



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



Doktora Tezi

**ULUDAĞ (BURSA) BUZUL, BEYŞEHİR (KONYA) ve EBER
(AFYON) GÖLLERİNDE METAGENOMİK ÇALIŞMALAR**

Fahri PAT

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ercan ARICAN**

Aralık, 2024

İSTANBUL

Bu çalışma, 25.12.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Ercan ARICAN (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Ali KARAGÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Emre YÖRÜK
İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi

Prof. Dr. Veysel Sabri HANÇER
İstinye Üniversitesi
Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Özgür ÇAKIR
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FDK-2019-34349 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

Pat, F. ve diğ. (2024) “Comparative 16s metagenomic analysis of prokaryotic diversity in freshwater and permanent snow-line glacial lakes in Türkiye,” *Archives of Biological Sciences*, 76(2), pp. 233–243. <https://doi.org/10.2298/ABS240324016P>.

PAT, F. ve diğ. (2024) “Eber Gölü Prokaryotik Çeşitliliğinin Metagenomik Çalışmasıyla Karakterizasyonu,” *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(1), pp. 437–446. <https://doi.org/10.21597/jist.1265800>.

Pat, F. ve diğ. (2023) “The Characterization of Prokaryotic Diversity in Lake Beyşehir Using a 16s Metagenomics Study,” *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, 9(3), pp. 719–729. <https://doi.org/10.28979/jarnas.1217912>.

ÖNSÖZ

Bu Doktora tez çalışması, İ.Ü. Bilimsel Araştırma Fonu tarafından FDK-2019-34349 no'lu doktora araştırma projesi ile desteklenmiştir, adı geçen bu kuruma teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam esnasında bilgisini, tecrübelerini ve desteğini paylaşan tez danışmanım Prof. Dr. Ercan ARICAN'a, tez çalışmamın biyoinformatik kısmında bilgisini, deneyimini ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Alper YILMAZ'a, tez çalışmam süresince teknik bilgilerini benimle paylaşan Neşe AKÇAY'a, ve Sultan FİDAN PEDÜK'e teşekkürü borç bilirim. Tüm çalışmalarım boyunca yanımda olan zorlu arazi çalışmalarım da desteğini esirgemeyen sevgili eşim Hatice Kübra KIZIL PAT'a eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, aldığım kararlarda bana destek veren ve öğrenimimi her şeyin önüne koyarak beni yürekten teşvik eden sevgili aileme; başta babam Salih PAT ve annem Şerife PAT olmak üzere, ağabeyim ve ailesi Fatih ve Sevda PAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın arazi çalışmalarında benim yanımda olan ve manevi desteklerini esirgemeyen kayınpederim Adem KIZIL, kayınvalidem Gülşen KIZIL ve kız kardeşim Fatmanur KIZIL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2024

Fahri PAT

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1 ÇALIŞMA ALANLARI	4
2.1.1 Beyşehir Gölü.....	4
2.1.2 Eber Gölü.....	5
2.1.3 Uludağ Buzul gölleri	6
2.2 SU MİKROBİYAL EKOLOJİSİ.....	7
2.2.1 Deniz ve Okyanusların Mikrobiyal Ekolojisi.....	9
2.2.2 Tatlı Su Mikrobiyal Ekolojisi	10
2.3 MİKROORGANİZMALARIN BİYOJEOKİMYASAL DÖNGÜLERDEKİ ROLLERİ	10
2.3.1 Su Ekosistemlerinde Karbon Döngüsü.....	10
2.3.2 Su Ekosistemlerinde Azot Döngüsü	12
2.4 EKOSİSTEMLERDE MİKROBİYAL BİYOÇEŞİTLİLİĞİN ARAŞTIRILMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER.....	13
2.4.1 Kültüre Bağımlı Yöntemler	13
2.4.1.1 Kültivasyon.....	14
2.4.1.2 Biolog EcoPlate	14
2.4.2 Kültür-Bağımsız Çalışmalar ile Mikrobiyal Komünite Analizi	15
2.4.2.1 16S rDNA gen klonlama.....	15
2.4.2.2 Yüksek verimlilikteki dizileme teknolojileri	16
2.4.2.2.1 Illumina platformu	17
2.4.2.4 Metagenomik	18

2.4.2.5 Biyoinformatik analiz	21
2.5 TÜRKİYE'DEKİ ÖNEMLİ SULAK ALANLARDA YAPILMIŞ MİKROBİYAL ÇALIŞMALAR.....	24
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	27
3.1 ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ	27
3.2 DNA İZOLASYONU VE MİKTAR TAYİNİ	29
3.3 PCR İLE 16S RRNA GENİNİN V3-V4 BÖLGESİNİN ÇOĞALTILMASI VE AGAROS JEL ELEKTROFOREZİ İLE GÖRÜNTÜLEME SÜREÇLERİ	30
3.4 ÖRNEKLERİN ILLUMINA YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE DİZİLENMESİ VE BİYOENFORMATİK ANALİZİ	32
4. BULGULAR.....	35
4.1 ALAN SEÇİMİ VE ÖRNEKLERİN TOPLANMASI	35
4.2 GÖL SU ÖRNEKLERİNE AİT PH VE SICAKLIK DEĞERLERİ	37
4.3 GÖL SU ÖRNEKLERİNE AİT DNA'LARIN KONSANTRASYONLARI	37
4.4 BAKTERİYEL TOPLULUKLARIN ÇEŞİTLİLİK ANALİZİ	39
4.5 ÇALIŞMA ALANLARININ METAGENOMİK BULGULARI	42
4.4.1 Beyşehir Gölü.....	42
4.4.2 Eber Gölü.....	45
4.4.3 Uludağ Buzlu Göl.....	48
4.4.4 Uludağ Kilimli Göl.....	51
4.4.5 Uludağ Karagöl	54
4.6 EZBİOCLOUD VE MOTHUR SİSTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRMASI	60
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	71
KAYNAKLAR	76
EKLER	87
ÖZGEÇMİŞ	88

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1 Dünyadaki Suyun Dağılımı.....	3
Şekil 2.2 İç Sular Organik Karbon Döngüsü.....	12
Şekil 2.3 Illumina Platformu ile yüksek verimliliğe sahip dizileme işlemi aşamalarının şemaları.....	18
Şekil 3.1 Çalışma alanlarında örnek alımını gösterir fotoğraflar.	29
Şekil 4.1 Eber Gölü örnekleme bölgesi uydu görüntüsü.....	35
Şekil 4.2 Beyşehir gölü örnekleme bölgesi uydu görüntüsü	36
Şekil 4.3 Uludağ Buzul gölleri örnekleme bölgesi uydu görüntüsü.....	36
Şekil 4.4 Örneklerin çoğaltılan V3 ve V4 bölgelerine ait elektroforez jel görüntüleri.	38
Şekil 4.5 a) Bu tezde çalışılan beş tatlısu gölü için alfa çeşitlilik endeksleri, b) Çalışma alanlarına ait Simpson çeşitlilik indexi. c) Çalışma alanlarına ait PCoA analizi.	40
Şekil 4.6 Beyşehir (BYR), Eber (EBR), Buzlu Göl (UB), Kilimli Göl (UK) ve Karagöl'ün (UA) mikrobiyomlarında cins seviyesinde paylaşılan ve benzersiz cinslerin dağılımını gösteren Venn diyagramı.	41
Şekil 4.7 Beyşehir Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.	44
Şekil 4.8 Beyşehir Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.	45
Şekil 4.9 Eber Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.....	47
Şekil 4.10 Eber Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.....	48
Şekil 4.11 Uludağ Buzlu Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.	50
Şekil 4.12 Uludağ Buzlu Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.	51
Şekil 4.13 Uludağ Kilimli Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.	53

Şekil 4.14 Uludağ Kilimli Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.	54
Şekil 4.15 Uludağ Karagöl 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.	56
Şekil 4.16 Uludağ Karagöl 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı	57
Şekil 4.17 Çalışma Alanlarında en bol bulunan filum seviyesinde taksonomik birimlerin değişimi.	58
Şekil 4.18 Çalışma Alanlarında en bol bulunan cins seviyesinde taksonomik birimlerin değişimi.	59
Şekil 4.19 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Beyşehir gölü filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Beyşehir gölü filum seviyesi krona grafiği.....	61
Şekil 4.20 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Beyşehir gölü cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Beyşehir gölü cins seviyesi krona grafiği.	62
Şekil 4.21 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü filum seviyesi krona grafiği.	63
Şekil 4.22 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü cins seviyesi krona grafiği.	64
Şekil 4.23 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Karagöl filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Karagöl filum seviyesi krona grafiği.	65
Şekil 4.24 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Karagöl cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Karagöl cins seviyesi krona grafiği.	66
Şekil 4.25 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl filum seviyesi krona grafiği.	67
Şekil 4.26 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl cins seviyesi krona grafiği.	68
Şekil 4.27 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Kilimli Göl filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Kilimli Göl filum seviyesi krona grafiği.	69

Şekil 4.28 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Kilimli Göl cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Kilimli Göl cins seviyesi krona grafiği.70



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1 Çalışma alanımızı oluşturan göller ve örnek kodları.....	27
Tablo 3.2 PCR reaksiyon bileşenleri	31
Tablo 3.3 PCR prosedürü.....	31
Tablo 3.4 Agaroz jel elektroferezinde kullanılan çözeltiler.....	32
Tablo 4.1 Çalışma gölleri su örneklerinin pH ve sıcaklık değerleri ve örnekleme tarihleri	37
Tablo 4.2 İzole DNA'ların örnek kod numaraları ve konsantrasyon değerleri.	37
Tablo 4.3 Örneklerin barkod okuma sayısı.....	39

SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
°C	: Santigrat derece
g	: Gram
µl	: Mikro Litre
nm	: Nanometre
O	: Oksijen
Na	: Sodyum
Cl	: Klorür
G	: Guanin
C	: Sitozin
A	: Adenin
T	: Timin

Kısaltmalar	Açıklama
bç	: Baz Çifti
dk	: Dakika
dsDNA	: Çift Zincirli DNA
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
kb	: Kilo Baz
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
sn	: Saniye
rRNA	: Ribozomal RNA

ÖZET

DOKTORA TEZİ

ULUDAĞ (BURSA) BUZUL, BEYŞEHİR (KONYA) ve EBER (AFYON) GÖLLERİNDE METAGENOMİK ÇALIŞMALAR

Fahri PAT

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Ercan ARICAN

Su ekosistemleri, zengin mikrobiyal çeşitliliğe sahip karmaşık yaşam alanlarıdır ve bu mikroorganizmalar, sucul ortamlardaki besin döngüleri ile enerji akışında kritik roller üstlenirler. Son yıllarda gelişen metagenomik yaklaşımlar, kültüre alınamayan mikroorganizmaları da kapsayarak bu ekosistemlerdeki mikrobiyal toplulukların daha kapsamlı incelenmesine olanak tanımıştır.

Bu tez çalışmasında, Türkiye'nin farklı bölgelerinde yer alan Beyşehir Gölü, Eber Gölü, Uludağ Buzlu Göl, Uludağ Kilimli Göl ve Uludağ Karagöl'ün mikrobiyal çeşitliliği, yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, göl su örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış, 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesi PCR yöntemiyle çoğaltılmış ve Illumina platformu aracılığıyla dizileme gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen metagenomik veriler, biyoinformatik analizlerle değerlendirilmiş ve her göl ekosisteminin mikrobiyal kompozisyonu filum ve cins düzeyinde belirlenmiştir. Sonuçlar, incelenen göllerin her birinin kendine özgü mikrobiyal topluluk yapılarına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Baskın filumlar arasında *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Cyanobacteria* bulunurken, cins düzeyinde de çeşitli mikroorganizmalar tespit edilmiştir.

Bu araştırma, Türkiye'deki göl ekosistemlerinin mikrobiyal çeşitliliğine ışık tutmakta ve su kalitesi, ekolojik denge ile biyojeokimyasal döngüler açısından önemli bilgiler sunmaktadır. Elde edilen bulgular, gelecekteki su yönetimi stratejileri ve koruma çalışmalarına değerli

katkılar sağlayabilir. Ayrıca, çalışma, metagenomik yaklaşımların sucul mikrobiyal ekoloji araştırmalarındaki etkinliğini ve önemini vurgulamaktadır.

Aralık 2024, 88 sayfa.

Anahtar kelimeler: Metagenomik, Göl metagenomik, NGS, Mikrobiyal çeşitlilik, Su ekosistemleri



SUMMARY

Ph.D. THESIS

METAGENOMICS STUDIES IN ULUDAĞ (BURSA) GLACIAL, BEYŞEHİR (KONYA) AND EBER (AFYON) LAKES

Fahri PAT

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor : Prof. Dr. Ercan ARICAN

Aquatic ecosystems are complex habitats with rich microbial diversity, where microorganisms play critical roles in nutrient cycling and energy flow. Recent advancements in metagenomic approaches have enabled comprehensive analysis of microbial communities, including those that cannot be cultured.

This thesis investigates the microbial diversity of five lake ecosystems in different regions of Turkey: Beyşehir Lake, Eber Lake, Uludağ Buzlu Lake, Uludağ Kilimli Lake, and Uludağ Karagöl. Using next-generation sequencing technologies, DNA was isolated from lake water samples, the V3-V4 region of the 16S rRNA gene was amplified via PCR, and sequencing was performed on the Illumina platform.

The resulting metagenomic data were analyzed bioinformatically to determine the microbial composition of each lake ecosystem at the phylum and genus levels. The findings revealed unique microbial community structures for each lake. Dominant phyla included *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, and *Cyanobacteria*, with various microorganisms identified at the genus level.

This research sheds light on the microbial diversity of lake ecosystems in Turkey, providing valuable insights into water quality, ecological balance, and biogeochemical cycles. The

findings can contribute to future water management strategies and conservation efforts. Additionally, the study underscores the effectiveness and importance of metagenomic approaches in aquatic microbial ecology research.

December 2024, 88 pages.

Keywords: Metagenomics, Lake metagenomics, NGS, Microbial diversity, Aquatic ecosystems



1. GİRİŞ

Bu araştırmanın amacı, Beyşehir Gölü, Eber Gölü ve Uludağ buzul göllerinin mikrobiyal popülasyonlarını incelemektir. Söz konusu göller bölgenin içme suyu kaynağı olması yanı sıra bölgede yaşayan canlı türleri içinde birer kaynak vazifesi görmektedir. Bu çalışma sonucunda bu göller ile ilgili yapılacak çalışmalar için kaynak görevi görecektir. Ayrıca ilgili göller için daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği görüşüne varılmıştır.

1970-1995 yılları arasında, tatlı su ekosistemlerinin sağlamlığı %50 azalmıştır. Tatlısu balıkları, amfibilerden sonra dünyanın en tehlikeli omurgalı grubudur. Tatlısu hayvanlarının yok olma oranı, kıyısal deniz memelilerinden üç kat daha fazla ve karasal hayvanlardan beş kat daha fazladır (Saunders, Meewing ve Vincent, 2002).

Türün çeşitliliğinin azalması bazen biyoçeşitliliğin azalması ile ilişkilendirilir. Bununla birlikte, bir türün kaybı genellikle genetik çeşitliliğin azalması ve ekosistemlerdeki çeşitliliğin azalması nedeniyle meydana gelir (Rafferty, J. P. (2024). Bu nedenle sucul ekosistemlerdeki mikrobiyal çeşitlilik bizlere göllerin geleceği hakkında bilgi verebilir.

Bir bakteri veya mikrop kültürünün geleneksel teknikler ile incelenmesi 3-4 gün kadar sürebilmektedir. Bu nedenle, tüm mikrobiyal toplulukları incelemek için klasik mikrobiyoloji yöntemlerini kullanmak zordur. Hızlı ve büyük hacimli alanların tanımlaması için metagenomiğe başvurulmaktadır (Chauhan, 2020).

Herhangi bir ön kültürleme yapılmadan çevresel bir örnekteki genomların genetik analizi, Oulas ve ark. tarafından "metagenomik" olarak tanımlanmıştır (Oulas ve ark., 2015). Mikrobiyal genomun türüne ve miktarına bakılmaksızın doğrudan alınması, metagenomik yöntemle mümkündür (Dash, 2018).

Yeni nesil DNA dizileme (NGS) sistemleri, dizileme çalışmalarının yüksek doğrulukta ve hızla gerçekleştirilmesine olanak tanır. NGS ile elde edilen veriler, depolanır, analiz edilir ve değerlendirilir. Bu teknoloji, karmaşık analizlerin yapılabilmesi için gelişmiş biyoinformatik araçların kullanımını gerektirir (Ustek, 2011).

Metagenomik araştırmalar, başlangıçta Sanger dizileme yöntemlerini temel almıştır. Sanger dizileme yöntemi, 1.5 kb uzunluğundaki 16S rRNA genini hedefler. Bu gen, bakteriler için filogenetik ilişkileri belirlemede kullanılır (Kolbert ve Persing, 1999). 16S rRNA dizisi, değişken V1-V9 bölgeleri ve korunmuş C1-C9 bölgelerinden oluşur (Petrosino ve dig., 2009).

Bu tez çalışmamızda da tercih ettiğimiz gibi, ekosistem araştırmalarında dizileme için genellikle Illumina kullanılmaktadır. Hedef DNA dizisinin büyüklüğü ve çevresel örneklerden elde edilen mikroorganizma çeşitliliği ve miktarı bunun nedenidir.

Bu alışmada, Beyşehir Gölü, Eber Gölü ve Uludağ buzul gllerinden alınan örneklerin DNA izolasyonu yapıldı, 16S rRNA genlerinin V3-V4 bölgeleri çoğaltıldı. Illumina dizileme tekniği kullanılarak elde edilen veriler, EzBioCloud programı ile metagenomik analiz yapılarak değerlendirildi. Bu analizle operasyonel taksonomik birimlerin (OTU) belirlenmesi ve taksonomik analizlerin yapılması, ayrıca mikroorganizma çeşitliliğinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

Dünya üzerindeki yaşam ile su ayrılmaz bir şekilde bağlantılıdır, çünkü su olmadan yaşam imkansızdır. Su neredeyse her yerde bulunur: atmosferik buharlar ve bulutlar olarak yeryüzünün üzerinde; okyanuslar, nehirler, göller, buzullar ve hayvanlar ile bitkilerin içinde yeryüzünde ve yeraltında yer alan yer altı suyu olarak. Bununla birlikte, gezegenimizde bulunan suyun çoğunluğu (%97.5) tuzlu su olup, doğrudan insan ihtiyaçları için kullanılamaz (Shiklomanov 2000). Geriye kalan %2.5'lik tatlı su, insanlık için hayati öneme sahiptir, ancak bunun büyük bir kısmı (%68.7) buzullar içerisinde bulunmaktadır (Şekil 1) ve bu nedenle kullanımımız için uygun değildir (Carpenter et al. 2011). Yeraltı suyu, şu anda gezegenimizde dolaşan sıvı tatlı suyun toplam hacminin neredeyse %99'unu oluşturur (Maddock, I. 2008).



Şekil 2.1 Dünyadaki Suyun Dağılımı (Görsel Kanyağı: <https://www.artemisaritim.com/dunya-genelinde-su-kaynaklarinin-durumu>)

Mikroorganizmalar, çevre ve insan sağlığında önemli rol oynamaktadır: Genel olarak mikroorganizmaları göremesek de insan yaşamının her alanındadır ve dünyadaki yaşam için gereklidir. Örneğin, yaşamın temel unsurlarını (azot, oksijen, kükürt ve karbon) biyolojik olarak erişilebilir formlara dönüştüren kimyasal döngüler, büyük ölçüde mikroorganizmalara bağlıdır. Bitkiler ve hayvanlar, konakçıları için gerekli besinleri, vitaminleri ve metalleri oluşturan mikrobiyal topluluklarla yakından ilişkilidir. Mikroorganizmalar dünyada büyük bir önem ve çeşitliliğe sahiptir. Bu nedenle mikroorganizmalar hakkında bilgi edinilmesi, dünyadaki yaşamın gelişimini ve sürdürülebilirliğin anlamak için önem arz etmektedir. Mikroorganizmalar, diğer canlılara kıyasla daha geniş popülasyona sahiptir.

Mikroorganizmaların küçük boyutları ve düşük ağırlıkları onların yeryüzünün her alanına dağılmasında büyük rol oynamaktadır (Güven ve Zorba, 2015).

Bakteriler okyanus derinlikleri gibi yüksek hidrostatik basınç altında dahi yaşayabilmektedirler (Arda, 2000).

Psikrofiller -20°C ile $+10^{\circ}\text{C}$ arasında değişen düşük sıcaklıklarda büyüme ve çoğalma yeteneğine sahip ekstremofilik organizmalardır. Düşük ortam sıcaklıklarında optimum gelişim göstermeleri ve oda ısısında veya daha yüksek sıcaklıklarda gelişimlerinin yavaşlaması veya durması ile karakterize edilmektedirler (Morita, 1975). Psikrotolerant mikroorganizmalar $4-5^{\circ}\text{C}$ 'den 37°C kadar geniş bir skalada gelişim gösterebilmektedirler (Panikov and Sizova, 2006).

Soğuğa uyum sağlayabilme özelliğine sahip pek çok mikroorganizma türü mevcuttur. Bu mikroorganizmalar arkealer, algler, bakteriler, küfler, mayalar, siyanobakteriler ve protozoalardır. Gezegenimiz sıcak olduğunu düşünsekte aslında büyük bir çoğunluğu (%85) 5°C altında ortalama sıcaklığa sahiptir. Bu nedenle Soğuğa adapte mikroorganizmalar gezegenimizin her yerinde bulunabilmektedir. Soğuğa adapte mikroorganizmalar donmuş topraklar, kutup buzulları, buzullar, karla kaplı araziler, derin okyanuslar ve yüksek dağ zirvelerinde bulunabilmektedir.

