaktoz, D-fruktoz, D-glikoz gibi) asit üretirken raffinoz, adonitol, gliserol, D-arabinoz, glikojen, laktoz, inositol, melezitoz, L-ramnoz, melibiyoz, nişasta, D-ksiloz ve sükrozdan asit üretmemektedir. Voges Proskauer, tetrazolyum indirgeme ve metil kırmızısı testleri pozitif olup nitratı indirge testi negatiftir. %0-6,5 tuzluluk oranında, 4.5-9.6 pH ve 10-45°C sıcaklıkları arasında ürerken 50°C'de üreyememektedir. (Austin ve Austin, 2016; Çağırğan, 2007)

Çizelge 2.3. *L. garvieae*'nin taksonomisi

Domain	Bacteria
Şube	Bacillota
Sınıf	Bacilli
Takım	Lactobacillales
Aile	<i>Streptococcaceae</i>
Cins	<i>Lactococcus</i>
Tür	<i>Lactococcus garvieae</i>

L. garvieae enfeksiyonları hemorajik sepsis ve hiperakut şeklinde gözlenmektedir. Ortam sıcaklığı hastalığın gelişimindeki en önemli faktörlerden biridir (Vendrell vd. 2006). İlk belirtiler renk kararması, iştahsızlık, oryantasyon kaybı, hareketlerde yavaşlama ve eratik yüzme olarak bildirilmiştir. Enfekte balıkların belirtileri arasında intraoküler ve periorbital bölgede, perianal bölgede, yüzgeç kaidesinde, yanak

bölgesinde ve operkülada hemorajilerin gözlenmesi yer almaktadır. Ayrıca tek veya çift taraflı egzoftalmus, anal prolapsus ve karın bölgesinde şişlik oldukça yaygın gözlenmektedir (Şekil 2.2). (Domenech vd. 1993; Çağırğan ve Tanrıkul 1995; Çağırğan ve Tanrıkul 1997; Eldar vd. 1999; Muzquiz vd. 1999).



Şekil 2.2. *L. garvieae*'nin neden olduğu gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) laktokokkozis enfeksiyonu (A, deride kararma; B, çift taraflı egzoftalmus; C, korneada opaklaşma; D, ileri seviyede göz kaybı; E-F, vücutta yaralanmalar; G, sindirim sisteminde asitleşme) (Öztürk vd. 2013)

L. garvieae'nin klindamisine karşı dirençli olduğu bilinmektedir. Bazı şuların ise yapılan çalışmalar sonucunda tetrasiklin, eritromisin, oksitetrasiklin streptomisin, bazı kinolonlara ve florfenikole karşı dirençli olduğu bildirilse de hala eritromisine karşı bazı suşların duyarlı olduğu gösterilmiştir. Antibiyotik kullanımı haricinde hasta balıkların ortamdan uzaklaştırılması, kuarter amonyum, formalin ve hidrojen peroksit gibi kimyasallarla tank temizliğinin yapılması tedaviler arasında yer almaktadır (Vendrell vd. 2006).

2.2.3. *Yersinia ruckeri* enfeksiyonları

Y. ruckeri, Enterobacteriaceae familyasına ait (Çizelge 2.3) çubuk şeklinde, gram negatif, glikozu fermantatif olarak kullanabilen ve hareketli bir fırsatçı patojen bakteridir (Austin ve Austin, 2016). Enterik kızıl ağız hastalığına neden olan bu etken %0-3 oranındaki tuzlu ortamlarda gelişebilmektedir. TSA besiyerinde 22-27°C’de 24-48 saat inkübe edilerek üretilmektedir. Bu sıcaklıklarda gelişen bakteriler hareketli olurken daha yüksek sıcaklıklarda üretildiğinde bakteriler hareketsiz olurlar. (Ewing vd. 1978; Huang, 2013).

Çizelge 2.4. *Y. ruckeri*’nin taksonomisi

Domain	Bacteria
Şube	Pseudomonadota
Sınıf	Gammaproteobacteria
Takım	Enterobacterales
Aile	<i>Yersiniaceae</i>
Cins	<i>Yersinia</i>
Tür	<i>Yersinia ruckeri</i>

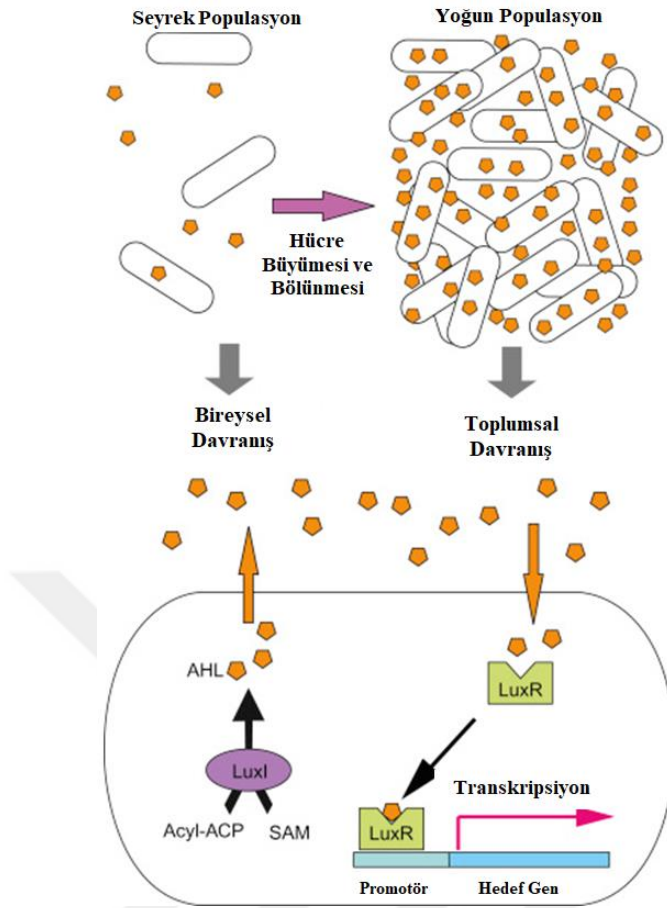
Hemen hemen her boydaki balıkta hastalığa neden olabilmekle birlikte genellikle larvalar için ölümcüldür. Enfekte olan balıklarda havuz kenarlarında ve su yüzeyinde yüzme, iştahsızlık ve renk kararması gözlenir. Gözlerde tek veya çift taraflı egzoftalmus ve iriste kanamalar görülebilir (Şekil 2.3). Çene uçlarında aşınma, ağız çevresinde, pelvik ve pectoral yüzgeç diplerinde hemorajilerle birlikte anüste protrüzyon belirtiler arasındadır. *Y. ruckeri* enfeksiyonları tedavisinde antibiyotiklerle birlikte aşılar kullanılmaktadır (Fuhrmann vd. 1983; Çağırman ve Yüreklitürk, 1991; Danley vd. 1999).



Şekil 2.3. *Y. ruckeri*'nin neden olduğu gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) yersiniozis enfeksiyonu (A, ağızda kanama; B, boğazda kanama; C, pelvik yüzgeç kaidesinde kanama; D, anüste prolapsus) (Balta vd. 2016)

2.3. Bakterilerde Çevreyi Algılama Sistemi (Quorum Sensing-QS)

Çevreyi algılama sistemi (Quorum sensing-QS), yaklaşık 45 yıl önce biyoluminesans özelliği bulunan *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi*'de keşfedilerek tanımlanmıştır (Nealson ve Hastings 1979). Ortaya çıkan bu ışık emisyonunun, her iki türde de yüksek hücre popülasyonu yoğunluğunda salgılanan otoindükleyici sinyal moleküllerine yanıt olarak, ışık üretiminden sorumlu lusiferaz enzimlerinin sentezlenmesi sonucunda meydana geldiği belirlenmiştir (Engebrecht ve Silverman 1984; Miyamoto vd. 1988). Bakterilerde hücre-hücre iletişimi alanındaki son gelişmelerdeki patlama, şimdi birçok bakterinin muhtemelen grubun davranışını koordine etmek için salgılanan kimyasal molekülleri kullanarak iletişim kurduğunu göstermiştir (Şekil 2.4). Günümüzde hem türler içinde hem de türler arasında iletişim kurma yeteneğinin, bakterilerin hayatta kalması ve doğal yaşam alanlarındaki etkileşimi için kritik olduğu bilinmektedir (Miller ve Bassler 2001).



Şekil 2.4. Bakterilerde çevreyi algılama sistemi (Clark vd. 2019)

Bakteriler, düşük hücre yoğunluklarında tek hücreli organizmalar gibi davranırlar; ancak, populasyon yoğunluklarının bir eşik seviyeye ulaştığını hissederek davranışlarını çok hücreli tipe çevirebilmektedirler. Bu aşamada, özellikle virülans davranışlarından sorumlu olan farklı fenotipler için genleri ifade etmelerini sağlayan küçük sinyal molekülleri aracılığıyla iletişim kurarlar. Örneğin, *Pseudomonas aeruginosa* gibi fırsatçı patojenler, uykuda kalmayı tercih ederler ve populasyon büyüklükleri konağın savunma mekanizmalarını alt edecek kadar büyüye kadar öldürücü fenotiplerini gizlemektedir (Kalia 2013).

Bakteriyel QS olarak adlandırılan bu fenomenler, oligopeptitler (5-10 amino asit siklik tiyolaktan), N-açıl homoserin laktonlar (AHL'ler), furanosil borat (Otoindükleyici-2), hidroksil-almitik asit metilester ve metil dodekanoik asit gibi moleküllerden oluşmaktadırlar (Dong ve Zhang 2005; McDougald vd. 2007). En yaygın olarak incelenen iki QS sinyal molekülü, 70'den fazla Gram-negatif bakteri türü tarafından üretilen, hücre zarı boyunca yayılan ve hücre içindeki düzenleyici proteinlere bağlanan AHL'ler ve Gram-pozitif bakterilerde zara bağlı reseptör histidin kinazlar aracılığıyla faaliyet gösteren peptidlerdir (Waters ve Bassler 2005; Amara vd. 2011).

2.3.1. Çevreyi algılama sistemi (quorum sensing-QS) ve patojenite ile ilişkisi

Çevreyi algılama sistemi ile patojenite ve virülans faktörlerinin ekspresyonu dört aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada bakteriler tarafından sinyal molekülleri sentezlenmektedir. İkinci olarak sinyal moleküller pasif ya da aktif olarak ortama salınmaktadır. Üçüncü olarak eşik dozun aşılmasıyla birlikte sinyal molekülleri hücre yüzeylerindeki reseptörler tarafından tanınır ve reseptör-sinyal molekülü kompleksini oluşturur. Son olarak oluşan bu kompleks bakteriyel DNA üzerine bağlanır ve belirli genlerin transkripsiyonunu aktive eder (Sifri 2008). Ayrıca QS, yeterli bakteri sayısına ulaşıp konakçı savunma mekanizmalarını alt etmeye ve enfeksiyon oluşturmaya hazır olana kadar dokuya zarar veren virülans faktörlerinin üretimini geciktirerek konakçı bağışıklık tepkilerinin en aza indirilmesini sağlamaktadır. Böylece patojenik bakterilere avantaj sağladığı düşünülmektedir (Deep ve ark. 2020).

Çevreyi algılama sistemini patojenik yaşam tarzlarının bir parçası olarak kullanan bakterilerle ilgili olarak, *Pseudomonas aeruginosa*, düzenlenen virülans faktörleri ve QS'nin patojenitede oynadığı rol açısından belki de en iyi anlaşılan bakteridir. Fırsatçı bir patojen olarak sınıflandırılan *P. aeruginosa*, öncelikle kanser, AIDS hastaları, yanık vakaları, kalıcı tıbbi cihaz veya uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı nedeniyle bağışıklığı baskılanmış bireyleri enfekte etmektedir (Fergie vd. 1994; Mendelson vd. 1994; Dunn ve Wunderink 1995; Brewer vd. 1996).

P. aeruginosa, hem hücre ile ilişkili hem de hücre dışı virülans faktörlerinin etkileyici bir donanımına sahiptir. Hücre dışı faktörlerin birçoğunun ifadesi yapıcı değil, büyümenin geç logaritmik ve erken durağan fazlarında meydana gelen maksimum proteaz üretimine bağlı hücre yoğunluğu ile ilgilidir. İç içe geçmiş iki QS sisteminin, *P. aeruginosa*'daki virülans, biyofilm gelişimi ve diğer birçok süreçte yer aldığı gösterilmiştir. QS, *P. aeruginosa* 'da bir dizi virülans faktörünün ekspresyonunun düzenlenmesinde yer almaktadır ve bu nedenle organizmanın patojenitesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bir dizi farklı hayvan modeli kullanılarak bu varsayım doğrulanmıştır. (Tang vd. 1996; Deep vd. 2020).

Tüm bu patojenite özelliklerinden dolayı QS sistemi antibakteriyel ilaç çalışmalarının hedefi haline gelmiştir. Son zamanlarda, çekirdek algılamayı engelleyen bileşikler, potansiyel olarak yeni bir antimikrobiyal madde sınıfı olarak büyük ilgi görmektedir (Murray vd. 2007). QS sisteminin farmakolojik inhibisyonu, kistik fibrozlu veya kronik yara enfeksiyonlu hastalardaki kronik akciğer enfeksiyonları gibi, yüksek bakteriyel hücre yoğunluğuna veya sınırlı difüzyon ortamlarına sahip kronik enfeksiyonların önlenmesi veya tedavisi için özellikle etkili bir yaklaşım olarka karşımıza çıkmaktadır. Ek olarak, QS molekülleri virülansı azaltıp bakteriyel büyümeyi engellemedikleri için QS inhibitörlerine karşı direnç gelişiminin sınırlandırılması gerektiği hipotezi ileri sürülmüştür (Hentzer ve Griskov 2003; Sifri 2008).

2.4. Bakteriyel Biyofilmler

Mikroorganizmalar, doğada genellikle tek hücreden oluşan saf kültürler halinde yaşayamamaktadırlar. Bunun yerine ara yüzlerde çoklu mikrobiyal topluluklar şeklinde birikebilirler (Wingender vd. 1999). Su ortamında ise bakteriler planktonik formda serbest yüzmektense genellikle bir yüzeye tutunmaktadırlar (Beveridge vd. 1997). Bunun nedenleri arasında, su akışıyla birlikte bulundukları ortama besin maddelerinin gelmesi, tutunulan yüzeyin besin maddesi olarak kullanılabilmesi ve su akışının meydana getirdiği suyun bol oksijenlen içermesi yer almaktadır. (Melo ve Bott 1997).

Biyofilm, biyolojik veya biyolojik olmayan yüzeylere tutunan, etrafı hücre dışı polimerik bir matrisle (EPS) çevrili mikrobiyal topluluklar olarak tanımlanmaktadır (Hall-Stoodley vd. 2004; Shi ve Zhu 2009). Biyofilm yapıları kompleks ve dinamik yapılar olmakla birlikte debisi yüksek su akışı veya besin kıtlığı gibi olumsuz koşullarda bakteriler için bir korunma, üreme ve hayatta kalma ortamı oluşturmaktadır (Costerton vd. 1987, Davey ve O'Toole 2000).

Bakterilerin biyofilm oluşturmaları için birçok neden bulunmaktadır. Bu nedenler arasında biyofilm yapılarının koruma özelliği sayılabilir. Biyofilmler yüzeye tutunan hücrelerin yüksek debiyle akan sularda parçalanarak uzaklara sürüklenmesini engellemektedir. Bununla birlikte konak bağışıklık sistemindeki hücrelerin fagositozuna ve toksik maddelerin (antibiyotikler gibi) bakteri hücrelerine ulaşmasına engel olmaktadır. Ayrıca biyofilmler ortamdaki besin maddelerinin kolayca alınabilmesi için ideal yapılardır. Hayvan ve bitki dokuları gibi besince zengin yüzeylere tutunan biyofilmler sürekli olarak bir besin kaynağına sahip olmuş olurlar. Akarsularda bir yüzeye tutunan biyofilmler su sirkülasyonu sayesinde suyun taşıdığı besinlere erişebilmektedirler ve genellikle tutunmalar besin bolluğunun olduğu bölgelerde daha yoğun olarak gerçekleşmektedir (Madigan ve Martinko 2010).

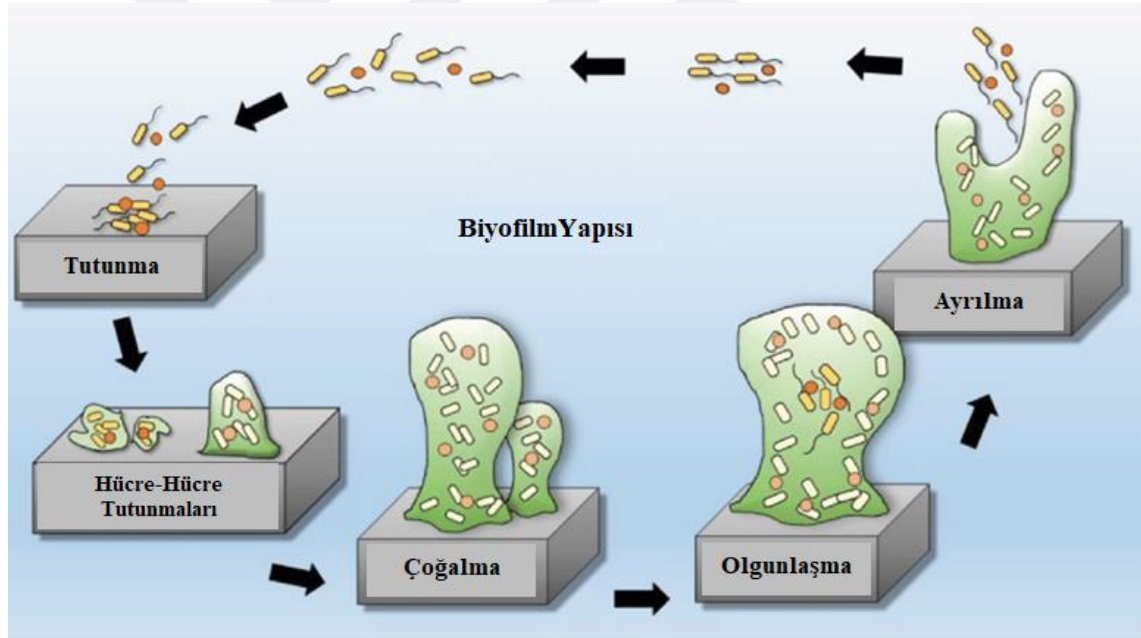
Bunların yanında biyofilm yapısı içerisindeki bakterilerin organizasyonu ve sürekli temas halinde olmaları hücreler arası iletişimi ve yatay gen transferini kolaylaştırmaktadır. Böylece antibiyotik direnç genleri gibi hayati öneme sahip bir takım genlerin aktarılmasıyla biyofilm yapısı içerisindeki bakteriyel komünite daha sağlıklı ve dirençli hale gelmiş olur (Madigan ve Martinko 2010).

2.4.1. Bakteriyel biyofilmlerin yapısı ve oluşumu

Biyofilmin yapısını oluşturan hücre dışı polimerik maddeler, floklar (planktonik biyofilmler) ve çamur gibi mikrobiyal kümeleşmeler için yapı malzemeleridir. Ana bileşenleri sadece polisakkaritler değil, aynı zamanda proteinler, lipidler ve bazı durumlarda az miktarda nükleik asit ve diğer biyopolimerlerden oluşmaktadır. Hücre dışı polimerik maddede, biyofilm içerisindeki bakteriler kararlı düzenlemeler kurabilmekte ve çok hücreli olarak sinerjistik mikro konsorsiyum olarak işlev görebilmektedirler. Matris, eksoenzimlerin, hücre kalıntıları ve genetik materyalin tutulmasını

kolaylaştırarak mikrobiyal geri dönüşüm sahası olarak görev görebilmektedir. Biyofilm hücreleri, birçok biyositin daha yüksek konsantrasyonlarını tolere edebilmektedirler. EPS matrisi besinleri su fazından ayırır. Fotosentetik topluluklarda, EPS molekülleri foton aktarıcılar olarak işlev görebilir ve mikrobiyal bir biyofilmin daha derinlerinde bulunan organizmalara fotonlar sağlayabilir. EPS matrisi, organizmalar tarafından oluşturulan ve çevresel değişikliklere yanıt veren dinamik bir sistemdir. Hücrelerin çok hücreli organizmalara benzer şekilde çalışmasını sağlamaktadır (Flemming ve Wingender 2001).

Bakteriyel biyofilmlerin oluşumu bakteri türleri arasında değişkenlik göstermekle birlikte temel olarak birbirini takip eden üç aşamadan oluşmaktadır. Bunların ilki planktonik bir bakterinin biyolojik ya da biyolojik olmayan bir yüzeye tutunmasıdır. Tutunma öncelikle gevşek veya geçici bir şekilde başlar ve daha sonra güçlü tutunma gerçekleşmektedir. İkinci aşama olarak tutunan bakterilerin bölünmesi ve mikrokoloni yapısının oluşturulması şeklindedir. Üçüncü aşamada mikrokolonilerin gelişmesiyle birlikte olgun biyofilm yapısı oluşmaktadır. Dördüncü ve son aşama ise olgun biyofilm yapılarının yüzeyden koparak biyofilm içerisindeki bakterilerin başka bölgelere taşınması ve yayılması şeklindedir (Şekil 2.5). (Hall-Stoodley vd. 2004; Kostakioti vd. 2013)



Şekil 2.5. Biyofilm oluşum evreleri (Abu Bakar vd. 2018)

2.4.2. Bakteriyel biyofilmlerin su ürünleri sektöründeki rolü

Yoğun kültür balıkçılığı uygulamalarında balıkların tükettikleri yeme kıyasla daha az biyokütle oluşturduğu görülmektedir. Aynı zamanda yetiştiricilik sisteminden çıkan atıksular yoğun yemleme ve canlıların dışkılaması gibi nedenlere bağlı olarak kirlenerek sucul ekosistemi bozmakta olduğu bilinmektedir (Bratvold ve Browdy 2001). Bu nedenle, biyofilm uygulamaları atık besin üretimini yönetmek ve ayrıca yem olarak balık yemi kullanımını azaltmak için etkili bir teknolojiyi olarak karşımıza çıkmaktadır. Biyofilm

tabanlı su ürünleri yetiştiriciliğinin, hem yem kullanımını hem de atık besin üretimini azaltan kapsamlı su ürünleri uygulamaları için umut verici bir teknoloji olduğu görülmektedir (Ballester vd. 2003). Ayrıca, biyofilm kaliteli bir protein kaynağı, kabuk değişimi sürecinde karidesler için yaşam alanı ve organizmalar için bağışıklık uyarıcı görevi görmektedir. Bununla birlikte balık üretimini, verimini, hayatta kalmasını ve sağlığını iyileştirmektedir. Atık nitrojeni balık ve karidesler için kaliteli yeme etkili bir şekilde dönüştürmektedir (Moss ve Moss 2004; Radhakrishnan ve Sugumaran, 2010; Pandey vd. 2014).

Son zamanlarda, uygun C:N oranı ile birlikte substrat kurulumunun balık ve karides büyümesini arttırdığı ve yoğun kültür uygulamaları için biyofilm bazlı su ürünleri yetiştiriciliğinin uygun olduğu keşfedilmiştir. Biyofilmin, yoğun kültür balıkçılığı uygulamalarını daha sürdürülebilir hale getirmede yavru yetiştiriciliğinden başlayarak sofralık balıkların stoklama sonrası yönetimine kadar önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Pandey ve Kumar 2022).

2.5. Mikroalglerin Genel Özellikleri

Mikroalgler, tek hücreli veya basit çok hücreli yapıları nedeniyle hızla büyüeyebilen, boyutları 1-100 µm arasında değişebilen ve zorlu koşullarda yaşayabilen prokaryotik veya ökaryotik fotosentetik mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Prokaryotik mikroorganizmalara örnek olarak siyanobakteriler (Cyanophyceae) ve ökaryotik mikroalglerle örnek olarak yeşil algler (Chlorophyta) ve diatomlar (Bacillariophyta) verilebilir (Li vd. 2008a; Li vd. 2008b). Mikroalgler, sadece sucul değil karasal ekosistemler de dahil olmak üzere mevcut tüm dünya ekosistemlerinde bulunmakta ve çok çeşitli çevresel koşullarda yaşayan çok çeşitli türlerle temsil edilmektedirler. 50.000'den fazla mikroalg türünün var olduğu tahmin edilmektedir, ancak yalnızca 30.000 kadarı tespit edilmiş ve çalışılmıştır (Richmond 2004; Mata vd. 2010; Saber vd. 2016). Sahip oldukları özellikler bakımından bitkilerle benzer olsalar da taksonomik özellikleri ve boyutları bakımından bitkilerden ayrılırken fotosentetik bakterilerden ise biyokimyasal özellikleri bakımından ayrılmaktadırlar. İçerdikleri pigmentlere (ksantofil, karotenoid ve klorofil vb.) göre çeşitli renklere (kahverengi, yeşil, kırmızı vb.) sahip olmakla birlikte genellikle klorofil içerdikleri için yeşil renklidirler (Cuaserna vd. 2006; Grogard vd. 2010).

Mikroalgler, büyümek için güneş ışığı, su ve karbon kaynağı olmak üzere üç ana bileşene ihtiyaç duymaktadır. Sudaki yaşam alanlarından mikrobeyinleri ve havadan CO₂'yi alarak güneş ışığı yardımıyla atmosferik oksijenin yaklaşık %50'sini üretmektedirler. Ayrıca mikroalglerin, organik bileşiklerin üretimi için güneş ışığından yararlanabilen verimli bir biyolojik sisteme sahip olduğu gösterilmiştir (Richmond 2004; Nigam ve Singh 2011; Singh 2011).

Mikroalgler gıda, biyodizel ve diğer katma değerli ürünler için hammadde olarak kullanılan birçok önemli biyokimyasal bileşen üretirler. Bununla birlikte, mikroalglerde

henüz keşfedilmemiş hayati öneme sahip biyokimyasal bileşenler bulunduğu düşünülmektedir (Becker 1994; Gavrilescu ve Chisti 1994; Singh vd. 2005; Spolaore vd. 2006; Raja vd. 2008; Wijffels 2008). Mikroalg türleri, çeşitli endüstriyel ürünlerde kullanılan farklı türlerde lipitler, antioksidanlar, doğal pigmentler, karotenoidler, enzim polimerleri, peptitler, çoklu doymamış yağ asitleri, steroller ve toksinler üretme yeteneğine sahiptir (Moreno-Garcia vd. 2017). Ayrıca ilaç endüstrisinde kullanılabilecek çeşitli bileşikler, doğal pigmentler üretebilirler (Oh vd. 2003). Mikroalgler tarafından üretilen yüksek değerli biyoaktif bileşiklerden bazıları asetilik asitler, agarlar, β -karoten (Huang vd. 2006; Del Campo vd. 2007) agaroz, karagenanlar, aljinatlar (Radmer 1996) ve çoklu doymamış yağ asitleri (Wen ve Chen 2003), ketokarotenoidastaksantin (Ip ve Chen 2005), B vitamini (He vd. 2003) ve lütein (Del Campo vd. 2007; Blanco vd. 2007)'dir. İçerdikleri bu biyoaktif bileşikler nedeniyle ticari olarak hayvancılık ve su ürünleri sektöründe, pigment eldesinde, biyolojik gübrelerde, kozmetik ürünlerinde, insan besinlerinde ve ilaç sektöründe (antimikrobiyal, antiviral, antibakteriyel ve antikanser ilaçların sentezinde) kullanılmaktadırlar (Suganya 2016; Moreno-Garcia vd. 2017; Rizwan vd. 2018).

2.6. *Nannochloropsis* sp.'nin Sistematığı ve Genel Özellikleri

Nannochloropsis sp. Hibberd (1981) tarafından, *Monodopsidaceae* familya, *Eustigmatales* takım, *Eustigmatophyceae* sınıf, *Ochrophyta* filum, *Chromista* alemine ait olduğunu tanımlanmıştır. Deniz ve tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak bulunan *Nannochloropsis*, kokkoid tek hücrelerden oluşmaktadır ve boyutları 2-8 μ m arasında değişmektedir. Günümüze kadar toplamda yedi tür tanımlanmış olup bu türler: *N. salina*, *N. oceanica*, *N. oculata* (Hibberd 1981), *N. gaditana* (Lubian 1982), *N. granulata* (Karlson vd. 1996), *N. australis* (Fawley ve Jameson 2015) ve *N. limnetica* (Krienirz vd. 2000)'dır. *Nannochloropsis* cinsine ait türler kısa sürede yüksek biyokütle oluşturmaları nedeniyle büyük ölçekli yetiştiricilik faaliyetlerine uygundur ve yüksek besin içeriği nedeniyle de bilimsel ilgiyi üzerine çekmektedir (Zanella ve Vianello 2020).

2.6.1. *Nannochloropsis* sp.'nin biyoaktif bileşenleri

Nannochloropsis türleri, klorofil, astaksantin, kataksantin, zeaksantin ve ksantofil gibi pigmentleri içermektedir. Bunun yanında özellikle dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) gibi çoklu doymamış yağ asitleri içermesi ve çok miktarda sterol üretmesi ile bilinmektedir (Maruyama vd. 1986; Cohen 1999; Lubian vd. 2000). Omega-3 yağ asitleri bakımından da zengin olan *Nannochloropsis* türlerinin, ağırlıkça yaklaşık %37,6'sını karbonhidrat oluştururken, %28,8'sini proteinler, %18,4'ünü lipidler ve %3'ünü mikroelementler (Na, P, K, Ca, Mg, Zn, Fe vd.) oluşturmaktadır (RebollosaFuentes vd. 2001).

2.6.2. *Nannochloropsis* sp.'nin kullanım alanları

Günümüzde, birçok *Nannochloropsis* türü, yüksek oranda lipid molekülleri içermesi ve hızlı üremesi nedeniyle biyodizel üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır (Rodolfi vd. 2009; Doan vd. 2011; Chen vd. 2013). Su ürünleri sektöründe midye ve karides gibi omurgasızların üretiminde, balık larvalarının beslenmesinde canlı yem olarak ve balık yemlerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (De Pauw vd. 1984; Haas vd. 2016, Yamasaki vd. 2018; Zanella ve Vaniello 2020). Besin ve biyodizel kaynağı olarak kullanılmalarının dışında *Nannochloropsis* türlerinden özellikle *N. salina*, *N. oceanica* ve *N. limnetica* ensdüstriyel baca gazlarının ve atık suların arıtımı için de kullanılmaktadır (Cai vd. 2013; Zhu vd. 2014). Ayrıca *Nannochloropsis* türleri, doymamış yağ asitlerini (PUFA) ve özellikle de omega-3 yağ asitlerini yüksek miktarda içerdikleri için balık yağında ve diğer besin takviyelerinde alternatif gıda takviyesi olarak da kullanılmaktadır (Ryckebosch vd. 2014).

2.7. *Arthrospira platensis*'in Sistematığı Ve Genel Özellikleri

Genellikle "*Spirulina*" olarak adlandırılan *Arthrospira platensis*, karakteristik fotosentetik kapasiteye sahiptir ve *Arthrospira* cinsi, *Microcoleaceae* ailesi, *Oscillatoriales* takımı, *Cyanophyceae* sınıfı, *Cyanobacteria* filumu, *Eubacteria* alemine aittir. Bu planktonik, ipliksi, fotoototrofik ve gram-negatif siyanobakteri (veya mavi-yeşil alg), çeşitli doğal biyoaktif maddelerin kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir (El-Sheekh vd. 2014; Serban vd. 2016; Wollina vd. 2018; Braune vd. 2021). Farklı tuzluluktaki (tuzlu, alkali, tatlı ve acı su) göllerde yaşayabilmektedirler. *A. platensis*, içerdği besinsel bileşimi ve biyoaktif bileşenleri için büyük açık havuzlarda ve laboratuvar koşullarında ticari ve bilimsel amaçlı üretilebilmektedir (Ravi vd. 2010; Ragaza vd. 2020; Abdel-Latif vd. 2022).

2.7.1. *Arthrospira platensis*'in biyoaktif bileşenleri

A. platensis, besin ve biyoaktif bileşen bakımından oldukça zengindir. Yüksek kaliteli protein ve çok miktarda esansiyel amino asitlerin yanı sıra (lösin, triptofan, valin, izolösin, metionin, fenilalanin, lizin ve treonin) (Colla ve diğerleri, 2007) özellikle yüksek miktarda esansiyel yağ asitlerini (linolenik asit ve linoleik asit gibi) içermektedir (Otles ve Pire, 2001). Ayrıca glikoz, galaktoz, ramnoz, mannoz ve ksiloz gibi birçok karbonhidrat içermektedir (Shekharam vd. 1987). Bununla birlikte neredeyse tüm temel vitaminleri (Saranraj ve Sivasakthi, 2014), mineralleri (Bensehaila ve diğerleri, 2015), ve pigmentleri (klorofil- α , β -karoten, fikosiyenin ve ksantofiller) (McCarty 2007) içermektedir. Ayrıca, karotenoidler ve fenolikler gibi temel bitkisel besinler açısından zengin bir kaynak olduğu bildirilmiştir (Pyne ve diğerleri, 2017).

2.7.2. *Arthrospira platensis*'in kullanım alanları

A. platensis, kozmetik sektörü, ilaç sektörü, atık su arıtımı ve biyoremediasyon gibi alanlarda kullanılmaktadır (Soni vd. 2017; Zhang vd. 2020; Abdel-Latif vd. 2022). Ayrıca su ürünleri alanında balık büyüme hızının, antioksidan kapasitesinin ve pigmentasyonun artırılması, sağlık durumunun ve bağışıklığın iyileştirilmesi gibi çeşitli işlevlere sahip olduğu bilinmektedir (Ragaza vd. 2020). *A. platensis*'in kanser tedavisi, kolesterol düşürücü antidiyabetik etkisi ve kan şekeri düzenleyicisi olarak kullanılmaktadır. Bunların dışında içerdikleri yüksek protein oranından dolayı insanlar tarafından gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır (Abdel-Latif vd. 2022).

2.7.3. Mikroalglerin antimikrobiyal, biyofilm inhibisyonu (antibiyofilm) ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu (anti-QS) üzerine yapılmış çalışmalar

Literatüre bakıldığında çeşitli moleküllerle ve alg ekstraktlarıyla yapılan antimikrobiyal, antibiyofilm ve anti-QS çalışmalarının mevcut olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalar genellikle insan patojenleriyle ilgili olup balık patojenleri üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Ayrıca mikroalglerin kullanıldığı çalışmalar oldukça sınırlı olmakla birlikte hedef mikroorganizmalar olarak yine insan patojenleri çalışılmıştır. Tez konusu kapsamında mikroalgler ve balık patojenleri ile ilgili yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir:

Al-Hashimi vd. (2016) yaptıkları çalışmada *Chroococcus* ve *Chlorella* mikroalglerinden etanol çözücüsünü kullanarak ekstraktlar elde etmiş ve bu ekstraktları *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* bakteri üzerindeki antibakteriyel ve antibiyofilm özelliklerini araştırmıştır.

Bozkurt (2019) yaptığı tez çalışmasında tatlı su kaynağından izole ettikleri *Scenedesmus sp.*, *Stichococcus bacillaris* ve iki adet türünü tespit edemedikleri mikroalglerden etanol, metanol, kloroform ve su çözücülerini kullanarak ekstrakt elde etmiştir. Elde edilen ekstraktları *S. aureus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *P. aeruginosa* ve *Candida krusei* mikroorganizmaları üzerinde test etmiştir.

Cepas vd. (2019) yaptıkları çalışmada 225 mikroalg ve siyanobakteri türüne ait 675 ekstraktın *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. epidermidis*, *Enterobacter cloacae*, *S. hominis*, *C. albicans* ve *C. parapsilosis* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm özellikleri test edilmiştir.

Chari vd. (2017) yaptıkları çalışmada bakır nanopartiküllerinin *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* ve *A. hydrophila* bakterileri üzerine olan antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Iglesias vd. (2019) yaptıkları çalışmada *Dunaliella sp.*, *D. Salina*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. Gracilis* ve *Tisochrysis lutea* mikroalglerinden hekzan, etil asetat ve

metanol çözücülerini kullanarak ekstraktlar elde etmişlerdir. Elde edilen ekstraktların *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. albicans* ve *C. parapsilosis* mikroorganizmaları üzerine olan antibakteriyal ve antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Lopez vd. (2017) yaptıkları çalışmada hekzan, etil asetat ve metanol çözücülerini kullanarak elde ettikleri 483 farklı mikroalg ekstraktlarının *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* ve *P. aeruginosa* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Yılmaz Öztürk vd. (2020) yaptıkları çalışmada *Gelidium corneum* kırmızı alg ekstraktı kullanarak sentezledikleri gümüş nanopartiküllerin *E. coli* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerineolan antimikrobiyal ve antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Thamburaj vd. (2020) yaptıkları çalışmada elde ettikleri diphyllin molekülünün satışa sunulan *Tilapia* balıklarından elde edilen *Salmonella spp.* üzerine olan antibakteriyel ve antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Truchado vd. (2009) yaptıkları çalışmada kestane balının *Erwinia carotovora*, *Yersinia enterocolitica* ve *A. hydrophila* üzerine olan anti çevreyi algılama özelliklerini incelemişlerdir.