2.1 ÇALIŞMA ALANLARI

2.1.1 Beyşehir Gölü

Türkiye'nin en büyük tatlı su kaynağı olan Beyşehir gölü, Beyşehir (Konya) ve Şarkikaraağaç (Isparta) ilçeleri sınırlarında bulunmaktadır. 651 kilometrekare yüzölçümüne sahip olup, genişliği 18 kilometre, uzunluğu ise 46 kilometre olan bir gölümüzdür. Denizden yüksekliği 1101 metredir. Çevresinde, 2000 metre yüksekliğinde dağlar bulunmaktadır. Orta Anadolu için içme ve sulama su kaynağı olarak kullanılmaktadır. Göl Milli Parkı, tarihi ve kültürel zenginliği nedeniyle Uluslararası Önemi Olan A Grubu Sulak Alanı kategorisine girmektedir (Didinen ve Boyacı, 2014). Beyşehir Gölü, birinci derece içme suyu standardını karşılaması nedeniyle İçme ve Kullanma Suyu Koruma Sahası olarak belirlenmiştir. Beyşehir Gölü Havzası (BGH) su kaynaklarının kirlilik seviyesine dair yapılan değerlendirmelerde su miktarında düşüş, su kalitesinde bozulma, biyolojik çeşitliliğin azalması gibi çevresel sorunların yanı sıra sosyo-

ekonomik zorluklarla da karşı karşıya kalmaktadır (Yavuz ve Baycan, 2013). Gölün su kaynakları, soğuksu dereleri, göl tabanından çıkan yeraltı suları, yağış ve kar sularından sağlanmaktadır. Su kaybı ise; buharlaşma, Çarşamba Kanalı üzerinden Apa Barajı'na su tahsisi, sulama ve Beyşehir ilçesinin içme suyu temini aracılığıyla gerçekleşmektedir (Balık ve diğerleri, 1997; Balık, 1997). Beyşehir Gölü'nde balıkçılık üzerine araştırmalar ise 1950'lerden itibaren sürdürülmektedir (Numann, 1958; Erdemli, İlhan ve diğerleri, 2014a; Çiçek ve diğerleri, 2015).

Beyşehir Gölü'nde yaşayan balık türleri, Bayçelebi ve arkadaşları (2020) tarafından kapsamlı olarak incelenmiştir. Gölün endemik türleri arasında *Aphanius cf. iconii*, *Capoeta mauricii*, *Alburnus akili*, *Chondrostoma beysehirense*, *Cobitis bilseli*, ve *Cobitis battalgilae*, *Gobio battalgilae*, *Gobio microlepidotus*, *Pseudophoxinus anaticus*, *Pseudophoxinus battalgilae*, *Squalius anaticus*, *Oxynoemacheilus atili*, *Garra kemali* yer almaktadır. Gölde bulunan diğer türler arasında ise *Alburnus escherichii*, *Atherina boyeri*, *Tinca tinca* ve *Sander lucioperca* transloke türler; *Carassius gibelio*, *Cyprinus carpio*, *Gambusia holbrooki*, *Knipowitschia caucasica* ve *Pseudorasbora parva* gibi türler olduğu rapor edilmiştir.

Beyşehir Gölü'nün suları yeraltından giderek, Manavgat çayına bağlanır ve oradan Akdeniz'e dökülür. Akdeniz'e olan uzaklığı yaklaşık olarak 135 kilometredir. Sultan ve Anamas dağları Beyşehir Gölü'nün batı yönündedir. Doğusunda Erenler Dağı yer alır. Etrafındaki dağlar onu tektonik olarak oluşturur. Beyşehir Gölü'nde birçok balık çeşidi vardır. Sazan, aynalı sazan, levrek, kadife balığı, turna ve alabalık gibi balık çeşitleri bulunmaktadır. Bundan dolayı çevre köylerde balıkçılık gelişmiştir.

Beyşehir gölünde 12 adet soyu tükenme tehlikesi altında olan balık türü bulunmaktadır (Akgöz, 1998).

2.1.2 Eber Gölü

Eber Gölü, Göller Bölgesi'nde, Afyonkarahisar il merkezine yaklaşık 65 km uzaklıkta, Sultan Dağları'nın kuzeyinde ve Emir Dağı'nın güneyinde, 38° 40' kuzey ve 31° 12' doğu koordinatlarında yer alan, deniz seviyesinden 966,98 metre yükseklikte tektonik kökenli bir çöküntü göldür. Yüzey alanı 125 km²'dir. Burası, kuzeybatıdan güneydoğuya 25 km genişlikte ve 100 km uzunlukta sismik aktif bir çökük alandır. Göl, Afyonkarahisar yakınlarında ve Türkiye'nin 12. büyük gölüdür. Eber Gölünün en derin noktası 21 metredir (kulturportali.gov.tr,

2023). Ekolojik olarak Türkiye'nin ötrofik gölleri arasında yer alan Eber Gölü, büyük oranda sazlık ve kamışlık alanlarla kaplı olup, yalnızca 5-10 hektarı aşmayan açık su yüzeylerine (göl aynalarına) sahiptir (Atay ve diğ., 2002). Gölde bulunan iç kısımlardaki sazlık ve kamışlar, çevrede yaşayan halk tarafından "kopak" olarak adlandırılan yüzen adalar oluşturmuştur. Yöre halkı, bu adalardaki kamışları keserek ekonomik gelir sağlamaktadır.

Eber Gölü, Konya Kültür ve Tabiat Varlıklarını Koruma Kurulu'nun 22 Haziran 1992 tarihli ve 1359 sayılı kararıyla "1. Derece Doğal Sit Alanı" olarak ilan edilmiştir. Gölü besleyen başlıca yüzey su kaynağı Akarçay'dır. Ayrıca güneyden gelen Sultan Dağları'ndan beslenen Eber Deresi, Deresine Deresi, Çay Deresi ve Dört Deresi de göle su taşıyan diğer akarsulardır. Ancak son yıllarda bu derelerin büyük ölçüde sulama amaçlı kullanılması nedeniyle suyu Eber Gölü'ne ulaşmamaktadır. Eskiden Eber Gölü ve Akşehir Gölü tek bir göldü. Bununla birlikte, su kaynaklarının azalması nedeniyle Akşehir Gölü Eber gölünden ayrı bir göl haline geldi. Bir kanal, Eber gölünden Akşehir gölüne su taşımaktadır.

2.1.3 Uludağ Buzul gölleri

Uludağ, Bursa ilinin güneydoğusunda bulunmaktadır. $39^{\circ} 45'$ - $40^{\circ} 10'$ kuzey enlemleri ve $28^{\circ} 58'$ - $29^{\circ} 38'$ doğu boylamları arasında yer almaktadır. Uludağ, Batı Anadolu sıradağlarında yer alır. Bu sıradağların başlıca zirveleri Uludağ (2543 m), Zirve (2487 m), Kuşaklıkaya (2240 m) ve Şahinkaya Tepeleridir (2120 m). Zirvesi 2543 metreye ulaşan dik eğimler ile yükselen bu dağ, Alp orojenik hareketleriyle yükselen ve Türkiye'nin önemli kütlelerini oluşturan önemli masiflerden biridir. Uludağ'ın doğal sınırları Nilüfer Çayı'nın batısında ve güneyde, Bursa şehri ile İnegöl ilçelerinin kuzeyde ve doğuda yer almaktadır. Dağın en yüksek noktası olan Uludağtepe, 2543 metrelik yüksekliğiyle dikkat çeker. Bu zirvenin kuzeydoğusunda, dokuz göl bulunmaktadır. Son buzul döneminden kalma üç vadinin buzul aşındırması nedeniyle oluşmuş üç sirke yerleşmiş olan bu göller arasında 2310 metredeki "Aynalı", 2270 metredeki "Karagöl", 2330 metredeki "Kilimli" ve "Buzlu Göl" en önemlileridir (Özbek ve ark. 2008). 1961 yılında Türkiye'nin ilk milli parklarından biri olarak kurulan Uludağ Milli Parkı'nın alanı 11.338 hektardır. Rakımı ve çeşitli jeolojik koşulları nedeniyle, çok sayıda endemik tür içeren zengin bir floraya sahiptir ve birkaç belirgin bitki örtüsü türü oluşturmaktadır. Bu nedenle Uludağ, Türkiye'nin Önemli Bitki Alanları'ndan (ÖBA) biri olarak sınıflandırılmaktadır. Dağ ekosistemleri aşırı iklim koşullarına sahiptir. Uludağ'daki iklim, tabandan tepeye doğru değişir ve Doğu Akdeniz iklim grubunun ilk ailesine dahildir. Alt kısımlar Akdeniz iklimini yansıtır

ve daha yüksek rakımlarda yağışlı, mikrotermik, buzla dolu kış iklimi görülür. Zirve'deki Meteoroloji İstasyonu'nun (1877 m) verilerine göre, Uludağ'ın yıllık ortalama sıcaklığı 4,6 C'dir ve yıllık ortalama yağış miktarı 1483 mm'dir. Uludağ'ın tepesindeki yıllık ortalama kar yağışlı gün sayısı 66,7, toplam karla kaplı gün sayısı 179,2 ve maksimum kar derinliği 430 cm'dir.

Uludağ'ın buzul gölleri üzerine yapılan tek faunal çalışma Balık ve diğerleri (2008) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma, 2003 yılında göllerin yüzey suyu sıcaklıklarının temmuz ayında 4.8-14.5 °C ve Ağustos ayında 15.7-23 °C olduğunu bulunmuştur. Temmuz ayında pH 8,02-9,1 iken ağustos ayında 8,47-9,82 tespit edilmiştir.

2.2 SU MİKROBİYAL EKOLOJİSİ

'Mikroplar', sadece mikroskopla görülebilen yaklaşık 100 µm'den küçük tüm organizmalara atıfta bulunan bir terimdir. Ekoloji, mikroplar arasındaki etkileşimleri ve aracılık ettikleri biyojeokimyasal süreçleri ifade eder. Psenner, Alfreider ve Schwarz (2008) tarafından yazılan bir inceleme makalesine göre su mikrobiyal ekolojisi, dünyayı "ekolojik sıfırdan" açıklamaktan daha azını amaçlamamaktadır. Bu nedenle, her makroskopik su sisteminin temelinde yer alan küçük ve görünmez canlı dünyası hakkında teoriler, kavramlar ve modeller geliştirmektedir.

Su mikroorganizmaları, deniz tabanının birkaç kilometre altından yağmur suyunun yarattığı sığ bir çukurun ilk milimetresine ve asidik göllere kadar tüm su habitatlarında gelişebilir. Su mikroorganizmalarını oluşturan üç ana domain- Ökaryota, Arkea ve Bakteriler- ve virüsler. Diğer organizmalara enerji ve karbon akışının ana üreticileri oldukları için her yerde bulunmaları tüm biyosferi etkiler. Mikropların bazıları organik maddeleri ayrıştırır ve böylece azot, fosfor ve karbon döngüsü gibi çeşitli jeokimyasal döngülerde yer alan besin maddelerini karmaşık bir şekilde geri dönüştürürler (Rich ve Maier 2015).

Mikrobiyal ekoloji, yalnızca mikroorganizmaların incelenmesiyle sınırlı kalmamakta, aynı zamanda mikroorganizmaların birbirleri ve çevreleriyle olan karmaşık etkileşimlerini multidisipliner bir yaklaşımla ele almayı mümkün kılmaktadır. Bu bilim dalı, farklı disiplinleri bir araya getirerek bilgi üretmekte, yeni sorulara yanıtlar sunmakta ve bilimsel keşiflere zemin hazırlamaktadır:

Evrim ve yaratılış: Mikroorganizmaların kökeni ve evrimi üzerine yapılan çalışmalar, yaşamın başlangıç aşamalarına dair eksik halkaların belirlenmesine olanak tanımaktadır. Bu tür araştırmalar, evrimsel süreçlerin anlaşılmasına yönelik önemli kanıtlar sağlamaktadır.

Biyoeçitlilik: Mikrobiyal ekoloji, binlerce farklı türün doğal süreçlerle nasıl çeşitlendiğini anlamayı amaçlamaktadır. Bununla birlikte, teknolojik sınırlılıklar nedeniyle mikrobiyal türlerin yalnızca %1'inden azının incelenebilmiş olması, biyoeçitlilik araştırmalarını zorlu bir görev haline getirmektedir.

Ekoloji: Mikroorganizmalar, organizmalar ve çevreleri arasındaki karmaşık etkileşimlerin açıklığa kavuşturulmasında önemli bir rol oynamaktadır. Mikroorganizmaların hızlı üreme kapasiteleri ve kolaylıkla laboratuvar ortamında çalışılabilir olmaları, bu süreçlerin analizinde önemli bir avantaj sunmaktadır. Ayrıca, bakterilerin zararlılarla mücadelede biyokontrol ajanı olarak kullanılması, ekosistem yönetimine katkı sağlamaktadır.

Popülasyon etkileşimleri: Mikroorganizmalar, diğer organizmalarla simbiyozdan patojeniteye, biyofilm oluşumundan doğal mikrofloranın meydana gelmesine kadar geniş bir etkileşim yelpazesi sunmaktadır. Bu durum, ekosistem dinamiklerinin ve organizmalar arası ilişkilerin daha iyi anlaşılmasına olanak tanımaktadır.

Geri dönüşüm: Mikroorganizmalar, biyoremediasyon, kompostlama ve atıkların geri dönüşümü gibi süreçlerde kritik roller üstlenmektedir. Toksik atıkların temizlenmesi ve atık yan ürünlerin ekonomik değeri yüksek hammaddelere dönüştürülmesi, bu organizmaların çevresel problemlerin çözümüne yönelik katkılarını açıkça göstermektedir.

Biyoteknoloji: Mikroorganizmalar, biyoteknolojide ilaç, kimyasal, gıda, yakıt ve katma değeri yüksek diğer ürünlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikrobiyal ekolojiden elde edilen bilgiler, biyoteknolojik yeniliklerin geliştirilmesine yönelik önemli bir rehber sunmaktadır.

Su, Dünya yüzeyinin onda yedisini kaplamaktadır. Bu suyun çoğu kıtalar arasında, okyanuslar halinde bulunmaktadır (küresel suyun %96,1'i). Kıtasal sınırlar içinde kalan kısım ise çoğunlukla kutup buzu ve yeraltı suyu olarak bulunmaktadır. Kıtasal suyun bu iki ana kütlesi (hacim olarak yüzde 99'dan fazlası)- kutup buzulları ve değiştirilebilir yeraltı suyu son yıllara kadar mikrobiyolojik açıdan nispeten az ilgi gören ekstrem ortamlar olmuştur. Su ortamında

(tatlı su ve deniz) yaşam, karasal varoluşa göre çok sayıda potansiyel avantaja sahiptir. Bunlar arasında fiziksel destek (kaldırma kuvveti), üç boyutlu alana erişilebilirlik, su akıntıları ile pasif hareket, hareketli unsurların (gametler, genetik materyal) sıvı bir ortamda dağılması, minimum su kaybı (tatlı su sistemleri), daha düşük sıcaklık ve güneş radyasyonu ve çözünebilir organik ve inorganik besinlerin mevcudiyeti sayılabilmektedir (Sigeo 2005).

Son yıllarda, su mikrobiyal ekolojisi araştırmaları, küresel çevresel sorunlarla mücadelede kritik bir rol oynamaktadır. Özellikle, iklim değişikliği ve antropojenik faaliyetlerin su ekosistemlerine etkileri ön plana çıkmaktadır. Hutchins ve Fu (2017), okyanus asitlenmesinin deniz mikrobiyal topluluklarını ve biyojeokimyasal döngüleri nasıl etkilediğini incelemiş ve bu değişikliklerin küresel karbon döngüsü üzerindeki potansiyel etkilerini vurgulamışlardır. Ayrıca, mikroplastiklerin su mikrobiyal ekolojisi üzerindeki etkisi de artan bir endişe kaynağı oluşturmaktadır. Seeley ve arkadaşları (2020), mikroplastiklerin tatlı su ekosistemlerindeki mikrobiyal topluluklarda önemli değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Bununla birlikte, su mikroorganizmaları, biyoremediasyon yoluyla kirlenmiş suların temizlenmesinde umut vadetmektedir. Xu ve ekibi (2018), petrol kirliliğini temizlemek için kullanılan mikrobiyal konsorsiyumların etkinliğini araştırmış ve bu yöntemin potansiyelini ortaya koymuştur. Bu gelişmeler, su mikrobiyal ekolojisinin hem çevresel sorunların anlaşılmasında hem de çözümünde oynadığı kritik rolü vurgulamaktadır.

2.2.1 Deniz ve Okyanusların Mikrobiyal Ekolojisi

Okyanus ve denizler, dünyanın en büyük mikrobiyal habitatlarını oluşturmaktadır. Bu ortamlar, yüzeyden derin okyanus tabanına kadar çeşitli mikrobiyal toplulukları barındırmaktadır. Pelajik bölgede, fotosentetik mikroorganizmalar birincil üretimin büyük bir kısmını gerçekleştirmektedir. Örneğin, *Prochlorococcus* cinsi, okyanuslardaki en bol fotosentetik organizma olarak bilinmektedir ve küresel birincil üretimin yaklaşık %10'unu gerçekleştirmektedir (Biller ve diğ., 2015).

Bentik bölgede, mikroorganizmalar organik maddenin ayrışmasında ve besin döngüsünde kritik rol oynamaktadır. Derin deniz hidrotermal bacalar gibi ekstrem ortamlar, kemolitotrof bakteriler ve arkeler için benzersiz habitatlar sunmaktadır (Dick ve diğ., 2013).

Kıyı ve haliç bölgeleri, karasal ve deniz ekosistemleri arasında bir geçiş zonu oluşturur ve yüksek mikrobiyal çeşitlilik göstermektedir. Bu bölgeler, antropojenik etkiler nedeniyle

özellikle hassastır ve mikrobiyal topluluklar bu etkilere hızlı yanıt vermektedir (Nogales ve diğ., 2011).

2.2.2 Tatlı Su Mikrobiyal Ekolojisi

Tatlı su ekosistemleri, nehirler, akarsular, göller ve sulak alanlardan oluşmaktadır. Bu ortamlar, deniz ortamlarından farklı olarak, daha değişken fizikokimyasal koşullara sahiptir ve bu da mikrobiyal toplulukların kompozisyonunu ve işlevini etkilemektedir.

Göllerde, mikrobiyal topluluklar su kolonunda ve sedimentlerde bulunmaktadır. Özellikle ötrofik göllerde, siyanobakteriler baskın hale gelebilir ve zararlı alg patlamalarına neden olabilmektedir (Huisman ve diğ., 2018).

Nehir ve akarsularda, mikrobiyal topluluklar sürekli değişen çevresel koşullara adapte olmak zorundadır. Bu sistemlerde, biyofilm oluşturan bakteriler önemli bir rol oynar ve bu su kalitesini etkilemektedir (Battin ve diğ., 2016).

Sulak alanlar, yüksek mikrobiyal çeşitlilik ve aktivite gösteren önemli ekosistemlerdir. Bu ortamlardaki mikroorganizmalar, karbon ve azot döngülerinde kritik roller oynar ve sera gazı emisyonlarını etkilemektedir (Boon ve diğ., 2014).

2.3 MİKROORGANİZMALARIN BİYOJEOKİMYASAL DÖNGÜLERDEKİ ROLLERİ

Mikroorganizmalar, karbon, nitrojen ve kükürt gibi elementlerin pek çok biyojeokimyasal dönüşümünü katalize ederek yeryüzünün ekosistem işleyişinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle mikroorganizmaların bu döngülerdeki fonksiyonlarını ve etkilerini anlamak amacıyla mikrobiyal toplulukları karakterize eden birçok çalışma yapılmıştır (Maier, 2015).

2.3.1 Su Ekosistemlerinde Karbon Döngüsü

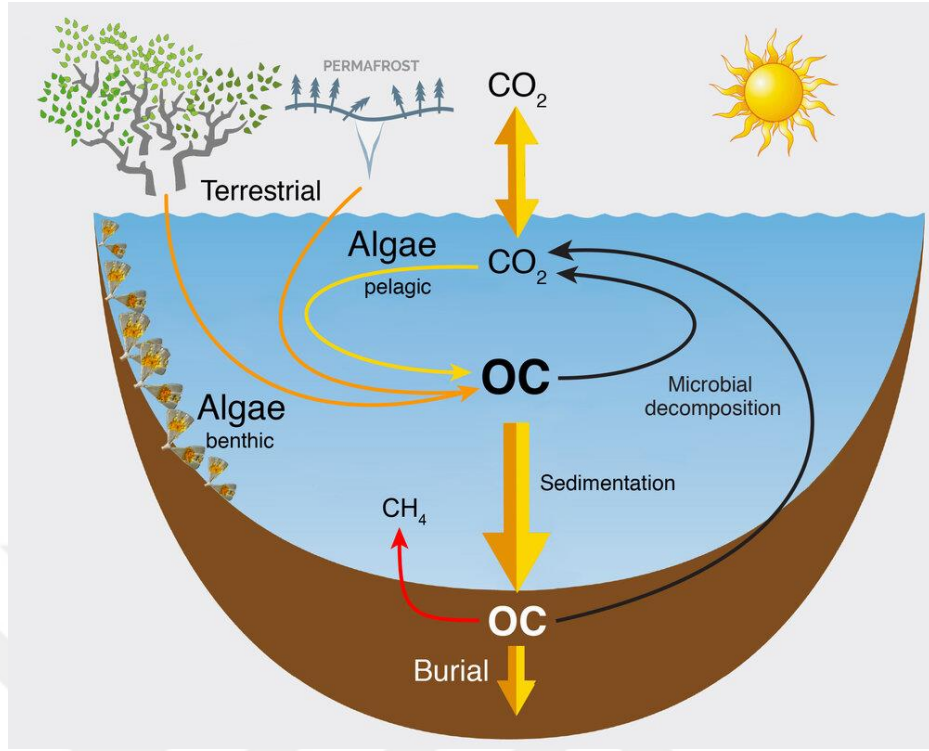
İç sular, Dünya yüzeyinin küçük bir yüzdesini oluştursa da (Downing ve diğ. 2006), küresel karbon döngüsünde kritik bir rol oynamaktadır (Cole ve diğ. 2007; Battin ve diğ. 2009; Tranvik ve diğ. 2009). İç sulardaki karbon döngüsüne ilişkin son çalışmalar, bu sistemlerin karasal ortamlardan taşınan organik ve inorganik karbonun herhangi bir biyojeokimyasal dönüşüm olmadan denize doğru taşındığı pasif borular gibi davrandığı fikrine karşı çıkmıştır (Cole ve

ark. 2007). Aksine, bu çalışmalar iç suların, karbonun taşınması, dönüştürülmesi ve depolanmasıyla sonuçlanan abiyotik ve biyotik süreçlerin bir kombinasyonu yoluyla aktif borular olduğunu göstermiştir (Cole ve diğ., 2007; Tranvik ve diğ., 2009, 2018; Guillemette ve del Giorgio 2011). İç su sistemleri, karasal ortamlardan (allokton) gelen organik karbonu metabolize etme ve işleme yeteneği taşımaktadır.

Su sistemleri içindeki bu dönüşümler kaynağa, minerallerle olan potansiyel ilişkiye ve su sütunu veya tortu içinde meydana gelmiş olabilecek önceki değişikliklere dayanmaktadır (Zigah ve ark. 2011).

Göllerde karbon üç yolu izleyebilir: organik karbon, parçacıklar halinde flokülasyon yoluyla çökeltilerde depolanabilir veya biyokütleyle entegre edilebilir, organik karbon, yeniden mineralizasyonla sonuçlanan fotokimyasal (abiyotik) veya mikrobiyal (biyotik) bozunma yoluyla dönüştürülebilir. Karbondioksit (CO₂) veya organik karbon pasif olarak aşağı yönde taşınmaktadır (Tranvik ve diğ., 2009). Organik karbonun kimyasal bileşimi bakterilerin erişilebilirliğini kontrol etmektedir. Bakteriler tarafından tüketilmesi, kararsızlık olarak da bilinen reaktivitesiyle bağlantılıdır. Organik karbon havuzları kararsız, yarı kararsız ve dirençli havuzlara ayrılabilir. Kararsız havuzlar ayrıca kısa vadeli bir havuz, hızlı bir şekilde döngüye giren oldukça reaktif bir karbon havuzu ve uzun vadeli bir havuz, daha yavaş döngüyle kuluçkanın geri kalanında kaldırılan bir havuz olarak ikiye ayrılmaktadır (Guillemette ve del Giorgio 2011).

Mikrobiyal metabolizma, göllerdeki OC (organik karbon) döngüsünün ana itici gücüdür ve göl çökeltileri merkezi bir rol oynamaktadır (Lindeman 1942). Tatlı su sistemlerinin tortu-su arayüzü yoğun biyolojik aktivitenin olduğu alanlardır (Krumbein 1994). Tortu organik parçacıklarının geniş yüzey alanı yüksek bakteri yoğunluklarıyla birleştiğinde (Capone ve Kiene 1988) oldukça aktif bir ortam yaratmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 İç Sular Organik Karbon Döngüsü (Görsel Kanyağı:

<https://www.arcticcirc.net/research-interests/gudasz-lake-carbon-cycles>)

2.3.2 Su Ekosistemlerinde Azot Döngüsü

Sucul ekosistemlerde azot döngüsü, su kaynaklarının sağlığı ve biyolojik çeşitliliğin sürdürülmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu karmaşık süreç, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar arasındaki etkileşimleri içerir ve su kalitesini doğrudan etkilemektedir.

Sucul ortamlarda azot döngüsü, atmosferik azotun (N_2) suda çözülmüş formlarına dönüşümü ile başlar ve çeşitli biyokimyasal süreçlerle devam etmektedir. Bu döngü, fitoplanktonların birincil üretiminden, bakteriyel ayrışmaya ve denitrifikasyona kadar uzanan bir dizi reaksiyonu kapsamaktadır. Özellikle göller, nehirler ve okyanuslarda azot döngüsü, ekosistemin işleyişinde merkezi bir rol oynamaktadır.

Nitrat, azot yolu ağında kilit bir düğüm noktasıdır (Kraft ve diğ. 2011). Azot fiksasyonunun bir formu olarak hem doğada hem de endüstride hayati bir rol oynamaktadır. Azot döngüsünde önemli bir ara madde olan nitrit, nitrata oksitlenmekte olup, bu süreç çevresel hasarın önlenmesi açısından hayati bir öneme sahiptir. (Spieck ve diğ. 2021). Buna ek olarak, eşzamanlı nitrifikasyon-denitrifikasyon (SND), sürekli bir redoks reaksiyonu yoluyla azot üreten

dominant bir biyosüreçtir; böylece amonyak azotunu tamamen uzaklaştırır ve azot kaynaklı ötrofikasyonu önlemektedir (Di Capua ve ark. 2022). Biyolojik azot fiksasyonu, N_2 'den NH_3 'e, biyoyararlanımı olan bir form olarak azota giriş noktası görevi görür ve bu, küresel azot döngüsünde kilit bir rol oynamaktadır (Sickerman ve ark. 2019).

Bu temel süreçlere ek olarak, son yıllarda amonyağın hidroksilamine oksidasyonu konusunda önemli keşifler yapılmıştır. Bu keşifler, okyanuslardaki nadir amonyak oksitleyici bakterilerin gizemi konusunda çözümler sunmaktadır (Francis ve ark. 2005; Wuchter ve ark. 2006). Anammox bakterilerinin amonyum anodunun oksidatif metabolizma sürecine dayanarak, amonyumun HAO benzeri protein tarafından hidroksilamine oksitlendiği öne sürülmektedir. Bu hidroksilamin daha sonra amonyum ile yoğunlaşarak, hidrazin sentaz (HZS) tarafından hidrazin üretilmesine yol açmaktadır. Son olarak, hidrazin dehidrojenaz (HDH) etkisiyle azota dönüşerek azot dönüşüm sürecini tamamlamaktadır (Wang ve ark. 2023).

Bu yeni bulgular, sucul ekosistemlerde azot döngüsünün karmaşıklığını ve çeşitliliğini göstermektedir. Özellikle anammox bakterilerinin rolü, azot dönüşümünde alternatif yolların varlığını ve önemini vurgulamaktadır. Sucul ekosistemlerde azot döngüsünün dengesi, insan faaliyetleri sonucu bozulabilmektedir. Tarımsal gübre kullanımı, atık su deşarjları ve atmosferik azot birikimi gibi faktörler, su kaynaklarında aşırı azot birikimine yol açabilmektedir. Bu durum, ötrofikasyon gibi ciddi ekolojik sorunlara neden olabilir, su kalitesini düşürebilir ve sucul biyoçeşitliliği tehdit edebilir.

2.4 EKOSİSTEMLERDE MİKROBİYAL BİYOÇEŞİTLİLİĞİN ARAŞTIRILMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

2.4.1 Kültüre Bağımlı Yöntemler

Doğal ortamdan örneklenen mikroorganizmaların laboratuvar ortamında iyi yetiştirilmesi için biz dizi bilimsel teknik geliştirilmiştir. Soğuk koşullara sahip ekosistemlerde yaşamaya adapte mikroorganizmaların pek çok zorlayıcı koşula karşı hayatta kalmalarını sağlayarak adaptasyon geliştirdiği ve bu adaptasyonla uygun koşulların laboratuvar ortamında taklit edilmesinin kolay olmadığı göz ardı edilmemelidir (Feller, 2013).

Mikroorganizmaların soğuk ekosistem koşullarına adaptasyonunda önemli rolü bulunan soğuk aktif enzimler; daha esnek bir yapıya sahip şekilde düşük sıcaklıkta yüksek biyokimyasal

reaksiyon hızını koruyabilmektedir. Ancak bu durum, daha düşük substrat afinitesi ve ısıya karşı artan kararsızlık gibi pekçok dezavantajı da beraberinde getirir (Feller, 2013).

2.4.1.1 Kültivasyon

Kültür-bağımsız yöntemler birçok keşfe olanak tanırsa da mikroorganizmaların doğru bir şekilde incelenmesi için izole edilmeleri zorunludur. Doğal ortamlarında organizmaların rollerini anlamak ve metabolik kapasitelerini analiz etmek için saf suşların izolasyonu kritik öneme sahiptir. Bu, organizmaların doğru bir şekilde incelenmesine olanak tanır. Ayrıca, saf kültürler, doğal ortamdaki belirli suşlar ve diğer organizmalar arasındaki etkileşimlerin araştırılması için de kullanılır ve bu sayede fajların izolasyonu ve karakterizasyonu gibi işlemler mümkün hale gelir.

Ancak, birçok mikroorganizma için optimal gelişme koşullarını sağlamak oldukça zordur. Ayrıca, doğal ortamdaki bir toplulukta bireyler arasında karmaşık etkileşimler ve birbirine bağımlılık gözlenebilir, bu da gelişim için gereken koşulların laboratuvar ortamında sağlanmasını zorlaştırabilir. Bu tür organizmaların yapay gelişme ortamlarının tasarlanması, farklı organizmaların saf kültür olarak elde edilmesi ve tanımlanması sürecini oldukça zaman alıcı hale getirmektedir. Bu nedenle, bugün kültür-bağımlı çalışmalar, kapsamlı ve destekleyici bilgi edinmek için daha kısa sürede kullanılacak moleküler yöntemlerle birlikte uygulanmaktadır (Carroll ve diğ. 2019).

2.4.1.2 Biolog EcoPlate

Mikroorganizmalar, doğada organik madde parçalanmasını sağlayan ana canlılardır; bu nedenle, topluluk tarafından parçalanmış organik bileşikler belirlemek çok önemlidir. Bakteri grupları, enerji üretimi için belirli karbon kaynaklarını kullanabilme yeteneğine sahip olabilir veya olmayabilir. Bu kalıbın tanımlanması süreci, topluluk düzeyinde fizyolojik profil analizi (CLPP) olarak adlandırılır. Bu yöntem, çevresel örneklerdeki mikrobiyal topluluklardaki coğrafi ve zamansal farklılıklar belirlemek için hızlı bir yaklaşımdır. Bu, saf kültürlerin organik bileşikler parçalama kapasitesini değerlendirmek için de kullanılabilir. Karbon kaynaklarının kullanım profili tür düzeyinde benzerlik gösterir; ancak bazı türlerdeki mutasyonlar, bir karbon kaynağını kullanma yeteneğini kaybetmelerine veya nadiren de olsa, vahşi tipin kullanmadığı bir karbon kaynağını mutant tipin kullanabilir hale gelmesine neden olabilir (Garland, 1997).

Mikroorganizmalar, metabolik aktivitelerini yansıtan karakteristik bir reaksiyon paterni, yani metabolik parmak izi sergilerler. BIOLOG sistemi, çevresel örneklerden elde edilen numunelerin metabolik profillerini kolayca belirleyebilir. BIOLOG mikroplakalarında yer alan tüm kuyucuklar tetrazolyum bazlı redoks boyası içerirken, yalnızca kontrol kuyucukları hariç tutulmak üzere diğer tüm kuyucuklar liyofilize karbon üretimini desteklemektedir. Çevrede yaygın olarak bulunan substratlar bu karbon kaynaklarını oluşturur. Karbon kaynağını metabolize eden mikroorganizmalar, tetrazolyum violet boyasını formazana indirger ve bu kimyasal reaksiyon sonucu kuyucuklarda mor renk oluşumu gözlemlenir. Spektrofotometri, redoks reaksiyonu sırasında renklerin nasıl değiştiğini ölçmek için kullanılır.

BIOLOG verilerinin yorumlanması, geleneksel yöntemlerden farklı olması ve numunelerde düşük mikrobiyal biyokütle bulunması nedeniyle karmaşıktır; bu durum, inkübasyon sürelerinin uzamasına yol açabilir. BIOLOG mikroplakasından elde edilen bulgular, belirli karbon kaynaklarını kullanan organizmaların metabolik aktivitelerini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, yöntemin bir komünitenin tüm üyelerinin olası metabolizma faaliyetlerini tam olarak yansıtmadığı gerçeği göz önünde bulundurulmalıdır (Guckert ve diğ., 1996).

2.4.2 Kültür-Bağımsız Çalışmalar ile Mikrobiyal Komünite Analizi

2.4.2.1 16S rDNA gen klonlama

Moleküler temelli ekoloji araştırmalarının büyük bir kısmı, 16S ve 18S rRNA genlerinin analizine odaklanmaktadır. rRNA gen dizileri, zenginleştirme veya izolasyon gereksinimi olmaksızın prokaryotik çeşitlilik hakkında kapsamlı bilgi sunar.

Filogenetik ilişkileri ortaya çıkaracak kadar farklılıkları içerdiğinden 16S ve 18S rRNA genleri evrimsel dağılım çalışmaları ve yaşamın moleküler filogenisini bu genleri kullanarak açığa çıkarmıştır (Woose et al., 1977).

Evrensel primerler kullanılarak Mikrobiyal rRNA genlerinin tüm dizi bilgisi açığa çıkarılabilir. Gen klonlama yöntemi, 16S rRNA genlerinin ayrıştırılması ve dizilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu yaklaşımda, öncelikle hedef geni taşıyan plazmidin hazırlanması ve daha sonra bu plazmidin içinde bulunan marker genin, hedef genin taşındığı plazmid ile kompetan bir hücreye transfer edilmesi süreci uygulanır. İnkübasyon sürecinde, plazmid+eklem içeren bakteri hücreleri bölünerek çoğalır ve bu da bakteri hücrelerinin birden fazla klonunun

oluşmasına neden olur. Bu klonlardan evrensel primer kullanarak klonlanan genin çoğaltılması zorluklara neden olabilir. Klonlama işleminde kullanılan bakteri hücrelerinin de 16S rRNA geni taşıması nedeniyle, bu sorunun üstesinden gelmek amacıyla, insertin bulunduğu plazmid bölgelerine özgü primerler geliştirilmiştir. Böylece, klonlanmış marker gen plazmit-spesifik primerleri kullanarak çoğaltılabilir. Böylece, ev sahibi hücreden kaynaklanabilecek herhangi bir kontaminasyon engellenir. Amplifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra, hedeflenen DNA parçasının plazmidde doğru uzunluğa sahip olup olmadığı kontrol edilir. Uygun boyuttaki DNA ürünleri restriksiyon enzimleri kullanılarak kesilir ve dizileme işleminden önce elde edilen kesim profillerine göre bir ön eleme işlemi gerçekleştirilir. Bu, maliyeti ve iş yükünü azaltır. Amplifikasyon sonrası rDNA'nın restriksiyon analizi (ARDRA) olarak bilinen bu prosedür, bu süreci tanımlar. Sanger dizileme yöntemi kullanılır ve her kesim profili için temsilciler seçilir. Dizi benzerlik oranı, veritabanındaki diğer dizi bilgileriyle karşılaştırıldığında bulunur. Bir mikroorganizmanın filojenik yapısı, ait olduğu kültürden bağımsız olarak, marker genlerin bir dizi bilgisinden öğrenilebilir (Sklarz ve ark., 2009).

2.4.2.2 Yüksek verimlilikteki dizileme teknolojileri

Çoklu veya büyük ölçekli paralel dizileme (massively parallel sequencing) teknolojilerinin geliştirilmesi, mikrobiyal ekolojide ribozomal küçük alt birim (SSU) gen fragmanlarının çoğaltılarak kullanılmasının ardından kaydedilen önemli ilerlemelerden biridir. Yeni nesil dizileme (YND) teknolojileri olarak adlandırılan bu platformlar, çeşitli kimyasal sentez ve algılama yöntemlerinden faydalanmaktadır. Bu teknolojiler arasında bir dizi benzerlik vardır (Llaca, 2012).

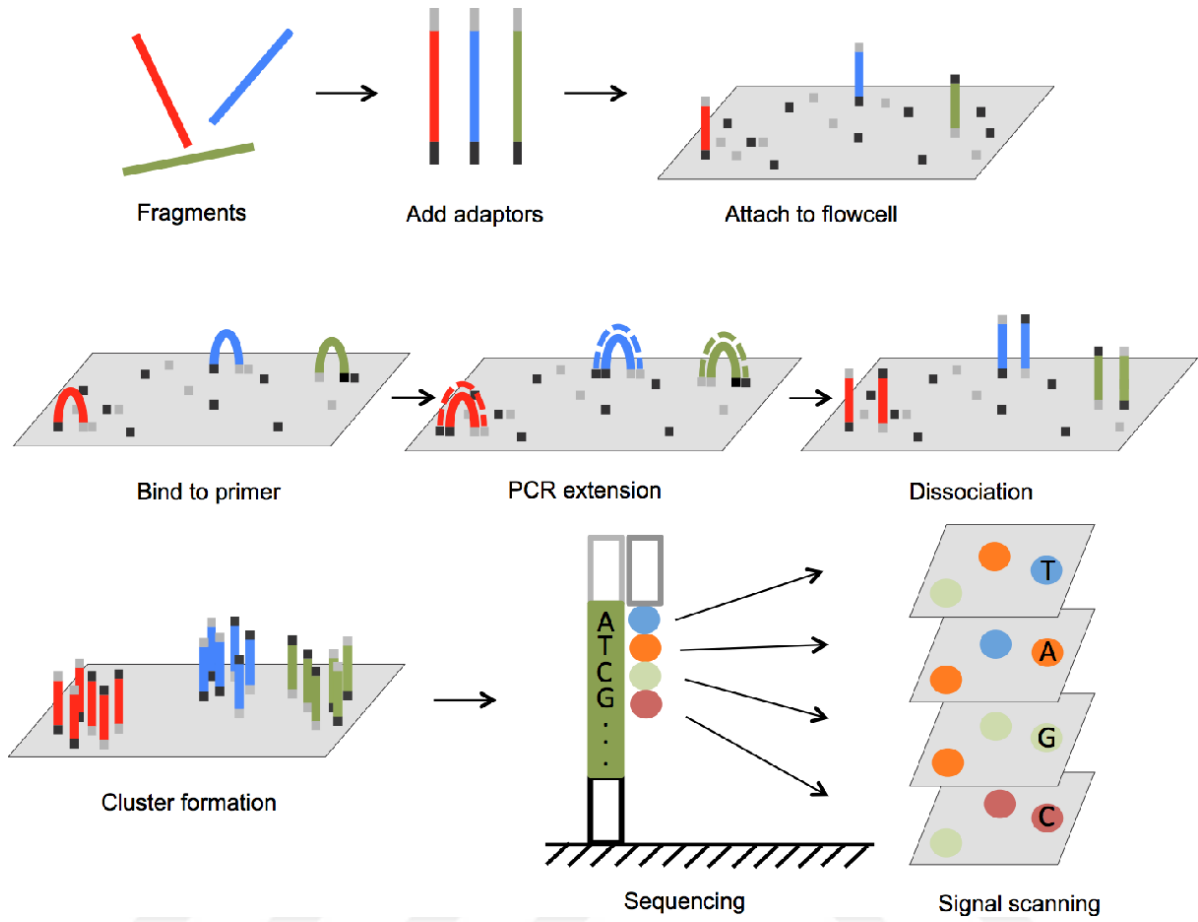
Pacific Biosciences tarafından piyasaya sürülen üçüncü nesil dizileme platformu, çoklu paralel sistemlerden oluşur ve gerçek zamanlı saptama (SMRT) ile tek-molekül DNA dizileme kimyasını birleştirerek daha uzun ve daha hızlı okumalar elde edebilir. Pacific Biosciences platformunda, dizileme hücresi tek molekül DNA kalıbına bağlı bir DNA polimeraz içerir ve etiketli nükleotid trifosfatlara (NTP) maruz bırakılır. Reaksiyon koşulları, polimerizasyonun kamera ile tespit edilebilecek kadar yavaş gerçekleşmesi için ayarlanmıştır. Terminatör kullanılmaz; her dNTP, önceden belirlenmiş bir benzersiz floresan etikete sahiptir ve daha sonra sentez sırasında uzaklaştırılır. Gerçek zamanlı tespit ve enzim işleyişi sayesinde polimerizasyon anında (saniyede birkaç baz) tespit edilir. Bu nedenle, PacBio platformu birkaç dakika içinde 10 kilobazdan daha uzun okumalar üretme potansiyeline sahiptir (Llaca, 2012).