Adebayo-Tayo vd. (2019) yaptıkları çalışmada *Oscillatoria spp.* mikroalginden elde edilen ekstraktla sentezlenen gümüş nanopartiküllerin *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Citrobacter sp.*, *Salmonella typhi* ve *Bacillus cereus* mikroorganizmaları üzerine olan antibakteriyeli antibiyofilm ve sitotoksiste özelliklerini incelemişlerdir.

Sridevi vd. (2019) yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris* mikroalginden eter, dikloro metan, kloroform, etil asetat ve metanol çözücülerini ile elde ettikleri ekstraktların *P. aeruginosa* ve *S. aureus* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm aktivitelerini incelemişlerdir.

LewisOscar vd. (2017) yaptıkları çalışmada *A. platensis* siyanobakterisinden elde ettikleri metanol ekstraktlarının, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* ve *Serratia marcescens* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Gayatri vd. (2019) yaptıkları çalışmada *Chlorella* mikroalginden su ve metanol çözücülerini ile elde edilen ekstraktların *P. aeruginosa* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm özelliklerini incelemişlerdir.

Santhakumari vd. (2016) yaptıkları çalışmada çeşitli deniz mikroalglerinden kloroform:etil asetat (1:1) çözücüsüyle elde ettikleri ekstraktların *V. alginolyticus*, *V.*

parahaemolyticus, *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus* ve *A. hydrophila* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm özellikleri ve virölans faktörlerin üretimi üzerine etkisi incelemiştir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Mikroorganizmaların Üretimi

Tez kapsamında kullanılacak olan *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Agrobacterium tumefaciens* (NT1) ve *Chromobacterium violaceum* (ATCC 12472) bakterilerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. *L. garvieae* ve *A. hydrophila* bakterilerinin triptik soy broth (TSB) sıvı ve triptik soy agar (katı) besiyerlerine (Merck, Almanya) aseptik koşullarda ekimi yapılmıştır. 25°C’de 24-48 saat inkübe edilerek bakterilerin üremesi sağlanmıştır. *Y. ruckeri* bakterisi yine TSB ve TSA besiyerlerine aseptik koşullarda ekilerek 22°C’de 24-48 saat inkübe edilerek üretilmiştir (Austin ve Austin 2016). *A. tumefaciens* (NT1) ve *Chromobacterium violaceum* (ATCC 12472) bakterileri ise Luria Bertani (LB) sıvı (Merck, Almanya) ve LB agar besiyerlerine aseptik koşullarda ekilmiştir. 30 °C’de 24 saat inkübe edilerek üretim gerçekleştirilmiştir. Katı besiyerinde üretilen bakteriler, petrilerin ağzı parafilmlelenerek stok kültür olarak +4 °C’de saklanmıştır (Şekil 2).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve içerikleri

Triptik Soy Broth Besiyeri		Luria-Bertani Broth Besiyeri	
Peptone from Casein	17,0 g/L	Maya ekstraktı	5,0 g/L
Peptone from Soymeal	3,0 g/L	Pepton	10,0 g/L
D(+) Glucose	2,5 g/L	NaCl	10,0 g/L
NaCl	5,0 g/L	Agar (katı besiyeri için)	15,0 g/L
K ₂ HPO ₄	2,5 g/L		
Agar (katı besiyeri için)	15,0 g/L		

3.2. Mikroalglerin Üretimi

Tezde kullanılan alglerden biri olan *Arthrospira platensis* in üretimi için BG-11 besiyeri (Stainer vd. 1971) hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). Besiyeri hazırlanırken her bir stok çözeltiden 10 mL ve iz element çözeltisinden ise 1 mL alınarak son hacim 1 L’ye distile su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan besiyeri steril edilmiştir. Aseptik koşullarda 1 L hacme sahip erlenlere olgun kültürlerden 100 mL alınarak ekim yapılmıştır. 24 saat boyunca ışık altında havalandırma verilerek üretim gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. BG-11 besiyeri içeriği.

Stok Çözeltiler	500 mL
NaNO ₃	75,0 g
K ₂ HPO ₄	2,0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	3,75 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	1,80 g
Citric Acid	0,30 g

Çizelge 3.2'nin devamı

Ammonium ferric citrate green	0,30 g
EDTANa ₂	0,05 g
Na ₂ CO ₃	1,00 g
İz Element Çözeltisi	1 L
H ₃ BO ₃	2,86 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22 g
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,39 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,08 g
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,05 g

Tez çalışmasında kullanılan diğer organizma *Nannochloropsis* sp. üretimi için Walne besiyeri (Walne 1970) kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Besin çözeltisinden 1 mL ve vitamin çözeltisinden 0,1 mL alınarak 1 L %0,26 deniz tuzu içeren steril distile su içerisine eklenmiştir. Aseptik koşullar altında 1 L hacme sahip erlenlere uygun kültürlerden 100 mL alınarak ekim yapılmıştır. 26°C'de 24 saat boyunca ışık altında havalandırma verilerek üretim gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.3.Walne besiyeri içeriği

(1) İz Element Çözeltisi	100 ml
ZnCl ₂	2,1 g
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,0 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,9 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	2,0 g
(2) Vitamin Çözeltisi	100 ml
Vitamin B12. (Cyanocobalamin)	10,0 mg
Vitamin B1 (Thiamine.HCl)	10,0 mg
Vitamin H (Biotin)	200,0 µg
(3) Besin Çözeltisi	1 L
H ₃ BO ₃	1,3 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,36 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	33,6 g
EDTA(Disodium salt)	45,0 g
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20,0 g
NaNO ₃	100,0 g
TMS (1)	1.0 ml

Üretim sırasında buharlaşma kaynaklı azalan besiyerleri üzerine azalan hacim kadar ekleme yapılarak üretime devam edilmiştir. Üretim aşaması gün aşırı takip edilmiş ve mikroalglerde çökme olup olmadığı kontrol edilmiştir. Yeterli yoğunluğa ulaşan mikroalgler yeni erlenlere pasajlanmış ve üretime devam edilmiştir. Stok kültür olarak ise kullanılan her iki besiyerine litreye 15 g agar eklenerek katı besiyerleri hazırlanmıştır. Aseptik koşullarda katı besiyerine ekilen mikroorganizmalar petrilerin ağzı

parafilmlelenerek oda sıcaklığında 8-12 saat ışık altında inkübe edilerek saklanmıştır. Gerekli durumlarda hazırlanan bu stoklarda oluşan koloniler toplanarak sıvı ortamlara aktarılmış ve kültürler tazelenmiştir.

3.3. Mikroalglerin Ekstraksiyonu

Mikroalglerin ekstraksiyonu için etanol (Merck, Almanya), metanol (Merck, Almanya), kloroform (Merck, Almanya) ve su çözümleri kullanılmıştır. Belirli bir yoğunluğa ulaşan mikroalg kültürleri 2.000 rpm’de 3 dk santrifüjlenerek çöktürülmüştür. Steril distile su kullanılarak iki kez yıkama yapılmıştır. Üzerine ayrı ayrı 1:10 (w/v) oranında etanol, metanol, kloroform ve su eklenmiştir. Mikroalga fırında hücrelerin ısıtılarak parçalanması sağlandıktan sonra hücre içeriklerinin açığa çıkarılması için bir gece oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından hücre kalıntılarını uzaklaştırmak için 5.000 rpm’de 4 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatant dikkatli bir şekilde temiz bir cam şişeye her hangi bir katı partikül kalmaması için süzülerek alınmıştır. Etanol, metanol ve kloroform çözümleri rotary evaporatör cihazında (Heidolph, Almanya) 45-55 °C’ de buharlaştırılmış ve elde edilen kuru ekstraktlar hassas terazide (Kern, Almanya) tartılmıştır. Elde edilen ekstraktlar DMSO (dimetil sülfoksit) içerisinde çözülerek -20°C’de saklanmıştır (Bhuvaneswari vd. 2013).

Su ekstraktındaki suyun uzaklaştırılması için liyofilizasyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için öncelikle elde edilen ekstraktlar -45 °C’de derin dondurucuda (Arçelik, Türkiye) dondurulmuştur. Ardından freze dryer (Telstar Lyoquest, Japonya) cihazı kullanılarak ekstrakt içerisindeki su uzaklaştırılmıştır. Cihaz -45°C’de ön soğutma programında başlatılarak 48 saat boyunca kurutma programına (-45°C’de) alınmıştır. Balon içerisindeki suyun tamamen liyofilize edilmesi ardından cihaz kapatılarak kuru ekstraktlar elde edilmiş ve tartılmıştır. Elde edilen ekstraktlar dimetil sülfoksit (DMSO, Merck) içerisinde çözülerek -20°C’de saklanmıştır (Gayatri vd. 2019).

3.4. Mikroalg Ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

Tez kapsamında *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* bakterileri üzerine *A. platensis* ve *Nannochloropsis* sp. mikroalglerinden elde edilen etanol, metanol ve kloroform ekstraktlarının MİK değerlerinin belirlenmesi çalışması yapılmıştır.

MİK çalışması için kullanılacak bakterilerin sıvı besiyeri içindeki miktarı McFarland (no: 0,5) standardı kullanılarak belirlenmiştir (Gayathiri vd. 2018). McFarland standardının hazırlanması için 99,5 mL H₂SO₄ (0,18 M) (Merck, Almanya) çözeltisi içerisine 0,5 mL BaCl₂.2H₂O (0,048 M) (Merck, Almanya) çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan çözeltinin 625 nm dalga boyundaki absorbans değeri spektrofotometrede (Thermo, Amerika) ölçülerek 0,08-0,1 değerleri arasında olup olmadığı kontrol edilmiştir. Çalışmada kullanılacak bakteri yoğunluğu, hazırlanan 0,5 McFarland standardı ile kıyaslanmış ve kültürün bulanıklığı standardın bulanıklığına göre

ayarlanmıştır. Fazla yoğun bakteri kültürleri, üretimde kullanılan besiyerinin aynıyla seyreltilmiştir. Az yoğun kültürler ise inkübasyonda bekletilmiş ve daha fazla yoğunlaşması sağlanmıştır.

Hazırlanan ekstraktların MİK değerlerinin belirlenmesi için mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır (Rodriguez-Tudela vd. 2003). Bu yöntem için uygulanan basamaklar aşağıda verilmiştir:

1. 96 kuyucuklu plakalar içerisine 100 µl TSB besiyeri eklenirken ilk kuyucuğa seyreltilerek hazırlanan ekstraktlardan 200 µl ekstrakt eklenmiştir.
2. 10. kuyucuğa kadar her bir kuyucuğa, bir önceki kuyucuktan 100 µl aktararak seri dilüsyon yapılmış ve böylece her bir kuyucukta ekstrakt konsantrasyonu yarı yarıya seyreltilmiştir. Onuncu kuyucuk dilüsyondan arta kalan sıvıyı koymak için çöp olarak kullanılmıştır.
3. 11. kuyucuk mikroorganizmaların üretilmesinin kontrol edilmesi amacıyla ekstrakt olmaksızın TSB besiyeri ve çalışılan mikroorganizmayı içeren kuyucuk olarak belirlenmiştir.
4. 0.5 McFarland standardına göre ayarlanmış (1×10^6 cfu/ml) kültürden alınmış ve 100 kat seyreltilerek (son bakteri sayısı: 1×10^4 cfu/ml) ilk 9 ve 11 nolu kuyucuklar üzerine 100 µl eklenmiştir.
5. 12 numaralı son kuyucuk ise sadece steril TSB besiyeri içeren negatif kontrol kuyucuğu olarak belirlenmiştir.
6. Bakterilerin üremesi için 28°C’de 24 saatlik inkübasyon gerçekleştirilmiştir.
7. Inkübasyon ardından gözle görünen üremenin olmadığı (bulanıklık olmayan) ilk kuyucuk MİK değeri olarak kaydedilmiştir.

MİK değerlerinin tespit edilmesinin ardından hazırlanan ekstraktların biyofilm ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu özellikleri incelenmiştir. Çalışmalar, bakterileri öldürmeden üremesinin ve biyolojik aktivitelerinin gerçekleşmesi için belirlenen MİK değerinin altındaki konsantrasyonlarda gerçekleştirilmiştir.

3.5. Biyofilm İnhibisyonu (Antibiyofilm) Analizleri

3.5.1. Mikroplaka Yöntemi

Mikroplaka yöntemi ile Thenmozi vd. (2009) çalışmasında verilen protokol modifiye edilerek yapılan çalışmalar her biri 1 mL çalışma hacmine sahip 24 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirilmiştir. Öncelikle % 4 oranında glukoz içeren steril LB besiyeri her bir kuyucuğa 500 µl olacak şekilde dağıtılmıştır. MİK yöntem basamağında anlatıldığı gibi ilk kuyucuk üzerine her bir bakteri için belirlenen MİK değerinin altındaki ekstraktlardan eklenmiştir. Seri dilüsyon yöntemi ile ekstraktlar seyreltilerek plakalar bakteri ekimine hazır hale getirilmiştir.

TSB besiyerinde 24 saat inkübe edilerek üretilen bakteri kültürleri 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Ardından %2 oranında glukoz içeren LB sıvı besiyeri kullanılarak 10 kat seyreltilmiştir. Ardından her bir kuyucuğa (negatif kontrol hariç) seyreltilen bakterilerden 500 µl eklenmiş ve 28°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak steril besiyerinden 1 mL negatif kontrol kuyucuğuna eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak ise 500 µl %2 glukoz içeren LB sıvı besiyeri üzerine hazırlanan bakterilerden 500 µl eklenmiştir.

İnkübasyonun ardından süpernatantlar kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuk iki kez steril distile su ile yıkanmıştır. Plakalar ters çevrilerek 60°C’de 10 dk kurutulmuş ve böylece biyofilm fikse edilmiştir. Kuruyan kuyucukların üzerine 1 mL kristal viyole çözeltisi (%0,2’lik) eklenerek oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiş ve biyofilm yapısının boyanması sağlanmıştır. Ardından kuyucuklardaki kristal viyole çözeltisi uzaklaştırılarak tekrar steril distile su ile yıkama yapılmıştır. Yıkamanın ardından plakalar ters çevrilip kurutulmuştur. Boyama yapılan kuyucuklara 1 mL %95’lik etanol eklenerek biyofilm yapısını boyayan kristal viyolenin çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen çözeltilerin absorbans değerleri 570 nm’de spektrofotometre cihazında okunmuş ve kaydedilmiştir.

Yapılan spektrofotometrik ölçümlerde kör olarak kullanılmak üzere negatif kontrol içeren kuyucuk aynı işlemlerden geçirilmiştir. Böylece plaka yüzeyine tutunan kristal viyole tespit edilerek örneklerin okunması sırasında meydana gelebilecek hata payı minimuma indirilmiştir.

Biyofilm inhibisyon konsantrasyonu (BİK), pozitif kontrole karşı okunan değerlerde biyofilm oluşumunda önemli bir azalma üreten en düşük konsantrasyon olarak belirlenmiştir (Thenmozi vd. 2009). Biyofilm oluşumunun % inhibisyon değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Biyofilm İnhibisyonu} = \left(OD570nm \text{ Kontrol} - \frac{OD570nm \text{ Ekstrakt}}{OD570nm \text{ Kontrol}} \right) \times 100$$

3.5.2. Hücre Yüzey Hidrofobikliği (HYH) İnhibisyon Analizi

Hücre yüzey hidrofobikliği analizi Nithya vd. (2011) çalışmasında verilen protokol modifiye edilerek 24 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirilmiştir. TSB besiyerinde 24 saat inkübe edilerek üretilen bakteri kültürleri 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Ardından steril LB sıvı besiyeri kullanılarak 10 kat seyreltilmiştir. 24 kuyucuklu plakalar içerisinde ekstraktlar BİK yönteminde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Ardından her bir kuyucuk üzerinde hazırlanan bakteri kültürleri eklenmiştir. Negatif kontrol olarak steril LB besiyerinden 1 mL alınarak negatif kontrol kuyucuğuna eklenmiştir. Pozitif kontrol olarak ise 500 µl steril LB sıvı besiyeri üzerine hazırlanan bakterilerden 500 µl eklenmiştir. Hazırlana plakalar 28°C’de 24 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon ardından kuyucuklardan 1 mL alınarak 7000 g'de 5 dk santrifüj yapılmış ve bakteri hücreleri çöktürülmüştür. Süpernatant uzaklaştırılmış ve üzerinde 1 mL steril fosfat tamponu (PBS) (137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄, 1.8mM KH₂PO₄, pH=7,4) eklenerek yıkama yapılmıştır. Daha sonra pelet tekrar 1 mL steril PBS tamponunda çözündürülmüştür. Elde edilen süspansiyonun 600 nm dalga boyundaki absorbansı (A₀) spektrofotometrede ölçülmüştür. Üzerine 500 µl tolüen eklenerek karışım 2 dk kuvvetlice vortekslenmiştir. Oda sıcaklığında 1 gece inkübe edilmiş ve fazların ayrılması sağlanmıştır. Alt su fazı alınarak 600 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür (A₁). Bakterilerin hidrofobiklik yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hidrofobiklik} = \left(1 - \frac{OD_{600nm} (\text{vorteksleme sonrası})}{OD_{600nm} (\text{vorteksleme öncesi})} \right) \times 100$$

3.5.3. Ekstraselüler Polisakkarit Madde (EPS) Degredasyon Analizi

Kalitatif analizler için 24 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Plakalar HYH analizi yönteminde anlatıldığı gibi hazırlanarak 28°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından her bir kuyucuktan 1 mL alınarak 10.000 rpm de 15 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant yeni bir tüpe alınarak üzerine %10 oranında trikloro asetik asit ve aynı hacimde aseton eklenmiştir. Hazırlanan örnekler +4°C'de 8 saatlik inkübasyonun ardından 10.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Elde edilen pelet 37 °C'de kurutularak hassas terzide tartılmıştır (Chari vd. 2017)

Bir önceki aşamada pozitif sonuç alınan ekstraktlar bu aşamada kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Kantitatif analizler için 24 kuyucuklu plakalar kullanılmış ve plakalar HYH analizi yönteminde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. 28°C'de 24 saat inkübasyon sonrasında her bir kuyucuktan 1 mL alınarak 10.000 rpm de 15 dk santrifüjlenmiştir. EPS'ye bağlı hücrelerin uzaklaştırılması için hücre peleti yüksek-tuzlu tamponda (10 mM KPO₄ (pH=7,0), 5mM NaCl, 2.5 mM MgSO₄) çözündürülmüştür. 10.000 rpm'de 30 dk santrifüjün ardından süpernatant yeni bir tüpe alınmıştır. Süpernatant üzerine 3 hacim etanol eklenerek EPS çöktürülmüştür. Pelet steril saf suda çözülerek -20°C'de saklanmıştır. Hazırlanan EPS çözeltisinden 1 mL alınarak eşit hacimde % 5'lik soğuk fenol ve 5 mL konsantre sülfürik asit eklemiştir. Reaksiyon çok hızlı ısındığı için örnekler buz üzerinde çalışılmıştır. Karanlıkta 2 saat inkübasyonun ardından oluşan kırmızı rengin absorbans değeri 490 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Najdenski vd.2013; Santhakumari vd. 2016).

3.5.4. Işık Mikroskobu Analizi

Oluşan biyofilm yapılarının ışık mikroskobunda görüntülenmesi için 24 kuyucuklu plakalar içerisinde 1x1 cm ebatlarında cam parçaları üzerinde biyofilm oluşturulmuştur. Bunun için öncelikle TSB besiyerinde üretilen gecelik bakteri kültürleri 0,5 McFarland

standardına göre ayarlanmıştır. Ardından %2 glukoz içeren LB sıvı besiyeri kullanılarak 10 kat seyreltilmiştir. BİK mikrolaka yönteminde anlatıldığı gibi 24 kuyucuklu plakalar hazırlanmış ve her bir kuyucuğa 1x1 cm ebatlarındaki cam parçaları eklenerek plakalar 28°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından cam parçaları steril distile su ile 2 kez yıkanmış ve oluşan biyofilm BİK mikrolaka yönteminde belirtildiği gibi boyanmıştır. Boyanan cam parçaları ışık mikroskobu (Olympus CX41, Japonya) altında görüntülenmiştir (Santhakumari vd. 2016).

Olgun biyofilmler üzerine mikroalg ekstraktlarının etkisinin belirlenmesi için Santhakumari vd. (2016) çalışmasında verilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan üç bakterinin de 24 kuyucuklu plakalar içerisinde 1x1 cm’lik cam parçaları üzerinde , %2 glukoz içeren LB sıvı besiyeri kullanılarak 28°C’de 48 saat inkübe edilmiş ve olgun biyofilm yapılarının oluşması sağlanmıştır. Ardından besiyeri uzaklaştırılarak her bir kuyucuk üzerine 500 µl BİK analizinde en etkili olan konsantrasyonlarda mikroalg ekstraktları eklenerek 5 saat 28°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından cam parçaları steril distile su ile 2 kez yıkanmış ve oluşan biyofilm BİK mikrolaka yönteminde belirtildiği gibi boyanmıştır. Boyanan cam parçaları ışık mikroskobu (Olympus CX41, Japonya) altında görüntülenmiştir.

3.6. Çevreyi Algılama Sistemi İnhibisyonu (AntiQS) Analizleri

3.6.1. Violacein inhibisyonunun kalitatif ve kantitatif analizi

Violacein inhibisyonunun kantitatif analizi için Santhakumari vd. (2016) çalışmasında verilen protokol modifiye edilerek kullanılmıştır. Öncelikle violacein pigmenti üretimini inhibe edildiği bilinen 4-nitropiridinoksitin (4-NPO) (Thermo, Amerika) minimum inhibisyon konsantrasyonu belirlenmiştir. Bunun için 24 kuyucuklu plakalar içerisinde 6,25-800 µM konsantrasyonlarında değişen 4-NPO ile birlikte *C. violaceum* (ATCC 12472) bakterisi 24 saat inkübe edilmiştir. Üreme gözlenmeyen ilk kuyucuk MİK değeri olarak kaydedilmiştir.

Mikroalg ekstraktlarının violacein pigmenti üretimi inhibisyonunun kalitatif analizi için 24 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Her bir mikroalgin MİK konsantrasyonunun altındaki 5 farklı konsantrasyonla deneyler gerçekleştirilmiştir. Plakalar daha önce HYH analizinde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. 28°C’de 24 saatlik inkübasyon ardından pigment üretiminin gözlenmediği konsantrasyonlar belirlenmiştir.

Violacein inhibisyonunun kantitatif analizi için Santhakumari vd. (2016) çalışmasında verilen protokol modifiye edilerek kullanılmıştır. *C. violaceum* (ATCC 12472) suşu kullanılarak yapılan çalışmada 24 kuyucuklu plakalar HYH analizinde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. 28 °C’de 24 saatlik inkübasyonun ardından kültürden 1 mL alınıp 10.000 rpm de 10 dk santrifüjlenerek ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Oluşan pelet 1 mL DMSO içerisinde çözülerek ve 30 sn kuvvetlice vorteksenerek violacein

ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 10.000 rpm de 10 dk santrifüjlenerek hücreler uzaklaştırılarak ve süpernatantın 580 nm’de absorbansı ölçülmüştür.

3.6.2. Açıl homoserin lakton (AHL) moleküllerinin inhibisyonu

Mikroalg ekstraktlarının balık patojenleri tarafından üretilen açıl homoserin lakton (AHL) türevi çevreyi algılama sinyal moleküllerinin inhibisyonunun belirlenmesi için *Agrobacterium tumefaciens* (NT1) suşu kullanılmıştır. Öncelikle mikroalg ekstraktları hesaplanan MİK değerlerindeki konsantrasyonlara LB besiyeri ile seyreltilmiştir. Hazırlanan besiyerleri donma sıcaklığına yakın olan ve 50 µg/mL oranında X-Gal (Applchem, Almanya) içeren LBA besiyeri ile karıştırılarak üç bölmeli petrilere her bir bölme 5 mL besiyeri içerecek şekilde dökülmüş ve katı besiyerleri hazırlanmıştır. Daha sonra 0.5 Mc Farland standardına göre ayarlanmış *A. tumefaciens* ve diğer üç test bakterisi LB besiyeri kullanılarak 10 kat seyreltilmiştir. Seyreltmenin ardından hazırlanan LBA üzerine *A. tumefaciens* ve diğer test bakterileri aralarında yaklaşık 0,5 cm boşluk olacak şekilde çizgi şeklinde ekilmiştir. 28 °C’de 48 saatlik İnkübasyonun ardından oluşan mavi renk hem petri üzerinde hem de stereo mikroskop (Olympus SZX-16, Japonya) altında görüntülenerek fotoğraflanmıştır.

Oluşan rengin kantitatif olarak ölçülmesi için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bakteriler üredikleri besiyeri üzerinden 2 mL steril distile su kullanılarak kazanmış ve ependorf tüplere alınmıştır. 10.000 g’de 10 dk santrifüjlenerek renkli bakteri peleti çöktürülmüş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Ardından üzedrine 1 mL DMSO eklenerek pelet 2 dk vortekslenmiş ve pigmentin DMSO içinde çözülmesi sağlanmıştır. 10000 g’de 10 dk santrifüjün ardından renksiz pelet ortamdan uzaklaştırılarak renkli süpernatant 634 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Zhang vd. 2019).

3.7. Mikroalgal Biyoaktif Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi

3.7.1. Fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi

Mikroalg ekstraktlarının tamamı öncelikle 1000 µg/mL konsantrasyonuna seyreltilmiştir. Hazırlanan ekstraktlardan 200 µL alınarak üzerine 1,5 mL 10 kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu solüsyonu (Merck, Almanya) eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dk inkübasyonun ardından üzerine 1,5 mL sodyum bikarbonat çözeltisi (60 g/L) eklenerek karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 90 dk inkübe edildikten sonra 750 nm’de absorbans değerleri ölçülmüştür. 25-150 µg/mL konsantrasyonları arasında hazırlanan gallik asit standart çözeltisi kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak hesaplanmıştır (Hajimahmoodi vd. 2008).

3.7.2. Mikroalgal ekzopolisakkaritlerin miktarının belirlenmesi

Mikroalg kültürlerinin hücre içermeyen süpernatantlarından alınarak 1:3 (v/v) oranında %99 etanol eklenerek ve 10.000 g'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Oluşan pelet % 65 etanol ile 3 kez yıkanmıştır. 37°C'de kurutulan pelet üzerine 1 mL steril distile su eklenerek çözölmüştür (Najdenski vd. 2013). Total ekzopolisakkarit miktarı EPS degradasyon analizinde olduğu gibi, Abraham vd. (2011)'e göre spektrofotometrik olarak ölçölmüştür.

4. BULGULAR

4.1. Mikroalglerin Üretimi

Tez çalışmasında kullanılan *Arthrospira platensis*' BG-11 besiyerinde üretilmiştir (Stainer vd. 1971) (Çizelge 1). Besiyeri her bir stok çözeltiden 10'ar mL ve iz element çözeltisinden ise 1 mL alınarak son hacim 1 L'ye distile su ile tamamlanarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri steril edilmiştir. Aseptik koşullarda 1 L hacme sahip erlenlere olgun kültürlerden 100 mL alınarak ekim yapılmıştır. 24 saat boyunca ışık altında havalandırma verilerek üretim gerçekleştirilmiştir.

Diğer mikroalg *Nannochloropsis* sp. üretimi için Walne besiyeri (Walne 1970) kullanılmıştır (Çizelge 2). Besin çözeltisinden 1 mL ve vitamin çözeltisinden 0,1 mL alınarak 1 L %0,26 deniz tuzu içeren steril distile su içerisine eklenmiştir. Aseptik koşullar altında 1 L hacme sahip erlenlere olgun kültürlerden 100 mL alınarak ekim yapılmıştır. 26°C'de 24 saat boyunca ışık altında havalandırma verilerek üretim gerçekleştirilmiştir.

Üretim sırasında buharlaşma kaynaklı azalan besiyerleri üzerine azalan hacim kadar ekleme yapılarak üretime devam edilmiştir. Üretim aşaması gün aşırı takip edilmiş ve mikroalglerde çökme olup olmadığı kontrol edilmiştir. Yeterli yoğunluğa ulaşan mikroalgler yeni erlenlere pasajlanmış ve üretime devam edilmiştir. Stok kültür olarak ise kullanılan her iki besiyerine litreye 15 g agar eklenerek katı besiyerleri hazırlanmıştır. Aseptik koşullarda katı besiyerine ekilen mikroorganizmalar petrilerin ağzı parafilmlenerek oda sıcaklığında 8-12 saat ışık altında inkübe edilerek saklanmıştır. Gerekli durumlarda hazırlanan bu stoklarda oluşan koloniler toplanarak sıvı ortamlara aktarılmış ve kültürler tazelenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Mikroalglerin üretim aşaması

4.2. Mikroorganizmaların Üretimi

Tez kapsamında kullanılacak olan *Lactococcus garvieae*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Agrobacterium tumefaciens* (NT1) ve *Chromobacterium violaceum* (ATCC 12472) bakterilerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. *L. garvieae* ve *A. hydrophila* bakterilerinin triptik soy broth (TSB) sıvı ve triptik soy agar (katı) besiyerlerine (Peptone from Casein 17,0 g/L; Peptone from Soymeal 3,0 g/L; D(+) Glucose 2,5 g/L; NaCl 5,0 g/L; K₂HPO₄ 2,5 g/L ve katı besiyeri için 15 g/L agar eklenmiştir) aseptik koşullarda ekimi yapılmıştır. 25°C’de 24-48 saat inkübe edilerek bakterilerin üremesi sağlanmıştır. *Y. ruckeri* bakterisi yine TSB ve TSA besiyerlerine aseptik koşullarda ekilerek 22°C’de 24-48 saat inkübe edilerek üretilmiştir. *A. tumefaciens* (NT1) ve *Chromobacterium violaceum* (ATCC 12472) bakterileri ise luria bertani (LB) broth (maya ekstraktı 5,0 g/L; pepton 10,0 g/L; NaCl 10,0 g/L ve katı besiyeri için 15 g/L agar eklenmiştir) ve LB agar besiyerlerine aseptik koşullarda ekilmiştir. 30 °C’de 24 saat inkübe edilerek üretim gerçekleştirilmiştir. Katı besiyerinde üretilen bakteriler, petrilerin ağzı parafilmlenerek stok kültür olarak +4 °C’de saklanmıştır (Şekil 4.2).

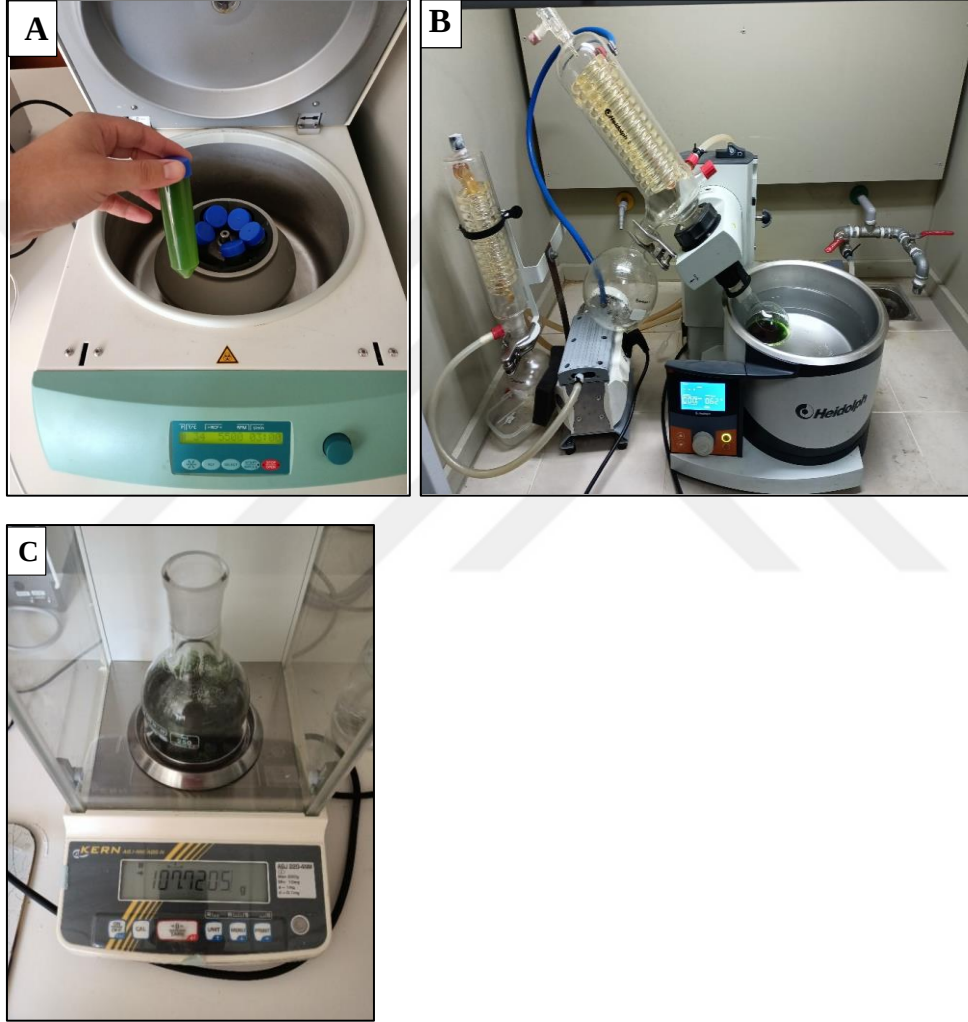


Şekil 4.2. Katı ve sıvı besiyerine ekilen mikroorganizmalar

4.3. Mikroalglerin Ekstraksiyonu

Hazırlanan ve belirli bir yoğunluğa ulaşan mikroalg kültürleri 2000 rpm’de 3 dk santrifüjlenerek çöktürülmüştür. Üzerine ayrı ayrı 1:10 (w/v) oranında etanol, metanol ve kloroform eklenmiştir. Mikroalga fırında hücrelerin ısıtılarak parçalanması sağlandıktan sonra hücre içeriklerinin açığa çıkarılması için bir gece oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından hücre kalıntılarını uzaklaştırmak için 5000 rpm’de 4 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatant dikkatli bir şekilde temiz bir cam şişeye her hangi bir katı partikül kalmaması için süzülerek alınmıştır. Çözücüler rotary evaporatör cihazında 45-55 °C’ de buharlaştırılmış ve elde edilen kuru ekstrakt tartılmıştır.

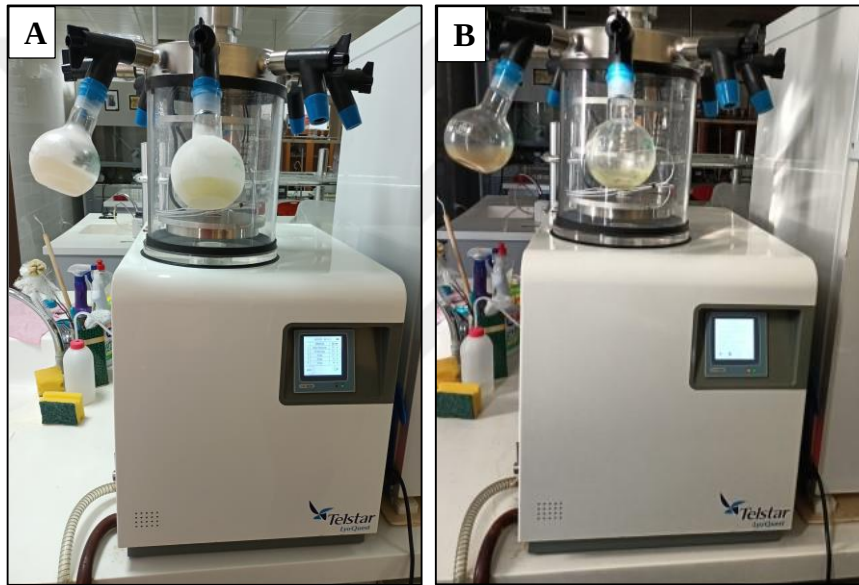
Nannochloropsis sp. etanol çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,62 g, *Nannochloropsis* sp. metanol çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,71 g ve *Nannochloropsis* sp. kloroform çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,53 g olarak ölçülmüştür. *A. platensis* etanol çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,41 g, *A. platensis* metanol çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,67 g ve *A. platensis* kloroform çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,49 g olarak ölçülmüştür. Elde edilen ekstraktlar DMSO (dimetil sülfoksit) içerisinde çözülerek -20°C’de saklanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Mikroalglerin ekstraksiyon aşamaları (A, ekstraktların santrifüjlenmesi; B, rotary evaporatör kullanılarak çözücünün uzaklaştırılması; C, kuru ekstraktın tartılması).