Yeni nesil dizileme teknolojileri iki temel kategoriye ayrılabilir: İlk kategoride, Roche 454 (Roche, 2005), ABI SOLiD (Life Technologies, 2007), HiSeq 2000 (Illumina, 2007), ve Ion Personal Genome sistemi (Life Technologies, 2010) gibi PCR tabanlı teknolojiler yer alır. Diğer kategori ise "tek-molekül" dizileme teknolojileridir, bu teknolojiler PCR'ye dayanmaz ve dizileme öncesinde bir amplifikasyon adımı gerektirmez. Bu kategoriye ait olan Helicos Biosciences'in HeliScope (2008) ve Pacific Biosciences'in PacBio sistemleri (2010) kullanıma sunulmuştur (Shokralla ve ark., 2012; Reuter ve ark., 2015; Goodwin ve ark., 2016).

2.4.2.2.1 Illumina platformu

Çok fazla kapasiteye sahip olmasından dolayı Illumina platformu model oragnizma ve insan genom projelerinde sıklıkla kullanılır. İleri teknolojisi, büyük verimlilik kazançları ve maliyet düşüşleri sayesinde, Yüksek verimli dizileme cihazları arasında çok yüksek pazar payına sahip olan Illumina cihazları günümüzde tercih edilen bir seçimdir (Shokralla ve ark., 2012; Reuter ve ark., 2015; Goodwin ve ark., 2016).

Illumina platformunda, DNA dizilemesi için kullanılan bir yöntem olan akış hücresi (flow cell) üzerinde 8 farklı şerit bulunur. Bu şeritler üzerinde, DNA dizileme işlemi sırasında köprü amplifikasyonu tekniği kullanılarak sentez gerçekleştirilir. Bu işlem sırasında, DNA molekülleri adaptör adı verilen kısa DNA parçaları ile modifiye edilir ve ardından yüzeydeki önceden belirlenmiş pozisyonlara bağlanır. DNA polimeraz enzimi, adaptörlere bağlı DNA parçalarına tutunarak yeni bir DNA ipliği sentezler. Bu işlem, önceki döngüdeki ipliklerin üzerine tekrar tekrar eklenerek birleştirme işlemi gerçekleştirilir ve sonuçta bir DNA şeridi oluşur. Bu sentez süreci sırasında, özelleştirilmiş nükleotidler (baz çiftleri) kullanılır ve her bir nükleotid, sırayla şerit üzerindeki her pozisyona eklenir. Bu şekilde, her bir şerit üzerindeki her pozisyon, sırayla tüm nükleotidleri içeren bir DNA şeridi ile kaplanır. Bu dizileme işlemi, yüksek hassasiyetle ve yüksek hızda gerçekleştirilir. Dizileme sırasında herhangi bir kalite kaybı yaşanması durumunda, her baz için bir kalite skoru verilerek dizi bilgisine eklenir. Bu nedenle, kalitesiz veriler dizileme sonrası kolaylıkla elenir (Shokralla ve ark., 2012).



Şekil 2.3 Illumina Platformu ile yüksek verimliliğe sahip dizileme işlemi aşamalarının şemaları (Görsel Kayağı: <https://praxilabs.com/en/blog/2021/02/08/dna-sequencing-definition-importance-methods-facts-and-more/>)

2.4.2.4 Metagenomik

Biyosferdeki canlı çeşitliliğinin büyük bir kısmını mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Günümüze kadar, bu geniş yelpazedeki mikroorganizmaların sadece küçük bir kısmı kültürleme yöntemi ile tespit ve teşhis edilebilmiştir. Mikrobiyal çeşitlilik, kültürlenemeyen veya zor kültürlenebilen mikroorganizmalardan oluşur (Vakhlu ve ark., 2008). Klasik kültürleme tekniğinin kullanımı, mikroorganizmaların analizinde önemli bir sınırlayıcı faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Hugenholtz ve ark., 1998). Yaygın kabul gören bir tahmine göre, mikroorganizmaların yaklaşık %99'u kolayca kültürlenememektedir (Ghazanfar ve ark., 2010). Virüsler, bakteriler, arkeler, mantarlar ve tek hücreliler gibi mikroorganizmaların tespitini, ölçümünü ve teşhisini zorlaştıran kültürleme koşulları vardır (Neelakanta ve Sultana, 2013).

Mikroorganizmalar, tıp, mühendislik ve tarım gibi birçok alanda hayati öneme sahip olan biyoosferi yönetir (Sloan ve diğerleri, 2006). Bu mikroorganizmaların genetik ve biyolojik çeşitliliği, araştırmacılar için dikkate değer bir alan oluşturmaktadır. Kültürülenemeyen mikroorganizmaların genomları, yeni genler, enzimler ve kimyasal bileşikler gibi keşfedilmeyi bekleyen çok miktarda bilgi barındırmaktadır (Handelsman, 2004). Bu keşifler, biyoteknolojinin gelişmesi ve yeni ürünlerin üretilmesi açısından büyük bir potansiyele sahiptir (Schmeisser ve ark., 2007). Mikrobiyal çeşitlilik, bilim adamlarına yeni genler, metabolik yollar için biyomoleküller ve çeşitli biyolojik ürünler sağlar (Cowan, 2000).

Mikroorganizmaların hayati önemi biliniyor olsa da biyosferde bulunan kaç tür mikroorganizma olduğu ve bu türlerin ekolojik işlevleri hakkında çok az şey biliyoruz (Singh ve ark., 2008). Bu soruları çözmek için yakın zamana kadar uygun yöntemler yoktu. Bu nedenle, mikroorganizmaların çoğu biyoteknolojik olarak bilinmeyen ve incelenmemiş olarak kabul edilmektedir (Ghazanfar ve ark., 2010).

Mikrobiyal türleri ve toplulukları tanımlamak için DNA temelli moleküler yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, kültürleme tekniklerinin zorluklarını ve kısıtlamalarını aşmak için geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlar, mikrobiyal ve ekolojik çeşitliliğe bakışımızı büyük ölçüde değiştirmiştir. Son yirmi yılda, mevcut sorunları çözmek ve mikroorganizmaların genomik analizini sınırsız bir şekilde gerçekleştirmek için "metagenomik" yöntemler geliştirilmiştir (Ghazanfar ve ark., 2010).

Metagenomik, bir topluluktaki mikroorganizmaların genetik materyallerinin analizine dayanan bir yöntemdir. Mikroorganizmaların kültür edilmesine gerek yoktur ve topluluğun tüm DNA'sı analiz edilir. Bu yöntem, mikroorganizmaların çeşitliliği, yapıları ve fonksiyonları hakkında bilgi sağlamaktadır. Metagenomik, bir çevrede bulunan tüm genetik materyalin shotgun dizileme yöntemi veya işlevsel analizler yoluyla incelenmesini kapsayan bir disiplindir. (Vieites ve ark., 2010; Hedlund ve ark., 2014).

Metagenomik, belirli bir habitatın mikroorganizmalarını işlevsel gen taraması veya dizileme analizi kullanarak analiz etmek için devrim niteliğinde bir yöntemdir. Metagenomik analizi, mikrobiyal çeşitlilik, topluluk bileşimi, genetik öncüler, biyolojik işlevler, çevre ile etkileşimler gibi geniş bir konu yelpazesini kapsar. Shotgun dizileme, yüksek verimli, yeni nesil dizileme (NGS) ve üçüncü nesil dizileme (TGS) teknolojileri tarafından yerini almıştır. 1998 yılında,

"metagenom" veya "mikrobiyal çevresel genom" olarak da bilinen bir ifade, "doğada gözlemlenen tüm mikrobiyotanın genomunu" tanımlamak için ilk kez kullanılmıştır. "Metagenom" kelimesi şimdi doğal olarak bulunan bakteri ve mantar örneklerinde bulunan genom koleksiyonunu ifade etmektedir (Zhang, ve diğ., 2021).

Metagenomik veriler, nükleotid bileşimlerine dayanarak ya da bazı yöntemlerde okuma derinliği ve karşılaştırmalı analizler göz önünde bulundurularak gruplandırılabilir. Bu süreç, "binning" olarak adlandırılır ve her bir "bin" dosyası, o topluluktaki bir genomu temsil eder. Her bir "bin"in taksonomik olarak sınıflandırılması, filogenetik anahtar genlerin belirlenmesi ve homoloji analizleriyle gerçekleştirilebilir (Hedlund ve ark., 2014).

Metagenomik, toprak mikrobiyolojisinin analizinde de oldukça faydalıdır. Bir gram toprakta yetiştirilen mikrobiyal türlerden daha fazla alternatif mikroorganizma beklenmektedir. Bu nedenle, metagenomik, toprak mikrobiyal çeşitliliğini belirlemenin ve bu çeşitliliğin değişen çevreler tarafından nasıl etkilendiğini incelemenin en etkili kültür bağımsız teknik olduğu görülmektedir (Wael N. Hozzein, 2020).

Su mikropları, sucul sistemlerin doğal sakinleridir. Tatlı su ortamlarındaki yaygın mikrobiyal topluluklar, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Cyanobacteria, Verrucomicrobia ve Planctomycetes üyelerini kapsamaktadır (Zwart ve ark. 2002). Su ekosisteminde, nitrojen sabitlemesi, karbon geri dönüşümü ve organik bileşiklerin parçalanması gibi çeşitli biyokimyasal döngülerde önemli rollere sahiptirler.

Dizi-temelli metagenomik analiz, PCR tabanlı DNA probu gibi yaklaşımlar kullanarak, bilinen genlerin veya protein ailelerinin korunmuş bölgelerinden türetilen DNA probu ile genomdaki doğal ürün biosentezine katılan genleri ve benzer dizileri tanımlamayı içerir. Rastgele DNA havuzları, iyi incelenmiş gen sınıflarını araştırmak için oldukça faydalıdır. Ancak, biosentetik gen kümelerinin benzer diziler ve tekrarlayan yapılar içermesi, yeni doğal ürünlerin keşfi açısından zaman zaman zorluklara yol açabilmektedir.

Fonksiyon-temelli metagenomik analiz, genomlar laboratuvar ortamında yapay olarak parçalara ayrılır ve büyük DNA fragmanları elde edilerek vektörlere aktarılır. Klonlanan genomun biosentetik aktivitesini belirlemek amacıyla, genellikle ikincil metabolit üretimiyle ilişkili tanımlanabilir fenotipik özellikler (örneğin, antibiyotik direnci, morfolojik değişiklikler, enzim aktivitesi, pigmentasyon vb.) kullanılır. İlgili fenotipi belirlemek için uygun bir tarama

testi seçilir. Bu yöntem, herhangi bir dizilim bilgisine ihtiyaç duymadan, bilinmeyen fonksiyonları kodlayan yeni gen sınıflarını ve bunların karşılık gelen biyosentetik gen kümelerini keşfetmeye olanak tanır. Fonksiyona dayalı metagenomik kütüphane taramalarında, yeni biyoaktif ajanlar keşfetmek için basit bir yaklaşım olarak, *E. coli'nin*(*Escherichia coli*) agar ortamındaki büyümesinin inhibisyonunu inceleyen bir testtir (Giddings ve Newman, 2015).

Metagenomik araştırmaların en büyük avantajlarından biri, örnek hazırlık aşamasının nispeten basit olmasıdır. Tek hücre izolasyonu veya MDA gibi karmaşık işlemler gerektirmez; yeterli miktarda DNA elde edilebilen herhangi bir toplulukta uygulanabilir. Ayrıca, tek hücre genomik yöntemlerle uyumlu olmayan ekstraksiyon teknikleri de metagenomik çalışmalarda kullanılabilir (Hedlund ve ark., 2014).

Bununla birlikte, metagenomik çalışmalarda kullanılan shotgun dizileme yöntemi, kısa dizi verilerinden uzun kontigler oluştururken yanlış eşleşmelerden dolayı kimerik diziler ortaya çıkabilir (Stepanauskas, 2012). Buna ek olarak, biyoinformatik analizler için güçlü bilgisayar kaynaklarına olan ihtiyaç ve verilerin depolanmasındaki zorluklar, önemli bir sorun teşkil etmektedir.

Metagenomik çalışmalar, birden fazla genomun aynı anda ve genellikle oldukça düşük kapsama oranlarında dizilenmesi gerektiği için in silico olarak ayrıştırılması gereken bir dezavantaja sahiptir. Bu nedenle, zenginleştirilmiş topluluklar dışında, metagenomik çalışmalar nadiren tamamlanmış genomlarla sonuçlanır.

2.4.2.5 Biyoinformatik analiz

Bugünün dizileme teknolojilerinde shotgun dizileme, genetik materyal dizi analizi için fiziksel olarak küçük parçalara bölünür. Bu parçalar jel matriksinde ayrıştırılır ve hedef uzunluktaki parçalar ileri analiz için kesilir. Özellikle çift uçlu okumalarda homojen bir dağılım büyük önem taşır. Bu tür okumalar, belirli biyoinformatik analizler için yararlıdır. Dizileme işleminde, hedef uzunluktaki DNA parçalarının uçlarına belirli diziler eklenerek bir kütüphane oluşturulur. "Kütüphane", kaynak DNA materyalinin mekanik veya kimyasal yöntemlerle parçalanması ve dizi analizi için uygun işlemlerden geçirilmesi sonucunda elde edilen DNA parçalarının bir topluluğunu ifade eder.

Dizileme verimliliği hem derinlik hem de genişlik özellikleri ile belirlenir. Derinlik, genomdaki her bazın ortalama kaç kez dizildiği ile ilgilidir. Genişlik, okumaların genomun yüzde kaçını kapsadığını ifade eder. Çift uçlu dizilemede ise, bir DNA fragmanının her iki ucundan okuma yapılarak her iki uca ait dizi bilgisi ham verilere eklenir. Bu bilgi, contig ve scaffold oluşturma süreçlerinde kullanılır (Jain, 2024).

Yeni nesil dizileme sonucunda, ham okuma verilerini saklamak için en yaygın kullanılan format "FASTQ" formatıdır, hizalanmış okuma verilerini depolamak için ise en sık tercih edilen format "BAM" formatıdır.

Okuma kalitesi, önemli bir unsurdur ve genellikle "Q skoru (Phred kalite skoru)" ile değerlendirilir. Düşük Q skorları, yanlış pozitif varyantların artmasına neden olabilir. Genellikle, Q skoru 20'nin üstündeki okumalar ileri analizlerde tercih edilir. Q20 skoru, %1 hata olasılığını temsil eder ve yüksek kaliteli okumalar için standart bir değer olarak kabul edilir (Schmieder ve Edwards, 2011).

Illumina dizileme yöntemiyle elde edilen DNA dizileri yaklaşık olarak 100-150 baz uzunluğundadır. Bu kısa dizilerin birleştirilerek daha uzun diziler oluşturulması gerekmektedir. Bu birleştirme işlemine "montaj" veya "assembly" denir ve oluşturulan uzun dizilere "kontig" adı verilir (Simpson ve Durbin 2012).

Veri setlerinden 1-2 kb'den küçük olan kontigler çıkarılır ve istenmeyen kontaminant kontigleri tespit etmek için ek bir kontrol uygulanır. Genellikle, montaj aşamasında kontaminantları belirlemek için 16S rDNA genleri, protein kodlayan genler, sıra dışı k-mer frekansları ve GC içeriğindeki değişiklikler gibi farklı kriterler taranır (Bowers ve ark., 2017).

Bu veri setleri, N50, L50, en büyük kontig, toplam kontig sayısı, montajın toplam boyutu ve genom başına tahmini gen sayısı gibi çeşitli özellikleri içerir.

Genomik bir dizinin tüm özelliklerinin belirlenmesi ve tanımlanması, genom anotasyonu olarak adlandırılır. Mikrobiyal populasyon analizlerinde kullanılan bir otomatik analiz platformu olan MG-RAST (Metagenomics RAST), nicel bilgiler sağlar. Sunucu dizilerinin yüklenmesi, kalite kontrolü ve otomatik anotasyon işlemlerini içermektedir (Meyer ve ark., 2008). Otomatik genom anotasyonu için Joint Genome Institute (JGI) tarafından geliştirilen

IMG (Integrated Microbial Genomes) platformu yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Markowitz ve ark., 2011).

Metagenom havuzundaki her genom, "bin" olarak adlandırılan birimlerle temsil edilir. EM (Expectation-Maximization) algoritmasını kullanan MaxBin yazılımı, genomlarla ilişkili istatistikleri, GC içeriğini, genom büyüklüklerini ve tahmini tamlık gibi "bin"lere dair bilgileri sağlamaktadır (Wu ve ark., 2014). CONCOCT (Clustering cONTigs on COverage and ComposiTiOn) ise, metagenom kontiglerinin analizi için dizi kompozisyonu, çoklu örnekler için kapsam verisi ve k-mer frekansına dayanarak "bin"leri oluşturmaktadır (Alneberg ve ark., 2013). MetaBAT ise tetranükleotid sıklığı ve genom bolluğunun olası uzaklığına dayalı olarak analiz gerçekleştirmektedir (Kang ve ark., 2015).

MOTHUR, açık kaynaklı bir biyoinformatik yazılım paketidir ve DNA dizilerine dayalı mikrobiyal topluluk analizleri için tek bir analiz çerçevesi sağlar. Bu yazılım paketi, yaygın olarak kullanılan üçüncü parti araçlarını bir araya getirir ve mikrobiyal verilerin analizinde çeşitli çeşitlilik metrikleri, istatistiksel yöntemler ve görselleştirme araçları uygular. Sonuç olarak, mikrobiyal topluluk analizindeki birçok bireysel adım, MOTHUR yazılımı kullanılarak çeşitli yollarla gerçekleştirilebilir.

MOTHUR hattında kullanılan bazı temel araçlar şunlardır: Uclust, operasyonel taksonomik birim (OTU) toplamada; Vsearch, hem OTU toplama hem de kimera kontrolünde; RDP sınıflandırıcı, taksonomik atamalarda kullanılmakta; SİLVA ise taksonomi atamaları ve referans tabanlı OTU toplama için bir referans veri tabanı olarak hizmet vermektedir.

EzBioCloud platformu 2017 yılında tanıtılmasından bu yana, Bakteri ve Arkea'nın taksonomik hiyerarşisini 16S rRNA gen ve genom dizileriyle temsil eden bu entegre platform, tür tanımlamanın giderek genom dizisi karşılaştırmalarına dayanmasıyla birlikte doğru taksonomik bilgi ihtiyacını karşılamaya odaklanmıştır. Özellikle az çalışılmış ya da temsil edilmemiş soylar için fayda sağladığı bilinmektedir. NCBI Assembly Veritabanı'ndaki tüm genom dizileri, düşük kaliteli verilerin çıkarılması için sıkı kalite kontrollerinden geçirilerek EzBioCloud'un biyoinformatik tanımlama sürecinde kullanılmaktadır (Yoon ve diğ., 2017). 16S rRNA geni bulunmayan ve yakın bir genomik temsilcisi olmayan diziler için ise bakteri çekirdek genlerine dayalı yeni bir ANI yöntemi (cgANI) uygulanır. NCBI'deki genom dizilerindeki artış ve yeni cgANI yöntemi ile EzBioCloud artık 109.835 tür içeriyor; bunlardan 21.964'ü geçerli olarak

yayınlanmış adlara, 47.896'sı 16S rRNA dizisi veya genomik ANI (genomospecies) ile tanımlanan aday türlere, kalan 39.975'i ise cgANI ile taksonomik ağaçta konumlandırılan tür kümelerine (species clusters) aittir. EzBioCloud ilk yayınlandığından günümüze kadar, halka açık genom dizilerinde 62.362'den 2024 Mart itibarıyla 1.863.350'ye, yani 30 katlık bir artış yaşanmıştır. Bu artış, mikrobiyal taksonomi anlayışımızı ve mikrobiyom araştırmalarında gerçek dünya uygulamalarında önemli ölçüde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Geleneksel PCR ve 16S rRNA dizileme yöntemleri bu alanın temellerini atsa da, tür düzeyinde kısıtlı kalabilmektedir. DNA-DNA hibritleşmesi, tür sınırlarını tanımlamada yardımcı olsa da, genom tabanlı sınıflandırma yöntemleri bu alanda daha çok kullanılmaya başlanmıştır. Ortalama nükleotit kimliği (ANI) ve OrthoANI gibi yöntemler, tür sınırlarının belirlenmesinde etkili olsa da yeni bakteriyel dallarda yeterli referans olmaması nedeniyle sınırlıdır.

Bu zorlukları aşmak için EzBioCloud "çekirdek gen ANI (cgANI)" yöntemi, 16S rRNA dizisi eksik veya yetersiz olan genom dizileri için başlangıç taksonomik yerleştirmeyi sağlamaktadır. Kalite filtrelemelerinden geçirilmiş bir milyonun üzerinde genom içeren EzBioCloud, tür, cins ve alt tür seviyelerinde taksonomik tanımlama sunmaktadır. Bu veritabanı, temel araştırmalardan klinik uygulamalara kadar birçok mikrobiyoloji disiplini kapsamlı bir araç olarak mikroorganizma çeşitliliğinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır (Chalita ve diğ., 2024).

2.5 TÜRKİYE'DEKİ ÖNEMLİ SULAK ALANLARDA YAPILMIŞ MİKROBİYAL ÇALIŞMALAR

Çalışma alanımızı oluşturan Beyşehir, Eber ve Uludağ Buzul göllerine aid mikrobiyolojik çalışmalar yoktur Türkiye'deki göllere ait mikrobiyolojik çalışmalar genellikle tuzlu ve sodalı göllere ait çalışmalardan oluşmaktadır. Özcan (2012) tarafından gerçekleştirilen ilk çalışmalarda, Türkiye'deki bazı denizel sedimentlerin metagenomik analizi yapılmış ve 32.826 operasyonel taksonomik birim (OTU) saptanmıştır. Bu analizler sonucunda, sedimentlerde 10 bakteriyel ve 2 arkeal filum tespit edilmiştir. Ayrıca, sedimentlerdeki aktinomiset çeşitliliğinin *Solirubrobacterales*, *Rubrobacterales*, *Coriobacterales*, *Actinomycetales*, *Acidimicrobiales* olmak üzere 5 ordo ve sınıflandırılmayan aktinomisetlerden oluştuğu belirlenmiştir. VARLI (2017), Samsun'un Terme ilçesinde yer alan Akgöl Gölü'nde toksin üreten siyanobakteri toplulukları üzerine metagenomik çalışmalar gerçekleştirmiştir. Çalışmaları, siyanobakterilerin bulunduğu dönemlerde *Microcystis spp.* üyelerinin yoğun bir şekilde mevcut olduğunu ortaya

koymuştur. ÇINAR (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Tuz Gölü sedimentlerindeki prokaryotik çeşitlilik incelenmiştir. Dizileme analizleri sonucunda, *Halobacteriales* (%2,1-30,4), *Methanobacteriales* (%0-13,4), *Rhodothermales* (%0,6-21,6) ve *Bacteroidales* (%0,1-8,4) tespit etmiştir. Yaman (2019) tarafından asidik maden drenaj göllerinde gerçekleştirilen prokaryotik çeşitlilik çalışmalarında, 16S amplikon dizileme yöntemiyle elde edilen ham verilerin biyoinformatik analizi sonucunda, baskın mikroorganizmaların *Acidiphilium*, *Metallibacterium*, *Aciditerrimonas*, *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum* ve *Ferroplasma* cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. Sağlam (2021) tarafından Balık Gölü'nde yapılan çalışmada, siyanobakteri komünitesinin biyoçeşitliliği mevsimsel olarak metagenomik yöntemlerle incelenmiştir. Çalışmada farklı mevsimlerde ve derinliklerde su örnekleri alınarak DNA analizi yapılmış ve siyanobakteri çeşitliliği belirlenmiştir. Sonuçlar, biyolojik çeşitliliğin en zengin olduğu dönemin sonbahar olduğunu göstermiştir. Ayrıca, altbölüm I ve IV üyelerinin farklı mevsimlerde baskın olduğu saptanmıştır. Doğan (2022) tarafından Tuz Gölü'nde gerçekleştirilen çalışma, metagenomik yaklaşımla alg, bakteri ve arke çeşitliliğini incelemektedir. Araştırma, geleneksel kültür yöntemleriyle incelenemeyen ekstrem ortamlara uyum sağlamış mikrobiyal toplulukların, kültüre edilmeksizin analiz edilmesini amaçlamaktadır. 13 ay boyunca alınan su örneklerinin DNA izolasyonu ve yeni nesil sekanslama ile yapılan biyoinformatik analiz sonuçlarına göre, arke popülasyonunun *Euryarchaeota* ve *Nanoarchaeaeota* filumlarına ait olduğu; en bol bakteriyel filumun ise *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* olduğu bulunmuştur. *Haloquadratum* ve *Haloparvum* en yaygın arke türleri olarak tespit etmiştir. Ayrıca, çevresel faktörlerin mikrobiyal ve metabolik çeşitlilik üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Toplar (2022) tarafından Kilis ili göletlerinin su kalitesinin ve prokaryotik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, 16S rRNA genlerinin yeni nesil dizilimi kullanılmıştır. Araştırma, Konak Göleti'ndeki bakteri kirliliğinin Seve Barajı'na göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Analizler, DSÖ (2008) ve Türkiye Kıtasal Yüzey Su Kaynakları Listesi Kalite Kriterleri (2016) sınırları içindedir. Seve Barajı'nda *Methylophilus methylotrophus* ve *Luteolibacter algae* gibi türler baskınken, Konak Göleti'nde *Cyanobacteria* ve *alfa/beta proteobacteria* öne çıkmaktadır. Bu çalışma, Kilis yüzey sularındaki mikrobiyal çeşitlilik ve su kalitesine dair kapsamlı bilgiler sağlamaktadır. Zakıal-Qaraghulı A(2023) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin sulama amacıyla kullanılan en eski barajlarından biri olan Akkaya Barajı'nın mikrobiyal florası, çevresel DNA (eDNA) kullanılarak metagenomik yöntemlerle incelenmiştir. Ötrofikasyon sorunu bulunan bu baraj gölünden, bir yıl boyunca her

ay aynı istasyondan örnekleme yaparak veriler elde etmiştir. Yaptığı çalışma ile, Akkaya Baraj Gölü'nde mevsimsel olarak mikrobiyal çeşitlilik ve bakteriyel türlerin bolluğunda önemli değişimler olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle yaz aylarında, ötrofikasyon ve fekal kirliliği gösteren bakteri cinslerinin baskınlık oranında belirgin bir artış tespit etmiştir.

Analiz sonuçlarına göre, *Proteobacteria* (özellikle *Pseudomonadota*), baraj gölünde en baskın filum olarak belirlemiş, bunu *Bacillota* ve *Bacteroidota* üyeleri takip etmiştir. *Proteobacteria* üyelerinin sucul ve karasal alanlarda yaygın olarak bulunduğu, *Bacillota* üyelerinin ise sucul ortamlar ve tarım alanlarında geniş bir dağılım gösterdiği vurgulamıştır. Ayrıca, *Bacteroidota* üyelerinin hem hayvan ve insan bağırsaklarında hem de tarım alanlarında yer aldığı, metabolik süreçlerde önemli bir rol oynadığı ifade etmiştir.

Actinomycetota türlerinin tarım ve orman topraklarında organik maddelerin ayrıştırılmasında ve bitki rizosferi ile simbiyotik ilişkiler kurmada önemli bir rol oynadığı görülmüştür. *Planctomycetota* türlerinin ise karbon ve azot döngülerinde, özellikle anaerobik amonyak oksidasyonunda etkili olduğu belirtilmektedir. Çalışma, Akkaya Barajı'nın mikrobiyal çeşitliliği ve biyojeokimyasal döngüler açısından önemini vurgulamakta ve gölün kimyasal ve kanalizasyon kirliliğinden korunmasının gerekliliğine dikkat çekmektedir.

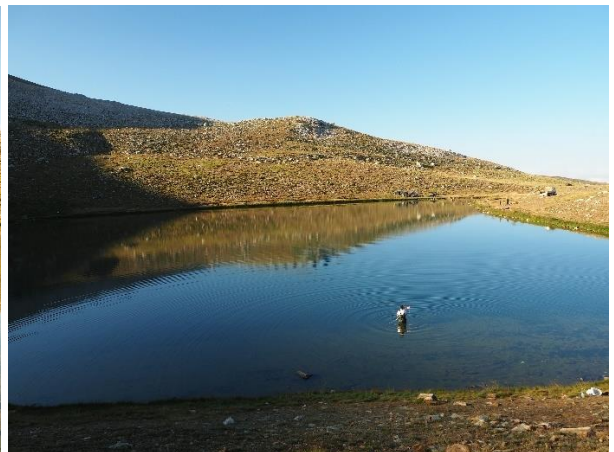
3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ

Beyşehir Gölü'nün Akburun mevkiî açıklarında, su örnekleri alınmıştır. Eber Gölü Kocaoğuz Köyü açıklarından, Uludağ Buzul göllerinden Kara Göl, Kilimli Göl ve daha yüksek rakımda bulunan Buzul gölünden örnekler alınmıştır. Her bir alandan alınan üç farklı numune bir araya toplanmıştır. Eber ve Beyşehir gölü örnekleri Aralık 2019 içerisinde Uludağ Buzul gölleri örnekleri ise kış aylarında göllere ulaşamadığı için Ağustos 2020 içerisinde alınmıştır ve 5 farklı numune 16S amplikon dizileme için kullanılmıştır. Örnekler aseptik şartlara uygun olarak alınıp 4 °C' de laboratuvara ulaştırılmıştır. Örnek toplama işlemi ile çalışma alanlarında su ve ortam sıcaklıkları ile birlikte pH değerleri ölçülmüştür.

Tablo 3.1 Çalışma alanımızı oluşturan göller ve örnek kodları

Örneklerin Alındığı Bölge	İzolat Kodları
Beyşehir Gölü	B1
	B2
	B3
Eber Gölü	E1
	E2
Uludağ Buzul Gölleri	
Buzlu Göl	UB
Kilimli Göl	UKI
Kara Göl	UA





Şekil 3.1 Çalışma alanlarında örnek alımını gösterir fotoğraflar.

3.2 DNA İZOLASYONU VE MİKTAR TAYİNİ

İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik laboratuvarına hızlıca getirilen örnekler MF-Millipore 0.22 µm mixed cellulose esters (MCE) filtreler kullanılarak süzildükten sonra DNA izolasyon kiti ile gelen PowerWater Bead Pro tüplere aktarılmıştır. DNA izolasyonu için DNeasy PowerWater kiti kullanılmıştır. İçerisinde filtre kağıtlarının bulunduğu PowerWater Bead Pro tüplerine 1 ml Solüsyon PW1 eklenmiştir. Tüpler yatay konumda 5 dakika boyunca maksimum hızda Vortex adaptörü ile de maksimum hızda 5 dakika vortex yapıldı. Daha sonra tüpler $\leq 4000 \times g$ de 1 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant temiz 2 ml örnek tüplerine aktarıldı. 13,000 $\times g$ de 1 dakika santrifüj yapıldı. Pelletten kaçınılarak süpernatant temiz 2 ml koleksiyon tüplerine aktarıldı. Tüplere 200 µl IRS solüsyonundan ilave edilerek nazikçe vortex yapıldı. Tüpler 2-8°C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 13,000 $\times g$ de 1 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant temiz 2 ml koleksiyon tüplerine aktarıldı. Tüplere 650 µl PW3 solüsyonu eklenerek nazikçe vortex yapıldı. Koleksiyon tüplerinden 650 µl süpernatant MB spin kolonuna aktarıldı. 13,000 $\times g$ de 1 dakika santrifüj yapıldı. Kolondan geçen kısım atılarak örnek tüplerindeki tüm süpernatant işlenene kadar son basamak tekrarlandı. MB Spin Kolon filtreleri temiz 2 ml koleksiyon tüplerine yerleştirildi. Her bir koleksiyon tüpüne 650 µl PW4 eklenerek 13,000 $\times g$ de 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı. Akış atılarak kit ile gelen 650 µl ethanol eklenerek 13,000 $\times g$ de 1 dakika santrifüj uygulandı. Akış atılarak tekrar 13,000 $\times g$ de 2 dakika santrifüj işlemi uygulandı. MB Spin Kolon filtreleri temiz 2 ml koleksiyon tüplerine aktarıldı. 100 µl EB solüsyonu MB spin kolon filtresinin beyaz kısmına doğru eklendi. 13,000 $\times g$ de 1 dakika santrifüj işlemi uygulandı. MB Spin kolon filtreleri atılarak örnek tüplerinde DNA elde edilmiş oldu. İşlemler sonunda elde edilen DNA

örnekleri, %1'lik agaroz jel elektroforezinde (BioRad, 1704416EDU) 100 V'ta yürütülmüş ve UV transillüminatör (Vilber Lourmat, ECX-F26.M) ile görüntülenmiştir. DNA örneklerinin konsantrasyonları ve kaliteleri, Qubit 4.0 fluorometre ve Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) kullanılarak ölçülmüştür.

DNA örnekleri izole edildikten sonra saflık değerleri ve konsantrasyonları ölçüldü. İşlem, Thermo Scientific NanoDrop 2000 spektrofotometre cihazının kullanılmasıyla gerçekleştirildi. 260 nm dalga boyundaki absorbans değerleri, DNA miktarını belirlemek için kullanıldı. Elution Buffer'den 1 litre boş ölçüm yapıldı. 1 mililitre su örneğine ek olarak kit içindeki tüplere aktarıldı ve DNA konsantrasyonlarını belirlemek için 1 mililitre solunum tamponu ek edildi. Saflığı kontrol etmek için UV ışığının soğurma oranları (A260/A280) kullanıldı. Tsai ve diğ., (2004), DNA konsantrasyonlarını hesaplamak için bir formül geliştirdi.

$$\text{DNA (ng/l)} = \text{A260} \times 50 \text{ ng/l} \times \text{Seyreltme Faktörü} \quad (3.1)$$

DNA örneklerinin konsantrasyon oranı 1.8 ile 2.0 arasında olduğunda, bu durum DNA'nın saf olduğunu belirtmektedir (Matlock., 2015). Çalışmada kullanılacak yeterli kalite ve miktardaki DNA örnekleri, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) analizleri için -20 derecede saklanmıştır.

3.3 PCR İLE 16S RRNA GENİNİN V3-V4 BÖLGESİNİN ÇOĞALTILMASI VE AGAROZ JEL ELEKTROFOREZİ İLE GÖRÜNTÜLEME SÜREÇLERİ

İzole edilen örneklerin 16S rRNA geninin V3-V4 bölgeleri, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak örneklerin uygunluğu kontrol edilmiştir. Bu protokolda, Illumina adaptör çıkıntılı nükleotid dizileri ile gen spesifik dizilerin birleştirildiği primer çiftleri kullanılmıştır. Primer dizilerinin belirlenmesinde, Herlemann ve ekibinin yayınladığı çalışma referans alınmıştır (Herlemann ve diğ., 2011). Bu çalışmaya dayanarak, bakteriler ve arkeler için en uygun primer çiftinin 465 bp amplikon boyutuna sahip 341F/805R olduğu görülmüştür.

16S Amplikon PCR İleri (Forward) Primer = 5'

GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG CCTACGGGNGGCWGCAG

16S Amplikon PCR Geri (Reverse) Primer = 5'

GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG
GACTACHVGGGTATCTAATCC

16S rRNA geninin V3 ve V4 bölgelerine spesifik primer dizileri koyu renkte gösterilmiş olup, Illumina platformunda kullanılan evrensel adaptör dizileri ise standart biçimde sunulmuştur. PCR işlemi için Tablo 3.2’de verilen miktarlarda bileşenler hazırlandı.

Tablo 3.2 PCR reaksiyon bileşenleri

Bileşen Adı	Hacim (µl)
Mikrobiyal DNA (5ng/µl)	2.5
Amplikon PCR Forward Primer=5’	5
Amplikon PCR Reverse Primer=5’	5
2x KAPA Hifi HotStart ReadyMix (KAPA Biosystems, KK2601)	12.5
Toplam	25

Tablo 3.3’te belirtilen koşullarla hazırlanan bileşenler kullanılarak PCR işlemi, Biorad Laboratories, Inc. (ABD) tarafından üretilen C1000 Thermal Cycler cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 3.3 PCR prosedürü

Döngüler	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	30 sn	25
Bağlanma	55	30 sn	25
Uzama	72	30 sn	25
Son Uzama	72	5 dk	1
Bekleme	4	∞	

Çoğaltılan ampliconlar, PCR pürifikasyon işlemine tabi tutuldu. Bu sayede, primer, primer dimer ve diğer PCR bileşenlerinden arındırılan ampliconlar, özgün Illumina index dizileri ile işaretlendi ve pürifiye edildi. Çoğaltılan örneklerden elde edilen 460 baz çifti uzunluğundaki ampliconlar, jellerde kontrol edildi. Kalitatif analiz için %1,2'lik agaroz jel hazırlandı ve Tablo 3.4'te belirtilen miktarlar kullanılarak elektroforez işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3.4 Agaroz jel elektroforezinde kullanılan çözeltiler.

Çözelti Adı	İçeriği
50X TAE Tamponu	2 M Tris bazı (Sigma, T8524) (Sigma, T8524), %0.0571 Glasiyal asetik asit(Sigma, A9967), 50 mM EDTA (pH 8.0)
10mg/ml EtBr	10mg EtBr, 1 ml distile su
6X Yükleme Tamponu	100 mM EDTA (pH8.0), % 1 SDS, %60 Gliserol, %0.03 Bromofenol mavisini, %0.03 Ksilen siyanol FF

Elektroforez işlemi için 1 kb ladder (NEB) kullanıldı ve yürütme işlemi için 1X Tris-Asetat-EDTA (TAE) tampon sistemi tercih edildi. %1,2'lik agaroz jel hazırlamak amacıyla 0.48 g agaroz (Sigma, A5073) tartıldı ve üzerine 40 ml 1X TAE eklenerek mikrodalga fırında 2 dakika süreyle çözüldürüldü. Oda sıcaklığına kadar soğutulan jel ortamına 32 µl EtBr ilave edildi. Elektroforez tarağı yerleştirilen jel, elektroforez kabına (BioRad, 1704416EDU) döküldü ve jel katılaşması için 30 dakika bekletildi. Polimerize olan jel, içinde 1X TAE tamponu bulunan yatay elektroforez tankına yerleştirildi. DNA örnekleri, 5 µl DNA örneği ile 1 µl 6X DNA yükleme boyası (Thermo Scientific, R0611) karıştırılarak kuyulara yüklendi. Elektroforez işlemi, 85 V sabit akımda 50 dakika süreyle gerçekleştirildi. Elde edilen DNA, Vilber Lourmat UV transillüminatörü (ECX-F26.M) kullanılarak kontrol edildi.

3.4 ÖRNEKLERİN ILLUMINA YENİ NESİL DİZİLEME YÖNTEMİ İLE DİZİLENMESİ VE BİYOENFORMATİK ANALİZİ

Çoğaltılmış V3-V4 bölgesi sekansları olan 8 örnek, dizileme hizmeti sağlayan Gen ova medikal ürünler ve sağlık hizmetleri ltd.şti'ne gönderildi. Profesyonel bir ekip tarafından NovaSeq

sistemi ile DNA dizileme işlemi gerçekleştirildi ve sonuç olarak fastq formatında veriler elde edildi.

16S rDNA'nın V3-V4 bölgelerini hedefleyerek çoğaltılan örneklerimiz, taksonomik kompozisyon açısından EzBioCloud 16S Mikrobiom Taksonomik Profillemeye (MTP) hattı kullanılarak analiz edilmiştir (<https://www.ezbiocloud.net/>, erişim tarihi 03.03.2024, versiyon 08.23.2023). İlk olarak, ham okumalar Trimmomatic versiyon 0.32 (Bolger ve diğ., 2014) kullanılarak kalite kontrolünden geçirilmiş, Q25'in altındaki kalite skoruna sahip okumalar filtrelenmiştir. Kalite kontrolünün ardından, çift uçlu diziler VSEARCH versiyon 2.13.4 (Rognes ve diğ., 2016) kullanılarak birleştirilmiş, fastq_mergepairs komutu varsayılan ayarlarla uygulanmıştır. Myers ve Miller (1988) hizalama algoritması kullanılarak, primerler 0.8 benzerlik eşik noktasında kesilmiştir. 16S rRNA kodlaması içermeyen spesifik olmayan ampikonları tanımlamak için HMMER yazılım paketinden (versiyon 3.2.1) hmm profilleriyle birlikte Nhmmer (Wheeler ve Eddy 2013) kullanılmıştır. Benzersiz okumalar izole edilmiş ve ardından fazlalık içeren okumalar çıkarılan benzersiz okumalarla birlikte kümelendirilmiştir. Bu işlem, VSEARCH yazılım paketinin derep_fulllength komutu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. VSEARCH'ün usearch_global komutu, EzBioCloud 16S rRNA veritabanı (Yoon ve diğ., 2017) kullanılarak taksonomik atama için kullanılmış, ardından Myers ve Miller'a göre daha detaylı bir çift yönlü hizalama yapılmıştır. Kimerik okumalar, UCHIME algoritması (Edgar ve diğ., 2011) kullanılarak referans tabanlı kimerik tespit yoluyla çıkarılmıştır. %97 benzerlik eşiği uygulanmış ve EzBioCloud'un kimerik olmayan 16S rRNA veritabanı referans olarak kullanılmıştır. Kimerik filtrelemeden sonra, EzBioCloud veritabanındaki (PKSSU4.0) girişlerle %97'den az benzerlik gösteren ve tür düzeyinde tanımlanamayan okumalar bir araya getirilmiştir. Ek operasyonel taksonomik birimler (OTU'lar) oluşturmak için, cluster_fast komutu (Rognes ve diğ., 2016) kullanılarak De Novo kümeleme uygulanmıştır. Yalnızca tek okuma içeren OTU'lar (singletonlar) aşağı akış analizinden çıkarılmıştır. Bakteriyel toplulukların taksonomik kompozisyonu, çoklu taksonomik düzeylerde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

Mothur ve Ezbiocloud sistemlerini karşılaştırabilmek için toplanan veriler ayrıca, MOTHUR v1.48.0 (Schloss ve diğ., 2009) kullanılarak da incelenmiştir. İleri ve geri okuma dizileri kontiglere birleştirilmiş, filtrelenmiş ve işlenmiştir. Ambigüite içeren veya 8 bp'den uzun homopolimerlere sahip diziler analizden çıkarılmıştır. Filtrelemeden sonra diziler

tekrarsızlaştırılmış ve SILVA v132 referans küçük alt birim rRNA gen hizalama veritabanına (Quast ve diğ., 2013) hizalanmıştır. %95 eşik değeri kullanılarak başlangıç ve bitiş pozisyonları optimize edilmiş ve tam hizalamayı kapsamayan diziler çıkarılmıştır. Hizalamaların yapılmasının ardından, boşluk veya nokta karakterleri içeren sütunlar kaldırılmış ve diziler bir kez daha tekrarsızlaştırılmıştır. Gürültü giderme, 100 bp başına bir farktan az olan dizilerin kümelenmesiyle gerçekleştirilmiş ve chimeralar, MOTHUR'un VSEARCH yöntemini (Rognes ve diğ., 2016) kullanarak ortadan kaldırılmıştır. Wang tekniği (Wang ve diğ., 2007), dizileri SILVA v132 referans taksonomi veritabanına karşı Naive Bayes sınıflandırıcısı ile ve %70 bootstrap eşik değeriyle sınıflandırmak için kullanılmıştır. Kloroplast, mitokondri ve ökarya dizileri analizden çıkarılmıştır. OptiClust yöntemi (Westcott ve Schloss, 2017), elde edilen diziler kullanılarak %99 benzerlik ile kümeleri ve OTU'ları tahmin etmek için uygulanmıştır. Her küme için, en yaygın diziye dayanarak konsensüs sınıflandırmaları ve temsilci diziler üretilmiştir. MOTHUR'daki veri işleme sonrası, OTU'lar daha fazla filtrelenmiştir. Bakteriyel toplulukların bileşimi farklı taksonomik ölçeklerde incelenmiştir. Örneklerin taksonomik çeşitliliğini görselleştirmek amacıyla grafikler, KRONA aracı (Ondov ve ark., 2011) kullanılarak oluşturulmuştur.