Su ekstraktı için, belirli bir yoğunluğa ulaşan mikroalg kültürleri 2000 rpm’de 3 dk santrifüjlenerek çöktürülmüştür. Üzerine 1:10 (w/v) oranında steril distile su eklenmiştir. Mikrodalga fırında hücrelerin ısıtılarak parçalanması sağlandıktan sonra hücre içeriklerinin açığa çıkarılması için bir gece oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından hücre kalıntılarını uzaklaştırmak için 5000 rpm’de 4 dk santrifüj

edilmiştir. Süpernatant dikkatli bir şekilde temiz bir cam şişeye her hangi bir katı partikül kalmaması için süzülerek alınmıştır. Elde edilen ekstraktan suyun uzaklaştırılması için liyofilizasyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için öncelikle elde edilen ekstraktlar -45 °C’de derin dondurucuda dondurulmuştur. Ardından fakültemiz laboratuvarları bünyesinde bulunan Freeze-Dryer (Telstar Lyoquest, Japonya) cihazı kullanılarak ekstrakt içerisindeki su uzaklaştırılmıştır. Cihaz -45 °C’de ön soğutma programında başlatılarak 48 saat boyunca kurutma programına (-45 °C’de) alınmıştır. Balon içerisindeki suyun tamamen liyofilize edilmesi ardından cihaz kapatılarak kuru ekstraktlar elde edilmiş ve tartılmıştır. *Nannochloropsis* sp. su çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,59 g ve *A. platensis* su çözücüsünden elde edilen kuru ekstrakt 0,10 g olarak ölçülmüştür. Elde edilen ekstraktlar DMSO (dimetil sülfooksit) içerisinde çözülerek -20 °C’de saklanmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Su ekstraktlarının liyofilizatör ile kurutulma aşamaları (A, dondurulan sulu ekstraktların kurutma işlemi başlangıcı; B, suyu tamamen uçurulmuş kuru ekstraktlar).

4.4. Mikroalg Ekstraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının (MİK) Belirlenmesi

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK), çalışılan potansiyel antibakteriyel ajanların, test edilen bakterilerin üremesini inhibe eden (durduran) minimum konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Çalışılan ekstraktın antibakteriyel etki gösterip göstermediği ve eğer antibakteriyel etki gösteriyorsa hangi konsantrasyonlarda etkili olduğu bu yöntemle belirlenmektedir.

A. platensis mikroalginden elde edilen etanol ekstraktı son konsantrasyonu 16384 µg/ml, metanol ekstraktı son konsantrasyonu 4096 µg/ml, kloroform ekstraktı son konsantrasyonu 4096 µg/ml ve su ekstraktı son konsantrasyonu 16384 µg/ml olacak

şekilde steril TSB besiyeri ile seyreltilerek deneyde kullanılacak miktar kadar hazırlanmıştır.

Nannochloropsis sp. mikroalginden elde edilen etanol ekstraktı son konsantrasyonu 16384 µg/ml, metanol ekstraktı son konsantrasyonu 16384 µg/ml, kloroform ekstraktı son konsantrasyonu 4096 µg/ml ve su ekstraktı son konsantrasyonu 16384 µg/ml olacak şekilde TSB besiyeri ile seyreltilerek deneyde kullanılacak miktar kadar hazırlanmıştır. Konsantrasyon farklılıkları ekstraksiyon sonucu elde edilen kuru ekstrakt miktarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Çalışma için hazırlanan plakalardeki her bir kuyucuğa denk gelen konsantrasyon Çizelge 3.4’te verilmiştir.

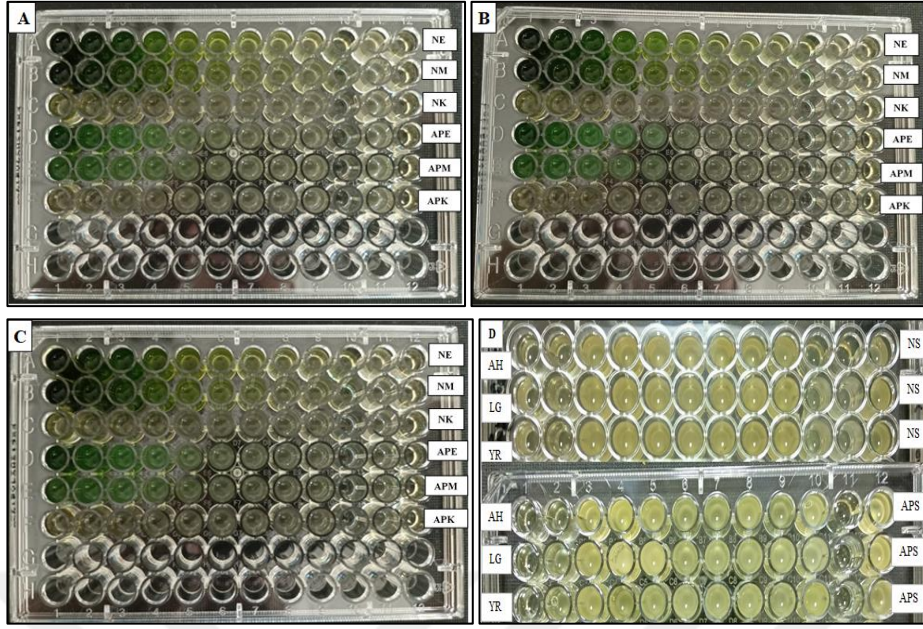
Çizelge 4.1. MİK çalışmasında kullanılan ekstrakt konsantrasyonlarının kuyucuklara göre dağılımı (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	1. kuyucuk	2. kuyucuk	3. kuyucuk	4. kuyucuk	5. kuyucuk	6. kuyucuk	7. kuyucuk	8. kuyucuk	9. kuyucuk
NE	8192 µg/mL	4096 µg/mL	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL
NM	8192 µg/mL	4096 µg/mL	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL
NK	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL
NS	8192 µg/mL	4096 µg/mL	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL
APE	8192 µg/mL	4096 µg/mL	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL
APM	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL
APK	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL
APS	8192 µg/mL	4096 µg/mL	2048 µg/mL	1024 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL

Hazırlanan ekstraktların MİK değerlerinin belirlenmesi için mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve her bir ekstrakt için MİK değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.1) (Şekil 4.5). Yapılan deneyler sonucunda *A. hydrophila* üzerine *Nannochloropsis* sp. mikroalginden elde edilen etanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, metanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, kloroform ekstraktının MİK değeri 256 µg/mL ve su ekstraktının MİK değeri 8192 µg/mL olarak belirlenmiştir. *A. platensis* mikroalginden elde edilen etanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, metanol ekstraktının MİK değeri 1024 µg/mL, kloroform ekstraktının MİK değeri 1024 µg/mL ve su ekstraktının MİK değeri 2048 µg/mL olarak belirlenmiştir. *A. hydrophila* üzerinde en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı olurken (256 µg/mL) en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (8192 µg/mL) olarak belirlenmiştir.

L. garvieae üzerine *Nannochloropsis* sp. mikroalginden elde edilen etanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, metanol ekstraktının MİK değeri 2048 µg/mL, kloroform ekstraktının MİK değeri 512 µg/mL ve su ekstraktının MİK değeri 8192 µg/mL olarak belirlenmiştir. *A. platensis* mikroalginden elde edilen etanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, metanol ekstraktının MİK değeri 512 µg/mL, kloroform ekstraktının MİK değeri 512 µg/mL ve su ekstraktının MİK değeri 2048 µg/mL olarak belirlenmiştir. *L. garvieae* üzerinde en fazla etkili olan ekstraktlar *Nannochloropsis* sp. kloroform, *A. platensis* metanol ve kloroform ekstraktları olurken (512 µg/mL) en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (8192 µg/mL) olarak belirlenmiştir.

Y. ruckeri üzerine *Nannochloropsis* sp. mikroalginden elde edilen etanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, metanol ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL, kloroform ekstraktının MİK değeri 256 µg/mL ve su ekstraktının MİK değeri 4096 µg/mL olarak belirlenmiştir. *A. platensis* mikroalginden elde edilen etanol ekstraktının MİK değeri 8192 µg/mL, metanol ekstraktının MİK değeri 2048 µg/mL, kloroform ekstraktının MİK değeri 512 µg/mL ve su ekstraktının MİK değeri 1024 µg/mL olarak belirlenmiştir. *Y. ruckeri* üzerinde en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktları olurken (256 µg/mL) en az etkili olan ekstrakt ise *A. platensis* etanol ekstraktı (8192 µg/mL) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Çalışmada kullanılan bakteriler üzerine *Nannochloropsis* sp. ve *A. platensis* 'ten elde edilen etanol ve kloroform ekstraktlarının MİK değerlerinin belirlenmesi çalışması (A, *A. hydrophila*; B, *L. garvieae*; C, *Y. ruckeri*; D, Mikroalglerden elde edilen su ekstraktları; AH, *A. hydrophila*; LG, *L. garvieae*; YR, *Y. ruckeri*; NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı).

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan bakteriler üzerine *Nannochloropsis* sp. ve *A. platensis* den elde edilen etanol, metanol, kloroform ve su ekstraktlarının MİK değerleri.

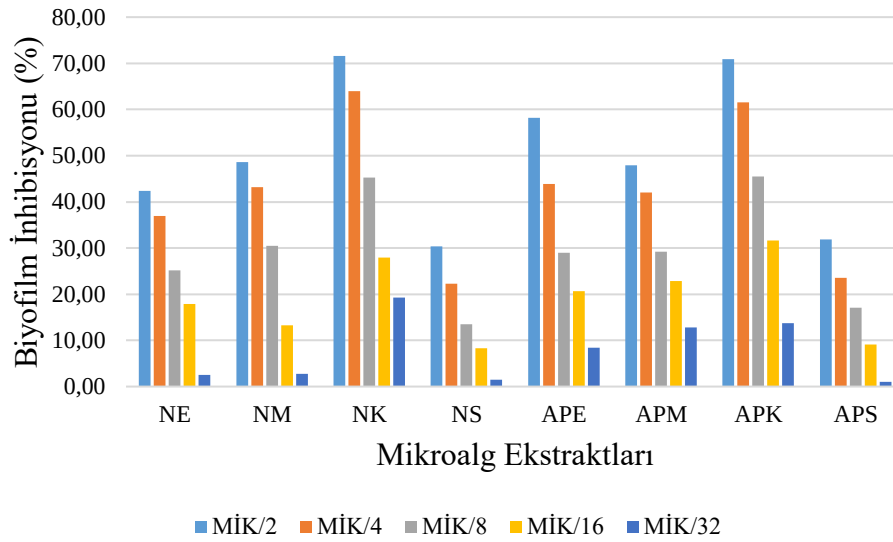
Mikroalg Adı	Ekstrakt Adı	<i>A. hydrophila</i>	<i>L. garvieae</i>	<i>Y. ruckeri</i>
<i>Nannochloropsis</i> sp.	Etanol Ekstraktı	4096 µg/mL	4096 µg/mL	4096 µg/mL
	Metanol Ekstraktı	4096 µg/mL	2048 µg/mL	4096 µg/mL
	Kloroform Ekstraktı	256 µg/mL	512 µg/mL	256 µg/mL
	Su Ekstraktı	8192 µg/mL	8192 µg/mL	4096 µg/mL
<i>A. platensis</i>	Etanol Ekstraktı	4096 µg/mL	4096 µg/mL	8192 µg/mL
	Metanol Ekstraktı	1024 µg/mL	512 µg/mL	2048 µg/mL
	Kloroform Ekstraktı	1024 µg/mL	512 µg/mL	512 µg/mL
	Su Ekstraktı	2048 µg/mL	2048 µg/mL	1024 µg/mL

4.5. Biyofilm İnhibisyonu (Antibiyofilm Aktivite) Analizleri

4.5.1. Mikroplaka yöntemi

Yapılan 570 nm dalga boyundaki spektrofotometrik ölçümler sonucunda tez çalışmasında kullanılan üç bakterinin de biyofilm yapısı oluşturduğu görülmüştür. *L. garvieae* üç bakteri arasında en güçlü biyofilm yapısı oluşturan bakteri olarak hesaplanmıştır ($0,914 \pm 0,003$). *A. hydrophila* biyofilm oluşturma kapasitesi ($0,540 \pm 0,001$) *L. garvieae* 'den sonra gelmiştir. *Y. ruckeri* ise üç bakteri arasındaki en zayıf biyofilm kapasitesi ($0,350 \pm 0,002$) oluşturma yeteneğine sahip bakteri olarak belirlenmiştir.

A. hydrophila farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlarla inkübe edildiğinde biyofilm oluşumunda %71,64-1,00 oranlarında değişen azalmalar görülmüştür. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde biyofilm inhibisyon oranının %42,42-2,53, metanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %48,65-2,75, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %71,64-19,26 ve su ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %30,32-1,44 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %58,20-8,44, metanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %47,95-12,77, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %70,92-13,69 ve su ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %31,85-1,00 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *A. hydrophila*'nın oluşturduğu biyofilm yapısının inhibisyonunda en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%71,64), en az etkili olan ekstrakt ise *A. platensis* su ekstraktı (%1,00) olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.6).



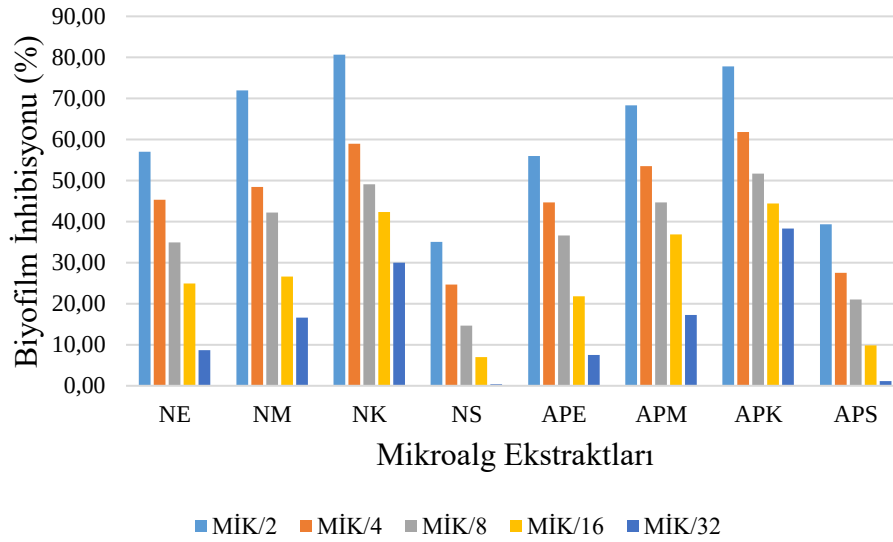
Şekil 4.6. *A. hydrophila*'nın biyofilm inhibisyon oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerlerine bakıldığında *A. hydrophila* için *Nannochloropsis* sp su ekstraktı hariç ortak olan konsantrasyon değerinin 128 µg/mL olduğu görülmektedir. 128 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%71,64) olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı olarak (%2,53) belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3. *A. hydrophila*'nın hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı) renkleri sil

Ekstraktlar	Biyofilm İnhibisyon Yüzdeleri				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	42,42	36,99	25,18	17,85	2,53
NM	48,65	43,23	30,49	13,25	2,75
NK	71,64	64,01	45,31	27,91	19,26
NS	30,32	22,22	13,47	8,33	1,44
APE	58,20	43,93	29,01	20,69	8,44
APM	47,95	42,07	29,23	22,88	12,77
APK	70,92	61,60	45,52	31,63	13,69
APS	31,85	23,54	17,08	9,10	1,00

L. garvieae farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlarla inkübe edildiğinde biyofilm oluşumunda %80,68-0,34 oranlarında değişen azalmagörülmüştür. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde biyofilm inhibisyon oranının %57,01-8,63, metanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %71,91-16,66, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %80,68-29,97 ve su ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %34,99-0,34 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %55,99-7,56, metanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %68,31-17,20, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %77,75-38,29 ve su ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %39,39-1,08 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *A. hydrophila*'nın oluşturduğu biyofilm yapısının inhibisyonunda en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%80,68), en az etkili olan ekstrakt ise *A. platensis* su ekstraktı (%0,34) olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.7).



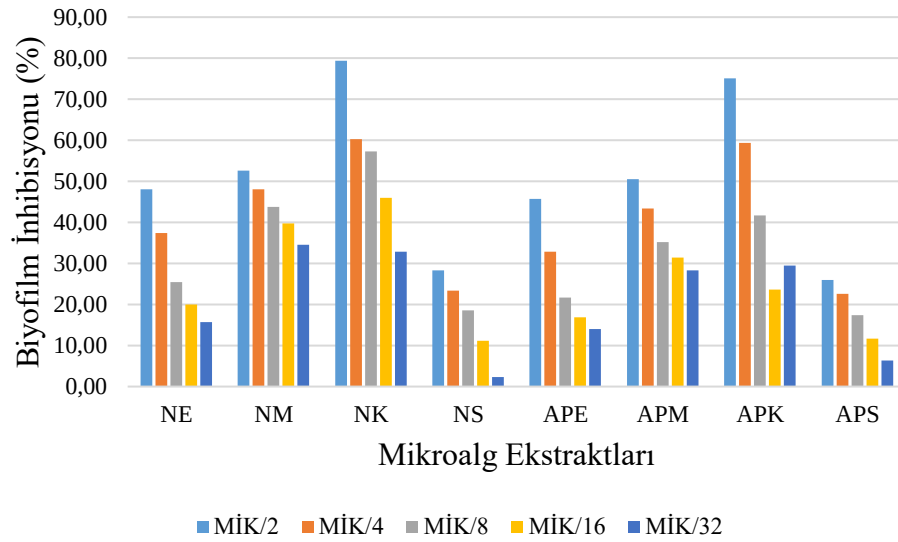
Şekil 4.7. *L. garvieae*'nin biyofilm inhibisyon oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerlerine bakıldığında *L. garvieae* için tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerinin 256 µg/mL olduğu görülmektedir. 256 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%80,68) olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı olarak (%0,34) belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4. *L. garvieae*'nin biyofilm inhibisyon oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	Biyofilm İnhibisyon Yüzdeleri				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	57,01	45,35	34,91	24,98	8,63
NM	71,91	48,50	42,20	26,64	16,66
NK	80,68	59,02	49,09	42,39	29,97
NS	34,99	24,61	14,60	7,01	0,34
APE	55,99	44,61	36,65	21,83	7,56
APM	68,31	53,50	44,61	36,83	17,20
APK	77,75	61,84	51,65	44,43	38,29
APS	39,39	27,57	21,09	9,79	1,08

Y.ruckeri farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlarla inkübe edildiğinde biyofilm oluşumunda %79,43-2,29 oranlarında değişen azalmalar görülmüştür. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde biyofilm inhibisyon oranının %48,00-15,71, metanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %52,57-34,53, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %79,43-32,86 ve su ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %28,29-2,29 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %45,71-14,00, metanol ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %50,57-28,29, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %75,14-29,23 ve su ekstraktı eklenen örneklerin biyofilm inhibisyon oranının %26,00-6,29 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *A. hydrophila*'nın oluşturduğu biyofilm yapısının inhibisyonunda en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%79,43), en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (%2,29) olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *Y. ruckeri*'nin biyofilm inhibisyon oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerlerine bakıldığında *Y.ruckeri* için *A. platensis* metanol ekstraktı hariç ortak olan konsantrasyon değerinin 256 µg/mL olduğu görülmektedir. 256 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%79,43) olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı olarak (%11,14) belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

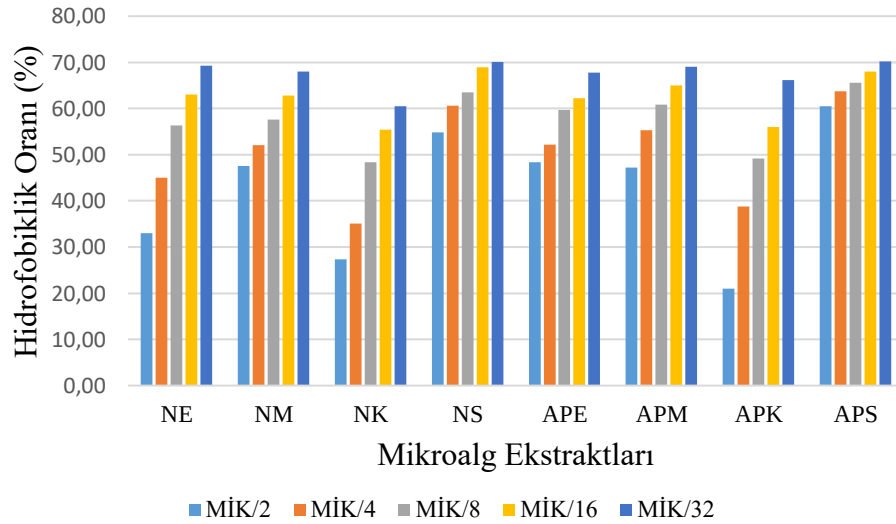
Çizelge 4.5. *Y.ruckeri*'nin biyofilm inhibisyon oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	Biyofilm İnhibisyon Yüzdeleri				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	48,00	37,43	25,43	20,00	15,71
NM	52,57	48,00	43,71	39,71	34,53
NK	79,43	60,29	57,26	46,00	32,86
NS	28,29	23,43	18,57	11,14	2,29
APE	45,71	32,86	21,71	16,86	14,00
APM	50,57	43,43	35,14	31,43	28,29
APK	75,14	59,43	41,75	23,64	29,43
APS	26,00	22,57	17,43	11,71	6,29

4.5.2. Hücre yüzey hidrofobikliği (HYH) inhibisyon analizi

Hücre yüzey hidrofobiklik yüzdesinin belirlenmesi analizi için literatürde yer alan birkaç protokol (Limsuwan vd., 2008; Thenmozi vd., 2009; Chari vd., 2017; Nithya vd., 2011) denenmiş ve çalışma için en uygunu Nithya vd. (2011) çalışmasında verilen protokol olarak belirlenmiştir. Söz konusu protokolde bazı modifikasyonlar yapılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda *A. hydrophila*'nın hidrofobiklik oranının %71,20±0,16 olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların ortama eklenmesi sonucunda bu değerler genel olarak %21,05-70,25 arasında değiştiği gözlenmiştir. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %33,01-69,23, metanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %47,61-67,96, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %27,32-60,52 ve su ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %54,89-70,03 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %48,35-68,74, metanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %47,21-69,01, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %21,05-66,12 ve su ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %55,55-70,25 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *A. hydrophila*'nın hidrofobikliği üzerine en fazla etkili olan ekstrakt *A. platensis* kloroform ekstraktı (%21,05), en az etkili olan ekstrakt ise *A. platensis* su ekstraktı (%70,25) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. *A. hydrophila*'nın hidrofobiklik oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

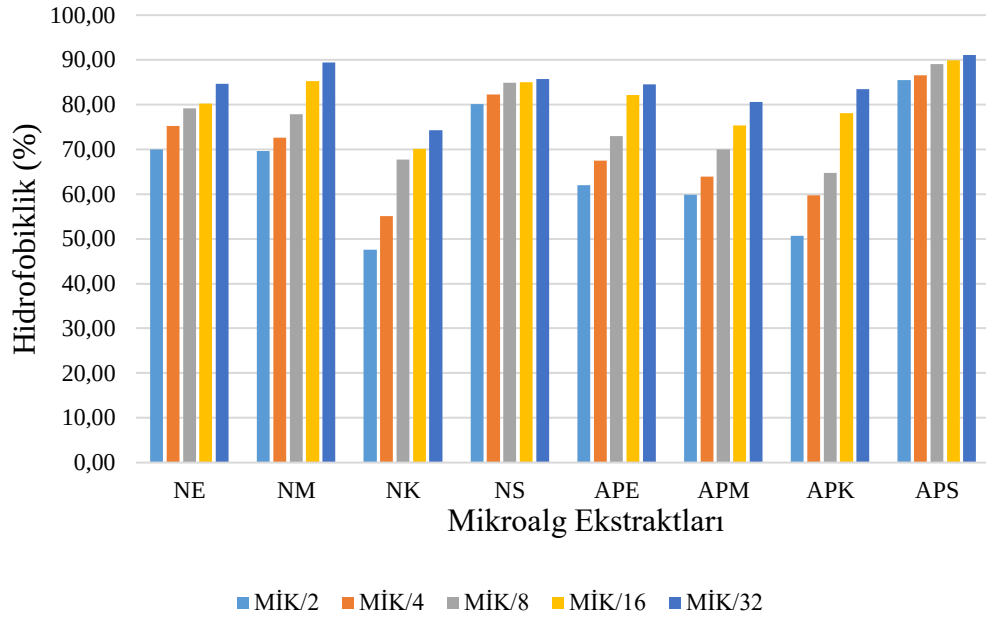
Ekstraktların konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerinin 128 µg/mL olduğu görülmektedir. 128 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp.

kloroform ekstraktı olarak (%27,32) belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp etanol ekstraktı (%69,23) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.6. *A. hydrophila*'nın hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	Hücre Hidrofobiklik Oranları (%)				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	33,01	44,99	56,34	62,98	69,23
NM	47,61	52,12	57,63	62,85	67,96
NK	27,32	35,12	48,31	55,41	60,52
NS	54,89	60,56	63,47	68,90	70,03
APE	48,35	52,18	59,64	62,25	67,74
APM	47,21	55,24	60,86	64,99	69,01
APK	21,05	38,78	49,23	55,99	66,12
APS	60,55	63,71	65,52	68,03	70,25
POZ	71,26	70,98	71,36		

L. garvieae'nin hidrofobiklik oranının ortalama $95,52 \pm 0,61$ olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların ortama eklenmesi sonucunda bu değer genel olarak %47,52-91,11 arasında değiştiği gözlenmiştir. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %62,00-84,58, metanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %59,86-80,60, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %50,68-83,48 ve su ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %85,51-95,11 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %70,03-84,62, metanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %69,60-89,45, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %47,52-74,32 ve su ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının %80,17-85,67 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *L. garvieae*'nin hidrofobikliği üzerine en fazla etkili olan ekstrakt *A. platensis* kloroform ekstraktı (%47,52), en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (%91,11) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *L. garvieae*'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerlerinin 256 µg/mL olduğu görülmektedir. 256 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%47,52) olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *A. platensis* su ekstraktı (%89,84) olarak belirlenmiştir. (Çizelge 4.6).

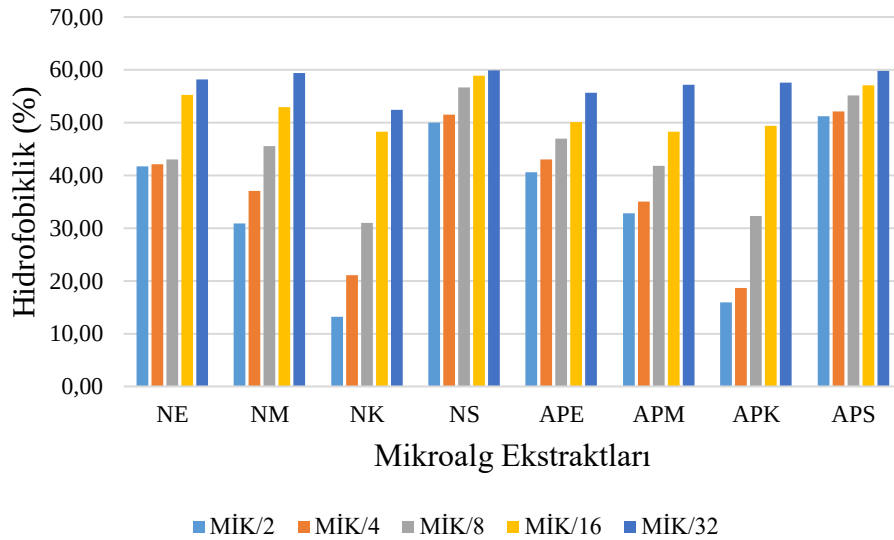
Çizelge 4.7. *L. garvieae*'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	Hücre Hidrofobiklik Oranları (%)				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	70,03	75,23	79,23	80,27	84,62
NM	69,60	72,59	77,86	85,21	89,45
NK	47,52	55,13	67,77	70,07	74,32
NS	80,17	82,32	84,92	85,00	85,67
APE	62,00	67,45	72,93	82,15	84,58

Çizelge 4.6'nın devamı

APM	59,86	63,89	69,94	75,36	80,60
APK	50,68	59,71	64,71	78,09	83,48
APS	85,51	86,61	89,05	89,84	91,11
POZ	96,31	94,83	95,42		

Y. ruckeri'nin hidrofobiklik oranının ortalama $60,33 \pm 0,09$ olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların ortama eklenmesi sonucunda bu değerin genel olarak $13,22-59,93$ arasında değiştiği gözlenmiştir. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $40,57-55,67$, metanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $32,82-57,17$, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $15,95-57,53$ ve su ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $51,21-59,82$ değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $41,69-58,19$, metanol ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $30,87-59,42$, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $13,22-52,40$ ve su ekstraktı eklenen örneklerin hidrofobiklik oranının $50,04-59,93$ değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *Y. ruckeri*'nin hidrofobikliği üzerine en fazla etkili olan ekstrakt *A. platensis* kloroform ekstraktı ($13,22$), en az etkili olan ekstrakt ise *A. platensis* su ekstraktı ($59,93$) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *Y. ruckeri*'nin hidrofobiklik oranlarının ekstraktlara ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerlerinin $128 \mu\text{g/mL}$ olduğu görülmektedir. $128 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp.

kloroform ekstraktı olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8. *Y. ruckeri*'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	Hücre Hidrofobiklik Oranları (%)				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	41,69	42,12	43,04	55,26	58,19
NM	30,87	37,05	45,50	52,89	59,42
NK	13,22	21,12	30,97	48,32	52,40
NS	50,04	51,48	56,71	58,88	59,93
APE	40,57	42,98	46,94	50,12	55,67
APM	32,82	35,07	41,78	48,23	57,17
APK	15,95	18,64	32,32	49,36	57,53
APS	51,21	52,15	55,12	57,06	59,82
POZ	60,27		60,26		60,45

4.5.3. Ekstraselüler polisakkarit madde (EPS) degradasyon analizi

EPS miktarının belirlenmesi için yapılan kalitatif analizlerde bakterilerin ortama salgıladıkları polisakkaritler çöktürülmüştür. Oluşan peletler kurutularak tartılmıştır. Mikroalg eklenmemiş pozitif kontrollerde *A. hydrophila* için $0,025 \pm 0,002$ g, *L. garvieae* için $0,032 \pm 0,008$ g ve *Y. ruckeri* için $0,018 \pm 0,003$ g pelet tartılmıştır.

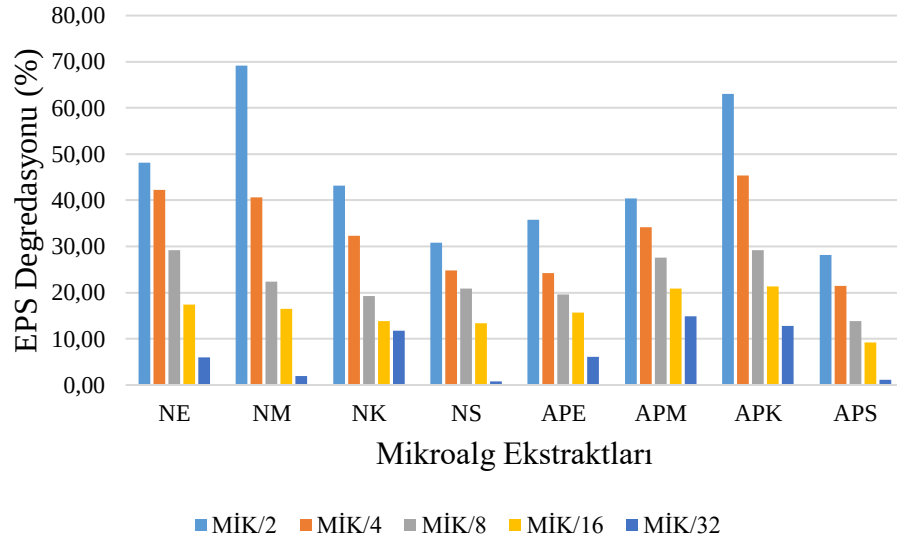
A. hydrophila için *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde pelet ağırlığının $0,017-0,023$ g, metanol ekstraktı eklenen örneklerde $0,017-0,022$ g, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde $0,013-0,020$ g ve su ekstraktı eklenen örneklerde $0,019-0,024$ g değerleri arasında değiştiği görülmüştür. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerde pelet ağırlığının $0,016-0,022$ g, metanol ekstraktı eklenen örneklerde $0,015-0,021$ g, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde $0,013-0,021$ g ve su ekstraktı eklenen örneklerde $0,018-0,024$ g değerleri arasında değiştiği görülmüştür.

L. garvieae için *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde pelet ağırlığının $0,017-0,025$ g, metanol ekstraktı eklenen örneklerde $0,022-0,030$ g, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde $0,020-0,029$ g ve su ekstraktı eklenen örneklerde $0,023-0,031$ g değerleri arasında değiştiği görülmüştür. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerde pelet ağırlığının $0,022-0,029$ g, metanol ekstraktı eklenen örneklerde $0,021-0,028$ g, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde $0,020-0,030$ g ve su ekstraktı eklenen örneklerde $0,021-0,031$ g değerleri arasında değiştiği görülmüştür.

Y. ruckeri için *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde pelet ağırlığının $0,009-0,012$ g, metanol ekstraktı eklenen örneklerde $0,012-0,016$ g, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde $0,014-0,018$ g ve su ekstraktı eklenen örneklerde $0,016-$

0,018 g değerleri arasında değiştiği görülmüştür. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerde pelet ağırlığının 0,011-0,016 g, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 0,013-0,017 g, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 0,011-0,017 g ve su ekstraktı eklenen örneklerde 0,015-0,018 g değerleri arasında değiştiği görülmüştür.

Yapılan kantitatif analizler sonucunda *A. hydrophila* üzerine mikroalg ekstraktlarının EPS degradasyonu oranının %0,75-69,11 arasında değiştiği hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %5,94-48,16, metanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %1,89-69,11, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %11,77-43,16 ve su ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %0,75-30,86 değerleri arasında değiştiği gözlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %6,07-35,73, metanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %14,87-40,41, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %12,79-63,04 ve su ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %1,16-28,16 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *A. hydrophila*'nın EPS degradasyon oranı üzerine en fazla etkili olan ekstrakt *A. platensis* metanol ekstraktı (%69,11), en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (%0,75) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.12).



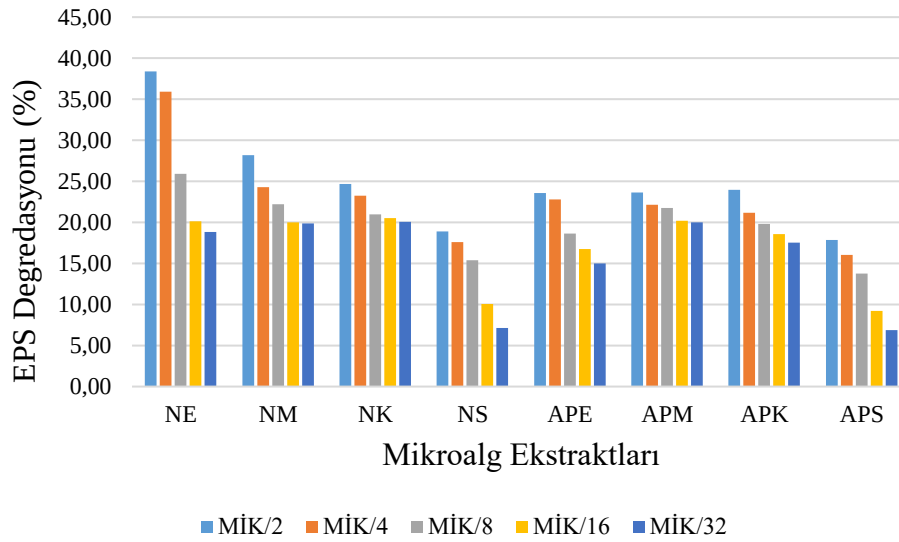
Şekil 4.12. Mikroalg ekstraktlarının *A. hydrophila* üzerine olan EPS degradasyon yüzdeleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerlerinin 128 µg/mL olduğu görülmektedir. 128 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.9. *A. hydrophila*'nın EPS degradasyon oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	EPS İnhibisyon Oranları (%)				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	48,16	42,28	29,19	17,36	5,94
NM	69,11	40,61	22,34	16,53	1,89
NK	43,16	32,31	19,23	13,83	11,77
NS	30,86	24,83	20,89	13,41	0,75
APE	35,73	24,21	19,64	15,70	6,07
APM	40,41	34,18	27,53	20,89	14,87
APK	63,04	45,39	29,19	21,30	12,79
APS	28,16	21,51	13,83	9,26	1,16

L. garvieae üzerine mikroalg ekstraktlarının EPS degradasyonu oranının %6,91-38,37 arasında değiştiği hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %18,82-38,37, metanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %19,85-28,18, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %20,06-24,66 ve su ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %7,19-18,93 değerleri arasında değiştiği gözlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %14,99-23,57, metanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %19,98-23,64, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %17,53-23,96 ve su ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %6,91-17,84 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *L. garvieae*'nin EPS degradasyon oranı üzerine en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı (%38,37), en az etkili olan ekstrakt ise *A. platensis* su ekstraktı (%6,91) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Mikroalg ekstraktlarının *L. garvieae* üzerine olan EPS degradasyon yüzdeleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

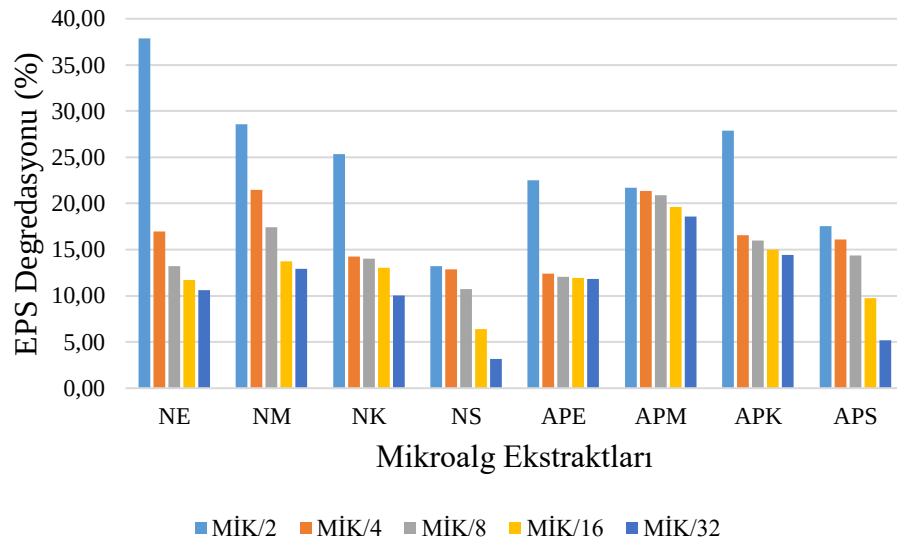
Ekstraktların konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerlerinin 256 µg/mL olduğu görülmektedir. 256 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%24,66) olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (%7,13) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.10. *L. garvieae*'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	EPS İnhibisyon Oranları (%)				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	38,37	35,89	25,92	20,16	18,82
NM	28,18	24,32	22,18	19,98	19,85
NK	24,66	23,23	20,95	20,51	20,06
NS	18,93	17,62	15,36	10,07	7,13
APE	23,57	22,82	18,65	16,75	14,99
APM	23,64	22,12	21,79	20,18	19,98
APK	23,96	21,15	19,83	18,57	17,53
APS	17,84	16,02	13,79	9,19	6,91

Y. ruckeri üzerine mikroalg ekstraktlarının EPS degradasyonu oranının %3,17-37,90 arasında değiştiği hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen

örneklerin EPS degradasyon oranının %10,64-37,90, metanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %12,94-28,56, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %10,05-25,35 ve su ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %3,17-13,21 değerleri arasında değiştiği gözlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %11,84-22,54, metanol ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %18,59-21,71, kloroform ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %14,41-27,88 ve su ekstraktı eklenen örneklerin EPS degradasyon oranının %5,21-17,52 değerleri arasında değiştiği hesaplanmıştır. Bu değerlere göre *Y. ruckeri*'nin EPS degradasyon oranı üzerine en fazla etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı (%38,37), en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (%3,17) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Mikroalg ekstraktlarının *Y. ruckeri* üzerine olan EPS degradasyon yüzdeleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktların konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında tüm ekstraktlarda ortak olan konsantrasyon değerlerinin 128 µg/mL olduğu görülmektedir. 128 µg/mL konsantrasyonundaki ekstraktlar arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (%25,35) olarak belirlenirken en az etkili ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (%3,17) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.11. *Y. ruckeri*'nin hidrofobiklik oranlarının mikroalg ekstraktlarına ve ekstrakt konsantrasyonlarına bağlı olarak değişimi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Ekstraktlar	EPS İnhibisyon Oranları (%)				
	MİK/2	MİK/4	MİK/8	MİK/16	MİK/32
NE	37,90	16,95	13,21	11,74	10,64
NM	28,56	21,45	17,42	13,74	12,94
NK	25,35	14,24	14,01	13,05	10,05
NS	13,21	12,86	10,74	6,39	3,17
APE	22,54	12,42	12,06	11,97	11,84
APM	21,71	21,36	20,89	19,65	18,59
APK	27,88	16,58	15,98	15,02	14,41
APS	17,52	16,08	14,36	9,74	5,21

4.5.4. Işık mikroskobu analizi

Tez çalışmasında kullanılan bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapılarının ışık mikroskobuyla görüntülenmesi için 1x1 cm ebatlarındaki cam parçaları üzerine biyofilm 28°C'de 48 saatte oluşturulmuştur (Santhakumari vd. 2016). Farklı konsantrasyonlardaki ekstraksiyonlar ortama eklenerek biyofilm yapılarındaki seyrelme ışık mikroskobu altında gözlenerek fotoğraflanmıştır.

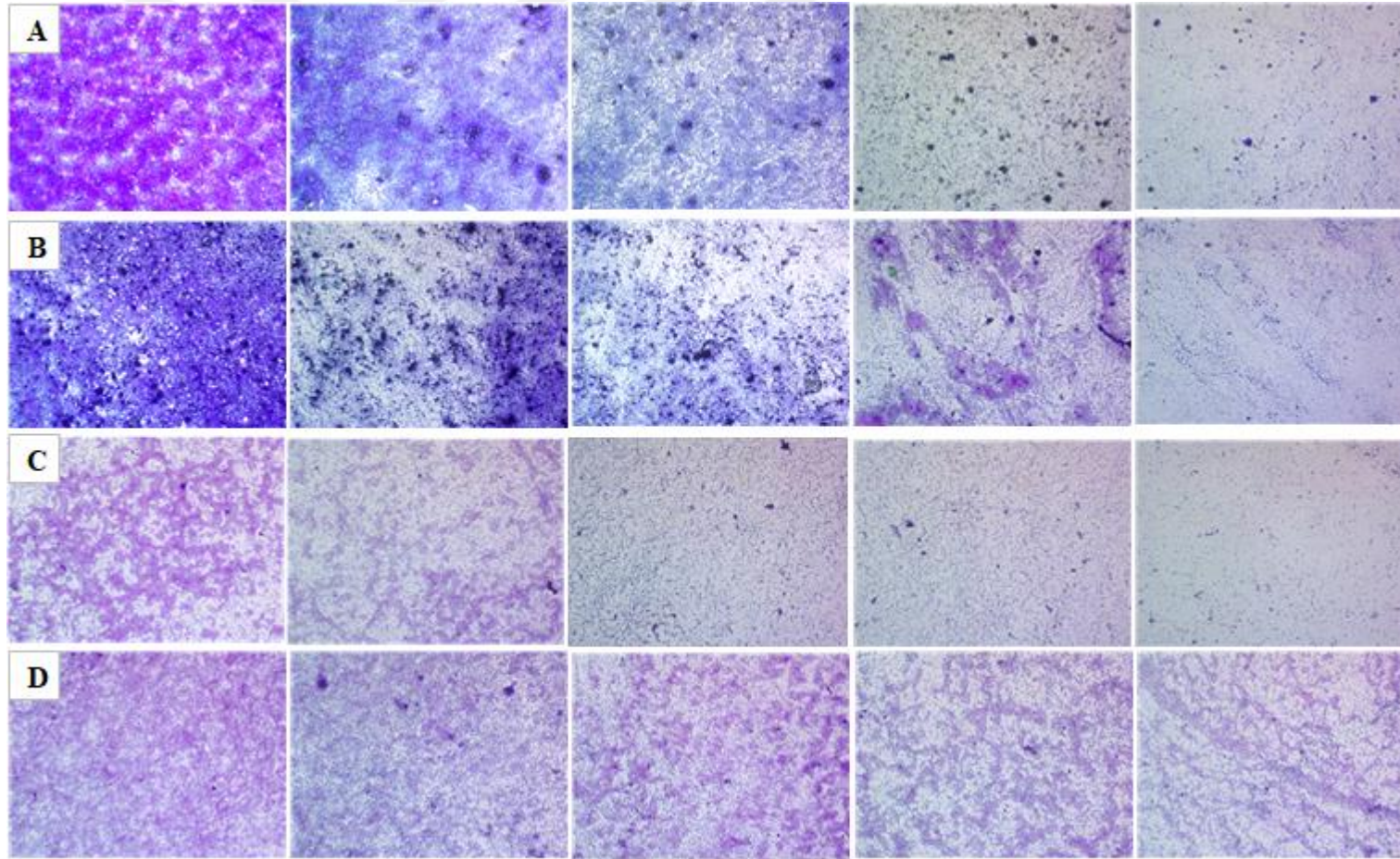
Yapılan analizler sonucunda cam parçaları üzerindeki en yoğun biyofilm yapısı *L. garvieae*'de gözlenirken en seyrek biyofilm yapısı ise *Y. ruckeri*'de gözlenmiştir. Tüm bakterilerde artan ekstrakt konsantrasyonlarına karşı biyofilm yapılarında seyremler gözlenmiştir. Görsellere bakıldığında tüm bakteriler üzerinde kloroform ekstraktlarının daha etkili olduğu görülmektedir.

A. hydrophila üzerine her iki mikroalg için de en etkili ekstraktların kloroform ekstraktları olduğu gözlenirken; en az etkiye sahip ekstraktların ise su ekstraktları olduğu gözlenmiştir. Ekstraktların konsantrasyonları azaldıkça biyofilm yapılarındaki artış dikkat çekmektedir. En düşük dozdaki ekstraktların, pozitif kontrol olarak kullanılan ekstrakt eklenmemiş örnekle genel olarak benzer yoğunlukta biyofilm yapısı oluşturduğu görülmüştür.

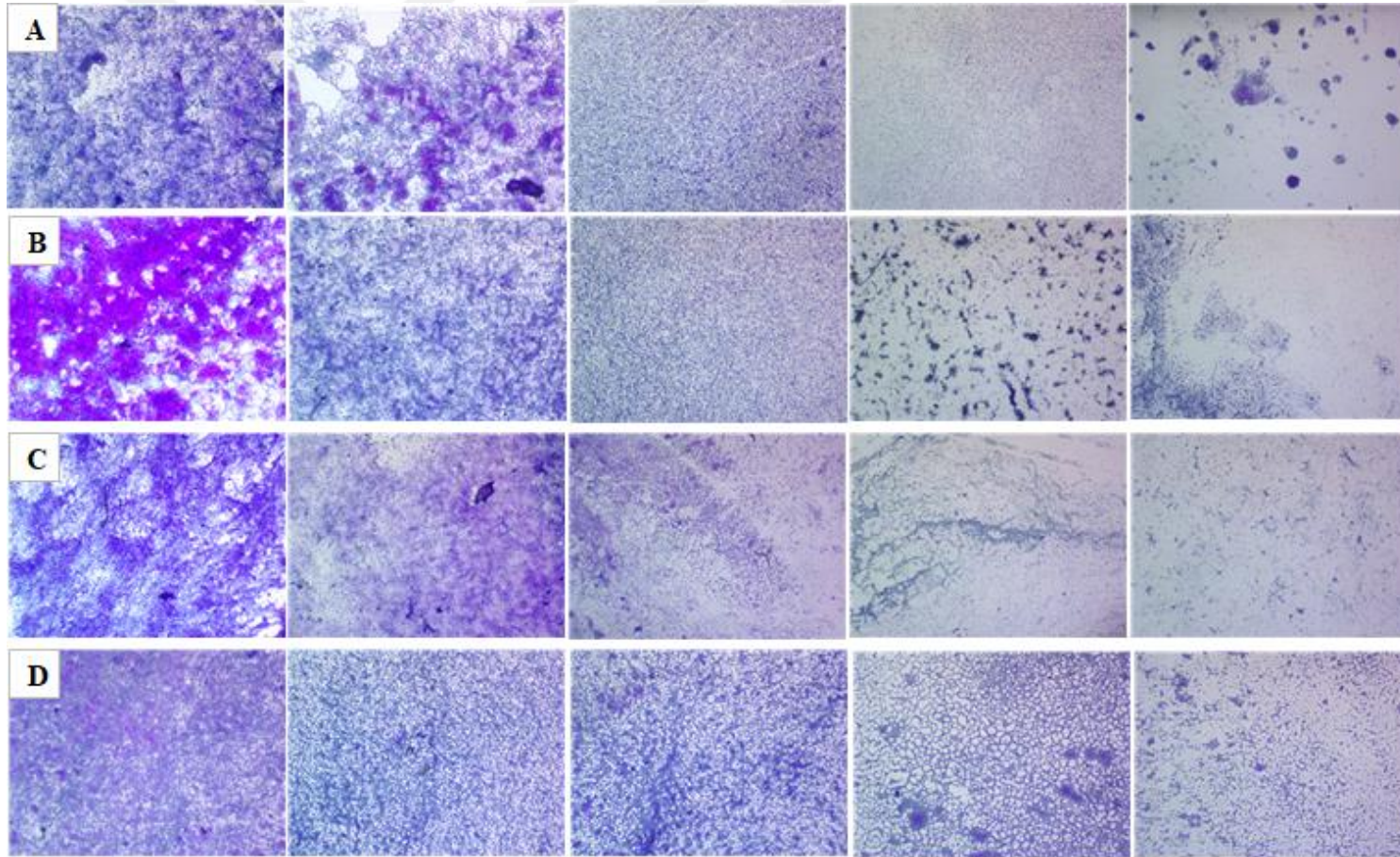
Nannochloropsis sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL ve 128 µg/mL, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL ve 128 µg/mL, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 16 µg/mL ve 8 µg/mL ve su ekstraktı eklenen örneklerde 1204 µg/mL, 512 µg/mL ve 256 µg/mL konsantrasyonları arasında biyofilm yapısında belirgin bir azalma görülmemektedir. Bununla birlikte en yüksek konsantrasyonlar olan etanol ekstraktı için 2048 µg/mL metanol ekstraktı için 2048 µg/mL ve kloroform ekstraktı için 128 µg/mL konsantrasyonları için biyofilm yapısında oldukça belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.15).

A. platensis etanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL ve 128 µg/mL, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 64 µg/mL ve 32 µg/mL µg/mL, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 64 µg/mL ve 32 µg/mL ve su ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL, 128 µg/mL ve 64 µg/mL konsantrasyonları arasında biyofilm yapısında belirgin bir azalma görülmemektedir. Bununla birlikte en yüksek konsantrasyonlar olan etanol ekstraktı için 2048 µg/mL, metanol ekstraktı için 512 µg/mL ve kloroform ekstraktı için 512 µg/mL biyofilm yapısında oldukça belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.16).





Şekil 4.15. *A. hydropila*'nın cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır)

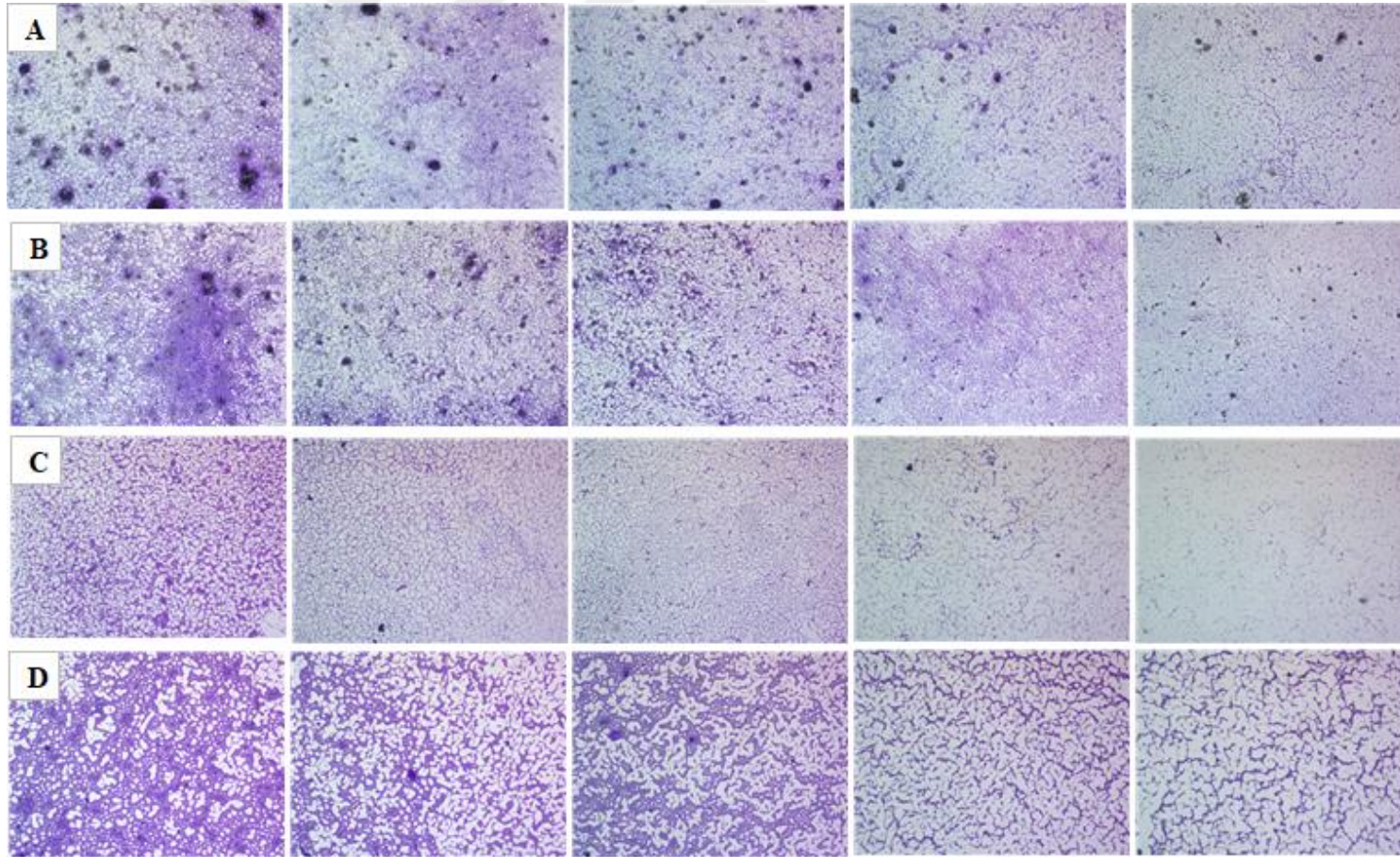


Şekil 4.16. *A. hydrophila*'nın cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve *A. platensis* ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsntrasyon artmaktadır)

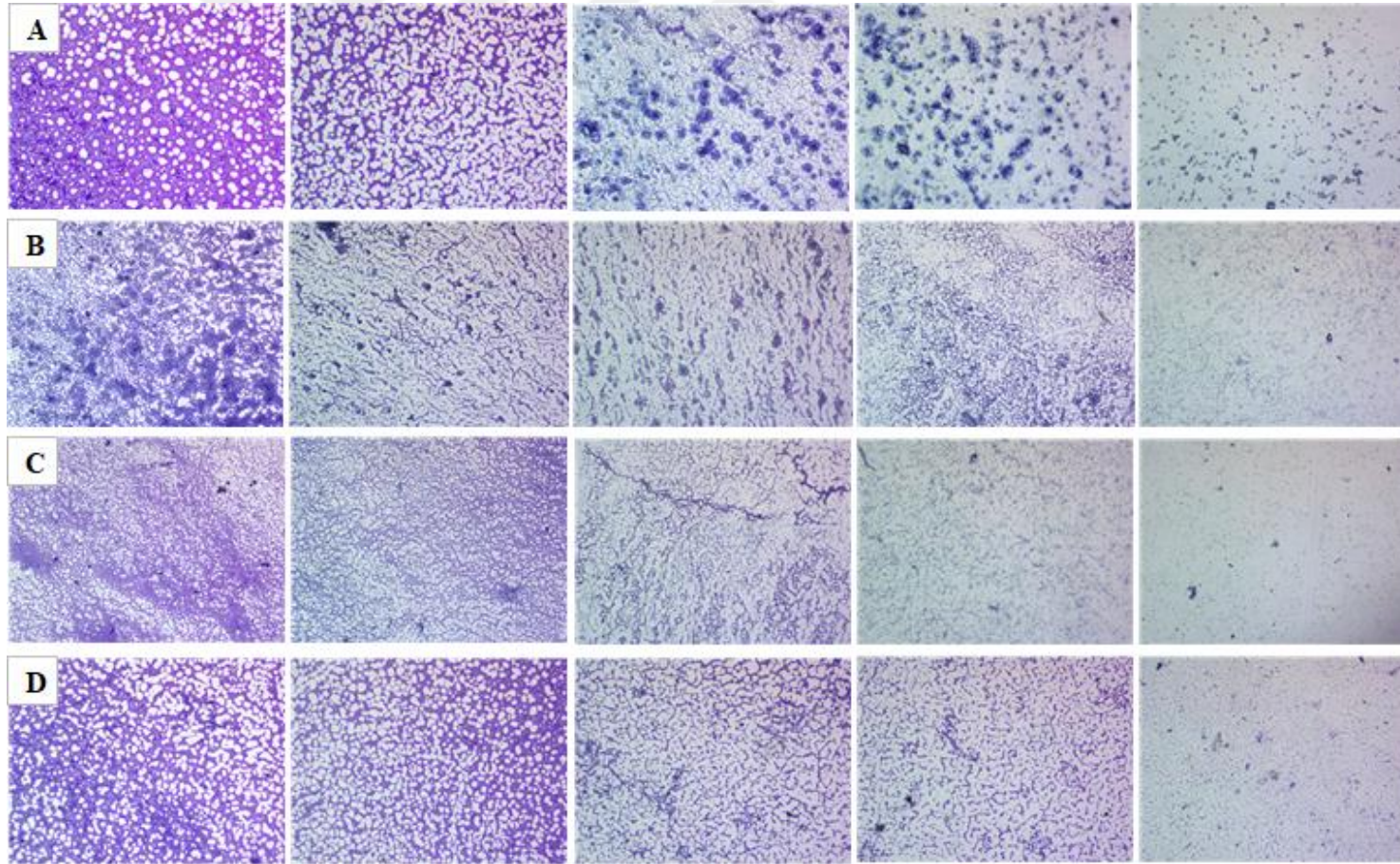
L. garvieae üzerine her iki mikroalg için de en etkili ekstraktların kloroform ekstraktları olduğu gözlenirken; en az etkiye sahip ekstraktların ise su ekstraktları olduğu gözlenmiştir. *A. hydrophila*:’ya benzer olarak ekstraktların konsantrasyonları azaldıkça biyofilm yapılarındaki artış dikkat çekmektedir. En düşük dozdaki ekstraktların, pozitif kontrol olarak kullanılan ekstrakt eklenmemiş örnekle genel olarak benzer yoğunlukta biyofilm yapısı oluşturduğu görülmüştür.

Nannochloropsis sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL ve 128 µg/mL, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 128 µg/mL ve 64 µg/mL, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 32 µg/mL ve 16 µg/mL ve su ekstraktı eklenen örneklerde 1024 µg/mL, 512 µg/mL ve 256 µg/mL konsantrasyonları arasında biyofilm yapısında belirgin bir azalma görülmemektedir. Bununla birlikte en yüksek konsantrasyonlar olan etanol ekstraktı için 2048 µg/mL, metanol ekstraktı için 1024 µg/mL ve kloroform ekstraktı için 256 µg/mL biyofilm yapısında oldukça belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.17).

A. platensis etanol ekstraktı eklenen örneklerde 512 µg/mL ve 256 µg/mL, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 32 µg/mL ve 16 µg/mL, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 32 µg/mL ve 16 µg/mL ve su ekstraktı eklenen örneklerde 128 µg/mL ve 64 µg/mL konsantrasyonları arasında biyofilm yapısında belirgin bir azalma görülmemektedir. Bununla birlikte en yüksek konsantrasyonlar olan etanol ekstraktı için 2048 µg/mL, metanol ekstraktı için 256 µg/mL ve kloroform ekstraktı için 256 µg/mL biyofilm yapısında oldukça belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.17. *L. garvieae* 'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır)

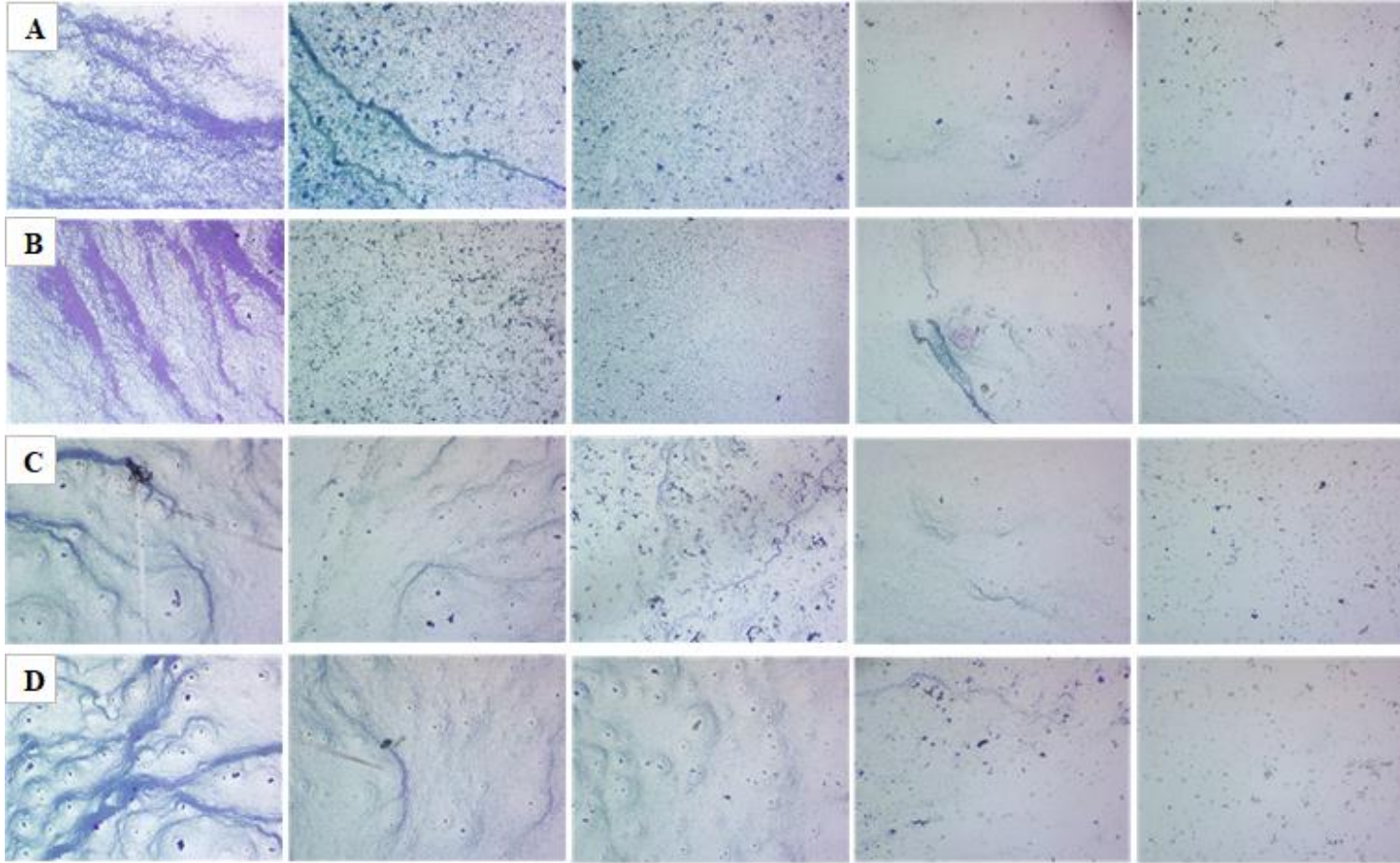


Şekil 4.18. *L. garvieae* 'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve *A. platensis* ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır)

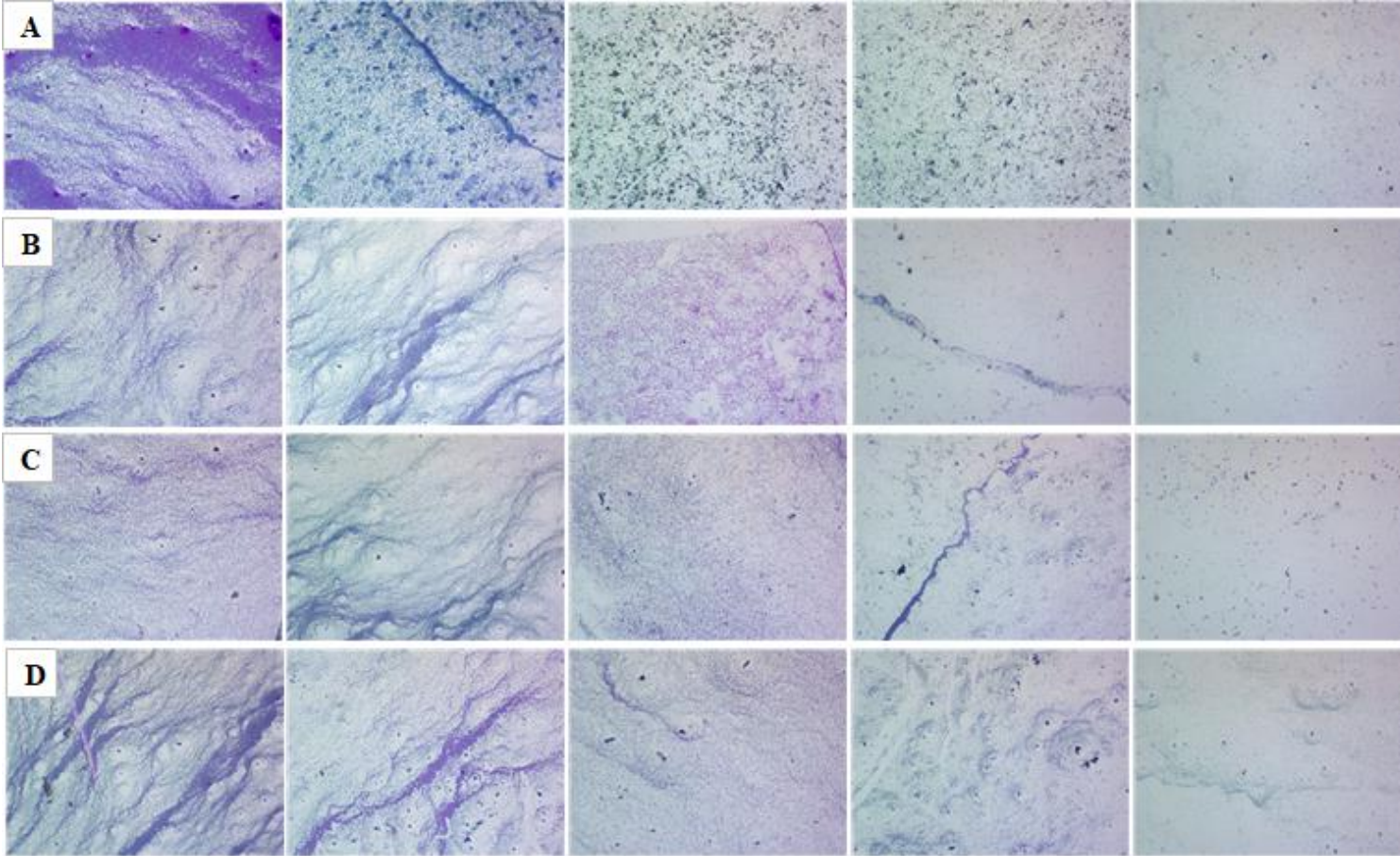
Y. ruckeri üzerine her iki mikroalg için de tüm ekstraktların etkili olduğu gözlenmiştir. *A. hydrophila* ve *L. garvieae*'ye benzer olarak ekstraktların konsantrasyonları azaldıkça biyofilm yapılarındaki artış dikkat çekmektedir. Bununla birlikte diğer iki bakteriye kıyasla cam üzerinde en zayıf biyofilm yapısını *Y. ruckeri*'nin oluşturduğu görülmüştür. En düşük dozdaki ekstraktların, pozitif kontrol olarak kullanılan ekstrakt eklenmemiş örnekle genel olarak benzer yoğunlukta biyofilm yapısı oluşturduğu gözlenmiştir.

Nannochloropsis sp. etanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL ve 128 µg/mL, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL ve 128 µg/mL, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 16 µg/mL ve 48 µg/mL ve su ekstraktı eklenen örneklerde 512 µg/mL, 256 µg/mL ve 128 µg/mL konsantrasyonları arasında biyofilm yapısında belirgin bir azalma görülmemektedir. Bununla birlikte en yüksek konsantrasyonlar olan etanol ekstraktı için 2048 µg/mL, metanol ekstraktı için 2048 µg/mL, kloroform ekstraktı için 128 µg/mL ve su ekstraktı için 2048 µg/mL biyofilm yapısında oldukça belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.19).

A. platensis etanol ekstraktı eklenen örneklerde 256 µg/mL, metanol ekstraktı eklenen örneklerde 128 µg/mL ve 64 µg/mL, kloroform ekstraktı eklenen örneklerde 32 µg/mL ve 16 µg/mL ve su ekstraktı eklenen örneklerde 64 µg/mL ve 32 µg/mL konsantrasyonları arasında biyofilm yapısında belirgin bir azalma görülmemektedir. Bununla birlikte en yüksek konsantrasyonlar olan etanol ekstraktı için 4096 µg/mL, metanol ekstraktı için 1024 µg/mL, kloroform ekstraktı için 256 µg/mL ve su ekstraktı için 512 µg/mL biyofilm yapısında oldukça belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.20).