Good's coverage, rarefaction, gözlemlenen OTU'lar, Simpson, Shannon ve Bolluk Tabanlı Kapsama Tahmini (ACE) dahil olmak üzere alfa çeşitlilik indeksleri hesaplanmıştır. Beta çeşitliliği, UniFrac mesafe metriği ve temel koordinat analizi (PCoA) kullanılarak belirlenmiştir. PCoA analizi ayrıca EzBioCloud sunucusu tarafından cins düzeyinde gerçekleştirilmiş ve XLSTAT (Addinsoft, New York, ABD) yazılımı kullanılarak görselleştirilmiştir. Örnekler arasında benzersiz ve paylaşılan OTU'ları gösteren bir Venn diyagramı, InteractiVenn çevrimiçi aracı (<http://www.interactivenn.net/>) kullanılarak oluşturulmuştur.

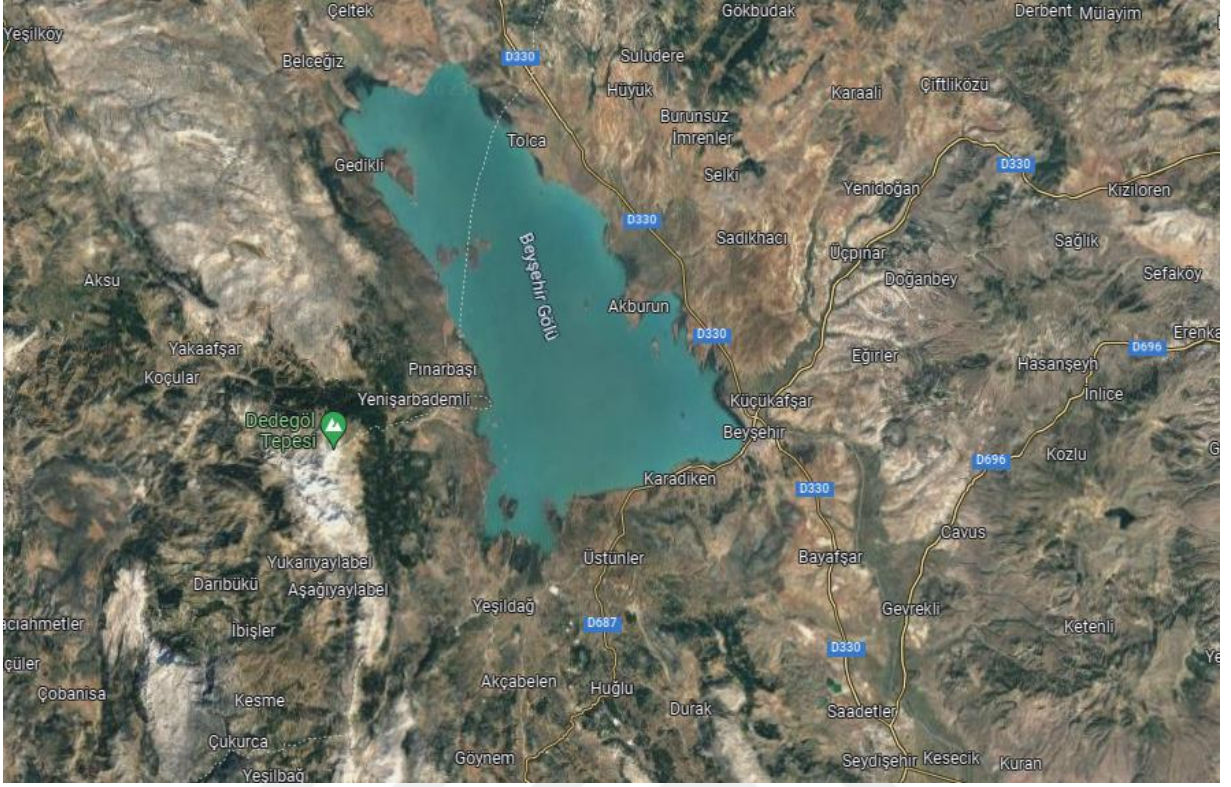
4. BULGULAR

4.1 ALAN SEÇİMİ VE ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Eber gölü çalışma için alınan su örneğinin koordinatları $38^{\circ}36'56.2''N$ $31^{\circ}09'40.3''E$, $38^{\circ}36'53.0''N$ $31^{\circ}05'37.5''E$ 'dir (Şekil 3.1 ve 3.3). Beyşehir Gölü'nden alınan su örneklerinin koordinatları ise $37^{\circ}40'47.5''N$ $31^{\circ}43'08.6''E$, $37^{\circ}38'60.0''N$ $31^{\circ}38'07.2''E$, $37^{\circ}46'39.6''N$ $31^{\circ}37'02.1''E$ 'dir (Şekil 3.2 ve 3.4). Uludağ Buzul Göllerinden alınan su örneklerinin koordinatları ise, Buzul Göl ($40^{\circ}04'35.4''N$ $29^{\circ}13'08.4''E$), Kilimli Göl ($40^{\circ}04'42.5''N$ $29^{\circ}13'16.6''E$), Karagöl ($40^{\circ}04'27.4''N$ $29^{\circ}13'44.3''E$)'dir.



Şekil 4.1 Eber Gölü örnekleme bölgesi uydu görüntüsü (maps.google.com/)



Şekil 4.2 Beyşehir gölü örnekleme bölgesi uydu görüntüsü(maps.google.com/)



Şekil 4.3 Uludağ Buzul gölleri örnekleme bölgesi uydu görüntüsü(maps.google.com/)

4.2 GÖL SU ÖRNEKLERİNE AİT pH VE SICAKLIK DEĞERLERİ

Su örneklerinden el refraktometresi ile yapılan pH ve sıcaklık ölçüm sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Çalışma gölleri su örneklerinin pH ve sıcaklık değerleri ve örnekleme tarihleri

Göl Adı	Örnek Kodu	pH	Sıcaklık	Örnekleme Tarihleri
Eber Göl	E1	8,69	2,3 °C	19.12.2019
	E2	6,62	5,6 °C	19.12.2019
	Eydk	6,62	5,6 °C	19.12.2019
Beyşehir Gölü	B1	8,19	5,9 °C	20.12.2019
	B2	8,20	7,4 °C	20.12.2019
	B3	8,35	7,4 °C	20.12.2019
Uludağ Buzul Gölleri	Buzlu Göl, UB	7,55	18,7 °C	16.08.2020
	Kilimli Göl, UKİ	8,88	18,7 °C	16.08.2020
	Kara Göl, UA	6,85	18,2 °C	16.08.2020

4.3 GÖL SU ÖRNEKLERİNE AİT DNA’LARIN KONSANTRASYONLARI

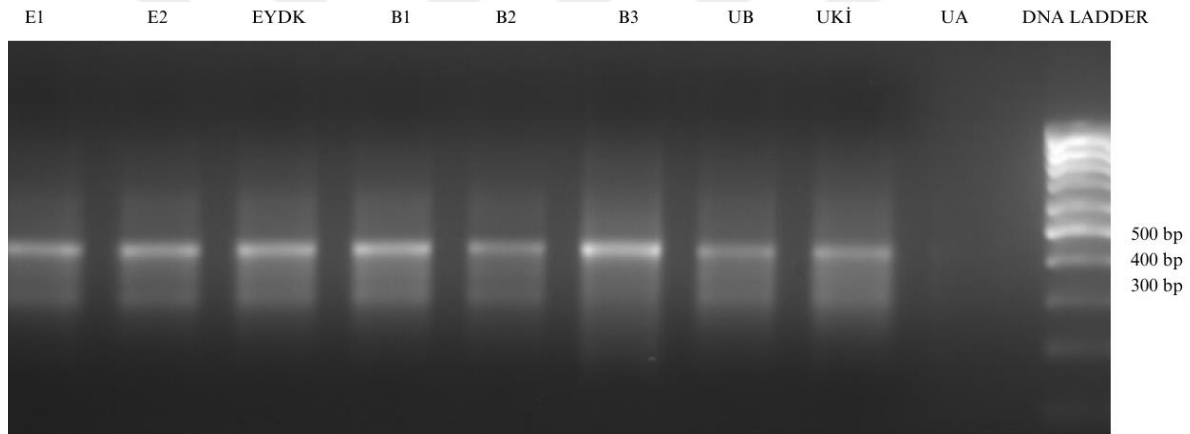
Göllerden alınan örneklerden elde edilen DNA’ların konsantrasyon değerleri Tablo 4.2’de belirtilmiştir.

Tablo 4.2 İzole DNA’ların örnek kod numaraları ve konsantrasyon değerleri.

Örnek	Konsantrasyon (ng/μl)
E1	45,2
E2	183,3
Eydk	36
B1	22,9

B2	14,4
B3	12,3
UB	13,6
UKİ	24,6
UA	30,6

İzole edilen 9 örneğin V3-V4 bölgeleri, PCR yöntemi kullanılarak amplifiye edilmiştir. Kalitatif analiz için agaroz jel elektroforezi yapıldı ve bantlar Şekil 4.1'de görüntülendi. Elde edilen sonuçlar, örneklerin V3-V4 bölgelerinin başarılı bir şekilde çoğaltıldığını gösterdi.



Şekil 4.4 Örneklerin çoğaltılan V3 ve V4 bölgelerine ait elektroforez jel görüntüleri.

Çalışmamız kapsamında toplanan 9 örnek, Genova medikal şirketi tarafından yeni nesil dizileme yöntemi olan Illumina NovaSeq sistemi ile profesyonel olarak dizilenmiştir. Dizileme sonucunda elde edilen dizi verileri fastq formatında metagenomik analiz için kullanılmıştır. Ancak, örneklerimizin dizileme çalışmaları için firmaya gönderildiği sırada Covid pandemisi nedeniyle maliyetler artmış ve biyoteknoloji şirketleri tüm cihazlarını Covid tanıları ve çalışmaları için ayırmıştır. Bu nedenle, örneklerimizin tamamının dizileme çalışması mümkün olamamış ve sadece bir kısmı göllerimizi temsil edecek şekilde dizilenmiştir. Örneklerin barkod okuma sayısı Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Örneklerin barkod okuma sayısı

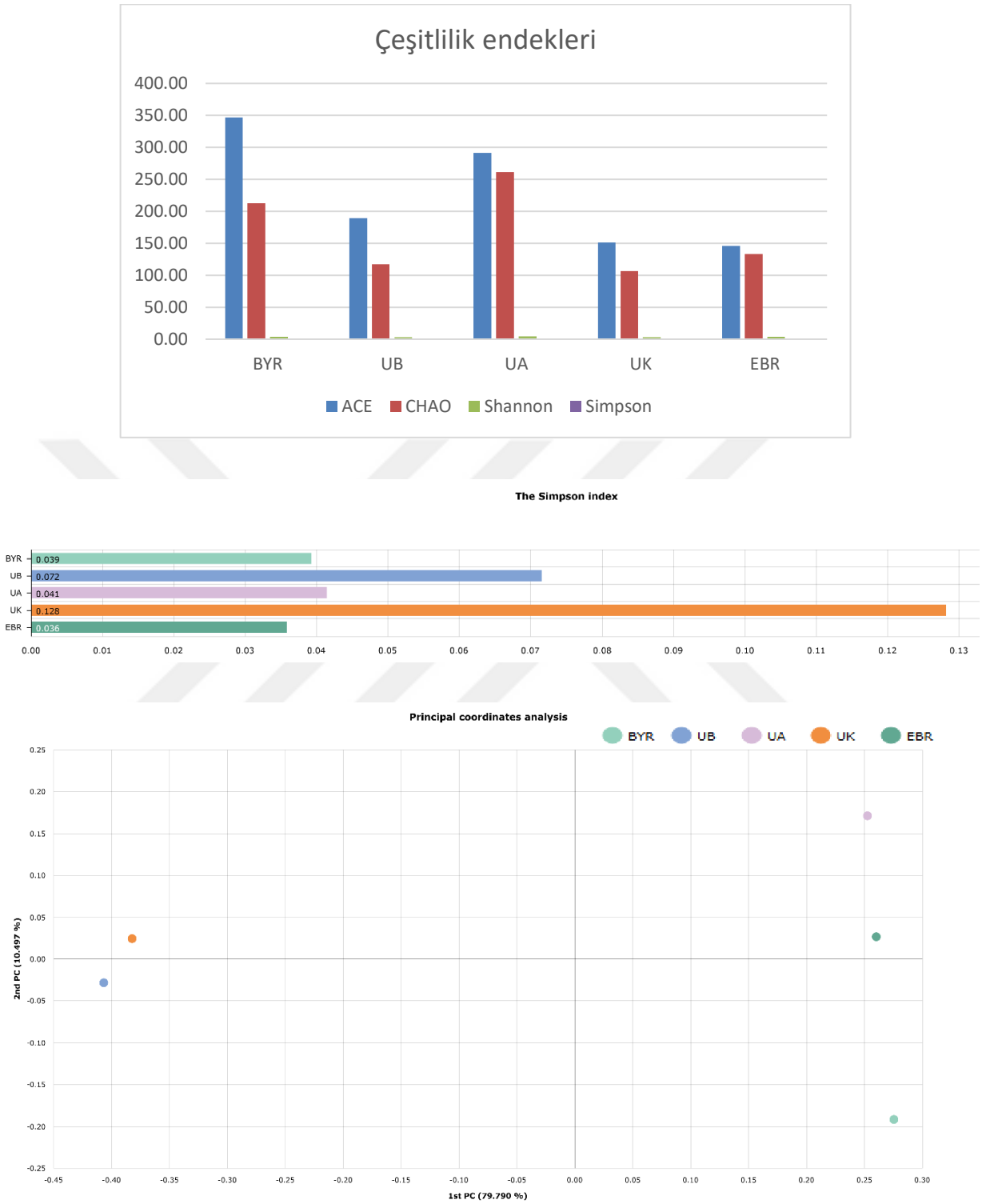
Örnek	Okuma Sayısı
Beyşehir	77170
Eber	72223
UB (Buzlu Göl)	77658
UKİ (Kilimli Göl)	73651
UA (Kara Göl)	79702

OTU'lar belirlenerek ve her biri için temsilci diziye taksonomik atama yapılmıştır. Taksonomik analiz sonucunda, örnekler arasındaki mikroorganizma çeşitliliği farklı taksonomik basamaklarda sınıflandırılarak tespit edilmiştir. PKSSU4.0 veri tabanının 2023.08.23 versiyonu karşılaştırmalarda kullanılmıştır ve tüm örneklerde 1 alem, 17 şube, 44 sınıf, 81 takım, 129 familya ve 238 cins ve 333 tür tespit edilmiştir.

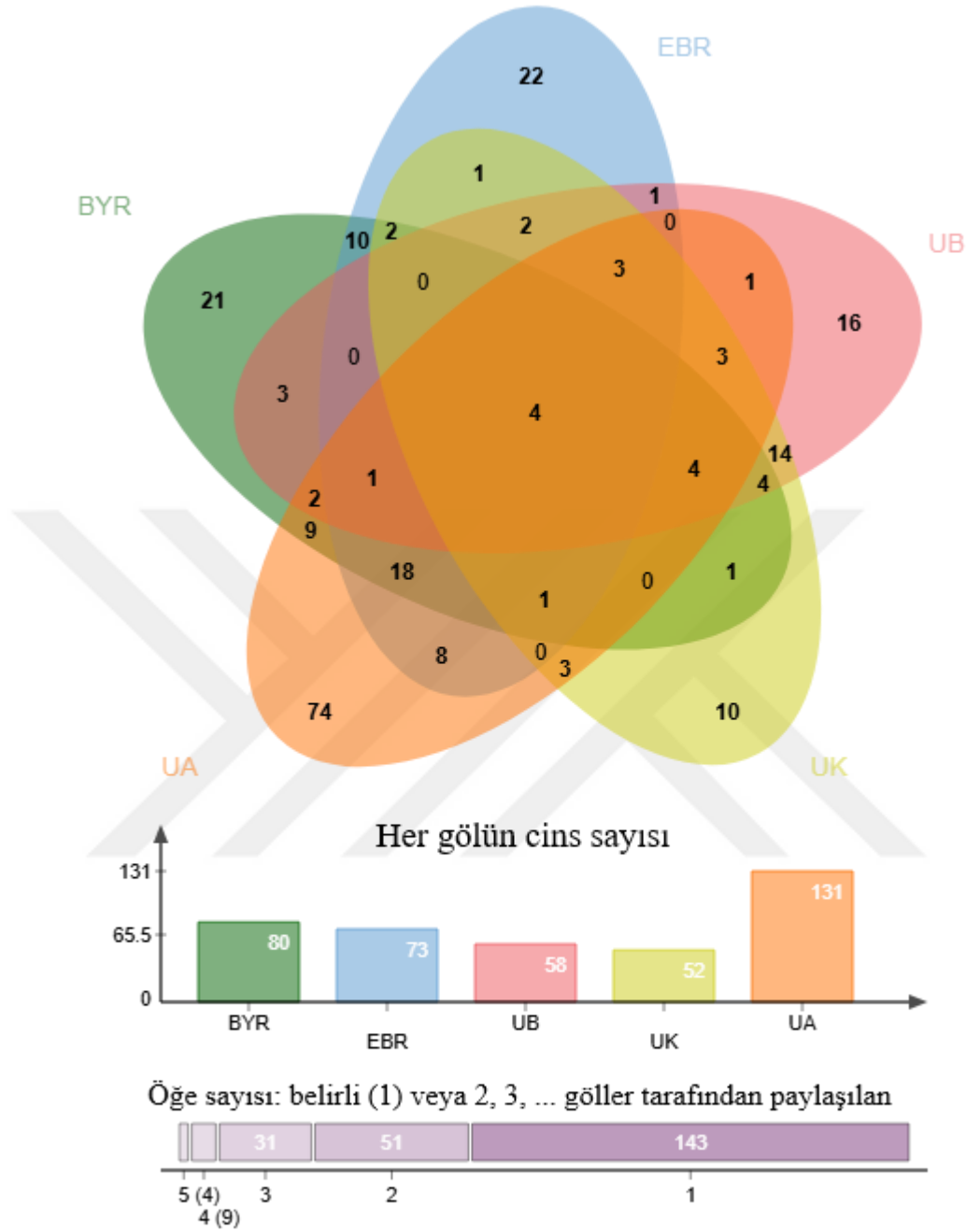
Her bir örneğin taksonomik bilgileri ve içinde bulunan miktarları yüzdesel olarak analiz dosyasına yazıldı. Bu dosyalar kullanılarak cins seviyesindeki mikroorganizma oranları karşılaştırılarak Şekil 4.17'deki sunulan grafikler oluşturulmuştur.

4.4 BAKTERİYEL TOPLULUKLARIN ÇEŞİTLİLİK ANALİZİ

ACE ve Chao1 endeksleri, Beyşehir ve Uludağ Karagöl de Eber, Uludağ Buzlu Göl ve Uludağ Kilimli Göl'e kıyasla önemli ölçüde daha yüksek alfa çeşitliliği ortaya koydu ve bu mikrobiyal topluluklar içinde daha fazla zenginlik ve düzgünlük olduğunu gösterdi (Şekil 4.5b). Tersine, Simpson endeksi Uludağ Karagöl, Beyşehir ve Eber göllerinde daha düşük baskınlığı gösterdi ve bu da çeşitli ve daha az çarpık taksonomik dağılımları daha da destekledi. PCoA analizi (Şekil 4.5c), örnekleme noktaları arasında belirgin beta çeşitlilik desenlerini görselleştirdi. Örnekler dört belirgin gruba kümelendi: UA, EBR, Byr ve UB, UK için birleşik bir grup, noktalar arasındaki önemli kompozisyon farklılıklarını vurguladı. Venn diyagramı (Şekil 4.6), tüm mikrobiyomlarda paylaşılan 66 OTU'yu belirlerken, sırasıyla Byr, Ebr, UA, UB ve UK'e özgü 109, 98, 163, 74 ve 60 OTU tespit etti ve bu da bakteri taksonlarındaki bölgeye özgü farklılıkları vurguladı.



Şekil 4.5 a) Bu tezde çalışılan beş tatlısu gölü için alfa çeşitlilik endeksleri, b) Çalışma alanlarına ait Simpson çeşitlilik indexi. c) Çalışma alanlarına ait PCoA analizi.



Şekil 4.6 Beyşehir (BYR), Eber (EBR), Buzlu Göl (UB), Kilimli Göl (UK) ve Karagöl'ün (UA) mikrobiyomlarında cins seviyesinde paylaşılan ve benzersiz cinslerin dağılımını gösteren Venn diyagramı.