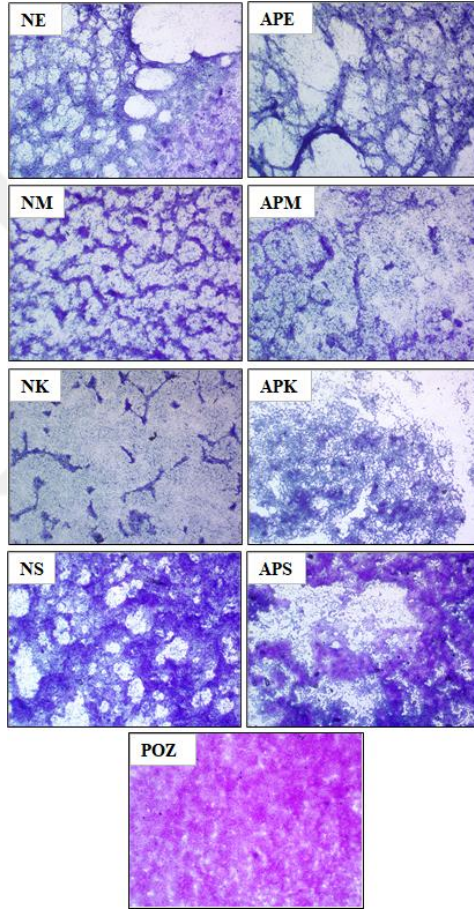


Şekil 4.19. *Y.ruckeri*'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır)



Şekil 4.20. *Y.ruckeri*'nin cam yüzeyde oluşturduğu biyofilm yapısı ve *A. platensis* sp. ekstraktlarının biyofilm inhibisyonu (A, etanol ekstraktı; B, metanol ekstraktı; C, kloroform ekstraktı; D, su ekstraktı; soldan sağa doğru konsantrasyon artmaktadır)

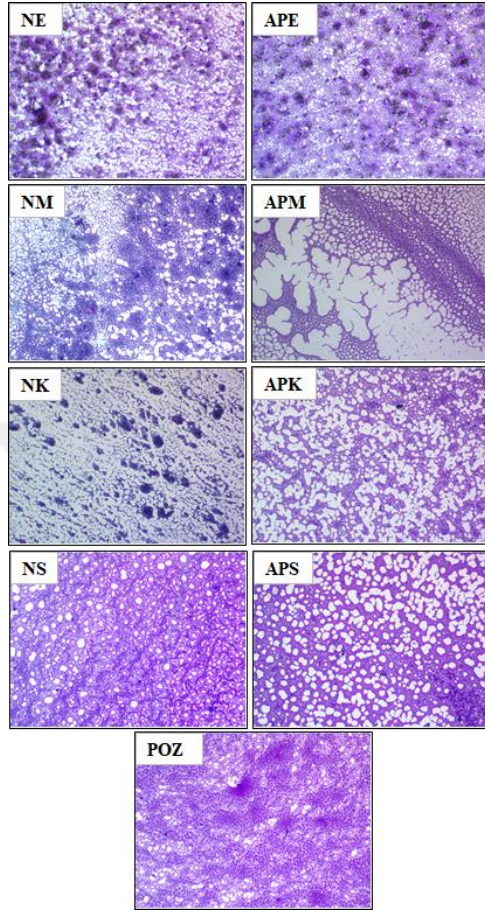
Olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkilerinin belirlenmesi için biyofilm yapıları oluşturulmuştur. Her bir ekstrakt için biyofilm yapısı üzerine en etkili olan konsantrasyon belirlenmiş ve olgun biyofilmler bu konsantrasyondaki ekstratlara maruz bırakılmıştır. *A. hydrophila*'nın oluşturduğu olgun biyofilm yapısı üzerine *Nannochloropsis* sp. etanol (2048 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. metanol (2048 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. kloroform (128 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp. su (4096 µg/mL) ekstraktları arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı olarak belirlenmiştir. *A. platensis* etanol (2048 µg/mL), *A. platensis* metanol (512 µg/mL), *A. platensis* kloroform (512 µg/mL) ve *A. platensis* su (1024 µg/mL) ekstraktları arasında en etkili ekstrakt *A. platensis* kloroform olarak belirlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. *A. hydrophila*'nın oluşturduğu olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkisi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)

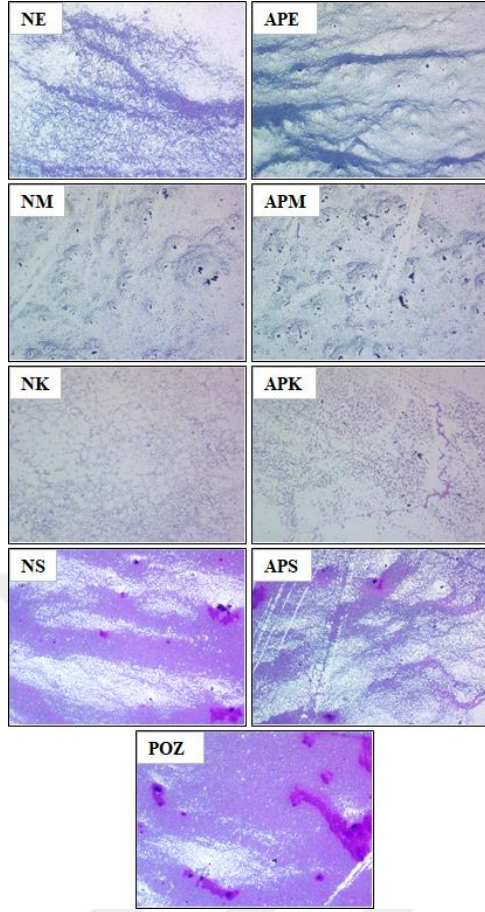
L. garvieae'nin oluşturduğu olgun biyofilm yapısı üzerine *Nannochloropsis* sp. etanol (2048 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. metanol (1024 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. kloroform (256 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp. su (4096 µg/mL) ekstraktları arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı olarak belirlenmiştir. *A. platensis*

etanol (2048 $\mu\text{g/mL}$), *A. platensis* metanol (256 $\mu\text{g/mL}$), *A. platensis* kloroform (256 $\mu\text{g/mL}$) ve *A. platensis* su (1024 $\mu\text{g/mL}$) ekstraktları arasında en etkili ekstrakt *A. platensis* metanol olarak belirlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. *L. garvieae*'nin oluşturduğu olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkisi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)

Y. ruckeri'nin oluşturduğu olgun biyofilm yapısı üzerine *Nannochloropsis* sp. etanol (2048 $\mu\text{g/mL}$), *Nannochloropsis* sp. metanol (2048 $\mu\text{g/mL}$), *Nannochloropsis* sp. kloroform (128 $\mu\text{g/mL}$) ve *Nannochloropsis* sp. su (2048 $\mu\text{g/mL}$) ekstraktları arasında en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. metanol ve kloroform ekstraktları olarak belirlenmiştir. *A. platensis* etanol (4096 $\mu\text{g/mL}$), *A. platensis* metanol (1024 $\mu\text{g/mL}$), *A. platensis* kloroform (256 $\mu\text{g/mL}$) ve *A. platensis* su (512 $\mu\text{g/mL}$) ekstraktları arasında en etkili ekstrakt *A. platensis* metanol ve kloroform olarak belirlenmiştir (Şekil 4.23).

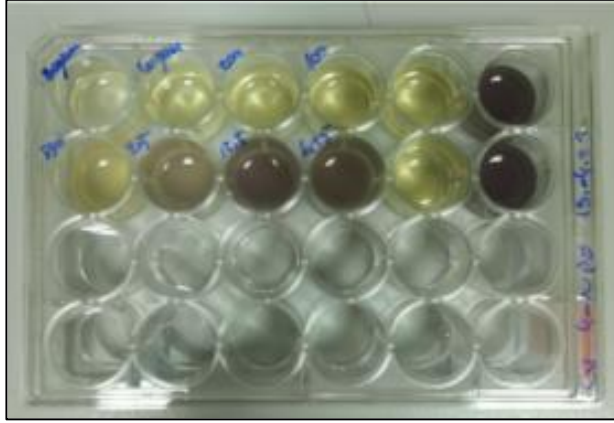


Şekil 4.23. *Y. ruckeri*'nin oluşturduğu olgun biyofilm yapıları üzerine ekstraktların etkisi (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)

4.6. Çevreyi Algılama Sistemi İnhibisyonu (AntiQS) Analizleri

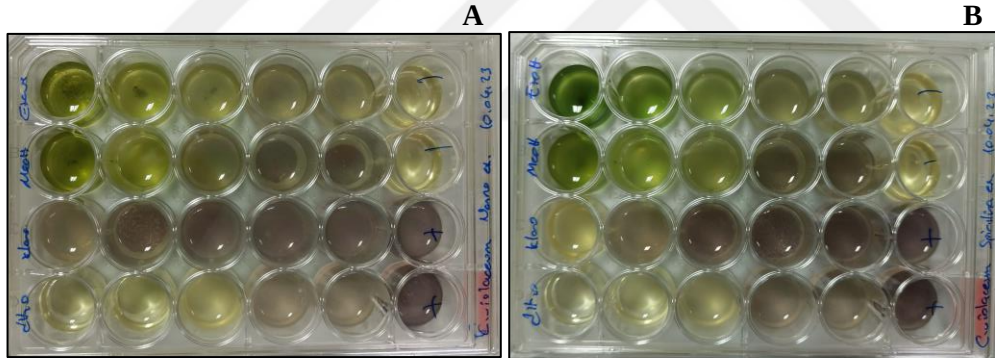
4.6.1. Violacein inhibisyonunun kalitatif analizi

Violacein inhibisyonunun kalitatif analizi için öncelikle pozitif kontrol olarak kullanılacak 4-NPO'nun minimum inhibisyon konsantrasyonu belirlenmiştir. Bunun için 24 kuyucuklu plakal içerisinde 6,25-800 μ M konsantrasyonlarında değişen 4-NPO ile birlikte *C. violaceum* (ATCC 12472) bakterisi 28°C'de 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. Üreme gözlenmeyen ilk kuyucuk olan 200 μ M konsantrasyonu MİK değeri olarak kaydedilmiştir. Aynı zamanda artan 4-NPO konsantrasyonunun a karşı üretilen violacein pigmentinin azalışı Şekil 4.24'te görülmektedir.



Şekil 4.24. 4-NPO pozitif kontrolünün violacein pigmenti inhibisyonu kalitatif analizi

Ekstraktların violacein pigment üretimini inhibe etme kapasiteleri aynı yöntemle belirlenmiştir. Her bir ekstrakt için 5 farklı doz denenmiş ve violacein pigmenti üretiminin kademeli olarak inhibisyonu gözlenmiştir. Yapılan kalitatif analiz sonucunda *Nannochloropsis* sp. ekstraktları arasında en etkili olanı su ekstraktı olarak belirlenirken en az etkili olan ise kloroform ekstraktı olarak belirlenmiştir. *A. platensis* ekstraktları arasında ise en etkili ekstrakt su ekstraktı olurken en az etkili olan ekstrakt kloroform ekstraktı olmuştur (Şekil 4.25).

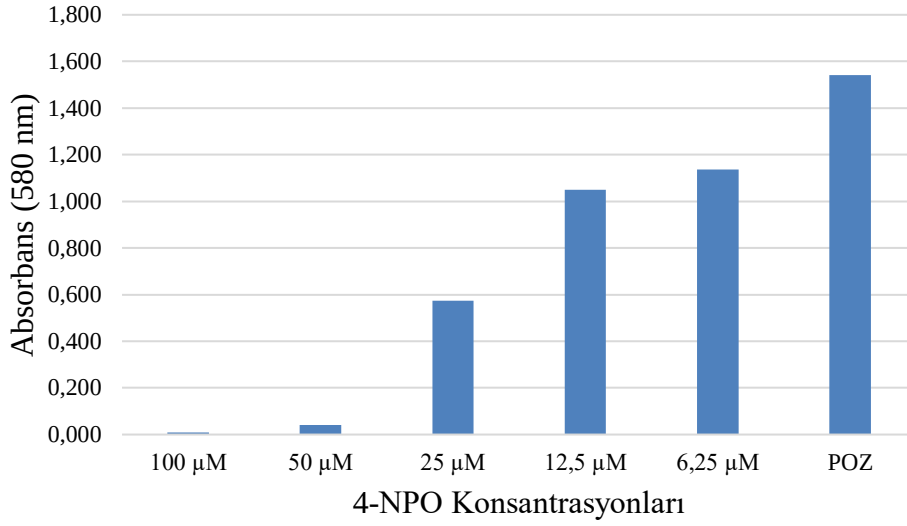


Şekil 4.25. Mikroalg ekstraktlarının violacein pigmenti inhibisyonu kalitatif analizi (A, *Nannochloropsis* sp. ekstraktları soldan sağa doğru azalan konsantrasyonlarla; B, *A. platensis* ekstraktları soldan sağa doğru azalan konsantrasyonlarla)

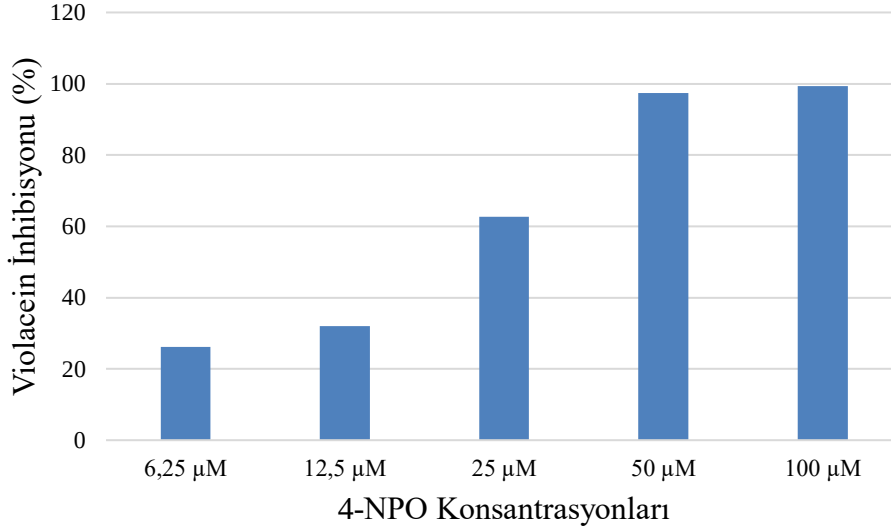
4.6.2. Violacein inhibisyonunun kantitatif analizi

Violacein inhibisyonunun kantitatif analizi için *C. violaceum* (ATCC 12472) suşu kullanılmıştır. Literatürden referans alınarak 6,25-800 μ M konsantrasyonları arasında değişen 4-NPO pozitif kontrolünün *C. violaceum* (ATCC 12472) suşu üzerine olan antibakteriyel ve violacein inhibisyonu konsantrasyonları belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda *C. violaceum* (ATCC 12472) suşu üzerine 4-NPO'nun MİK değeri 200 μ M olarak belirlenmiştir. 100 μ M üzerindeki konsantrasyonlarda violacein üretiminin %100 oranında inhibe edildiği görülürken. 100 μ M konsantrasyonu için bu değer %99,40 olarak

hesaplanmıştır. En düşük inhibisyon değeri ise 6,25 μM konsantrasyonu için %26,24 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.26-4.27).



Şekil 4.26. Pozitif kontrol olan 4-NPO eklenmiş örneklerde üretilen violacein pigmentinin 580 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri (PK, pozitif kontrol).

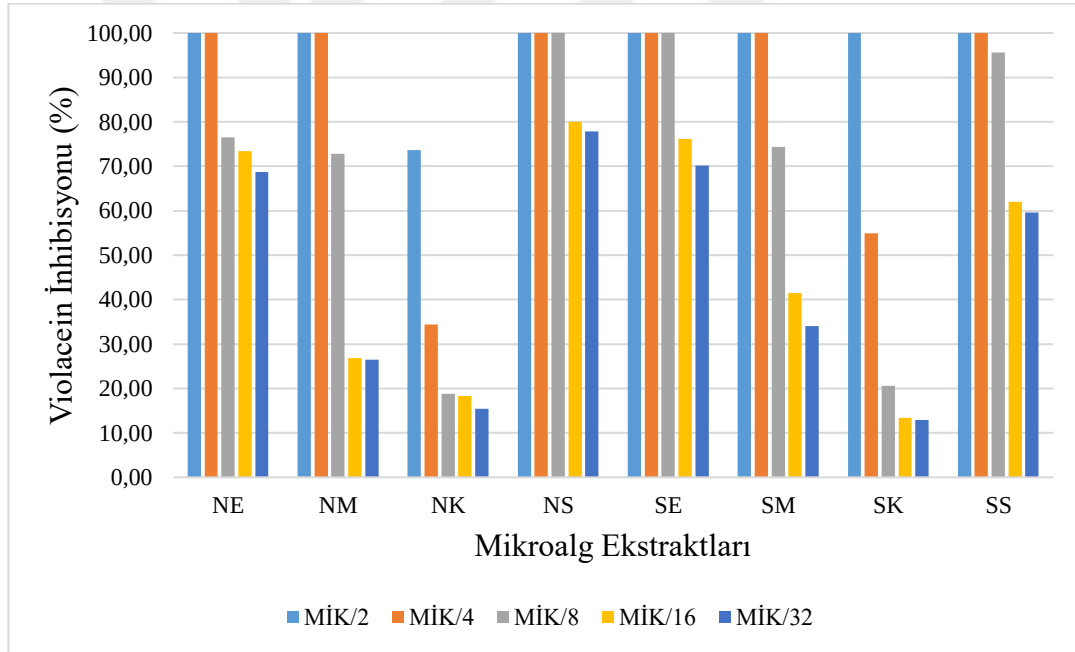


Şekil 4.27. Pozitif kontrol olan 4-NPO eklenmiş örneklerde üretilen violacein pigmentinin 580 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri

Tez çalışmasında hazırlana ekstraktların violacein pigmenti üretimini inhibe eden değerleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda violacein inhibisyonun %12,94-100,00 arasında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 4.28). *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı için 2048 $\mu\text{g/mL}$ ve 1024 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında %100 oranında violacein inhibisyonu gözlenirken 128 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %68,75 oranında inhibisyon gözlenmiştir. Bu oranlar metanol ekstraktının 2048 $\mu\text{g/mL}$ ve 1024 $\mu\text{g/mL}$

konsantrasyonları için %100 ve 128 µg/mL konsantrasyonu için %26,44 olarak değişmektedir. Kloroform ekstraktı için 128 µg/mL konsantrasyonunda %73,65 ve 8 µg/mL konsantrasyonunda %15,44 oranlarında inhibisyon gözlenmiştir. Su ekstraktında ise 4098 µg/mL, 2048 µg/mL ve 1024 µg/mL konsantrasyonlarında %100 oranında violacein inhibisyonu gözlenirken 64 µg/mL konsantrasyonunda %77,87 oranında inhibisyon gözlenmiştir.

A. platensis etanol ekstraktı için 2048 µg/mL, 1024 µg/mL ve 512 µg/mL konsantrasyonlarında %100 oranında violacein inhibisyonu gözlenirken 5 konsantrasyonunda %70,21 oranında inhibisyon gözlenmiştir. Bu oranlar metanol ekstraktının 512 µg/mL ve 256 µg/mL konsantrasyonları için %100 ve 32 µg/mL konsantrasyonu için %34,07 olarak değişmektedir. Kloroform ekstraktı için 512 µg/mL konsantrasyonunda %100 ve 32 µg/mL konsantrasyonunda %12,94 oranlarında inhibisyonu gözlenmiştir. Su ekstraktında ise 1024 µg/mL ve 512 µg/mL konsantrasyonlarında %100 oranında violacein inhibisyonu gözlenirken 64 µg/mL konsantrasyonunda %59,58 oranında inhibisyon gözlenmiştir.



Şekil 4.28. Mikroalg ekstraktlarının violacein pigment üretimini inhibe etme oranları

4.6.3. Açıl homoserin lakton (AHL) moleküllerinin inhibisyonu

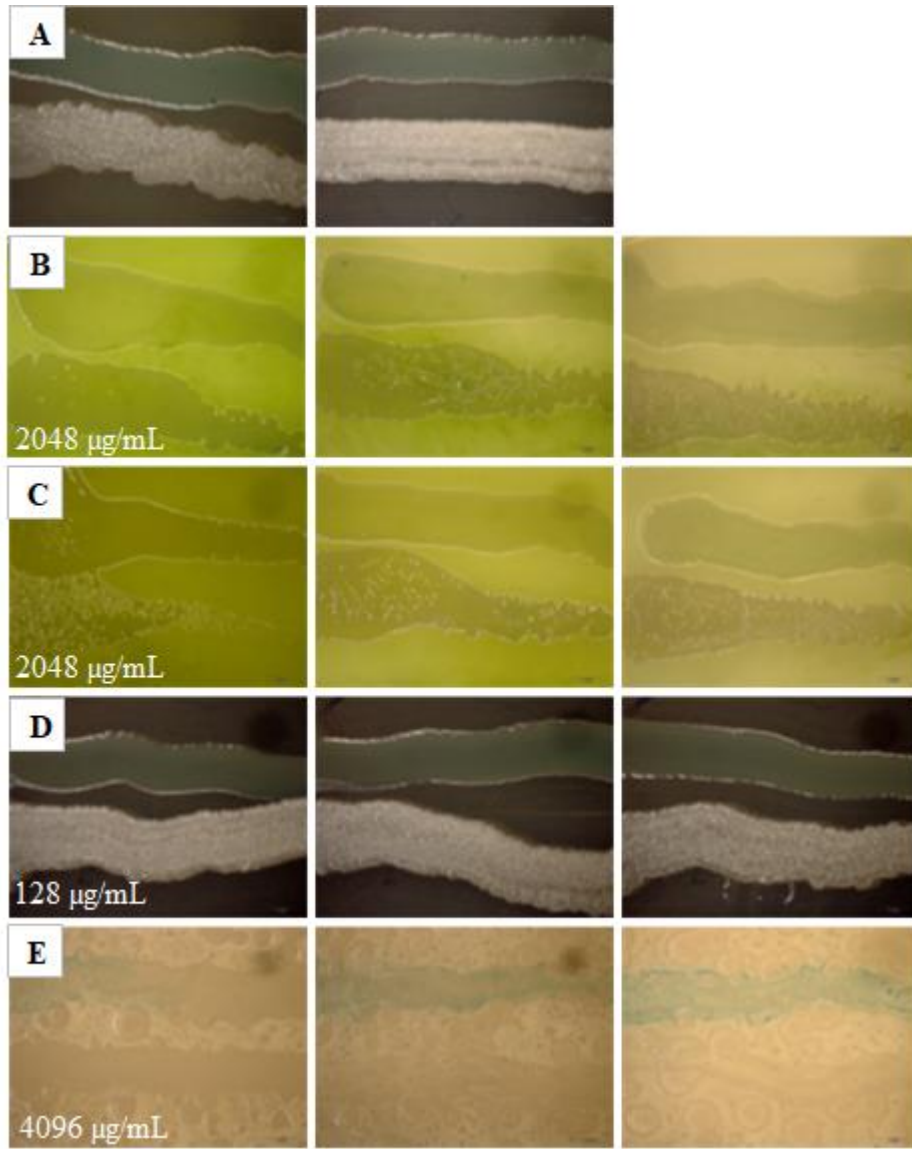
Tez çalışmasında kullanılan *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* bakterilerin ürettiği sinyal molekülleri üzerine, elde edilen mikroalg ekstraktlarının inhibisyon etkisi *A. tumefaciens* (NT1) suşu kullanılarak incelenmiştir. *A. tumefaciens* (NT1), ürettiği ortamda sinyal moleküllerinin varlığında β-galaktosidaz aktivitesi göstermektedir. Bu nedenle sinyal moleküllerinin miktarıyla orantılı olacak şekilde besiyerinde bulunan X-

Gal'i parçalayarak mavi renk açığa çıkmasını sağlamaktadır. Tez çalışmamızda Üretilen bu mavi rengin miktarı kalitatif ve kantitatif olarak gözlemlenmiştir.

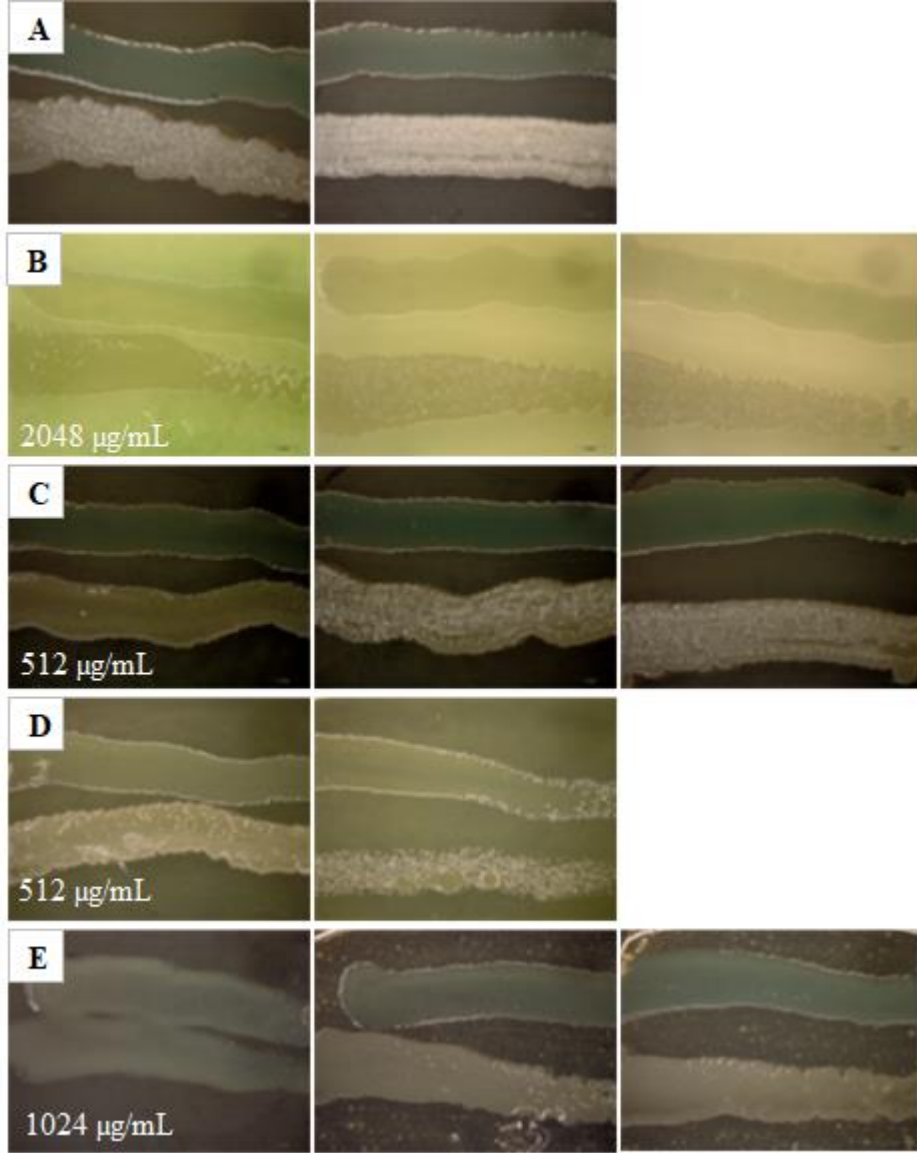
Yapılan kalitatif analiz sonucunda elde edilen mikroskop görüntüleri yan yana getirilmiş ve mikroalg ekstraktlarının konsantrasyonu göz önünde bulundurularak mavi rengin azalışı izlenmiştir.

A. hydrophila için yapılan kalitatif analiz sonucunda herhangi bir mikroalg ekstraktı içermeyen pozitif kontrolde mavi rengin oluşumu belirgin bir şekilde gözlenmektedir. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örnekte, ekstrakt konsantrasyonuna artarken mavi rengin azaldığı ve neredeyse kaybolduğu görülmektedir. *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı için de aynı durum söz konusuyken *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı eklenen örnekte etanol ve metanol ekstraktlarına göre daha koyu mavi renk gözlenmiştir. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı eklenen örneklerde yüksek konsantrasyonda mavi renkte bir azalma gözlenirken düşük konsantrasyonda ise neredeyse pozitif kontrole yakın bir renk görülmüştür (Şekil 4.29).

A. platensis etanol ekstraktı eklenen örnekte, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı ile benzer olarak ekstrakt konsantrasyonuna artarken mavi rengin azaldığı ve neredeyse kaybolduğu görülmektedir. *A. platensis* metanol ekstraktı eklenen örnekte de benzer durum söz konusuyken *A. platensis* kloroform ekstraktı eklenen örneklerde etanol ve metanol ekstraktlarına göre daha koyu mavi renk gözlenmiştir. *A. platensis* su ekstraktı eklenen örneklerde yüksek konsantrasyonda mavi renkte bir azalma gözlenirken düşük konsantrasyonda ise neredeyse pozitif kontrole yakın bir renk görülmüştür (Şekil 4.30).



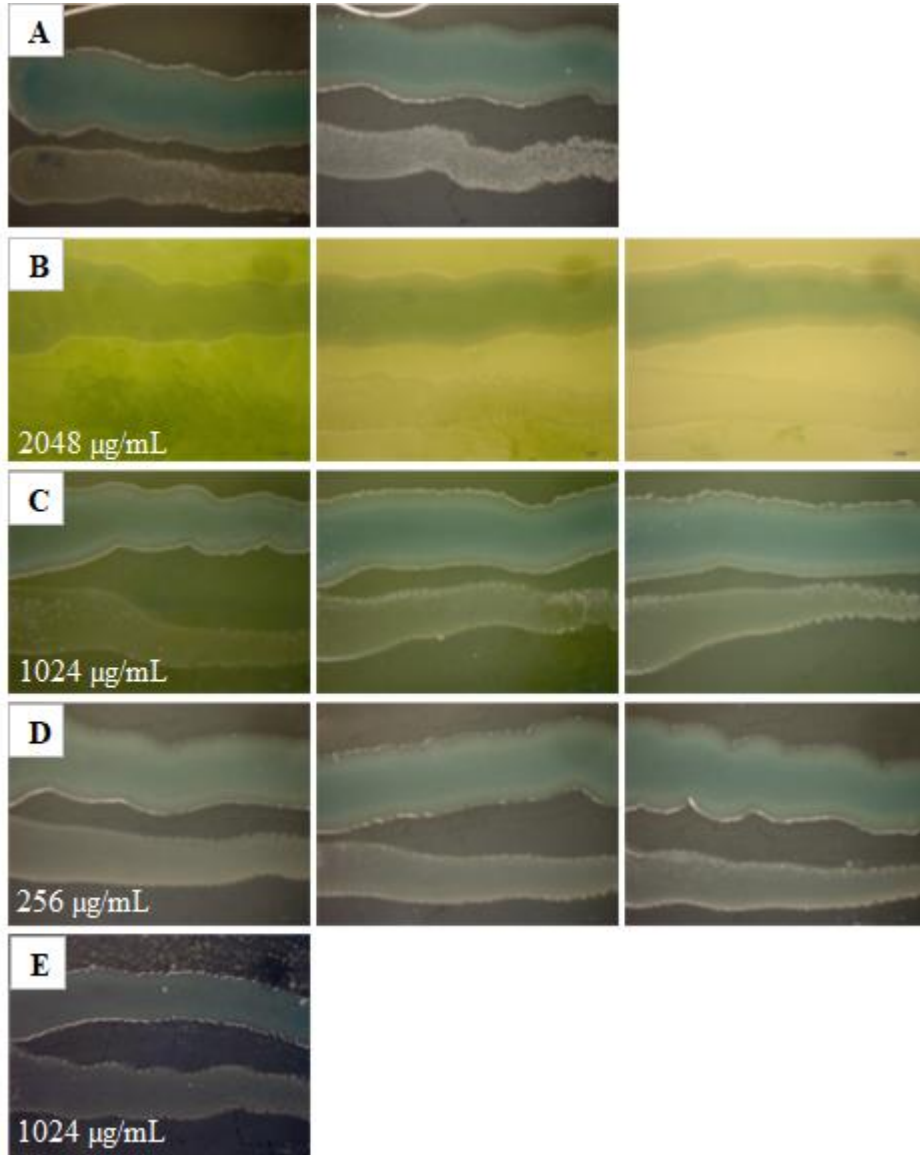
Şekil 4.29. *A. hydrophila* için AHL moleküllerinin *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu yarı yarıya azalmaktadır)



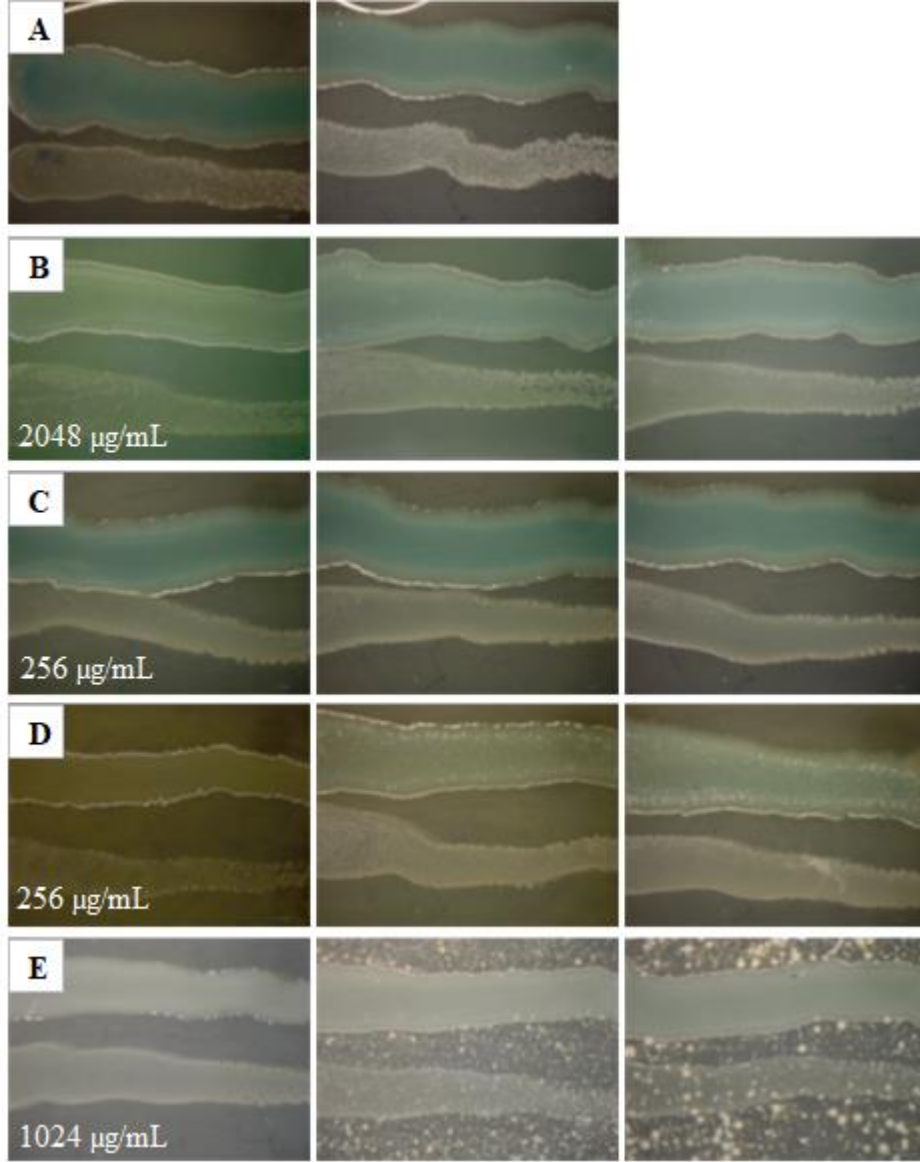
Şekil 4.30. *A. hydrophila* için AHL moleküllerinin *A. platensis* sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonunu yarı yarıya azalmaktadır)

L. garvieae için yapılan kalitatif analiz sonucunda herhangi bir mikroalg ekstraktı içermeyen pozitif kontrolde mavi rengin oluşumu belirgin bir şekilde gözlenmektedir. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örnekte, ekstrakt konsantrasyonuna artarken mavi rengin azaldığı ve neredeyse kaybolduğu görülmektedir. *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı eklenen örnekte renkler ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak azalırken rengin tamamen kaybolması söz konusu değildir. *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı eklenen örnekte pozitif kontrole göre renkte bir azalma gözlenirken dozlar arasında herhangi bir renk farkı gözlenmemiştir. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı eklenen örneklerde yüksek konsantrasyonda mavi renkte azalma gözlenirken düşük konsantrasyonda ise neredeyse pozitif kontrole yakın bir renk görülmüştür (Şekil 4.31).

A. platensis etanol ekstraktı eklenen örnekte, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı ile benzer olarak ekstrakt konsantrasyonuna artarken mavi rengin azaldığı ve neredeyse kaybolduğu görülmektedir. *A. platensis* metanol ekstraktı eklenen örnekte renkler ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak azalırken en yüksek konsantrasyon hariç diğer iki konsantrasyon arasında belirgin bir renk farkı görülmemiştir. *A. platensis* kloroform ekstraktı eklenen örneklerde artan konsantrasyona bağlı olarak rengin azaldığı ve hatta en yüksek konsantrasyonda rengin neredeyse tamamen kaybolduğu görülmektedir. *A. platensis* su ekstraktı eklenen örneklerde tüm konsantrasyonlarda oldukça belirgin bir renk azalması görülürken en yüksek konsantrasyonda renk oluşumu görülmemektedir (Şekil 4.32).



Şekil 4.31. *L. garvieae* için AHL moleküllerinin *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu yarı yarıya azalmaktadır)

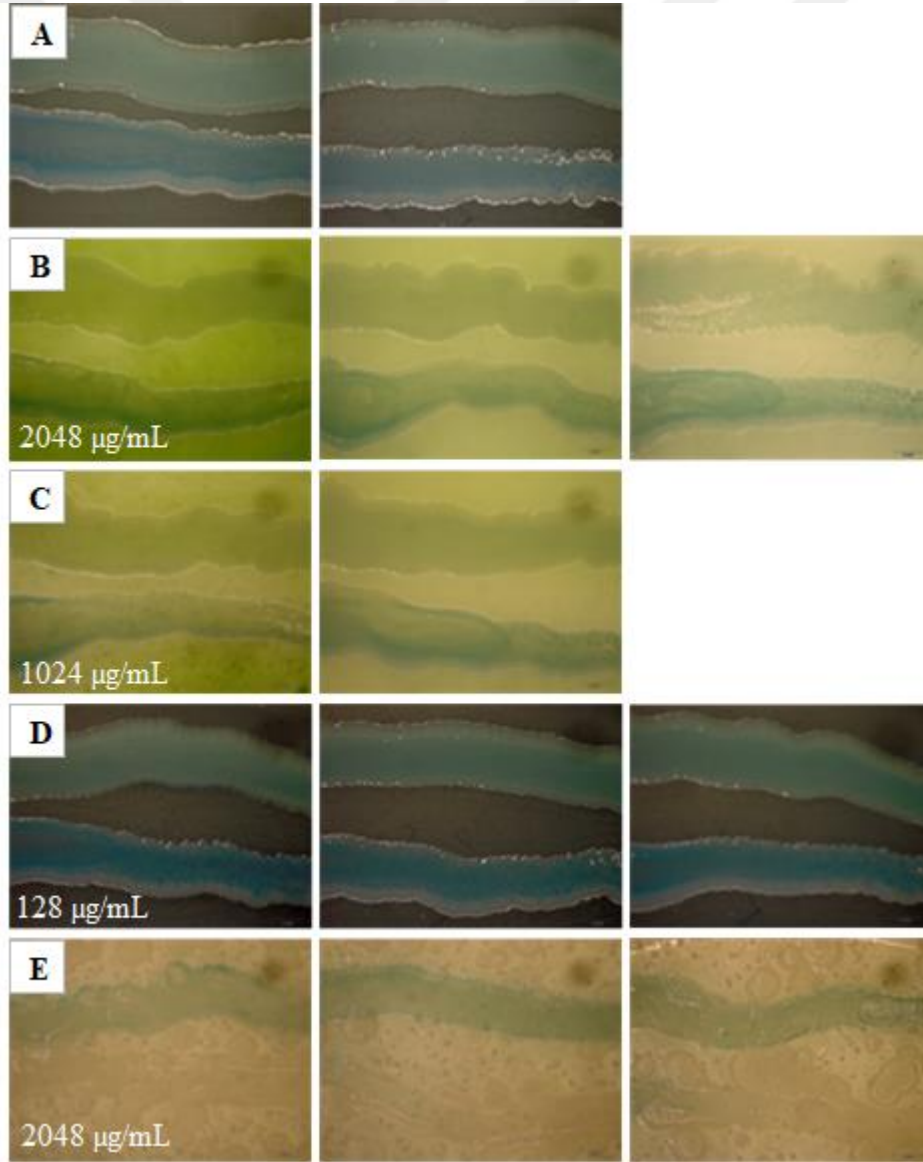


Şekil 4.32. *L. garvieae* için AHL moleküllerinin *A. platensis* ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu azalmaktadır)

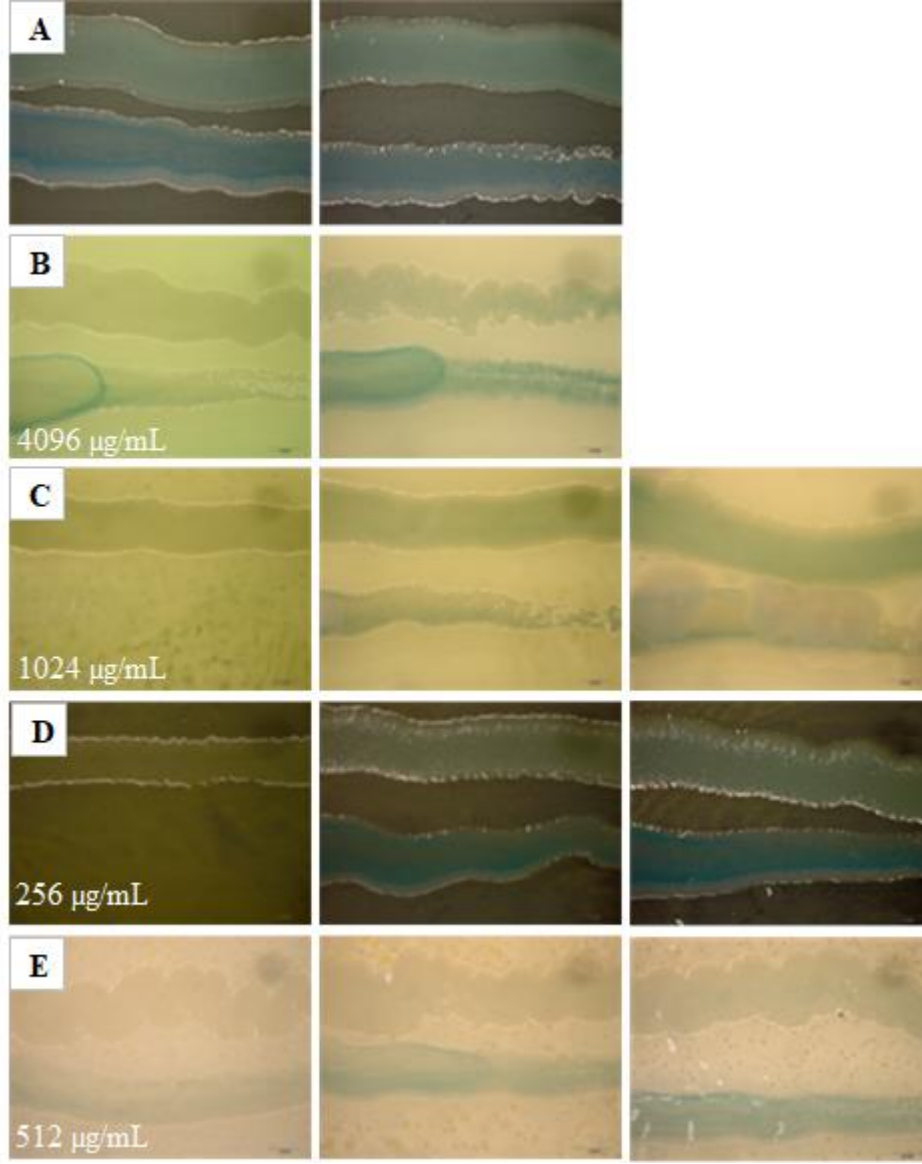
Y. ruckeri için yapılan kalitatif analiz sonucunda herhangi bir mikroalg ekstraktı içermeyen pozitif kontrolde mavi rengin oluşumu belirgin bir şekilde gözlenmektedir. *A. tumefaciens* (NT1) bakterisine ek olarak tez çalışmasında kullanılan *Y. ruckeri*'nin de β -galaktozidaz aktivitesi bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmada kullanılan *Y. ruckeri* de besiyeri ortamına eklenen X-Gal'i parçalayarak mavi renk oluşturmuştur. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örnekte, ekstrakt konsantrasyonuna artarken *A. tumefaciens* (NT1) bakterisinin oluşturduğu mavi rengin azaldığı ve neredeyse kaybolduğu görülmektedir. *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı eklenen örneklerde de benzer durum görülmektedir. *Nannochloropsis* sp. kloroform eklenen örnekte tüm dozlar için pozitif kontrole karşı belirgin bir renk azalması görülmemektedir. *Nannochloropsis*

sp. su ekstraktı eklenen örnekte tüm dozlar için *A. tumefaciens* (NT1)'in oluşturduğu mavi rengin pozitif kontrole göre azaldığı görülmüş ve ayrıca *Y. ruckeri*'nin oluşturduğu mavi rengin neredeyse kaybolduğu gözlenmiştir (Şekil 4.33).

A. platensis etanol ekstraktı eklenen örnekte, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı eklenen örnekte ekstrakt konsantrasyonuna artarken mavi rengin azaldığı ve neredeyse kaybolduğu görülmektedir. *A. platensis* metanol ekstraktı için de benzer durum gözlenmektedir. *A. platensis* kloroform ekstraktı eklenen örneklerde artan konsantrasyona bağlı olarak rengin azaldığı ve hatta en yüksek konsantrasyonda rengin neredeyse tamamen kaybolduğu görülmektedir. *A. platensis* su ekstraktı eklenen örnekte konsantrasyonlara bağlı olarak *A. tumefaciens* (NT1) bakterisinin oluşturduğu mavi rengin pozitif kontrole göre net bir şekilde azaldığı ve hatta tamamen kaybolduğu gözlenirken *Y. ruckeri*'nin oluşturduğu mavi rengin konsantrasyonlara bağlı olarak azaldığı görülmüştür (Şekil 4.34).



Şekil 4.33. *Y. ruckeri* için AHL moleküllerinin *Nannochloropsis* sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu azalmaktadır)

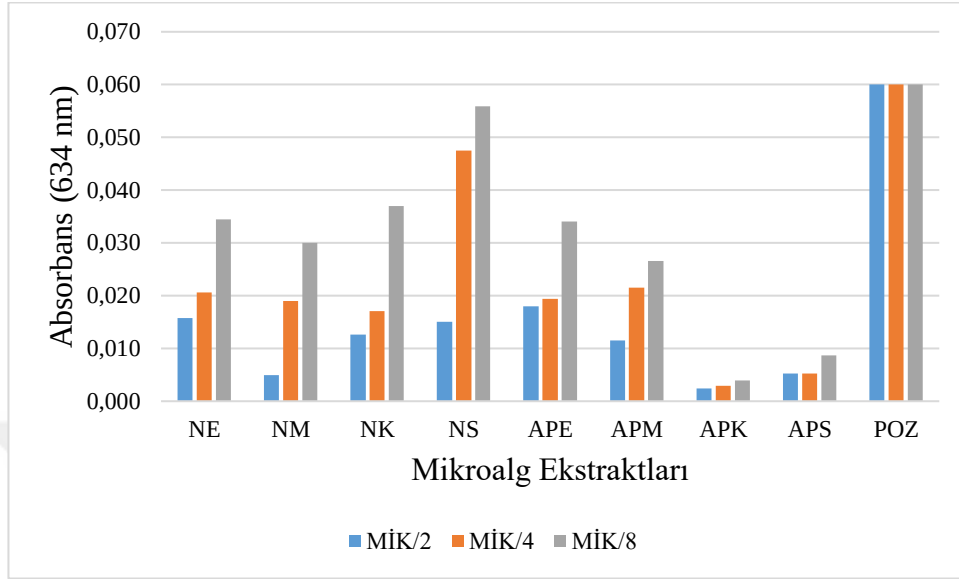


Şekil 4.34. *Y. ruckeri* için AHL moleküllerinin *A. platensis* sp. ekstraktlarıyla inhibisyonu (A, pozitif kontrol; B, etanol ekstraktı; C, metanol ekstraktı; D, kloroform ekstraktı; E, su ekstraktı; soldan sağa doğru ekstrakt konsantrasyonu azalmaktadır)

Kantitatif analizlerde ise oluşan renk 634 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar hem absorbans değerleri olarak verilmiş hem de inhibisyon oranları verilerek değerlendirilmiştir.

A. hydrophila için yapılan kantitatif analiz sonucunda pozitif kontrolün 634 nm dalga boyundaki absorbans değeri $0,060 \pm 0,001$ olarak ölçülmüştür. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı için absorbans değerlerinin 0,016-0,034, metanol ekstraktı için 0,005-0,030, kloroform ekstraktı için 0,013-0,037 ve su ekstraktı için 0,015-0,056 arasında

değiştği gözlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı için absorbens değerlerinin 0,018-0,034, metanol ekstraktı için 0,011-0,027, kloroform ekstraktı için 0,002-0,004 ve su ekstraktı için 0,005-0,009 arasında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 4.35).

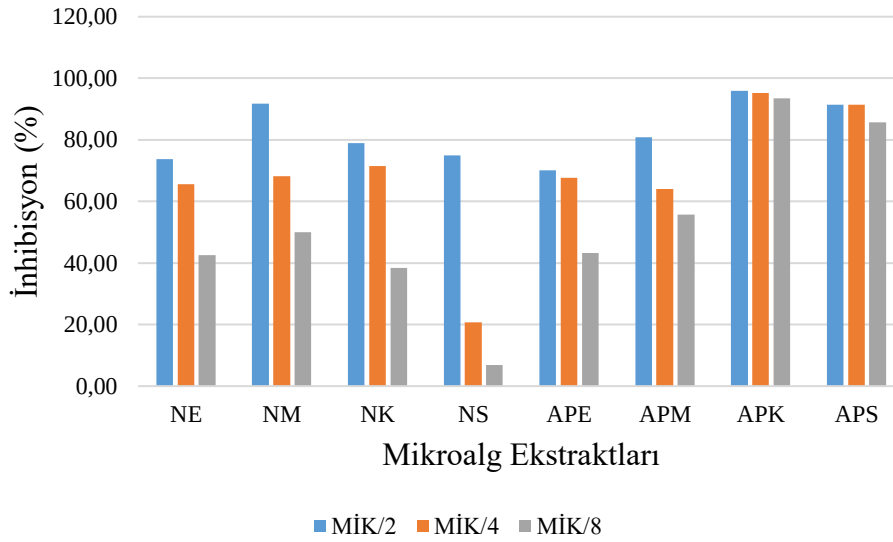


Şekil 4.35. Mikroalg ekstraktlarının *A. hydrophila* - bulunan petrilere X-Gal miktarını gösteren i absorbens değerleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)

Nannochloropsis sp. etanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %73,72 inhibisyon görülürken, 1024 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %65,61, 512 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ise bu oran %42,61 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %91,72 inhibisyon görülürken, 1024 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %68,28, 512 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ise bu oran %50,06 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 128 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %78,89 inhibisyon görülürken, 64 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %71,50, 32 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ise bu oran %38,39 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 4096 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %75,00 inhibisyon görülürken, 2048 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %20,78, 1024 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ise bu oran %6,89 olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.36).

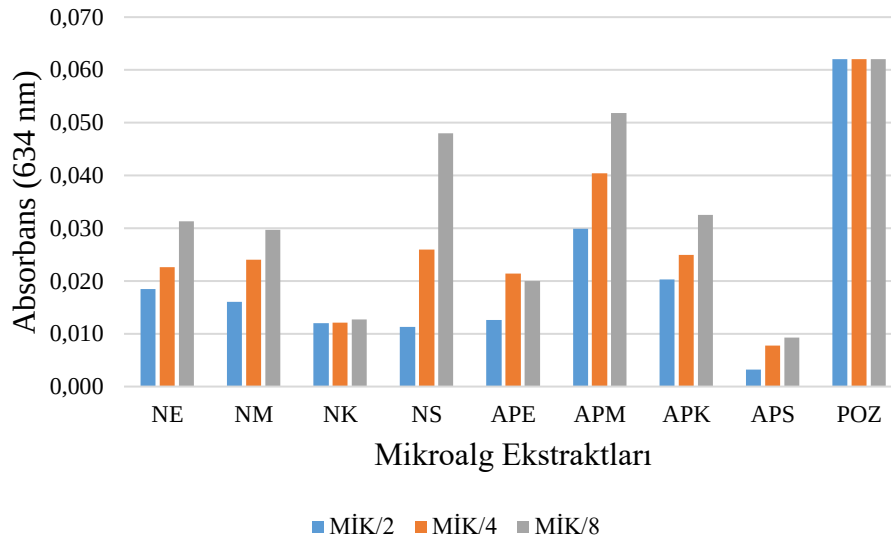
A. platensis etanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %70,11 inhibisyon görülürken, 1024 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %67,61, 512 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ise bu oran %43,33 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* metanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 512 $\mu\text{g/mL}$

konsantrasyonunda %80,89 inhibisyon görülürken, 128 µg/mL konsantrasyonunda %71,50, 64,11 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %55,67 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* kloroform ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 512 µg/mL konsantrasyonunda %96,00 inhibisyon görülürken, 128 µg/mL konsantrasyonunda %95,17, 64 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %93,44 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* su ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 1024 µg/mL konsantrasyonunda %91,33 inhibisyon görülürken, 512 µg/mL konsantrasyonunda %91,33, 256 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %85,61 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Mikroalg ekstraktlarının *A. hydrophila* bulunan petrilere X-Gal inhibisyon oranları (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

L.garvieae için yapılan kantitatif analiz sonucunda pozitif kontrolün 634 nm dalga boyundaki absorbans değeri 0,062±0,001 olarak ölçülmüştür. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı için absorbans değerlerinin 0,019-0,031, metanol ekstraktı için 0,016-0,030, kloroform ekstraktı için 0,012-0,013 ve su ekstraktı için 0,011-0,048 arasında değiştiği gözlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı için absorbans değerlerinin 0,013-0,020, metanol ekstraktı için 0,030-0,052, kloroform ekstraktı için 0,020-0,033 ve su ekstraktı için 0,003-0,009 arasında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 4.37).

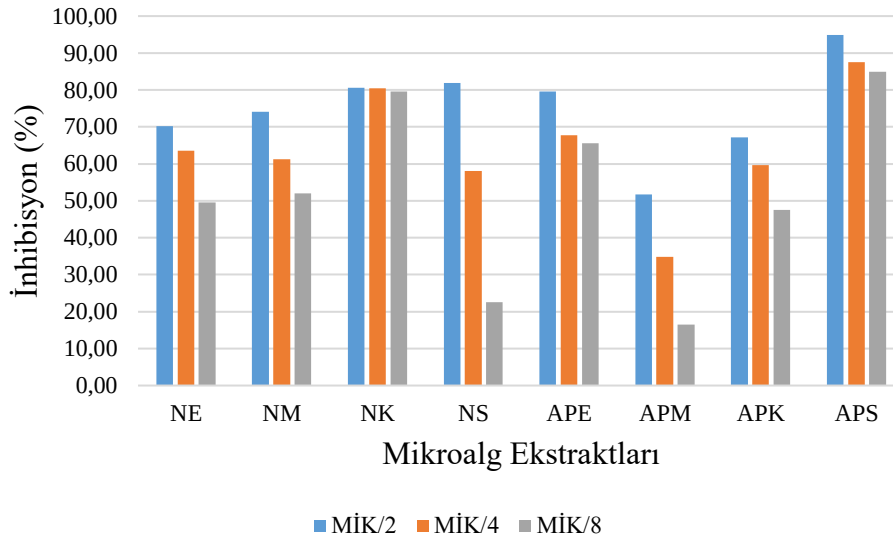


Şekil 4.37. Mikroalg ekstraktlarının *L. garvieae* bulunan petrilere X-Gal miktarını gösteren absorbans değerleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)

Nannochloropsis sp. etanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %70,16 inhibisyon görülürken, 1024µg/mL konsantrasyonunda %63,55, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %49,57 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %74,03 inhibisyon görülürken, 1024µg/mL konsantrasyonunda %61,29, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %52,04 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 256 µg/mL konsantrasyonunda %80,65 inhibisyon görülürken, 128 µg/mL konsantrasyonunda %80,43, 64 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %79,52 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 4096 µg/mL konsantrasyonunda %81,83 inhibisyon görülürken, 2048 µg/mL konsantrasyonunda %58,06, 1024 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %22,58 olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.38).

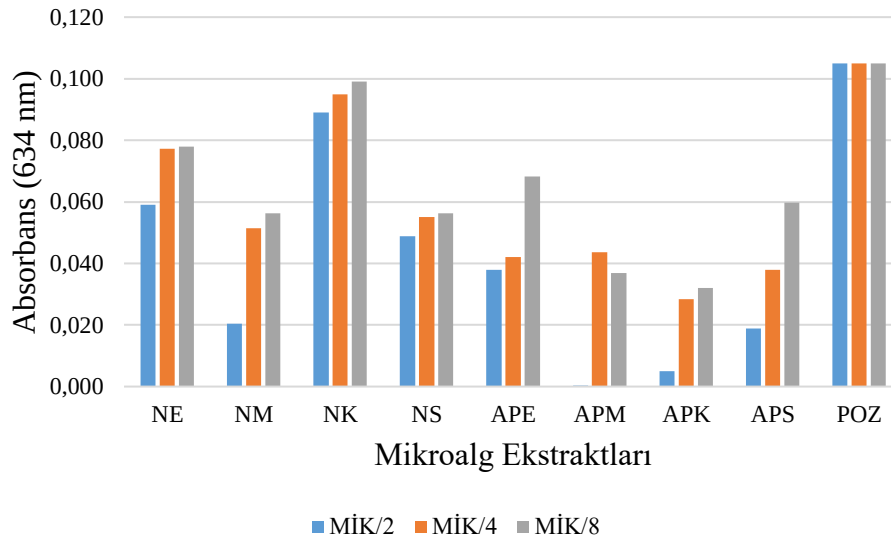
A. platensis etanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %79,57 inhibisyon görülürken, 1024 µg/mL konsantrasyonunda %67,74, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %65,54 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* metanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 512 µg/mL konsantrasyonunda %51,77 inhibisyon görülürken, 128 µg/mL konsantrasyonunda %34,89, 64 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %16,45 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* kloroform ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 512 µg/mL konsantrasyonunda %67,20 inhibisyon görülürken, 128 µg/mL konsantrasyonunda

%59,68, 64 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %47,58 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* su ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %94,84 inhibisyon görülürken, 1024 µg/mL konsantrasyonunda %87,47, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %84,95 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.38).



Şekil 4.38. Mikroalg ekstraktlarının *L. garvieae* bulunan petrilere X-Gal inhibisyon oranları (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Y. ruckeri için yapılan kantitatif analiz sonucunda pozitif kontrolün 634 nm dalga boyundaki absorbens değeri $0,105 \pm 0,002$ olarak ölçülmüştür. *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı için absorbens değerlerinin 0,059-0,078, metanol ekstraktı için 0,020-0,056, kloroform ekstraktı için 0,089-0,099 ve su ekstraktı için 0,049-0,056 arasında değiştiği gözlenmiştir. *A. platensis* etanol ekstraktı için absorbens değerlerinin 0,038-0,068, metanol ekstraktı için 0,000-0,037, kloroform ekstraktı için 0,005-0,032 ve su ekstraktı için 0,019-0,060 arasında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 4.39).

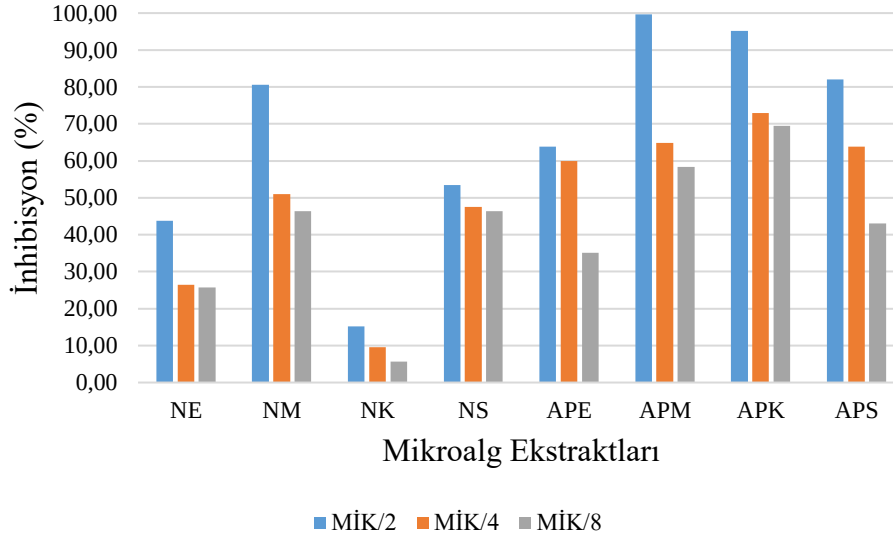


Şekil 4.39. Mikroalg ekstraktlarının *Y. ruckeri* bulunan petrilere X-Gal miktarını gösteren absorbans değerleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı; POZ, pozitif kontrol)

Nannochloropsis sp. etanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %43,71 inhibisyon görülürken, 1024µg/mL konsantrasyonunda %26,44, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %25,75 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %80,54 inhibisyon görülürken, 1024µg/mL konsantrasyonunda %50,98, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %46,32 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 128 µg/mL konsantrasyonunda %15,24 inhibisyon görülürken, 64 µg/mL konsantrasyonunda %9,52, 32 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %5,71 olarak hesaplanmıştır. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 2048 µg/mL konsantrasyonunda %53,46 inhibisyon görülürken, 1024 µg/mL konsantrasyonunda %47,49, 512 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %46,35 olarak hesaplanmıştır. (Şekil 4.40).

A. platensis etanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 4096 µg/mL konsantrasyonunda %63,81 inhibisyon görülürken, 2048 µg/mL konsantrasyonunda %59,90, 1024 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %35,08 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* metanol ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 1024 µg/mL konsantrasyonunda %99,62 inhibisyon görülürken, 512 µg/mL konsantrasyonunda %58,41, 128 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %64,92 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* kloroform ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 512 µg/mL konsantrasyonunda %95,24 inhibisyon görülürken, 128 µg/mL konsantrasyonunda

%72,92, 64 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %69,52 olarak hesaplanmıştır. *A. platensis* su ekstraktı için en yüksek konsantrasyon olan 1024 µg/mL konsantrasyonunda %82,06 inhibisyon görülürken, 512 µg/mL konsantrasyonunda %63,81, 256 µg/mL konsantrasyonunda ise bu oran %43,02 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.40).

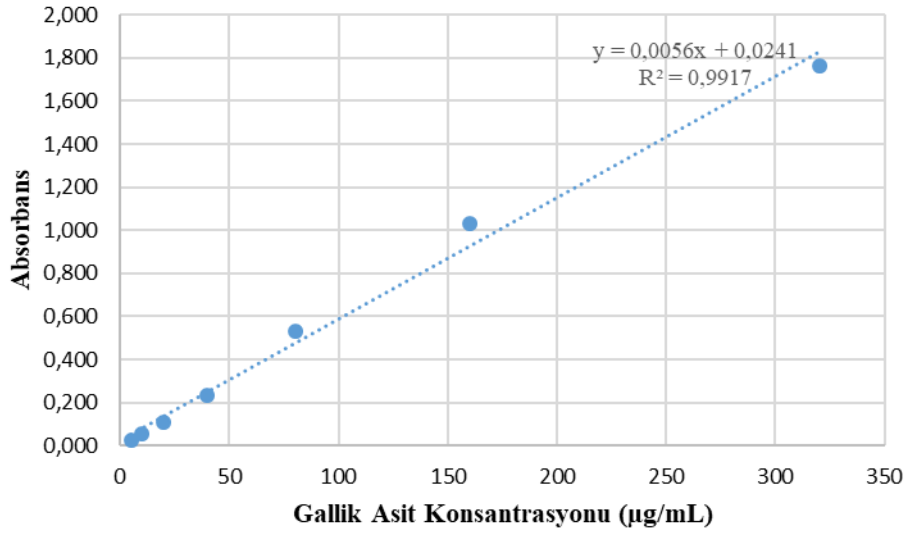


Şekil 4.40. Mikroalg ekstraktlarının *Y. ruckeri* bulunan petrilere X-Gal inhibisyon oranları (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

4.7. Mikroalgal Biyoaktif Bileşiklerin Miktarlarının Belirlenmesi

4.7.1. Fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi

Mikroalgal ekstraktların fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi için gallik asit standart çözeltisi hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bunun için ilk önce 5-320 µg/ml konsantrasyonları arasında %50 metanol içerisinde gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan gallik asit çözeltilerinden her birinden 200 µl alınarak üzerine 1,5 mL 10 kat seyreltilmiş (distile su ile) Folin-Ciocalteu solüsyonu eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dk inkübasyonun ardından üzerine 1,5 mL sodyum bikarbonat çözeltisi (60 g/L) eklenerek karıştırılmıştır. Hazırlanan standart çözeltiler oda sıcaklığında 90 dk inkübe edilmiş ve daha sonra spektrofotometrede 750 nm’de absorbans değerleri ölçülmüştür. Ölçümler üç tekrarlı yapılarak ortalamaları alınmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Elde edilen veriler kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.41). Çizilen kalibrasyon eğrisi elde edilen ekstraktların içerisindeki fenolik bileşenlerin miktarlarının belirlenmesi için kullanılmıştır.



Şekil 4.41. Hazırlanan gallik asit standart çözeltileri ile elde edilen kalibrasyon grafiği

Mikroalg ekstraktları gallik asit standardı hazırlamada olduğu gibi aynı şekilde spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ölçüm sonucunda en yüksek fenolik bileşen miktarı *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı için 62,13 µg/mL (gallik asite eşdeğer) olarak belirlenmiştir. Onu takiben sırasıyla *A. platensis* kloroform ekstraktı (53,73 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı (50,70 µg/mL), *A. platensis* metanol ekstraktı (48,29 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı (35,89 µg/mL), *A. platensis* etanol ekstraktı (21,41 µg/mL), *A. platensis* su ekstraktı (5,52 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı (4,98 µg/mL) gelmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.12. Ekstraktların total fenolik bileşik içeriklerini gallik asit eşdeğer miktarları (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Esktrakt Adı	Total Fenolik İçeriği
NE	35,89 µg/mL
NM	50,70 µg/mL
NK	62,13 µg/mL
NS	4,98 µg/mL
APE	21,41 µg/mL
APM	48,29 µg/mL
APK	53,73 µg/mL
APS	5,52 µg/mL

4.7.2. Mikroalg ekzopolisakkaritlerin miktarının belirlenmesi

Mikroalg ekstraktlarının içerdiği ekzopolisakkarit miktarının belirlenmesi için sprktrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek ekzopolisakkarit içeriğini gösteren 595 nm dalga boyundaki absorbans değeri *A. platensis* metanol ekstraktında bulunmuştur ($0,519 \pm 0,000$). Bunu sırasıyla *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı ($0,304 \pm 0,002$), *A. platensis* etanol ekstraktı ($0,182 \pm 0,001$), *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı ($0,102 \pm 0,002$) *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı ($0,077 \pm 0,001$), *A. platensis* su ekstraktı ($0,069 \pm 0,001$), *A. platensis* kloroform ekstraktı ($0,063 \pm 0,000$) ve *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı ($0,063 \pm 0,001$) takip etmiştir.

Çizelge 4.13. Ekstraktların ekzopolisakkarit miktarlarının 595 nm dalgaboyunda ölçülen absorbans değerleri (NE, *Nannochloropsis* sp. etanol ekstraktı; NM, *Nannochloropsis* sp. metanol ekstraktı; NK, *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı; NS, *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı; APE, *A. platensis* etanol ekstraktı; APM, *A. platensis* metanol ekstraktı; APK, *A. platensis* kloroform ekstraktı; APS, *A. platensis* su ekstraktı)

Mikroalg Ekstraktları	Absorbans (595 nm)	Standart Sapma
NE	0,102	0,002
NM	0,304	0,002
NK	0,063	0,001
NS	0,077	0,001
APE	0,182	0,001
APM	0,519	0,000
APK	0,063	0,000
APS	0,069	0,001

5. TARTIŞMA

Hızla artan Dünya nüfusunun hayvansal protein ihtiyacının karşılanabilmesi konusunda su ürünleri sektörü ön plana çıkmaktadır. Su ürünleri sektörü yıllar içinde gelişmeye ve büyümeye devam etmektedir. Özellikle su ürünleri yetiştiriciliği bu alanda büyük öneme sahiptir. Bu sektörün gelişmesini olumsuz yönde etkileyen en önemli faktörler su kaynaklarının kirletilmesi ve azalması, doğal stokların tükenmesi, canlı transferi sırasında meydana gelen ölümler, yetiştirme sistemlerinde stok yoğunluğu, çevresel parametrelerdeki değişiklikler ve hastalıklar olarak sıralanabilmektedir. Bu faktörler arasında en önemlilerinden biri bakteriyel balık hastalık etkenlerinin neden olduğu hastalıklardır. Bu hastalıkların kontrolü, engellenmesi ve tedavisi ekonomik açıdan ve insan sağlığı açısından önem arz etmektedir (Davenport vd. 2003; Leung ve Bates 2012).

Su ürünleri sistemlerindeki bakteriyel enfeksiyon etkenlerinin kontrol edilmesi hastalıkların kontrolü, önlenmesi ve tedavisi için oldukça kritiktir. Özellikle enfeksiyon tedavilerinde kullanılan çok miktarda ve yanlış antibiyotikler bakteriyel floranın kontrol altına alınmasını zorlaştırmakla birlikte direnç oluşumuna ve tedavinin zorlaşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle yeni, alternatif ve sürdürülebilir ilaç hammaddelerinin sektöre kazanılması önemlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalar yeni ilaç hammaddelerinin bulunabilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Özellikle gelişen teknoloji ile birlikte yapılan çalışmalar, bakterileri doğrudan öldüren değil patojenite özelliklerinin açığa çıkmasını sağlayan metabolik yolların ortadan kaldırılmasına yönelmiştir (Santhakumari vd. 2016; Defoirdt vd. 2007; Abraham vd. 2011).

Bakteriyel patojenitenin açığa çıkmasını sağlayan metabolik yollardan biri bakterilerde bulunan çevresi algılama sistemi olduğu bilinmektedir (Quorum Sensing-QS). Belirli bir yoğunluğa ulaşan bakteriler ortama küçük sinyal molekülleri salarak diğer bakterilerdeki patojenitenin artmasıyla ilgili olduğu bilinen genlerin ifade edilmesini sağlamaktadır (Williams vd. 2000). Böylece çeşitli toksinler ya da enzimler salgılanarak konak hücreye hasar vermeye başlamaktadır. Bununla birlikte biyofilm oluşumunu tetikleme sebebiyle QS dikkate alınması gereken bir metabolik süreçlerden birisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda QS sistemini inhibe edecek araştırmalar üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmalarda, bakteriler ortamda bulunmaya devam etse bile sinyal molekülleri salgılamadıkları için patojenik özellik sergilemedikleri gösterilmiştir (McGowan vd. 2005). Bu nedenle QS sistemini inhibisyonu antibiyotik tedavilerine alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (Rogers vd. 2010; Doğru 2012).

Hastalık tedavisinde karşılaşılan bir diğer önemli sorun bakterilerin biyofilm yapısı oluşturmaları olarak bilinmektedir (Flemming ve Wingender 2010). Bakteriler bulundukları ortamda bir yüzeye tutunarak etraflarında ekstraselüler polimerik madde oluşturmakta ve kendilerini bu kılıf içerisine hapsedmektedirler. Böylece çevreden gelen toksik ya da antibiyotik gibi ilaç maddelerinin kendilerine zarar verecek moleküllerden korumaktadırlar ve biyofilm oluşması durumunda tedavisi çok zor hastalıklar ortaya çıkabilmektedir (Stewart 2015). Bu nedenle bakteriyel patojeniteyi engelleme sürecinde biyofilm yapıları karşımıza önemli bir hedef olarak çıkmaktadır. Son yıllarda biyofilm yapısının inhibisyonu ve olgun biyofilm yapısının sökülmesi üzerine birçok çalışma yapılmaktadır. Biyofilmi inhibe eden çeşitli ilaç hammaddeleri önemli birer tedavi

ajanları olarak karşımıza çıkmaktadır (Flemming ve Wingender 2010; Roilides vd. 2015; Stewart 2015).

Yapılan doktora tez çalışmasında *A. platensis* ve *Nannochloropsis* sp. mikroalglerinden elde edilen ekstraktların, su ürünleri yetiştiriciliği ve işleme alanında karşılaşılan, ekonomi ve balık sağlığı açısından önemli sorunlara yol açan 3 farklı balık patojeni olan *L. garvieae*, *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri* üzerinde antimikrobiyal, antibiyofilm ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu özellikleri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıda başlıklar altında tartışılmıştır.

5.1. Mikroalg Ekstraktlarının Antibakteriyel Etkileri

Mikroalg ekstraktlarının MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *A. hydrophila* üzerine en etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform (256 µg/mL) ekstraktı olarak belirlenmiştir. İkinci sırada ise *A. platensis* kloroform (1024 µg/mL) ve metanol (1024 µg/mL) ekstraktları beraber yer almıştır. Ayrıca çalışma kapsamında her iki mikroalgden su ekstraktı yapılmış olup *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için MİK değeri 8192 µg/mL olarak belirlenirken *A. platensis* su ekstraktı için 2048 µg/mL olarak belirlenmiştir. Literatürde her iki mikroalgin su ekstraktları için MİK değeri bildirilmemiştir. Selvendran (2013) tarafından yapılan çalışmada *N. oculata* ve *Chaetoceros calcitrans* mikroalglerinden elde edilen ekstraktların *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* ve *A. hydrophila* bakterileri üzerine antimikrobiyal etkileri incelenmiş ve en etkili ekstraktların *N. oculata* için kloroform:metanol (2:1) ve *C. calcitrans* için bütanol ekstraktları olduğu bildirilmiştir.