Şekil 4.6'daki grafikte, Karagöl (UA)'ün 74 benzersiz cinse sahip olduğu ve diğer göllere kıyasla en özgün mikrobiyal topluluğa sahip olduğu gösterilmektedir. Beyşehir Gölü (BYR) 21, Eber Gölü (EBR) 22, Buzlu Göl (UB) 16 ve Kilimli Göl (UK) 10 benzersiz cins ile çeşitlilik

göstermektedir. Bu durum, Kilimli Göl ve Buzlu Göl gibi göllerin mikrobiyal çeşitliliğinin diğer göllere kıyasla daha sınırlı olduğunu ifade etmektedir.

Tüm göllerde yalnızca 4 cins ortaktır ve bu durum göller arasında mikrobiyal topluluk yapısının büyük ölçüde farklılaştığını göstermektedir. Tüm göllerde ortak olarak bulunan cinsler, *Couchioplanes*, *Sphingomonas*, *Akkermansia* (insan sağlığına oldukça faydalı, *Akkermansia muciniphila*) ve *Pseudoflavonifractor* oluşmaktadır. Karagöl, diğer göllerle daha fazla cins paylaşmaktadır; Karagöl ile Beyşehir arasında 18, Karagöl ile Eber arasında ise 9 ortak cins bulunmaktadır. Bununla birlikte, diğer göller arasında daha sınırlı bir ortaklık gözlemlenmektedir.

Karagöl, toplamda 131 cinse sahip olup en yüksek mikrobiyal çeşitliliği sergilerken, Beyşehir (80 cins) ve Eber (73 cins) orta düzeyde çeşitlilik göstermektedir. Kilimli Göl (52 cins) ve Buzlu Göl (58 cins) ise görece düşük çeşitlilik sergilemektedir. Göller arasında toplam 143 cins yalnızca bir gölde bulunurken, 51 cins iki göl arasında, 9 cins dört göl arasında paylaşılmaktadır.

4.5 ÇALIŞMA ALANLARININ METAGENOMİK BULGULARI

4.4.1 Beyşehir Gölü

Beyşehir Gölü'nden toplanan örneklerin metagenomik analizi sonucunda toplamda 10 farklı bakteriyel filum tespit edilmiştir. En yüksek oranda bulunan filum %44 ile *Proteobacteria* olmuştur. *Proteobacteria*, geniş çevresel dağılımı ve metabolik çeşitliliği ile dikkat çekerken, bu filumu %27,4 oranıyla *Bacteroidetes* takip etmektedir. *Bacteroidetes* filumunun organik madde ayrışımında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Üçüncü sırada %20 oranıyla *Actinobacteria* yer almıştır. *Actinobacteria*, çevresel stres koşullarına dayanıklılığı ve toprak/akarsu ekosistemlerinde yaygın bulunması ile öne çıkmaktadır. *Verrucomicrobia* ise %3,7 oranıyla dördüncü sırada yer almıştır ve genellikle karbon döngüsü süreçleri ile ilişkilendirilmektedir.

Örnekleme analizlerinde herhangi bir bilinmeyen veya tanımlanamamış bakteri tespit edilmemiştir. *Proteobacteria* (*Pseudomonadota*) üyelerinin sınıf bazında dağılımına bakıldığında, bu filumun %67'sinin *Betaproteobacteria* ve %32'sinin *Alphaproteobacteria* sınıflarına ait olduğu belirlenmiştir. *Betaproteobacteria*, tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak

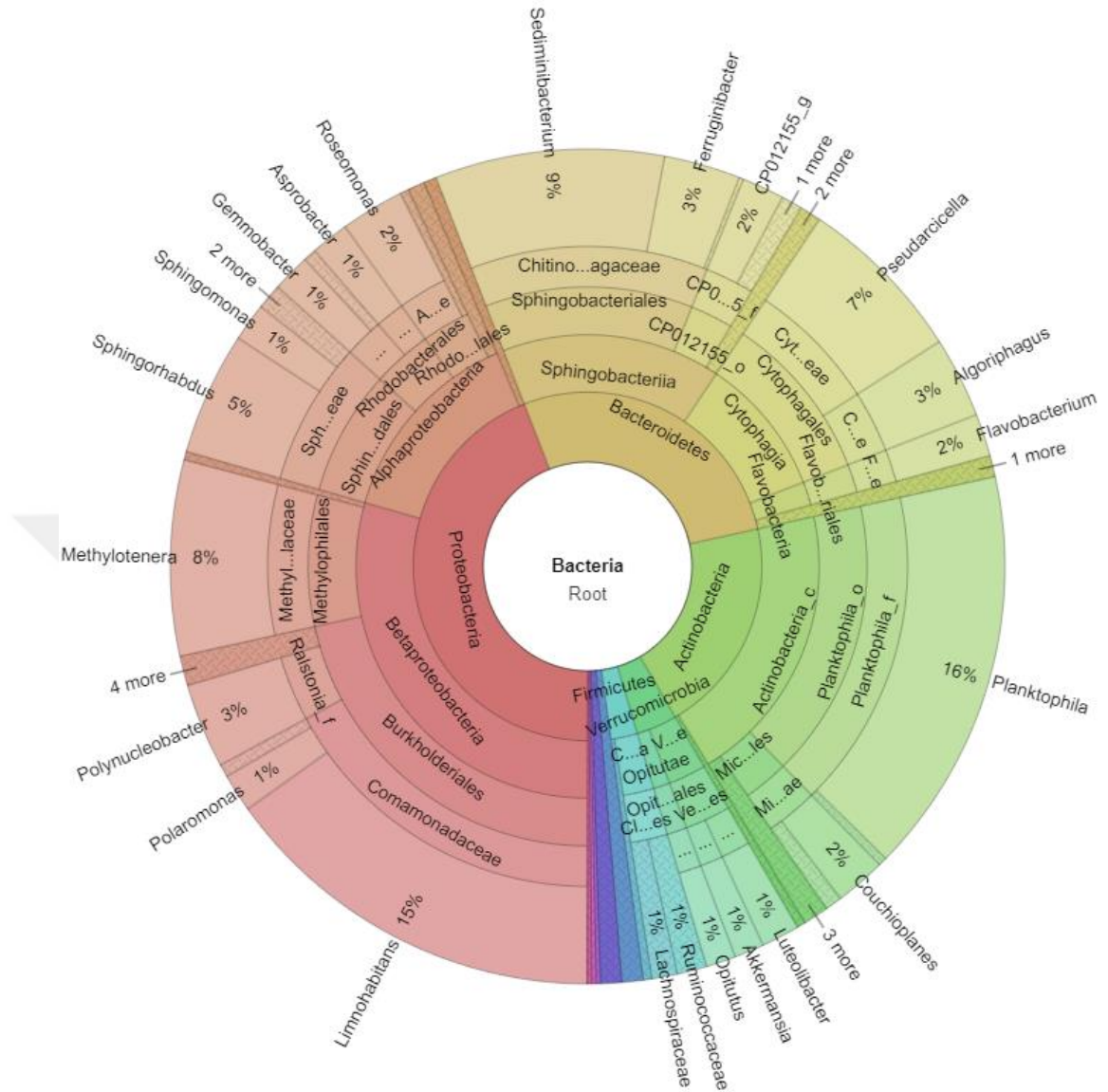
bulunurken, çevresel organik maddelerin metabolizmasında kritik bir rol oynar. *Alphaproteobacteria* ise adaptif özellikleri ve farklı çevresel koşullara uyum sağlayabilen yapısıyla dikkat çekmektedir.

Bacteroidetes filumunun detaylı analizi sonucunda ise bu grubun %56'sının *Sphingobacteria* ve %35'inin *Cytophagia* sınıflarına ait olduğu tespit edilmiştir. *Sphingobacteria*, karmaşık organik moleküllerin parçalanmasında aktif bir rol üstlenirken, *Cytophagia* organik materyallerin ayrışması süreçlerinde önemli bir işlev görmektedir.

Rarefaction eğrisi analizinde, OTU (Operational Taxonomic Unit) zenginliğinin belirli bir noktada doyuma ulaştığı görülmüştür. Bu sonuç, örnekleme derinliğinin yeterli olduğunu ve bakteriyel çeşitliliğin eksiksiz bir şekilde incelendiğini göstermektedir. Görülen eğri, göldeki mikrobiyal topluluğun kapsamlı bir şekilde analiz edildiğini ve farklı filumların tespit edildiğini desteklemektedir.



Şekil 4.7 Beyşehir Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.



Şekil 4.8 Beyşehir Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.

4.4.2 Eber Gölü

Eber Gölü'nden toplanan örneklerde yapılan mikrobiyal analiz sonucunda toplam 10 bakteriyel filum tespit edilmiştir. Bu filumlar arasında en baskın olanlar *Proteobacteria* (%37), *Actinobacteria* (%20), *Bacteroidetes* (%19.4) ve *Verrucomicrobia* (%15) olarak belirlenmiştir. Daha düşük oranlarda *Firmicutes* (%2), *Aminicenantes* (%4), *Chloroflexi* (%0.4), *TM6* (%0.4), *Acidobacteria* (%0.2) ve *Gemmatimonadetes* (%0.2) filumlarına rastlanmıştır. Örneklerde bilinmeyen veya sınıflandırılmayan bir filum bulunmamıştır.

Proteobacteria, göl ekosisteminde en baskın filumdur ve kendi içinde şu sınıflara ayrılmıştır: *Betaproteobacteria* (%75), *Alphaproteobacteria* (%21) ve *Gammaproteobacteria* (%1).

Betaproteobacteria, *Proteobacteria* filumunun en yaygın sınıfı olup besin açısından zengin ortamlarda organik madde dönüşümünde önemli bir role sahiptir. *Alphaproteobacteria* sınıfı ise göl ekosistemindeki organik karbon metabolizmasını desteklemektedir.

Bacteroidetes, gölde önemli bir yer tutar ve organik madde ayrışmasını destekleyen bir filumdur. Bu filumun üyeleri şu sınıflardan oluşmaktadır: *Sphingobacteriia* (%48), *Flavobacteria* (%27) ve *Cytophagia* (%25). *Sphingobacteriia*, karbon döngüsünde önemli bir rol oynar; *Flavobacteria* ve *Cytophagia* ise organik maddenin parçalanmasında etkilidir.

Actinobacteria, göl ekosisteminde sıkça görülen ve organik madde dönüşümünde etkili bir filumdur. Bu filumun üyeleri arasında *Actinobacteria_c* (%91), *Acidimicrobiia* (%8) ve *Rubrobacteria* (%1) sınıfları bulunmaktadır.

Verrucomicrobia, tatlı su ekosistemlerinde yaygın bir filumdur ve Eber Gölü örneklerinde önemli bir paya sahiptir (%15). Bu filum iki sınıfa ayrılmıştır: *Verrucomicrobiae* (%90) ve *Opiritae* (%10). *Verrucomicrobiae* sınıfı, filumun büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır.

Daha düşük oranlarda bulunan diğer filumlar arasında *Firmicutes* (%2), *Aminicenantes* (%4), *Chloroflexi* (%0.4), *TM6* (%0.4), *Acidobacteria* (%0.2) ve *Gemmatimonadetes* (%0.2) yer almaktadır. *Firmicutes* üyeleri genellikle anaerobik koşullarda görülürken, diğer filumlar gölün nadir bulunan mikrobiyal çeşitliliğini temsil etmektedir.

Rarefaction eğrisi, örnekleme derinliğinin yeterli olduğunu ve operasyonel taksonomik birimlerin (OTU) çeşitliliğinin doyuma ulaştığını göstermektedir. Bu durum, elde edilen verilerin Eber Gölü'nün mikrobiyal çeşitliliğini doğru bir şekilde yansıttığını ortaya koymaktadır. Göl ekosisteminde *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* gibi baskın filumların bulunması, gölün biyolojik çeşitliliğinin zengin olduğunu ve besin döngülerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.



Şekil 4.9 Eber Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.

çoğunluğunu oluşturarak %88'lik bir oranla temsil edilmiştir. *Clostridia* üyeleri genellikle organik madde ayrışmasında aktif rol oynayan anaerobik bakterilerdir. Bu durum, gölün organik madde birikimi açısından zengin bir yapıya sahip olabileceğini göstermektedir. *Erysipelotrichi* sınıfı ise %11 oranında tespit edilerek, göl ekosisteminde daha az baskın bir yer tutmaktadır.

Bacteroidetes, %35'lik oran ile göldeki ikinci en baskın filumdur. Bu filum, tek bir sınıf olan *Bacteroidia* tarafından tamamen temsil edilmektedir. *Bacteroidia* üyeleri, organik maddenin ayrıştırılmasında ve karbon döngüsünde etkin bir rol oynamaktadır. Göl ortamında *Bacteroidetes* filumunun bu kadar yüksek bir oranda bulunması, göl ekosistemindeki yoğun organik madde metabolizmasını desteklemektedir.

Verrucomicrobia, göldeki diğer önemli bir filum olarak %12 oranında tespit edilmiştir. Bu filum, *Verrucomicrobiae* sınıfı tarafından tek başına temsil edilmiştir. *Verrucomicrobia* üyeleri, karbon metabolizmasında ve tatlı su ekosistemlerinde önemli roller üstlenmektedir. Bu filumun gölde bulunması, ekosistemde karbon döngüsüne katkıda bulunduğuna işaret etmektedir.

Proteobacteria, %6 oranında tespit edilerek gölde daha az baskın bir filum olarak belirlenmiştir. Bu filum kendi içinde *Betaproteobacteria* (%76), *Gammaproteobacteria* (%12) ve *Alphaproteobacteria* (%12) sınıflarına ayrılmıştır. *Betaproteobacteria* sınıfı, filumun en baskın grubu olarak dikkat çekmektedir. Bu sınıf, tatlı su ekosistemlerinde sıkça bulunan ve organik karbon metabolizmasında önemli bir rol oynayan bakterilerden oluşmaktadır. *Gammaproteobacteria* ve *Alphaproteobacteria* sınıfları ise daha düşük oranlarda (%12) bulunmuş, göl ekosisteminde daha az baskın oldukları görülmüştür.

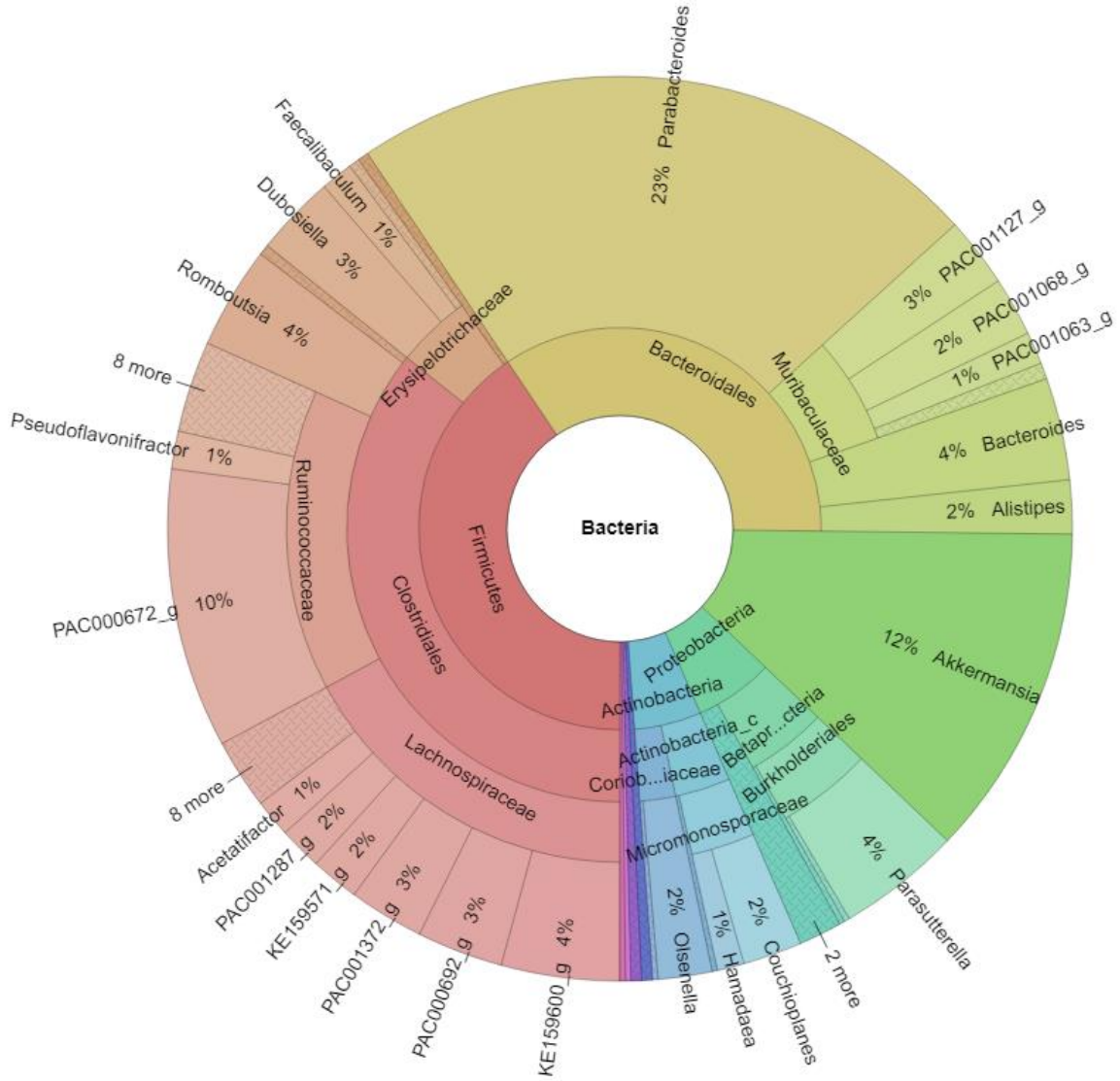
Daha düşük oranlarda tespit edilen diğer filumlar arasında *Chloroflexi* (%0.4), *Planctomycetes* (%0.4), *Acidobacteria* (%0.2) ve *Nitrospirae* (%0.2) yer almaktadır. Bu filumlar gölde oldukça düşük oranlarda bulunmuş olup, nadir görülen mikrobiyal çeşitliliği temsil etmektedir. *Chloroflexi* ve *Planctomycetes* üyeleri, genellikle azot döngüsünde ve organik madde dönüşümünde rol alan bakterilerden oluşmaktadır. *Acidobacteria* ve *Nitrospirae* ise genellikle toprak ve su ekosistemlerinde azot metabolizmasında rol oynayan gruplardır.

Rarefaction eğrisi, operasyonel taksonomik birimlerin (OTU) çeşitliliğinin doyuma ulaştığını göstermektedir. Bu durum, örnekleme derinliğinin yeterli olduğunu ve elde edilen verilerin göl mikrobiyal çeşitliliğini doğru bir şekilde temsil ettiğini ortaya koymaktadır. Göl ekosisteminde

Firmicutes, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia* ve *Proteobacteria* gibi baskın filumların bulunması, gölün karbon ve organik madde döngüsünde zengin bir mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.11 Uludağ Buzlu Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.



Şekil 4.12 Uludağ Buzlu Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.

4.4.4 Uludağ Kilimli Göl

Uludağ Kilimli Gölü'nden toplanan örnekte toplam 8 bakteriyel filum tespit edilmiştir. Bu filumlar arasında en bol bulunanları sırasıyla *Verrucomicrobia* (%30), *Bacteroidetes* (%29.4), *Firmicutes* (%19.8) ve *Proteobacteria* (%10.7) olarak belirlenmiştir. Daha az oranlarda *Chloroflexi* (%2), *Actinobacteria* (%6), *Acidobacteria* (%0.3) ve *Spirochaetes* (%0.3) filumları da tespit edilmiştir.

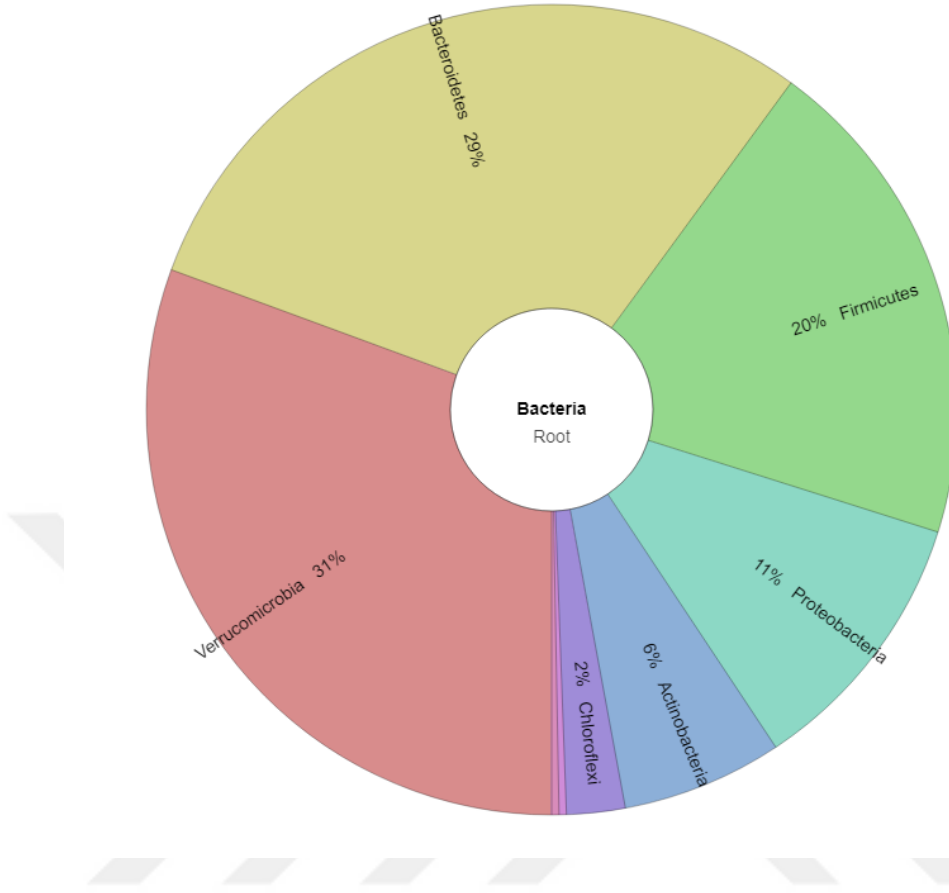
Verrucomicrobia üyelerinin tamamı *Verrucomicrobiae* sınıfına ait olup, bu sınıf göl ekosisteminde en baskın gruplardan biri olarak dikkat çekmiştir. *Bacteroidetes* üyeleri ise büyük ölçüde (%99) *Bacteroidia* sınıfı tarafından temsil edilmiştir. Bu durum, göl

ekosisteminde organik maddenin ayrıştırılmasında etkin bir rol oynayan bakteriyel grupların varlığını göstermektedir.