Tez çalışması sonucunda *L. garvieae* üzerine en etkili olan ekstraktlar *Nannochloropsis* sp. kloroform (512 µg/mL), *A. platensis* kloroform (512 µg/mL) ve *A. platensis* metanol (512 µg/mL) ekstraktları olarak belirlenmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında her iki mikroalgden su ekstraktı yapılmış olup *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için MİK değeri 8192 µg/mL olarak belirlenirken *A. platensis* su ekstraktı için 2048 µg/mL olarak belirlenmiştir. Yapılan kaynak taramasında her iki mikroalgin su ekstraktları için MİK değeri bildirilmediği görülmüştür.

Tez çalışması sonucunda *Y. ruckeri* üzerine en etkili olan ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform (256 µg/mL) ekstraktı olarak belirlenmiştir. *A. platensis* ekstraktları arasında ise en etkili olan *A. platensis* kloroform ekstraktı (512 µg/mL) olmuştur. Ayrıca çalışma kapsamında her iki mikroalgden su ekstraktı yapılmış olup *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için MİK değeri 4096 µg/mL olarak belirlenirken *A. platensis* su ekstraktı için 1024 µg/mL olarak belirlenmiştir. Literatürde her iki mikroalgin su ekstraktları için MİK değeri bildirilmemiştir.

Cepas vd. (2021) tarafından 600 farklı mikroalg ve siyanobakteriden metanol, etil asetat ve hekzan çözücülerıyla elde edilen ekstraktların *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* ve koagülaz-negatif *Staphylococcus* (CoNS) bakterileri üzerine antimikrobiyal ve biyofilm inhibisyon özellikleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda en etkili olan ekstraktların metanol ve etil asetat çözücülerıyla elde edilen ekstraktlar olduğu

vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda da en etkili ekstraktlar kloroform ve metanol ekstraktları olarak bulunmuştur.

5.2. Mikroalg Ekstraktlarının Biyofilm İnhibisyon Özellikleri

Mikroalg ekstraktlarının biyofilm inhibisyon kapasiteleri 24 kuyucuklu plakalarda çalışılmıştır. Her bir ekstrakt için 5 farklı doz denenerek en etkili ekstraktlar ve dozları belirlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılan bakteriler arasında *L. garvieae* üç bakteri arasında en güçlü biyofilm yapısı oluşturan bakteri olarak hesaplanmıştır ($0,914 \pm 0,003$). *A. hydrophila* biyofilm oluşturma kapasitesi ($0,540 \pm 0,001$) *L. garvieae* 'den sonra gelmiştir. *Y. ruckeri* ise üç bakteri arasındaki en zayıf biyofilm kapasitesi ($0,350 \pm 0,002$) oluşturma yeteneğine sahip bakteri olarak belirlenmiştir.

A. hydrophila 'nın oluşturduğu biyofilm yapısını eşit konsantrasyon değerleri göz önünde bulundurulduğunda en çok inhibe eden (%71,64) ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ($128 \mu\text{g/mL}$) ekstraktı olarak belirlenmiştir. Bunu takiben sırayla ise *A. platensis* kloroform (%45,52- $128 \mu\text{g/mL}$) ve metanol (%29,23- $128 \mu\text{g/mL}$) ekstraktları yer almıştır. Mikroalglerden elde edilen su ekstraktları diğer ekstraktlara göre daha zayıf etki göstermiştir. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için en yüksek inhibisyon değeri (%30,32) $4096 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda görülürken *A. platensis* su ekstraktı için $1024 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda en yüksek inhibisyon değeri (%31,85) gözlenmiştir. Lynch vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada *A. hydrophila* 'nın biyofilm oluşumunun QS'e bağlı olarak düzenlenmesi araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda *A. hydrophila* 'nın olgun biyofilm yapısının 48. saatten itibaren oluştuğu gösterilmiştir. Ayrıca QS sinyal molekülü olan N-bütanolhomoserin laktonu (C4-HSL) üretemeyen mutant suşun biyofilm oluşturamadığı belirtilmiştir. Ponussamy vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada *A. hydrophila* 'nın QS mekanizmasının ve biyofilm formasyonunun vanillin ile inhibisyonu çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda $250 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda maksimum biyofilm inhibisyonunun %46,3 olduğu bildirilmiştir.

L. garvieae 'nin oluşturduğu biyofilm yapısını eşit konsantrasyon değerleri göz önünde bulundurulduğunda en çok inhibe eden (%80,68) ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ($256 \mu\text{g/mL}$) ekstraktı olarak belirlenmiştir. Bunu takiben sırayla ise *A. platensis* kloroform (%61,84- $256 \mu\text{g/mL}$) ve metanol (%59,50- $256 \mu\text{g/mL}$) ekstraktları yer almıştır. Mikroalglerden elde edilen su ekstraktları diğer ekstraktlara göre daha zayıf etki göstermiştir. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için en yüksek inhibisyon değeri (%34,99) $4096 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda görülürken *A. platensis* su ekstraktı için $2048 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda en yüksek inhibisyon değeri (%39,39) gözlenmiştir. Sayın vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada boron bileşikleri olan borik asit ve disodyum oktaborat tetrahidratın (DOT) *S. aureus*, *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*, *Brucella melitensis* standart suşları ile *A. hydrophila*, *Y. ruckeri*, *P. aeruginosa*, *V. anguillarum*, *L. garvieae* ve *B. abortus* izolatları üzerine antibakteriyel ve biyofilm inhibisyonu özellikleri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda *A. hydrophila* ve *Y. ruckeri* 'nin

orta düzeyde biyofilm oluşturduğu gözlenirken *L. garvieae*'nin güçlü biyofilm yapısı oluşturduğu bildirilmiştir. Borik asit eklenen örneklerde biyofilm oluşmazken DOT eklenen örneklerde sadece *L. garvieae*'de zayıf biyofilm oluştuğu gösterilmiştir. Shahin vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada gökkuşağı alabalığından *L. garvieae* bakterileri izole edilmiş ve karakterize edilmiştir. İzole edilen suşların tamamının minimum biyofilm eliminasyon konsantrasyonu analizi sistemi (MBEC) kullanılarak 30°C'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda başarılı bir şekilde biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir.

Y. ruckeri'nin oluşturduğu biyofilm yapısını eşit konsantrasyon değerleri göz önünde bulundurulduğunda en çok inhibe eden (%79,43) ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform (128 µg/mL) ekstraktı olarak belirlenmiştir. Bunu takiben sırayla ise *A. platensis* kloroform (%41,75-128 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp. metanol (%31,43-128 µg/mL) ekstraktları yer almıştır. Mikroalglerden elde edilen su ekstraktları diğer ekstraktlara göre daha zayıf etki göstermiştir. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı için en yüksek inhibisyon değeri (%28,29) 2048 µg/mL konsantrasyonunda görülürken *A. platensis* su ekstraktı için 1024 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek inhibisyon değeri (%26,00) gözlenmiştir. Coquet vd. (2002b) yaptıkları çalışmada gökkuşağı alabalığı çiftliklerinden izole ettikleri *Y. ruckeri* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *Y. ruckeri*'nin sabit parçalar üzerine tutunabildiğini ve biyofilm yapısı oluşturabildiğini bildirilmiştir. Yüzeye tutunan bakterilerin planktonik formda olan bakterilere göre oksolinik asit antibiyotiğine karşı daha dirençli olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca çiftlikteki tanklar içerisinde oluşan *Y. ruckeri* biyofilmalarının enfeksiyon süresini uzatmada etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Her iki mikroalgin su ekstraktlarıyla ilgili biyofilm inhibisyonu üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında konuyla ilgili araştırma olmadığı görülmektedir.

Doktora tez çalışmasında çalışılan mikroorganizmalar arasında biyofilm inhibisyonu açısından en yüksek etki değerine sahip *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktına en duyarlı olan bakteri *Y. ruckeri* olmuştur. *A. hydrophila* ikinci sırada yer alırken *L. garvieae* ise en dirençli bakteri olarak tespit edilmiştir.

5.3. Mikroalg Ekstraktlarının Hücre Yüzey Hidrofobikliği (HYH) Üzerine Etkisi

Hücre yüzey hidrofobikliği (HYH), planktonik haldeki bakteri hücrelerinin yüzeye tutunma kapasitelerinin bir göstergesidir. Özellikle su ortamında bulunan bakterilerin yüzeye tutunması için hücre yüzeylerinin belirli bir oranda hidrofobikliğe sahip olması gerekmektedir. HYH oranının azaltılması bakteri hücrelerinin yüzeye tutunmasını zorlaştıracak ve böylece biyofilm oluşumu azaltılacak ve/veya engellenmektedir.

Tez çalışmasında kullanılan bakteriler arasında hidrofobiklik oranı en yüksek olan bakteri *L. garvieae* (%95,52±0,61) olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla *A. hydrophila* (%71,20±0,16) ve *Y. ruckeri* (%60,33 ±0,09) takip etmiştir. Bulunan bu bulgular bakterilerin biyofilm oluşturma kapasiteleriyle doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. En

güçlü biyofilmi *L. garvieae* oluştururken en zayıf biyofilm yapısını ise *Y. ruckeri* bakterisi oluşturmuştur.

Mikroalg ekstraktlarının eşit konsantrasyon değerleri göz önünde bulundurulduğunda *A. hydrophila*'nın hidrofobiklik oranını %71,05'te %27,32'ye düşüren en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (128 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırayla aynı konsantrasyon değerinde hidrofobiklik oranını %49,23'e düşüren *A. platensis* kloroform ekstraktı ve hidrofobiklik oranını %60,86'ya düşüren *A. platensis* metanol ekstraktı takip etmiştir. Mikroalg ekstraktları arasında en az etki gösteren ekstraktlar su ekstraktları olmuştur. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 4096 µg/mL'de hidrofobiklik oranını %54,89'a düşürürken, *A. platensis* su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 1024 µg/mL'de hidrofobiklik oranını %60,55'e düşürmüştür. LewisOscar vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada *S. platensis* (*A. platensis*) siyanobakterisinden metanol çözücüsü kullanarak elde ettikleri ekstraktın *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* ve *Serratia marcescens* bakterileri üzerine antibakteriyel ve biyofilm inhibisyon özellikleri incelenmişlerdir. Ayrıca EPS inhibisyonu, HYH inhibisyonu ve cam yüzeyinde oluşan biyofilm yapısının görüntülenmesi de çalışılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda 100 ng/mL konsantrasyonundaki ekstraktın *A. hydrophila* biyofilmini %74 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir. *A. hydrophila*'nın HYH oranının %80 inhibe edildiği gösterilirken üretilen EPS'yi %88 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir.

L. garvieae'nin hidrofobiklik oranını %95,52'den %47,52'ye düşüren en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (256 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırayla aynı konsantrasyon değerinde hidrofobiklik oranını %59,71'e düşüren *A. platensis* kloroform ekstraktı ve hidrofobiklik oranını %63,89'a düşüren *A. platensis* metanol ekstraktı takip etmiştir. Mikroalg ekstraktları arasında en az etki gösteren ekstraktlar su ekstraktları olmuştur. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 4096 µg/mL'de hidrofobiklik oranını %80,17'ye düşürürken, *A. platensis* su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 2048 µg/mL'de hidrofobiklik oranını %85,51'e düşürmüştür. Pérez-Sánchez vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss*'ten (Walbaum) izole edilen *L. garvieae*'ye karşı inhibitör aktiviteye sahip laktik asit bakterilerinin tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda tanımlanan bakterilerin hidrofobiklik oranları *Lactobacillus plantarum* (%31,59), *L. lactis* (%24,99), ve *Leuconostoc mesenteroides* (%11,42) olarak belirlenmiştir. Yapılan doktora tez çalışmasında ise *L. garvieae*'nin hidrofobiklik oranı %95,52 olarak belirlenmiş olup Pérez-Sánchez vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada bulunan değerlerden oldukça yüksektir.

Y. ruckeri'nin hidrofobiklik oranını %60,33'den %13,22'ye düşüren en etkili ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (128 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırayla aynı konsantrasyon değerinde hidrofobiklik oranını %32,32'ye düşüren *A. platensis* kloroform ekstraktı ve hidrofobiklik oranını %48,23'e düşüren *A. platensis*

metanol ekstraktı takip etmiştir. Mikroalg ekstraktları arasında en az etki gösteren ekstraktlar su ekstraktları olmuştur. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 2048 µg/mL’de hidrofobiklik oranını %50,04’e düşürürken, *A. platensis* su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 1024 µg/mL’de hidrofobiklik oranını %51,21’e düşürmüştür. Coquet vd. (2002a) tarafından yapılan çalışmada iki farklı *Y. ruckeri* suşunun (ATCC 29473 ve PBM1) balık çiftliklerinde kullanılan ahşap, beton, plastik (PVC) ve fiberglass materyaller üzerine tutunmasını incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda her iki suşun da %44 altında düşük hidrofobiklik oranına sahip olduğu ve bu nedenle suşların hidrofilik olarak nitelendirilebileceği bildirilmiştir.

Tez çalışmasındaki hücre yüzey hidrofobikliği analiz sonuçları göstermektedir ki tüm bakterilerde hidrofobiklik oranını en çok düşüren ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktıdır. Aynı sonuç biyofilm inhibisyonu çalışmasında da bulunmuştur. Bu da bize göstermektedir ki hücre yüzey hidrofobikliği oranı azaldıkça planktonik formdaki bakteriler yüzeye tutunmayı başaramayıp daha zayıf biyofilm yapıları oluşturmuşlardır. Hem HYH analizi hem de BİK analizinde elde edilen bulgular birbirini destekler niteliktedir ve mikroalg ekstraktları güçlü etki gösterenden zayıf etki gösterene doğru sıralandıklarında hemen hemen aynı sıralama elde edilmiştir.

5.4. Mikroalg Ekstraktlarının Ekstraselüler Polimerik Madde Üzerine Etkisi

Ekstraselüler polimerik madde (EPS), biyofilm yapısının en önemli bileşenlerinden biridir. EPS biyofilm yapısını oluşturmakla birlikte biyofilm içerisindeki bakterilere korunma, besin alış veriş, çevresel olaylara tepki geliştirebilme ve foton iletimi sağlama gibi avantajlar sağlamaktadır (Fleming ve Wingender 2001). Bu nedenle EPS sentezinin engellenmesi ya da EPS yapısında meydana gelecek degradasyonlar bakterilerin biyofilm oluşturmalarını engellenmektedir.

Bu tez çalışmasında kullanılan bakteriler arasında EPS sentezinin en yüksek olduğu bakteri *L. garvieae* ($OD_{595nm}=0,693\pm0,012$) olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla *Y. ruckeri* ($OD_{595nm}=0,623\pm0,010$) ve *A. hydrophila* ($OD_{595nm} 0,482\pm0,017$) ve takip etmiştir. En güçlü biyofilm yapısını *L. garvieae*’nin en yüksek EPS’yi sentezlediği görülmüştür. Bununla birlikte en zayıf biyofilm yapısını oluşturan *Y. ruckeri*’nin *A. hydrophila*’dan daha fazla EPS sentezlediği belirlenmiştir. *A. hydrophila*’nın, *Y. ruckeri*’den daha güçlü biyofilm oluşturmalarının nedeni, hidrofobiklik oranının yüksek olması ve EPS sentezi arasında çok büyük fark olmaması olarak düşünülmektedir.

Mikroalg ekstraktlarının eşit konsantrasyon değerleri göz önünde bulundurulduğunda *A. hydrophila*’nın sentezlediği EPS’yi inhibe eden en etkili ekstrakt (%43,16) *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (128 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırayla aynı konsantrasyon değerinde EPS’yi %29,19 oranında inhibe eden *A. platensis* kloroform ekstraktı ve EPS’yi %27,53 oranında inhibe eden *A. platensis* metanol ekstraktı takip etmiştir. 128 µg/mL konsantrasyona sahip mikroalg ekstraktlarının değerlendirildiğinde sentezlenen EPS üzerine en az etkili olan ekstraktlar

Nannochloropsis sp. etanol (%5,94) ve *Nannochloropsis* sp. metanol (1,89) ekstraktları olmuştur. Ancak konsantrasyonlar yükseldiğinde su ekstraktları diğer analizlerde olduğu gibi en az etkili olan ekstraktlar haline gelmiştir. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 4096 µg/mL’de EPS’yi %30,86 oranında inhibe ederken, *A. platensis* su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 1024 µg/mL’de EPS’yi %28,16 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir. Husain vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada karanfil yağının *P. aeruginosa* ve *A. hydrophila*’da QS ile düzenlenen fonksiyonlarının ve biyofilm yapısının inhibisyonu araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda %1.6 (v/v) konsantrasyonundaki karanfil yağının *A. hydrophila*’nın EPS üretimini %71 oranında, biyofilm yapısını ise %66 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir. LewisOscar vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada *S. platensis* (*A. platensis*) siyanobakterisinden metanol çözücüsü kullanarak elde ettikleri ekstraktın *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* ve *Serratia marcescens* bakterileri üzerine antibakteriyel ve biyofilm inhibisyon özellikleri incelenmiştir. Ayrıca EPS inhibisyonu, HYH inhibisyonu ve cam yüzeyinde oluşan biyofilm yapısının görüntülenmesi de çalışılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. hydrophila* ve *S. aureus* için EPS inhibisyon oranının %50-88 arasında değiştiği bildirilmiştir. EPS seviyesindeki düşüşün biyofilm yapısını zayıflatacağı ve böylece yerleşik bakterilerin antimikrobiyal bileşiklere maruz kalmasını sağlayarak bakterilerin daha kolay yok edilebileceği bildirilmiştir.

L. garvieae’nin sentezlediği EPS’yi inhibe eden en etkili ekstrakt (%24,66) *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (256 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırayla aynı konsantrasyon değerinde EPS’yi %22,12 oranında inhibe eden *A. platensis* metanol ekstraktı ve EPS’yi %21,15 oranında inhibe eden *A. platensis* kloroform ekstraktı takip etmiştir. Diğer analizlerle benzer şekilde sentezlenen EPS üzerine en az etkili olan ekstraktlar su ekstraktları olmuştur. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 4096 µg/mL’de EPS’yi %18,93 oranında inhibe ederken, *A. platensis* su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 2048 µg/mL’de EPS’yi %17,84 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir.

Y. ruckeri’nin sentezlediği EPS’yi inhibe eden en etkili ekstrakt (%25,35) *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (128 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırayla aynı konsantrasyon değerinde EPS’yi %19,65 oranında inhibe eden *A. platensis* metanol ekstraktı ve EPS’yi %15,98 oranında inhibe eden *A. platensis* kloroform ekstraktı takip etmiştir. Diğer analizlerle benzer şekilde sentezlenen EPM üzerine en az etkili olan ekstraktlar su ekstraktları olmuştur. *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 2048 µg/mL’de EPS’yi %13,21 oranında inhibe ederken, *A. platensis* su ekstraktı en yüksek konsantrasyonu olan 1024 µg/mL’de EPS’yi %17,52 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir. Sampathkumar vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada *Chlorella pyrenoidosa* mikroalginden elde edilen lüteinin potansiyel biyofilm ve QS inhibisyon özellikleri incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda *P. aeruginosa* (PA01) suşunun ürettiği EPS miktarını lüteinin 20 µg/mL konsantrasyonda %78,57

oranında inhibe ettiği bildirilmiştir. Yapılan doktora tez çalışmasında ise daha yüksek konsantrasyonlarda ekstraktlar kullanılmış olup test bakterilerinin ürettiği EPS miktarı üzerine inhibisyon oranının maksimum %43,16 olduğu görülmüştür.

5.5. Test Bakterilerinin Cam Yüzeyinde Oluşturduğu Biyofilm Yapılarının Görüntülenmesi ve Mikroalg Ekstraktlarının Biyofilm Üzerine Etkisi

Tez çalışmasında kullanılan bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapısının görüntülenebilmesi için 1x1 cm ebatlarında cam parçaları üzerinde biyofilm yapıları oluşturulmuş ve ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Elde edilen görüntülerde *L. garvieae* ve *A. hydrophila* bakterisinin yoğun miktarda biyofilm oluşturduğu görülürken *Y. ruckeri*'nin ise daha zayıf biyofilm oluşturduğu görülmüştür (Şekil 4.15-4.20). Elde edilen bu bulgu biyofilm inhibisyonu çalışmasındaki pozitif kontrol bulgularıyla uyumlu çıkmıştır. Mikroalg eklenen ekstraktlarda yüksek konsantrasyonlarda biyofilm oluşumu inhibe edilirken düşük konsantrasyonlarda ekstraktlar fazla etkili olmamıştır.

A. hydrophila ve *L. garvieae* bakterileri için kloroform ekstraktları en etkili ekstraktlar olmuştur. En az etkili olan ekstraktlar ise su ekstraktlarıdır. Etanol ve metanol ekstraktları ise yüksek konsantrasyonlarda etki gösterirken düşük konsantrasyonlarda belirgin bir inhibisyon görülmemiştir. Diğer iki bakteriye göre daha zayıf biyofilm oluşturan *Y. ruckeri* üzerine tüm ekstraktların etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen bu bulgular biyofilm inhibisyon çalışmasında elde edilen bulgularla uyum göstermektedir.

Husain vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada karanfil yağının *P. aeruginosa* ve *A. hydrophila*'da QS ile düzenlenen fonksiyonlarının ve biyofilm yapısının inhibisyonu araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda ışık mikroskobu altında *A. hydrophila*'nın oluşturduğu biyofilm yapısı görüntülenmiş ve %0,4 (v/v) konsantrasyonundaki karanfil yağının belirgin bir şekilde biyofilm yapısını azalttığı görüntülenmiştir.

LewisOscar vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada *S. platensis* (*A. platensis*) siyanobakterisinden metanol çözücüsü kullanarak elde ettikleri ekstraktın *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* ve *Serratia marcescens* bakterileri üzerine antibakteriyel ve biyofilm inhibisyon özellikleri incelenmiştir. Ayrıca EPS inhibisyonu, HYH inhibisyonu ve cam yüzeyinde oluşan biyofilm yapısının görüntülenmesi de çalışılmıştır. *A. hydrophila*'nın cam yüzeyinde oluşturduğu biyofilm yapısında ekstrakt eklenen (100 ng/mL) örnekte kontrole göre belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir. Bu tez çalışmasındaki sonuçlar LewisOscar vd. (2017) tarafından yapılan cam yüzeyinde oluşan biyofilm yapısı sonuçlarla ile benzerlik göstermektedir.

5.6. Mikroalg Ekstraktlarının *C. violaceum* (ATCC 12472) Bakterisinin Ürettiği Violacein Pigment Miktarı Üzerine Etkisi

Bakterilerde çevreyi algılama sisteminin (Quorum Sensing) inhibisyonu için rutin olarak *C. violaceum* (ATCC 12472) suşu kullanılmıştır. Tropikal ve subtropikal

bölgelerde yaşayan toprak kökenli gram negatif bir bakteri olan *Chromobacterium violaceum*, otoindükleyici bir molekül olan N-heksanoil homoserin laktonu (HHL) kullanarak QS'nin bir sonucu olarak menekşe renkli violacein pigmenti sentezlemektedir (Lichstein ve Van de Sand 1945). Otoindükleyici sentaz CviI geni tarafından üretilen HHL, çevreye salınmakta ve belirli bir yoğunluğa ulaşıldığında bakteri içerisine tekrar difüze olmaktadır. Otoindükleyici molekül, daha sonra transkripsiyon düzenleyici CviR'ye bağlanarak violacein gibi spesifik genlerin ekspresyonuna katılmaktadır (Choo vd. 2006). Tez çalışması kapsamında quorum sensingi inhibe ettiği bilinen 4-NPO pozitif kontrolü ve mikroalg ekstratlarının violacein inhibisyon özellikleri araştırılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda 4-NPO'nun 6,25-800 µM konsantrasyonları ile denemeler yapılmış olup 200 µM konsantrasyonu MİK değeri olarak kaydedilmiştir. 6,25-50 µM konsantrasyonları arasında da violacein pigment üretimini %26,24-99,40 oranında inhibe ettiği görülmüştür.

Mikroalg ekstratlarının violacein pigment üretimini %12,94-100,00 arasında inhibe ettiği görülmüştür. Her iki mikroalg için de etanol ve metanol ekstraktları benzer inhibisyon oranları görülürken, yüksek konsantrasyonlarda su ekstratlarının da oldukça etkili olduğu görülmüştür.

Truchado vd. (2009) yaptıkları çalışmada kestane balından elde ettikleri su ve metanol ekstratlarının *E. carotovora*, *Y. enterocolitica* ve *A. hydrophila* üzerine olan biyofilm ve QS inhibisyon özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda violacein pigmenti üretimini inhibe eden en iyi ekstraktın su ekstraktı (0,4 g/mL) olduğu bildirilmiştir. Metanol ekstraktının ise her hangi bir inhibisyona neden olmadığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise etanol ve metanol ekstraktlarında inhibisyon gözlenirken bu çalışmaya benzer olarak su ekstratlarının yüksek konsantrasyonlarında (2048-1024 µg/mL) violacein pigmenti inhibisyonu gözlenmiştir.

Santhakumari vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada çeşitli deniz mikroalglerinden kloroform:etil asetat (1:1) çözücüsüyle elde ettikleri ekstraktların *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus* ve *A. hydrophila* mikroorganizmaları üzerine olan antibiyofilm özellikleri ve virülans faktörlerin üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. *Synechococcus* sp. (Q-25) mikroalginden kloroform:etil asetat (1:1) çözücüsüyle elde ettikleri ekstraktın violacein pigmenti üretimini 50-200 µg/mL konsantrasyonlarında %39, 65, 73 ve 82 oranlarında inhibe ettiği bildirilmiştir.

5.7. Mikroalg Ekstratlarının Test Bakterilerince Üretilen AHL Molekülleri Üzerine Etkisi

Bakteriyel çevreyi algılama sisteminin (Quorum Sensing) gerçekleşebilmesi için ortamda bakterilerin ürettiği sinyal moleküllerinin belirli bir yoğunlukta olması gerekmektedir. Böylece bakteriler birbirleriyle haberleşir ve çeşitli metabolik yollarını

aktive ederek biyofilm oluşturma ve patojenite gibi özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlar (Miller ve Bassler 2001).

Tez çalışması kapsamında kullanılan *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri*'nin ürettiği sinyal moleküllerinin inhibisyonu *A. tumefaciens* (NT1) suşu kullanılarak test edilmiştir. Yapılan kalitatif ve kantitatif analizler sonucunda *A. hydrophila*'nın ürettiği sinyal moleküllerini en iyi inhibe eden ekstrakt *A. platensis* kloroform ekstraktı (%96,00-93,44), en az etkili olan ekstrakt ise *Nannochloropsis* sp. su ekstraktı olarak belirlenmiştir (%75,00-6,89).

L. garvieae'nin ürettiği sinyal moleküllerini en çok inhibe eden ekstraktlar *Nannochloropsis* sp. su (%81,83-22,58) ve *Nannochloropsis* sp. kloroform (%80,65-79,52) olmuştur. Ekstrakt konsantrasyonları ve buna bağlı olarak inhibisyon oranları göz önünde bulundurulduğunda *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktının daha etkili olduğu görülmektedir. Etanol ve metanol ekstraktlarında benzer inhibisyon oranları gözlenirken *A. platensis*'nin etanol ekstraktının diğerlerine göre biraz daha yüksek inhibisyon oranına sahip olduğu görülmektedir.

Y. ruckeri'nin ürettiği sinyal moleküllerini en iyi inhibe eden ekstrakt *A. platensis* metanol (%99,62-64,92) ve *A. platensis* kloroform (%95,24-69,52) ekstraktları olmuştur. *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı ise en düşük etkiye sahip ekstrakt olarak belirlenmiştir.

Truchado vd. (2009) yaptıkları çalışmada kestane balından elde ettikleri su ve metanol ekstraktlarının *E. carotovora*, *Y. enterocolitica* ve *A. hydrophila* üzerine olan biyofilm ve QS inhibisyon özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışma sonucunda QS moleküllerinin inhibisyonunda su ekstraktının metanol ekstraktlarına göre 0,2 g/mL konsantrasyonunda daha iyi olduğu bildirilmiştir. Bu durumun elde edilen sulu fazın içerdiği karbonhidrat fraksiyonunun inhibitör aktiviteden sorumlu antipatojenik bir madde içerdiğinden kaynaklandığını düşünmüşlerdir.

5.8. Mikroalg Ekstratlarının Total Fenolik Ve Ekstraselüler Polisakkarit İçeriği

Mikroalglerin yapısında bulunan fenolik bileşenler ve çeşitli polisakkaritler ekstraktların antibakteriyel etkileri üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da mikroalglerden elde edilen fenolik bileşiklerin ve polisakkaritlerin antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Abu-Ghannam ve Rajauria 2013;Tounsi vd. 2022).

Tez çalışması kapsamında çalışılan *Nannochloropsis* sp. mikroalgi ve *A. platensis* siyanobakterisinden etanol, metanol, kloroform ve su çözücülerini kullanarak elde edilen 8 farklı ekstraktın fenolik içerikleri gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en fazla total fenolik bileşik içeren ekstrakt *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktı (62,13 µg/mL) olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla *A. platensis*

kloroform (53,73 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. metanol (50,70 µg/mL), *A. platensis* metanol (48,29 µg/mL), *Nannochloropsis* sp. etanol (35,89 µg/mL), *A. platensis* etanol (21,41 µg/mL), *A. platensis* su (5,52 µg/mL) ve *Nannochloropsis* sp. su (4,98 µg/mL).

Total fenolik içerikler göz önünde bulundurulduğunda en fazla fenolik bileşene sahip *Nannochloropsis* sp. kloroform ekstraktının antimikrobiyal, biyofilm ve çevreyi algılama sistemi inhibisyon analizlerinde en yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir. Kuvvetli etki göstermesinin nedenleri arasında fenolik bileşik miktarının diğerlerine göre yüksek olması olarak gösterilmiştir.

Mikroalg ekstraktlarının içerdiği ekzopolisakkaritlerin miktarı spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek ekzopolisakkarite sahip ekstraktın *A. platensis* metanol ($OD_{595nm}=0,519\pm0,000$) olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalardaki etki sıralamasına bakıldığında 8 ekstrakt arasında *A. platensis* metanol ekstraktının genellikle ilk üç sırada yer aldığı görülmektedir. Kloroform ekstraktlarının ise en düşük ekzopolisakkarit miktarını içerdiği görülmüştür. Ekzopolisakkarit miktarı düşük olmasına rağmen içerdiği yüksek fenolik bileşiklere ve potansiyel yağ asitlerine sahip olduğu için etkisinin yüksek çıktığı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

Yapılan tez çalışması sonucunda;

1. *Nannochloropsis* sp. ve *A. platensis* mikroalglerinden elde edilen ekstratların antibakteriyel etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* kaynaklı balık enfeksiyonlarında antibiyotiklere alternatif bir tedavi ajanı olarak kullanılabilme potansiyelleri ortaya konmuştur. İleride yapılacak antimikrobiyal, biyofilm ve çevreyi algılama sistemi inhibisyonu ve in-vivo deney hayvanları çalışmaları için balık hastalık etmenleri üzerine etkili olan konsantrasyonlar belirlenmiş literatüre kazandırılmıştır.
2. Günümüzün önemli sorunlarından biri olan patojenik biyofilm yapıları tedavileri zorlaştırmaktadır. Tez çalışması kapsamında balık patojenleri olan *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri*'nin biyofilm oluşturma kapasiteleri belirlenmiştir. Ayrıca, söz konusu bakteriler üzerine mikroalg ekstraktları denenerek biyofilm oluşumunun ne kadar inhibe edildiği gösterilmiştir. Analizler kantitatif olarak yapılmış olup en etkili konsantrasyonlar ve alt konsantrasyonlarda ne gibi değişimlerin meydana geldiği gösterilmiştir..
3. *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* bakterilerin patojenitesinde önemli bir rolü olan hücre yüzey hidrofobikliği (HYH) oranları belirlenmiştir. Aynı zamanda mikroalg ekstraktlarının yüzey hidrofobikliği (HYH) üzerinde hangi dozda ne oranda etkili olduğu yapılan bu çalışmada ortaya konmuştur.
4. *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* için biyofilm yapısının en önemli parçalarından biri olan ekstraselüler polisakkarit madde (EPS) üretim kapasiteleri belirlenmiştir. Tez çalışmasında biyofilm oluşturma denemeleri yapılarak elde edilen sonuçlar desteklenmiştir. Mikroalg ekstraktlarının EPS degradasyonuna ve en etkili konsantrasyonlar belirtilmiştir.
5. *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* 'nin oluşturduğu biyofilm yapıları ışık mikroskobu altında görüntülenerek oluşturdukları biyofilm yapıları gösterilmiştir. Artan konsantrasyonlarda ortama verilen mikroalg ekstraktlarının biyofilm yapısını ne oranda inhibe ettiği fotoğraflanarak gösterilmiştir. En etkili mikroalg ekstratları ve konsantrasyonları belirlenerek elde edilen diğer verilerle desteklenmiştir.
6. Bakterilerde patojeniteyi açığa çıkaran mekanizmalardan biri olan çevreyi algılama sisteminin inhibisyonunu göstermek için standart test suşu olan *C. violaceum* (ATCC 12472) bakterisi ile çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Literatürde bakterilerdeki çevreyi algılama sistemini inhibe ettiği bilinen ve bu çalışmalarda pozitif kontrol olarak kullanılan 4-NPO'nun MİK değeri ve MİK değerinin altındaki konsantrasyonlarda violacein pigment üretiminin ne oranda inhibe edildiği gösterilmiştir. Aynı zamanda mikroalg ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda violacein pigment üretimini ne oranda inhibe ettiği araştırılmış ve en etkili ekstrakt ve konsantrasyonları belirlenmiştir.
7. *A. hydrophila*, *L. garvieae* ve *Y. ruckeri* 'nin ürettikleri sinyal moleküllerinin elde edilen mikroalg ekstraktlarınıninhibisyon oranları belirlenmiştir. En etkili konsantrasyon değerleri belirlenerek kaydedilmiştir. Ayrıca bu basamak için literatürde bulunan birkaç protokol tek bir çatı altında birleştirilmiş ve ortaya hibrit bir protokol çıkartılmıştır.

Tez çalışmasında elde edilen bulguların birçoğu literatüre yeni kazandırılmıştır. Bu veriler ileride yapılacak çalışmalar için birer destek ya da çıkış noktası oluşturacaktır.



7. KAYNAKLAR

- Abdel-Latif, H.M., El-Ashram, S., Sayed, A.E.D.H., Alagawany, M., Shukry, M., Dawood, M. A. ve Kucharczyk, D. 2022. Elucidating the ameliorative effects of the cyanobacterium *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and several microalgal species against the negative impacts of the aquatic contaminants in freshwater fish: a review. *Aquaculture*, 738155.
- Abraham, S.V.P.I., Palani, A., Ramaswamy, B.R., Shunmugiah, K.P. ve Arumugam, V.R. 2011. Antiquorum sensing and antibiofilm potential of *Capparis spinosa*. *Archives of Medical Research*, 42(8): 658-668.
- Abu Bakar, M., McKimm, J., Haque, S.Z., Majumder, M.A.A. ve Haque, M. 2018. Chronic tonsillitis and biofilms: a brief overview of treatment modalities. *Journal of Inflammation Research*, 329-337.
- Abu-Ghannam, N. ve Rajauria, G. 2013. Antimicrobial activity of compounds isolated from algae. In *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals*, Woodhead Publishing, pp. 287-306.
- Adebayo-Tayo, B., Salaam, A. ve Ajibade, A. 2019. Green synthesis of silver nanoparticle using *Oscillatoria sp.* extract, its antibacterial, antibiofilm potential and cytotoxicity activity. *Heliyon*, 5(10): e02502.
- Aktar, S. ve Cebe, G.E. 2010. General specifications, using areas of algae and their importance on pharmacy. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 39(3): 237-264.
- Akyurt, İ. ve Şahin, Y. 2010. Planktonlar ve Fotobiyoreaktörler. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1): 83-92.
- Al-Hashimi, A., Abdu-Allah, S.N., Al-Rrubaai, G. ve Mansur, R.F. 2016. The effect of microalgae extraction on bacterial species isolated from the seminal fluid of sexually-active males in Baghdad. *Journal of Gene and Environmental Resources Conservation*, 4(2): 171-177.
- Amara, N., Krom, B.P., Kaufmann, G.F. ve Meijler, M.M. 2011. Macromolecular inhibition of quorum sensing: enzymes, antibodies, and beyond. *Chemical Reviews*, 111:195–208
- Anonim. (2012). Su ürünleri sektör raporu. Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı.
- Aoki, T. 1999. Motile Aeromonads: *Aeromonas hydrophila*, In *Fish Diseases and Disorders*, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections (edited by P.T.K. Woo and D.W. Bruno). CABI Publishing, 1947.
- Arslan, G. ve Yıldız, P.O. 2021. Türkiye Su Ürünleri Sektörüne Genel Bakış. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 7(1): 46-57.
- Austin, B. ve Austin, D.A. 2016. Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish. Sixth edition. Springer International Publishing, Switzerland, pp: 41-603
- Aydın, S. ve Cıltas, A.K. 2004. Systemic *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): gross pathology, bacteriology, clinical pathology, histopathology and chemotherapy. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3. 810-819

- Ballester, E.L.C., Wasielesky, W.J., Cavalli, R.O., Santos, M.H.S. ve Abreu, P.C. 2003. Influência do biofilme no crescimento do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* em sistemas de berçário. *Atlântica*, 25:117-122.
- Balta, F., Dengiz Balta, Z., Özgümüş, O.B. ve Çağırgan, H. 2016. Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde *Yersinia ruckeri*'nin portörlük yönünden tetkiki ve antimikrobiyal direncin tespiti. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 1(3): 72-76.
- Bannai, M.A.A. 2013. Case Study: Diagnosis of *Aeromonas hydrophila* Infection Carassius gibelio Fish in Shatt Al-Arab River, South of Iraq. *International Journal of Aquaculture*, 3.
- Becker, E.W. 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge University Press, 9-42
- Bensehaila, S., Doumandji, A., Boutekrabt, L., Manafikhi, H., Peluso, I., Bensehaila, K. ve Bensehaila, A. 2015. The nutritional quality of *Spirulina platensis* of Tamenrasset, Algeria. *UZUN ADI Afr. J. Biotechnol*, 14: 1649-1654.
- Beveridge, T.J., Makin, S.A., Kadurugamuwa, J.L. ve Li, Z. 1997. Interactions between biofilms and the environment. *FEMS Microbiology Reviews*, 20(3-4): 291-303.
- Bhuvaneswari, G.R., Shukla, S.P., Makesh, M., Thirumalaiselvan, S., Sudhagar, S.A., Kothari, D.C. ve Singh, A. 2013. Antibacterial activity of *Spirulina* (*A. platensis* Geitler) against bacterial pathogens in aquaculture. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 65: 1-8
- Blanco A.M., Moreno, J., Del Campo, J.A., Rivas, J. ve Guerrero, M.G. 2007. Outdoor cultivation of lutein-rich cells of *Muriellopsis* sp. in open ponds. *UZUN ADI Appl Microbiol Biotechnol*, 73:1259-66
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G. ve Prinsep, M.R. 2017. Marine natural products. *UZUN ADI Nat. Prod. Rep.*, 34: 235-294.
- Bozkurt, E. 2019. Çeşitli tatlı su örneklerinden izole edilen bazı Mikroalglerin antimikrobiyal özelliklerinin ve anti-çöğünluk algılama aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya, 88 s.
- Bratvold, D. ve Browdy, C.L. 2001. Effect of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats™) on production, water quality and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. *Aquaculture*, 195:81-94.
- Braune, S., Krüger-Genge, A., Kammerer, S., Jung, F. ve Küpper, J.H. 2021. Phycocyanin from *Arthrospira platensis* as potential anti-cancer drug: Review of in vitro and in vivo studies. *Life*, 11(2): 91.
- Brewer, S.C., Wunderink, R.G., Jones, C.B. ve Leeper, K.V. 1996. Ventilator-associated pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest*, 109:1019-29.
- Cai, T., Park, S.Y., Racharaks, R. ve Li, Y.B. 2013. Cultivation of *Nannochloropsis salina* using anaerobic digestion effluent as a nutrient source for biofuel production. *Applied Energy*, 108: 486-192.

- Caraher, E., Reynolds, G., Murphy, P., McClean, S. ve Callaghan, M. 2007. Comparison of antibiotic susceptibility of Burkholderia cepacia complex organisms when grown planktonically or as biofilm in vitro. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(3): 213-216.
- Cepas, V., López, Y., Gabasa, Y., Martins, C.B., Ferreira, J.D., Correia, M.J., Santos, L.M.A., Oliveira, F., Ramos, V., Reis, M., Castelo-Branco, R., Morais, J., Vasconcelos, V., Probert, I., Guilloud, E., Mehiri, M. ve Soto, S.M. 2019. Inhibition of bacterial and fungal biofilm formation by 675 extracts from microalgae and cyanobacteria. *Antibiotics*, 8(2): 1–12.
- Chari, N., Felix, L.O., Davoodbasha, M.A., Sulaiman Ali, A. ve Nooruddin, T. 2017. In vitro and in vivo antibiofilm effect of copper nanoparticles against aquaculture pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10(April): 336–341.
- Chen, C.Y., Chen, Y.C., Huang, H.C., Huang, C.C., Lee, W.L. ve Chang, J.S., 2013. Engineering strategies for enhancing the production of eicosapentaenoic acid (EPA) from an isolated microalga *Nannochloropsis oceanica* CY2. *Bioresource Technology*, 147: 160-167.
- Choo, J.H., Rukayadi, Y. ve Hwang, J.K. 2006. Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. *Letters Applied Microbiology*, 42:637-641
- Choudhary, A., Naughton, L., Montánchez, I., Dobson, A. ve Rai, D. 2017. Current status and future prospects of marine natural products (MNPs) as antimicrobials. *Marine Drugs*, 15: 272.
- Cipriano, R.C. ve Austin, B. 2011. Furunculosis and Other Aeromonas Diseases. *Fish Diseases and Disorders*, 3: 424.
- Clark, D.P., Pazdernik, N.J. ve McGehee, M.R. 2019. Chapter 16–regulation of transcription in Prokaryotes. *Molecular Biology (Third Edition)*, Academic Cell, 522-559.
- Colla, L.M., Oliveira Reinehr, C., Reichert, C., Costa, J.A.V. 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *UZUN ADI Bioresour. Technol.* 98: 1489-1493.
- Coquet, L., Cosette, P., Junter, G.A., Beucher, E., Saiter, J.M. ve Jouenne, T. 2002a. Adhesion of *Yersinia ruckeri* to fish farm materials: influence of cell and material surface properties. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 26(4): 373-378.
- Coquet, L., Cosette, P., Quillet, L., Petit, F., Junter, G.A. ve Jouenne, T. 2002b. Occurrence and phenotypic characterization of *Yersinia ruckeri* strains with biofilm-forming capacity in a rainbow trout farm. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2): 470-475.
- Costerton, J.W., Cheng, K., Geesey, G.G., Ladd, T.I., Nickel, J.C., Dasgupta, M. ve Marrie, T.J. 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*, 41(1): 435-464
- Cuaresma, M., Garbayo, I. ve Vega, J.M. 2006. "Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga *Chlamydomonas acidophila* isolated from Tinto river", *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 158-162,

- Çağırğan, H. 2007. Gökkuşığı Alabalığı Hastalıkları, Doğu Anadolu Kalkınma Programı Tarım ve Kırsal Kalkınma Bileşeni, s: 8-65
- Çağırğan, H. ve Tanrıkul, T. 1995. A new problem for Turkish rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.) farms: *Enterococcus* like bacterium infection. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19 (33): 9-19
- Çağırğan, H. ve Tanrıkul, T. 1997. A lactococcosis in a trout farm. *In Mediterranean Fisheries Congress*. Vol. 9, No. 11.
- Çağırğan, H. ve Yüreklitürk, O. 1991. First Isolation of *Yersinia ruckeri* from a rainbow trout farm in Turkey (Poster). In: EAFP Fifth International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Book of abstracts, p. 131. 25-29 August, Budapest, Hungary
- Danley, M.L., Goodwin, A.E. ve Killian, H.S. 1999. Epizootics in farm-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), caused by the enteric redmouth bacterium *Yersinia ruckeri*. *Journal of Fish Diseases*, 22(6): 451-456.
- Davenport J., Black K., Burnell G., Cross T., Culloty S., Ekaratne S., Furness B., Mulcahy M. ve Thetmeyer H. 2003. Aquaculture: The Ecological Issues. British Ecological Society, Blackwell, Oxford.
- Davey, M.E. ve O'Toole, G.A. 2000. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4): 847-867.
- Davies, D. 2003. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *UZUN ADI Nature Reviews Drug Discovery*, 2:114e122.
- De Kievit, T.R. ve Iglewski, B.H. 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infection and Immunity*, 68: 4839-4849.
- De Kievit, T.R., Gillis, R., Marx, S., Brown, C. ve Iglewski, B.H. 2001. Quorum-sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: their role and expression patterns. *Applied and environmental microbiology*, 67(4): 1865-1873.
- De Pauw, N., Morales, J. ve Persoone, G. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture systems: Progress and constraints. *Hydrobiologia*, 116(1): 121-134.
- De Smet, K. ve Contreras, R. 2005. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnology Letters* 27:1337e1347.
- Deep, A., Chaudhary, U. ve Gupta, V. 2011. Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. *Journal of Laboratory Physicians*, 3(01): 004-011.
- Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., Verstraete, W. ve Bossier, P. 2007 Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. *Trends Biotechnology* 25: 472-479
- Del Campo, J.A., García-González, M. ve Guerrero, M.G. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Applied Microbiol Biotechnology*, 74:1163-74.
- Doan, T.T.Y., Sivaloganathan, B. ve Obbard, J.P. 2011. Screening of marine microalgae for biodiesel feedstock. *Biomass Bioenergy*, 35: 2534-2544.

- Doğru, E. 2012. Çeşitli uçucu yağ örneklerinin *Pseudomonas aeruginosa* suşunda çevreyi algılama sistemine etkisinin araştırılması. Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- Domenech, A., Prieta, J., Fernandez-Garayzabal, J.F., David Collins, M., Jones, D. ve Dominguez, L. 1993. Phenotypic and phylogenetic evidence for a close relationship between *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus seriolicida*. Uzun adı *Microbiologia*, 9(1): 63-68
- Dong, Y.H. ve Zhang, L.H. 2005. Quorum sensing and quorum-quenching enzymes. *Journal of Microbiology*, 43:101-9
- Doukas, V. Athanassopoulou, F. Karagouni, E. ve Dotsika, E. 1998. Short Communication *Aeromonas hydrophila* Infection in Cultured Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* L., and *Puntazzo puntazzo* Cuvier from the Aegean Sea, *Journal of Fish Diseases*, 21(4): 317-320.
- Dunn, M. ve Wunderink, R.G. 1995. Ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas* infection. Uzun adı *Clinics Chest Med*, 16:95-109.
- Eldar, A., Gorla, M., Ghittino, C., Zlotkin, A. ve Bercovier, H. 1999. Biodiversity of *Lactococcus garvieae* strains isolated from fish in Europe, Asia, and Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3): 1005-1008.
- El-Sheekh, M.M., Hamad, S.M. ve Gomaa, M. 2014. Protective effects of Spirulina on the liver function and hyperlipidemia of rats and human. *Brazilian Archives Biology and Technology*, 57: 77-86.
- Engelbrecht, J. ve Silverman, M. 1984. Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 81:4154-58
- Ewing, W.H., Ross, A.J., Brenner, D.J. ve Fanning, G.R. 1978. *Yersinia ruckeri* sp. nov., the redmouth (RM) bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 28(1): 37-44.
- Fang, H.M. Ge, R. ve Sin, Y.M. 2004. Cloning, characterization and expression of *Aeromonas hydrophila* major adhesion. *Fish Shellfish Immunology*, 16: 645-658.
- Fergie, J.E., Shema, S.J., Lott, L., Crawford, R. ve Patrick, C.C. 1994. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in immunocompromised children: Analysis of factors associated with a poor outcome. *Clinical Infectious Diseases*, 18:390-4.
- Flemming, H.C. ve Wingender, J. 2001. Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-Part I: Structural and ecological aspects. *Water Science and Technology*, 43(6): 1-8.
- Flemming, H.C. ve Wingender, J. 2010. The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8: 623-633.
- Fuhrmann, H., Böhm, K.H. ve Schlotfeldt, H.J. 1983. An outbreak of enteric redmouth disease in West Germany. *Journal of Fish Diseases*, 6(3): 309-311.
- Gavrilescu, M. ve Chisti, Y. 2005. Biotechnology-a sustainable alternative for chemical industry. *Biotechnology Advances*, 23:471-99.

- Gayathiri, E., Bharathi, B. ve Priya, K. 2018. Study of the enumeration of twelve clinical important bacterial populations at 0.5 mcfarland standard. *International Journal of Creative Researh Thoughts (IJCRT)*, 6(2): 880-893.
- Gayatri, K.V., Soundhari, C. ve Pavithra, B.P. 2019. Biofilm inhibitory effect of *Chlorella* extracts on *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4): 1966-1971.
- Grogard, F., Akhmetzhanov, A., Masci, P. ve Bernard, O. 2010. Optimization of a photobioreactor biomass production using natural light. In *49th IEEE Conference on Decision and Control (CDC)* (pp. 4691-4696). IEEE.
- Haas, S., Bauer, J. L., Adakli, A., Meyer, S., Lippemeier, S., Schwarz, K. ve Schulz, C. 2016. Marine microalgae *Pavlova viridis* and *Nannochloropsis* sp. as n-3 PUFA source in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Applied Phycology*, 28(2): 1011-1021.
- Hajimahmoodi, M., Sadeghi, N., Jannat, B., Oveisi, M.R., Madani, S., Kiayi, M., Akrami, M.R. ve Ranjbar, A.M. 2008. Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of Iranian olive cultivar. In *Journal of Biological Sciences* 8 (4): 779-783.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W. ve Stoodley, P. 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2): 95-108.
- Hariskos, I. ve Posten, C. 2014. Biorefinery of microalgae - opportunities and constraints for different production scenarios. *Biotechnology Journal*, 9 (6): 739-752.
- He, H.Z., Li, H.B. ve Chen, F. 2005. Determination of vitamin B1 in seawater and microalgal fermentation media by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 383:875-9.
- Hentzer, M. ve Givskov, M. 2003. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *The Journal of Clinical Investigation*, 112:1300-7.
- Huang, J.C., Chen, F. ve Sandmann, G. 2006. Stress-related differential expression of multiple β -carotene ketolase genes in the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Biotechnology*, 122:176-85.
- Huang, Y. 2013. Epidemiological Study on *Yersinia ruckeri* Isolates from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in North West Germany. In *University of Veterinary Medicine Hannover*. pp. 158
- Husain, F.M., Ahmad, I., Asif, M. ve Tahseen, Q. 2013. Influence of clove oil on certain quorum-sensing-regulated functions and biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Biosciences*, 38: 835-844.
- Iglesias, M.J., Soengas, R., Probert, I., Guilloud, E., Gourvil, P., Mehiri, M., López, Y., Cepas, V., Gutiérrez-del-Río, I., Redondo-Blanco, S., Villar, C.J., Lombó, F., Soto, S. ve Ortiz, F.L. 2019. NMR characterization and evaluation of antibacterial and antiobiofilm activity of organic extracts from stationary phase batch cultures of five marine microalgae (*Dunaliella* sp., *D. salina*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis* and *Tisochrysis lutea*). *Phytochemistry*, 164(May): 192-205.

- Ip, P.F. ve Chen, F. 2005. Employment of reactive oxygen species to enhance astaxanthin formation in *Chlorella zofingiensis* in heterotrophic culture. *Process Biochemistry*, 40:3491-3496.
- Kalia, V.C. 2013. Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology Advances*, 31(2): 224-245.
- Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M. ve Hultgren, S.J. 2013. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(4): a010306.
- Kuşat, N. 2019. Su ürünleri sektörü rekabet gücü analizi: Türkiye ve beş lider ülke örneği. *Acta Aquatica Turcica*, 15(1): 43-54.
- Leung, T.L.F. ve Bates, A.E. 2012. More rapid and severe disease outbreaks for aquaculture at the tropics: Implications for food security. *Journal of Applied Ecology* 50:215-222.
- LewisOscar, F., Nithya, C., Bakkiyaraj, D., Arunkumar, M., Alharbi, N.S. ve Thajuddin, N. 2017. Biofilm inhibitory effect of *Spirulina platensis* extracts on bacteria of clinical significance. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, 87(2): 537-544.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q. ve Dubois-Calero, N. 2008b. Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*, 24(4):815-20.
- Li, Y., Wang, B., Wu, N. ve Lan, C.Q. 2008a. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid production of *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81(4):629-36.
- Lichstein, H.C. ve van de Sand, V.F. 1945. Violacein, an antibiotic pigment produced by *Chromobacterium violaceum*. *The Journal of Infectious Diseases*, 76: 47-51.
- Lopez, V.C., Cubillos, Y.L., Martins, C., Santos, L. ve Guilloud, E. 2017. Session : P026 Biofilms : new developments and anti-biofilm modalities Category: 9a . Microbial pathogenesis & virulence Screening antibiofilm activity of microalgae extracts against Gram-negative bacilli. *Pierre et Marie Curie-Paris 6. April*.
- Lubiân, L.M. 1982. *Nannochloropsis gaditana* sp. nov., una nueva Eustigmatophyceamarina. *Lazaroa*, 4: 287-293.
- Lynch, M.J., Swift, S., Kirke, D.F., Keevil, C.W., Dodd, C.E. ve Williams, P. 2002. The regulation of biofilm development by quorum sensing in *Aeromonas hydrophila*. *Environmental Microbiology*, 4(1): 18-28.
- Madigan, M.T. ve Martinko, J.M. 2010. Brock biology of microorganisms (11th ed.). Pearson Prentice Hall, USA. 992 pp.
- Maruyama, I., Nakamura, T., Matsubayashi, T., Ando, Y. and Naeda, T. 1986. Identification of the alga known as „marine chlorella" as a member of the Eustigmatophyceae. *Japanese Journal of Phycology* 34: 319-325.
- Mata, T.M., Martins, A.A. ve Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1): 217-232.

- McGowan, S.J., Barnard, A.M., Boşgelmez, G., Sebahia, M., Simpson, N.J., Thomson, N.R., Todd, D.E., Welch, M., Whitehead, N.A. ve Salmond, G.P. 2005. Carbapenem antibiotic biosynthesis in *Erwinia carotovora* is regulated by physiological and genetic factors modulating the quorum sensing-dependent control pathway. *Molecular Microbiology*, 2: 526-545
- McCarty, M.F. 2007. Clinical potential of Spirulina as a source of phycocyanobilin. *Journal of Medicinal Food* 10, 566-570.
- McDougald, D., Rice, S.A. ve Kjelleberg S. 2007. Bacterial quorum sensing and interference by naturally occurring biomimics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387:445-53.
- Mehdizadeh Allaf, M. ve Peerhossaini, H. 2022. Cyanobacteria: Model microorganisms and beyond. *Microorganisms*, 10(4): 696.
- Melo L.F., Bott, T.R., Fletcher, M. ve Capdeville, B. 1992. Biofilms-Science and Technology. Springer-Science+Business Media, BV, Vol. 223.
- Mendelson, M.H., Gurtman, A., Szabo, S., Neibart, E., Meyers, B.R., Policar, M, Cheung, T.W., Lillienfeld, D., Hammer, G., Reddy, S., Choi, K. Ve Hirschman, S.Z. 1994. *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in patients with AIDS. *Clinical Infectious Diseases*, 18:886-95.
- Miller, M.B. ve Bassler, B.L. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1): 165-199.
- Miyamoto, C.M., Boylan, M., Graham, A.F. ve Meighen E.A. 1988. Organization of the lux structural genes of *Vibrio harveyi*. Expression under the T7 bacteriophage promoter, mRNA analysis, and nucleotide sequence of the luxD gene. *Journal of Biological Chemistry*, 263:13393-99
- Moreno-Garcia, L., Adjallé, K., Barnabé, S. ve Raghavan, G. 2017. Microalgae biomass production for a biorefinery system: recent advances and the way towards sustainability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76:493-506.
- Moss, K.R.K. ve Moss, S.M. 2004. Effects of artificial substrate and stocking density on the nursery production of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 35:536-542.
- Motuhi, S.E., Mehiri, M., Payri, C., La Barre, S. ve Bach, S. 2016. Marine natural products from New Caledonia: A Review. *Marine Drugs*, 14: 58.
- Murray, T.S., Egan, M. ve Kazmierczak, B.I. 2007. *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonization in cystic fibrosis patients. *Current Opinion in Pediatrics*, 19:83-8.
- Muzquiz, J.L., Royo, F. M., Ortega, C., Blas, I. De, Ruiz, I. ve Alonso, J.L. 1999. Pathogenicity of Streptococcosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Dependence on age of diseased fish. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 19(3): 114-119.
- 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 and Technology*, 48(7): 1533-1540.

- Nealson, K.H. ve Hastings, J.W. 1979. Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiology Reviews*, 43:496-518.
- Nigam, P.S. ve Singh, A. 2011. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37:52-68.
- Nithya, C., Devi, M.G. ve Karutha Pandian, S. 2011. A novel compound from the marine bacterium *Bacillus pumilus* S6-15 inhibits biofilm formation in gram-positive and gram-negative species. *Biofouling*, 27(5): 519-528.
- Oh, H.M., Choi, A. ve Mheen, T.I. 2003. High-value materials from microalgae. *Korean Journal Microbiology Biotechnology*, 31:95-102.
- Otles, S. ve Pire, R. 2001. Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. *Journal of AOAC International*. 84: 1708-1714.
- Öztürk, T., Didinen, B.I., Doğan, G., Özer, A. ve Bircan, R. 2013. Lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) in the middle Black Sea Region in Turkey and antimicrobial susceptibility of the aetiological agent, *Lactococcus garvieae*. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 24: 7-12.
- Pandey, P.K., Bharti, V. ve Kumar, K. 2014. Biofilm in aquaculture production. *African Journal of Microbiology Research*, 8.
- Pandey, P.K. ve Kumar, V.S. 2022. Biofilm in aquaculture production. In *Advances in Fisheries Biotechnology* pp. 401-422. Singapore: Springer Nature Singapore.
- Pérez-Sánchez, T., Balcázar, J.L., García, Y., Halaihel, N., Vendrell, D., De Blas, I., Merrifield, D.L. ve Ruiz-Zarzuela, I. 2011. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with inhibitory activity against *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 34(7): 499-507.
- Ponnusamy, K., Paul, D. ve Kweon, J.H. 2009. Inhibition of quorum sensing mechanism and *Aeromonas hydrophila* biofilm formation by vanillin. *Environmental Engineering Science*, 26(8): 1359-1363.
- Pyne, S., Bhattacharjee, P. ve Srivastav, P. 2017. Microalgae (*Spirulina platensis*) and its bioactive molecules: review. *Indian Journal of Nutrition* 4: 1-6.
- Radhakrishnan, M.V. ve Sugumaran, E. 2010. Effect of Sugarcane Bagasse on Growth Performance of *Hereropneustes fossilis* (Bloch.) Fingerlings. *Journal of Experimental Sciences*, 1(1):1-2.
- Radmer, R.J. 1996. Algal diversity and commercial algal products new and valuable products from diverse algae may soon increase the already large market for algal products. *Bioscience*, 46:263-70.
- Ragaza, J.A., Hossain, M.S., Meiler, K.A., Velasquez, S.F. ve Kumar, V. 2020. A review on *Spirulina*: alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. *Reviews in Aquaculture*, 12: 2371-2395.
- Raja, R., Hemaiswarya, S., Kumar, N.A., Sridhar, S. ve Rengasamy, R. 2008. A perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Critical Reviews in Microbiology*, 34:77-88.

- Ravi, M., De, S.L., Azharuddin, S. ve Paul, S.F. 2010. The beneficial effects of *Spirulina* focusing on its immunomodulatory and antioxidant properties. *Nutrition and Dietary Supplements*, 2: 73–83.
- Reboloso-Fuentes, M.M., Navarro-perez, A., Garcia-Camacho, F., Ramos-Miras, J.J. ve Guil-guerrero, J.L. 2001. Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49(6): 2966-2972.
- Richmond, A. 2004. Biological principles of mass cultivation. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. p- 125-77.
- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S.A., Lee, K. ve Rashid, N. 2018. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92:394-404.
- Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G. ve Tredici, M.R. 2009. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102, 100-112.
- Rodriguez-Tudela, J.L., Barchiesi, F., Bille, J., Chryssanthou, E., Cuenca-Estrella, M., Denning, D., Donnelly, J.P., Dupont, B., Fegeler, W., Moore, C., Richardson, M. ve Verweij, P. E. 2003. Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8): i-viii.
- Rogers, S.A., Huigens, R.W., Cavanagh, J. ve Melander, C. 2010. Synergistic effects between conventional antibiotics and 2-aminoimidazole-derived antibiofilm agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(5): 2112-2118.
- Roilides, E., Simitsopoulou, M., Katragkou, A. ve Walsh, T.J. 2015. How biofilms evade host defenses. *Microbiology Spectrum*, 3: 1-10.
- Ryckebosch, E., Bruneel, C., Termote-Verhalle, R., Goiris, K., Muylaert, K. ve Foubert, I. 2014. Nutritional evaluation of microalgae oils rich in omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids as an alternative for fish oil. *Food Chemistry*, 160: 393-400.
- Saber, M., Golzary, A., Hosseinpour, M., Takahashi, F. ve Yoshikawa, K. 2016. Catalytic hydrothermal liquefaction of microalgae using nanocatalyst. *Applied Energy*, 183: 566-576.
- Sampathkumar, S.J., Srivastava, P., Ramachandran, S., Sivashanmugam, K. ve Gothandam, K.M. 2019. Lutein: A potential antibiofilm and antiquorum sensing molecule from green microalga *Chlorella pyrenoidosa*. *Microbial Pathogenesis*, 135: 103658.
- Santhakumari, S., Kannappan, A., Pandian, S.K., Thajuddin, N., Rajendran, R.B. ve Ravi, A.V. 2016. Inhibitory effect of marine cyanobacterial extract on biofilm formation and virulence factor production of bacterial pathogens causing vibriosis in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 28(1): 313-324.
- Saranraj, P. ve Sivasakthi, S. 2014. *Spirulina platensis*—food for future: a review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 4: 26-33.

- Sayin, Z., Ucan, U. S. ve Sakmanoglu, A. 2016. Antibacterial and antibiofilm effects of boron on different bacteria. *Biological Trace Element Research*, 173: 241-246.
- Selvendran, M. 2013. Studies on antimicrobial compounds from selected marine phytoplanktons. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2): P876-88.
- Serban, M.C., Sahebkar, A., Dragan, S., Stoichescu-Hogea, G., Ursoniu, S., Andrica, F.M. ve Banach, M. 2016. A systematic review and meta-analysis of the impact of Spirulina supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical Nutrition*, 35: 842-851
- Shahi, N., Mallik, S.K., Sahoo, M. ve Das, P. 2013. Biological characteristics and pathogenicity of a virulent *Aeromonas hydrophila* associated with ulcerative syndrome in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in India. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 65: 926-936.
- Shahin, K., Veek, T., Heckman, T.I., Littman, E., Mukkatira, K., Adkison, M., Welch, T.J., Imai, D.M., Pastenkos, G., Camus, A. ve Soto, E. 2022. Isolation and characterization of *Lactococcus garvieae* from rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, from California, USA. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4): 2326-2343.
- Shannon, E. ve Abu-Ghannam, N. 2016. Antibacterial derivatives of marine algae: An overview of pharmacological mechanisms and applications. *Marine Drugs*, 14: 81.
- Shekharam, K.M., Venkataraman, L.V. ve Salimath, P.V. 1987. Carbohydrate composition and characterization of two unusual sugars from the blue green alga *Spirulina platensis*. *Phytochemistry*, 26: 2267-2269.
- Shi, X. ve Zhu, X. 2009. Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science and Technology*, 20(9):407-413.
- Sifri, C.D. 2008. Quorum sensing: Bacteria talk sense. *Clinical Infectious Diseases*, 47 (8): 1070-1076.
- Singh, A., Nigam, P.S. ve Murphy, J.D. 2011. Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels. *Bioresource Technology*, 102:26-34.
- Singh, S., Kate, B.N. ve Banerjee, U. 2005. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25:73-95.
- Soni, R.A., Sudhakar, K. ve Rana, R.S. 2017. Spirulina–From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 157-171.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. ve Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101:87-96.
- Sridevi, N.S., Dhanusha, V., Rajeswari, M. ve Santhi N. 2019. An in-vitro antibiofilm activity of *Chlorella vulgaris*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(8): 239-242.
- Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. ve Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). *Bacteriology Reviews*, 35: 171-205.

- Stevens, A.M. ve Greenberg, EP. 1997. Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: essential elements for activation of the luminescence genes. *Journal of Bacteriology*, 179(2): 557-562.
- Stewart, P.S. 2015. Antimicrobial Tolerance in Biofilms. *Microbiology Spectrum*, 3: 1-30.
- Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H. ve Renganathan, S. 2016. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: a biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55:909-41.
- Cohen, Z. (1999). Chemicals from Microalgae (1st ed.). CRC Press. 419 pp.
- Tang, H.B., DiMango, E., Bryan, R., Gambello, M., Iglewski, B.H., Goldberg, J.B. ve Prince, A. 1996. Contribution of specific *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors to pathogenesis of pneumonia in a neonatal mouse model of infection. *Infection and Immunity*, 64:37-43.
- Thamburaj, S., Ramaraj, E., Sethupathy, S., Kamalanathan, C., Raji, A. ve Rajasekharan, S.K. 2020. Antibacterial and antibiofilm activities of diphyllin against fish pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 145: 104232.
- Thenmozhi, R., Nithyanand, P., Rathna, J. ve Karutha Pandian, S. 2009. Antibiofilm activity of coral-associated bacteria against different clinical M serotypes of *Streptococcus pyogenes*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 57(3): 284-294.
- Timur, G. ve Timur, M. 2003. Balık Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Rektörlük Yayın No: 4426. İstanbul. 538.
- Tounsi, L., Hentati, F., Hlima, H.B., Barkallah, M., Smaoui, S., Fendri, I., Michaud, P. ve Abdelkafi, S. 2022. Microalgae as feedstock for bioactive polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 221: 1238-1250.
- Truchado, P., Gil-Izquierdo, A., Tomás-Barberán, F. ve Allende, A. 2009. Inhibition by chestnut honey of N-Acyl-L-homoserine lactones and biofilm formation in *Erwinia carotovora*, *Yersinia enterocolitica*, and *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(23): 11186-11193.
- TÜİK. 2022. Su Ürünleri İstatistikleri <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Su-Urunleri-2022-49678>
- Vendrell, D., Balcázar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., de Blas, I., Gironés, O., Múzquiz, J.L. 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29(4): 177-198.
- Walne, P.R. 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria*, and *Mytilis*. *Fisheries Investment* 26: 162.
- Waters, C.M. ve Bassler, B.L. 2005. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annual Review of Cell Developmental Biology*, 21:319-46.

- Wen, Z.Y. ve Chen, F. 2003. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnology Advances* 21:273-94.
- Wijffels, R.H. 2008. Potential of sponges and microalgae for marine biotechnology. *Trends Biotechnol*, 26:26-31.
- Williams P, Camara M, Hardman A, Swift, S., Milton, D., Hope, V.J., Winzer, K., Middleton, B., Pritchard, D.I. ve Bycroft, B.W. 2000. Quorum sensing and the population-dependent control of virulence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* ;355(1397): 667-680.
- Wingender, J., Neu, T.R. ve Flemming, H.C. 1999. Microbial extracellular polymeric substances: characterization, structure, and function. *Springer Science and Business Media*. 227 pp.
- Wollina, U., Voicu, C., Gianfaldoni, S., Lotti, T., Frana, K. ve Tchernev, G. 2018. *Arthrospira platensis*–potential in dermatology and beyond. *Open access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(1): 176.
- Yamasaki, Y., Ishii, K., Taga, S. ve Kishioka, M. 2018. Enhancement of dietary effect of *Nannochloropsis* sp. on juvenile *Ruditapes philippinarum* clams by alginate hydrolysates, *Aquaculture Reports*, 9: 31-36.
- Yılmaz Öztürk, B., Yenice Gürsu, B. ve Dağ, İ. 2020. Antibiofilm and antimicrobial activities of green synthesized silver nanoparticles using marine red algae *Gelidium corneum*. *Process Biochemistry*, 89: 208-219.
- Zanella, L. ve Vianello, F. 2020. Microalgae of the genus *Nannochloropsis*: Chemical composition and functional implications for human nutrition. *Journal of Functional Foods*, 68: 103919.
- Zhang, F., Man, Y.B., Mo, W.Y. ve Wong, M.H. 2020. Application of *Spirulina* in aquaculture: a review on wastewater treatment and fish growth. *Reviews in Aquaculture*, 12: 582-599.
- Zhang, Y., Djakpo, O., Xie, Y., Guo, Y., Yu, H., Cheng, Y., Qian, H., Shi, R. ve Yao, W. 2019. Anti-quorum sensing of *Galla chinensis* and *Coptis chinensis* on bacteria. *LWT*, 101: 806-811.
- Zhu, B.H., Sun, F.Q., Yang, M.; Lu, L., Yang, G.P. ve Pan, K.H. 2014. Large-scale biodiesel production using flue gas from coal-fired power plants with *Nannochloropsis* microalgal biomass in open raceway ponds. *Bioresource Technology*, 174: 53-59.

ÖZGEÇMİŞ

Hasan Emre YILMAZ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2018-2023	Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi
2015-2017	Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Sivas
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi
2011-2015	Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Sönmez, B., Bağda, E., Candan, O., & Yilmaz, H. E. (2019). Sex determination in green turtle hatchlings: geometric morphometry and molecular sex markers. *Natural and Engineering Sciences*, 4(1), 42-54.
2. Mutlu, E., Çağatay, I. T., Olguner, M. T., & Yilmaz, H. E. (2020). A new sea-nettle from the Eastern Mediterranean Sea: *Chrysaora pseudocellata* sp. nov. (Scyphozoa: Pelagiidae). *Zootaxa*, 4790(2), 229-244.
3. Yılmaz, H. E., Bağda, E., Bağda, E., & Durmuş, M. (2021). Interaction of water soluble cationic gallium (III) phthalocyanines with different G-quadruplex DNAs. *Polyhedron*, 208, 115404.
4. Çağatay, I. T., Özbaş, M., Yılmaz, H. E., & Ali, N. (2021). Determination of Antibacterial Effect of *Nannochloropsis oculata* Against Some Rainbow Trout Pathogens. *Natural and Engineering Sciences*.
5. Aktop, Y., Yılmaz, H. E., & Çağatay, İ. T. (2021). Geographical Distribution of Freshwater Fish Parasite *Clinostomum* spp. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 7(1), 58-63.
6. Çağatay, I. T., Aydın, B., Aktop, Y., & Yilmaz, H. E. (2022). Molecular And Morphologic Study Of *Clinostomum complanatum* (Digenea Clinostomidae) In Garra Rufa (Doctor Fish) From Southern Turkey. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 4759.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. Bağda, E., Yılmaz, H.E., Kadınşah H. ve Dönmez, E. (2016) Türkiye’de Yayılış Gösteren *Chrysochamela Boissier* (Brassicaceae, Camelinae) Türlerinin Filogenetik Analizi. 1st International Academic Research Congress. (Özet Bildiri)
2. Yılmaz, H.E. ve Çağatay, İ.T. (2019) Su Ürünlerinde Tür Tespitinde Kullanılan Moleküler Genetik Yöntemler. Uluslararası 30 Ağustos Bilimsel Araştırmalar Sempozyumu. (Tam Metin Bildiri)
3. Aktop, Y., Yılmaz, H.E. & Çağatay, İ.T. (2019) Tatlı Su Balıkları Paraziti Olan *Clinostomum spp.*’nin Coğrafik Dağılımı. Uluslararası 30 Ağustos Bilimsel Araştırmalar Sempozyumu. (Özet Bildiri)
4. Çağatay, İ.T., Özbaş, M., Sati, N. ve Yılmaz, H.E. (2019). Antimicrobial Activity Of *Nannochloropsis Spp.* Against Fish Pathogens. Aquaculture Europe. (Özet Bildiri)
5. Yılmaz, H.E. ve Çağatay, İ.T. (2019). Antimicrobial Activity of Microalgae on Fish Pathogens. 1st International Congress of the Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology (Özet Bildiri)
6. Aktop, Y., Yılmaz, H.E. ve Çağatay, İ.T. (2021). Bazı Ticari Yağların Balık Patojenleri Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi. 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021). (Özet Bildiri)
7. Aktop, Y., Yılmaz, H.E. ve Çağatay, İ.T. (2021). Bazı Balık Patojenleri Üzerine Ticari Kişniş Otu (*Coriandrum sativum*) Yağının Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2021). (Özet Bildiri)