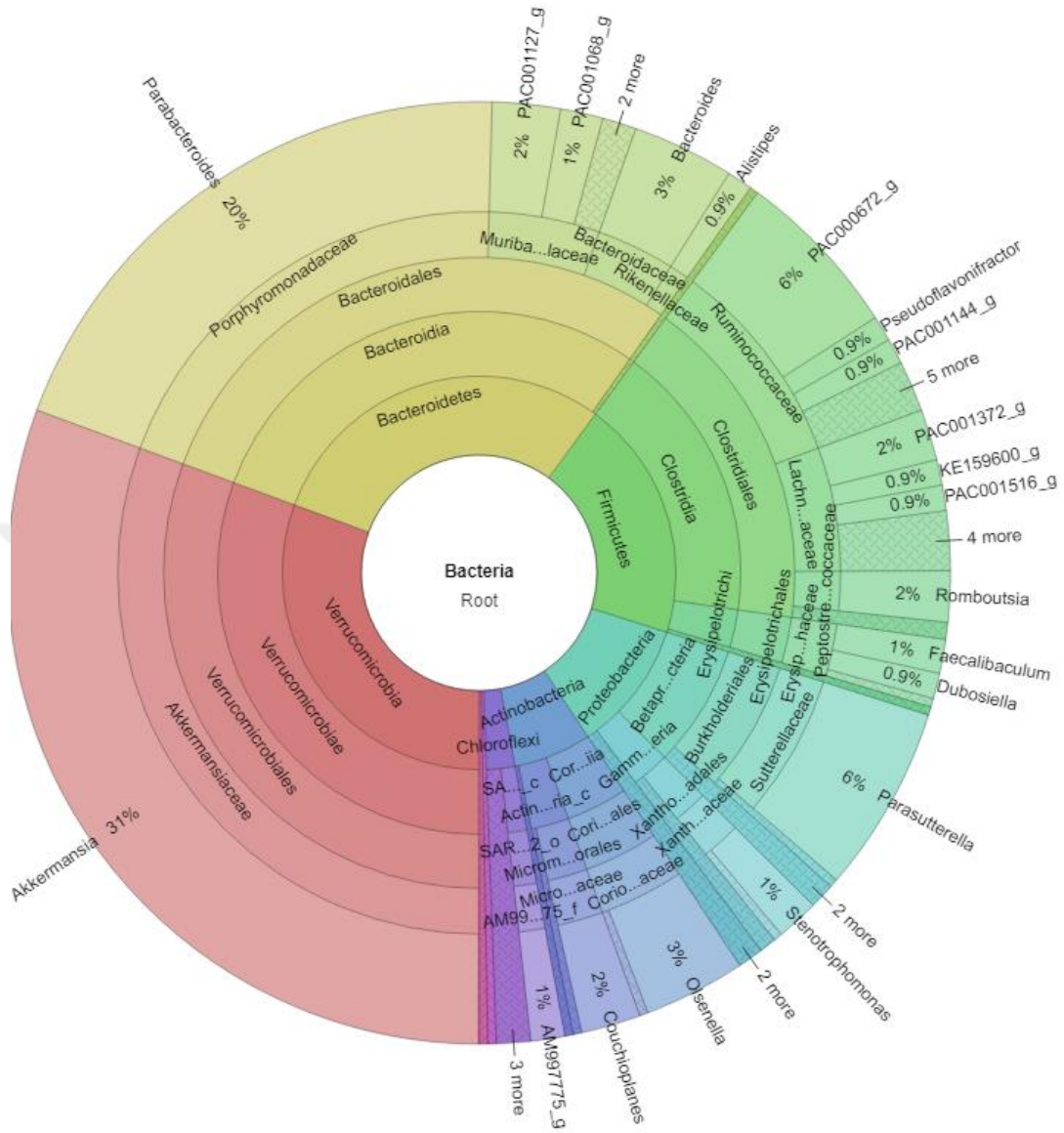
Firmicutes filumunun üyeleri *Clostridia* (%87), *Erysipelotrichi* (%12) ve *Bacilli* (%1) sınıflarına ayrılmıştır. *Clostridia*, bu filum içerisindeki en baskın sınıf olarak göl ekosisteminde organik madde metabolizmasında güçlü bir rol oynamaktadır.

Proteobacteria filumu ise *Betaproteobacteria* (%70), *Gammaproteobacteria* (%22), *Alphaproteobacteria* (%5) ve *Deltaproteobacteria* (%3) sınıfları tarafından temsil edilmiştir. *Betaproteobacteria* sınıfı, göldeki en büyük *Proteobacteria* grubu olarak, tatlı su ekosistemlerinde sıkça rastlanan ve organik karbon döngüsüne katkıda bulunan bakterilerden oluşmaktadır.

Daha düşük oranlarda tespit edilen *Chloroflexi* (%2) ve *Actinobacteria* (%6) filumları, karbon ve azot döngüsüne katkı sağlayan gruplar arasında yer almaktadır. *Acidobacteria* ve *Spirochaetes* ise gölde oldukça düşük oranlarda (%0.3) bulunmuş, bu filumların göl ekosisteminde nadir gruplar arasında yer aldığı gözlenmiştir.



Şekil 4.13 Uludağ Kilimli Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.



Şekil 4.14 Uludağ Kilimli Gölünün 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.

4.4.5 Uludağ Karagöl

Uludağ Karagöl'den alınan örneklerde toplam 12 bakteriyel filum tespit edilmiştir. Bu filumlar arasında en bol bulunanları sırasıyla *Proteobacteria* (%40.2), *Actinobacteria* (%19.6), *Verrucomicrobia* (%15) ve *Bacteroidetes* (%13) olarak belirlenmiştir. Daha düşük oranlarda *Chlorobi* (%1), *Acidobacteria* (%2), *Firmicutes* (%2), *Cyanobacteria* (%3), *Planctomycetes* (%1), *Gemmatimonadetes* (%0.5) ve *Fusobacteria* (%0.2) filumları da tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, göl ekosisteminin bakteriyel çeşitlilik açısından zengin ve dengeli bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

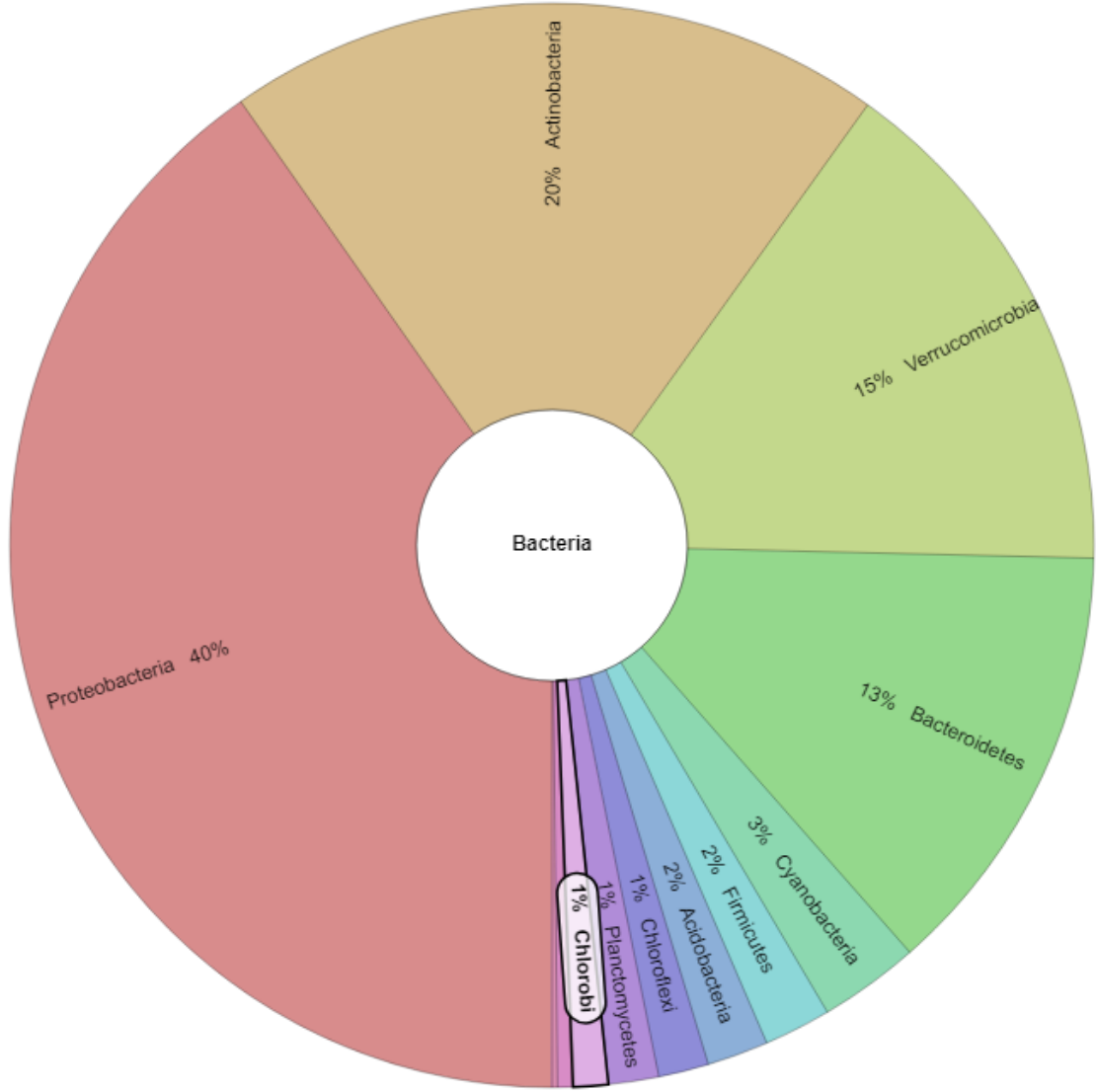
Proteobacteria, göl örneğinde en baskın grup olarak dikkat çekmiştir ve bu filum üyeleri *Betaproteobacteria* (%65), *Alphaproteobacteria* (%24), *Gammaproteobacteria* (%6), *Deltaproteobacteria* (%2) ve *Hydrogenophilalia* (%1) sınıfları tarafından temsil edilmiştir. *Betaproteobacteria* sınıfı, tatlı su ekosistemlerinde sıkça rastlanan ve karbon döngüsüne önemli katkılarda bulunan bakterilerden oluşmaktadır. *Alphaproteobacteria* ve *Gammaproteobacteria* sınıfları, organik madde metabolizmasında aktif roller oynayan gruplardır. *Deltaproteobacteria* ve *Hydrogenophilalia* ise daha düşük oranlarda bulunmuş, ancak göl ekosistemine katkıda bulunan diğer önemli gruplar arasında yer almıştır.

Actinobacteria, gölde ikinci en bol bulunan filumdur ve *Actinobacteria_c* (%97) ve *Acidimicrobiia* (%3) sınıfları tarafından temsil edilmiştir. *Actinobacteria_c* sınıfının baskınlığı, bu grubun özellikle organik madde dönüşümü ve karbon döngüsünde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu sınıfın tatlı su ekosistemlerinde yaygın olarak bulunan bir grup olduğu bilinmektedir.

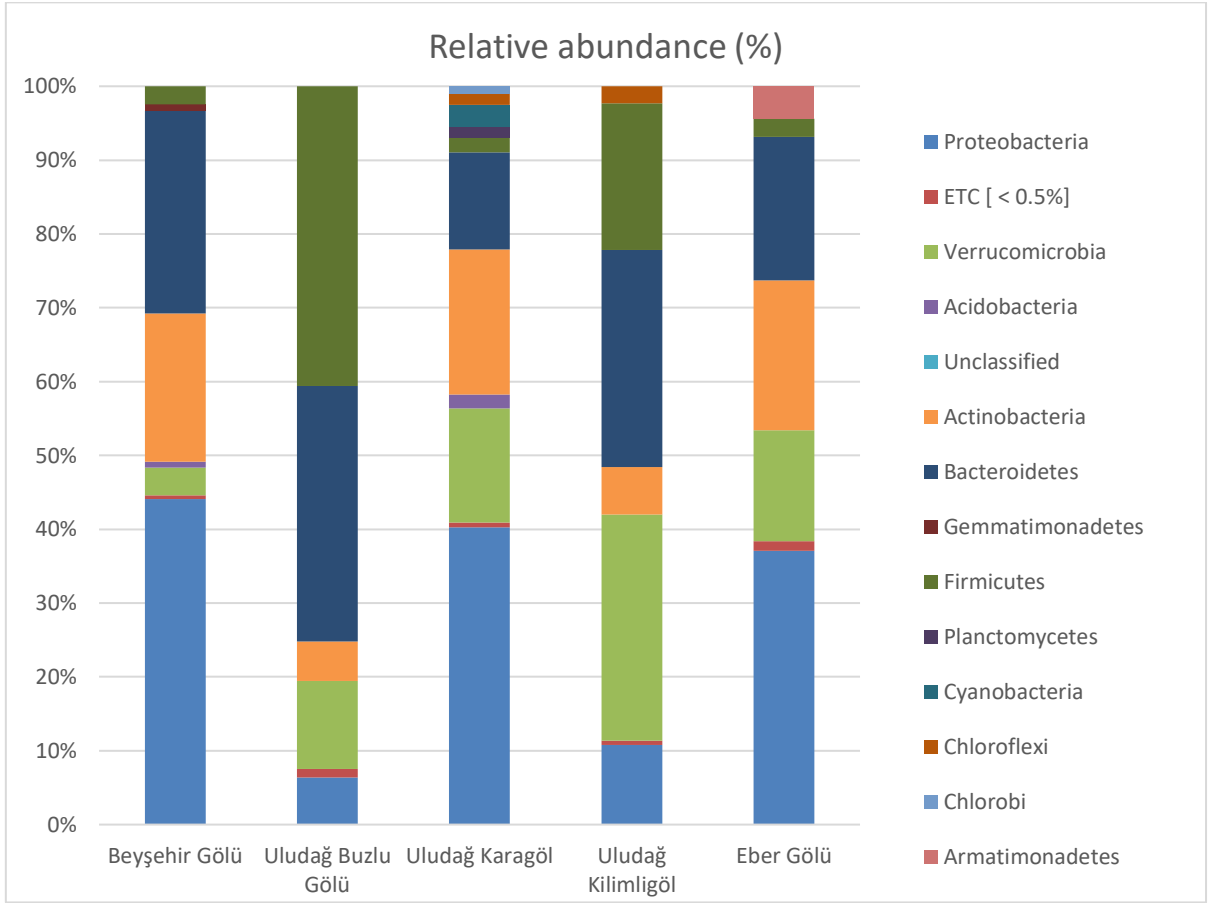
Verrucomicrobia filumu, göl mikrobiyal çeşitliliğinin önemli bir kısmını oluşturmuş ve *Verrucomicrobiae* (%92) ve *Opitutae* (%8) sınıflarıyla temsil edilmiştir. *Verrucomicrobiae* sınıfının yüksek oranda bulunması, bu grubun organik madde ayrışması ve karbon döngüsünde aktif bir rol oynadığını göstermektedir.

Bacteroidetes filumu ise göl ekosisteminde önemli bir yer tutmuş ve *Sphingobacteriia* (%35), *Cytophagia* (%34), *Flavobacteria* (%25) ve *Bacteroidia* (%5) sınıflarıyla temsil edilmiştir. *Sphingobacteriia* ve *Cytophagia* sınıflarının göl örneğinde yüksek oranlarda bulunması, bu grupların organik madde ayrışmasında ve göl ekosistemindeki besin döngüsünde aktif bir şekilde rol aldığını göstermektedir. *Flavobacteria* ve *Bacteroidia* sınıfları ise daha düşük oranlarda bulunmuş, ancak ekosisteme önemli katkılar sağlayan gruplar olarak dikkat çekmiştir.

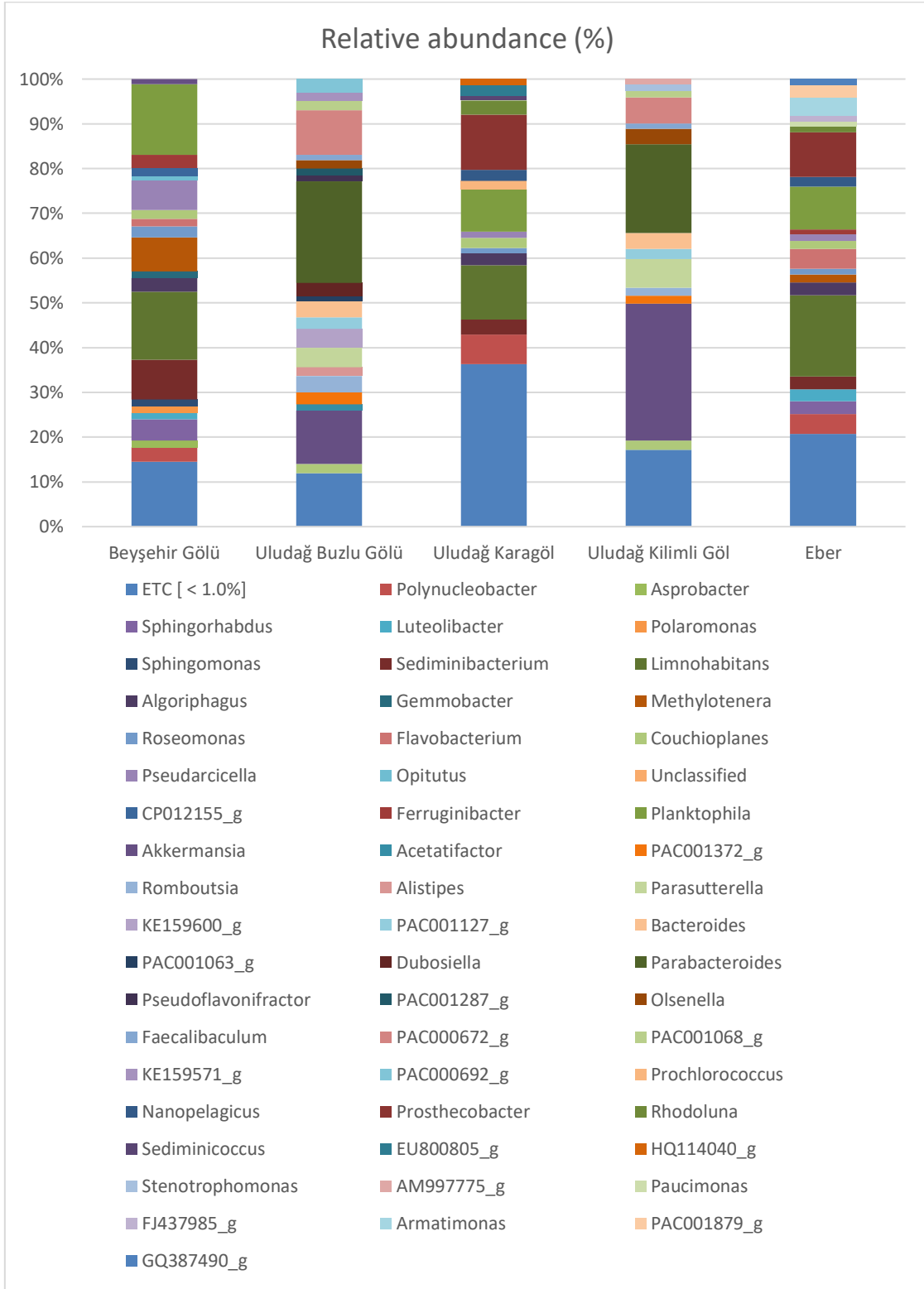
Daha az oranda bulunan diğer filumlar arasında *Cyanobacteria* (%3), *Chlorobi* (%1), *Acidobacteria* (%2), *Firmicutes* (%2) ve *Planctomycetes* (%1) yer almıştır. *Cyanobacteria*, fotosentetik özellikleriyle karbon döngüsüne katkıda bulunurken, *Chlorobi* ve *Planctomycetes* gibi gruplar az sayıda bulunmalarına rağmen sucul ekosistemdeki karbon ve azot döngüsüne katkı sağlamaktadır. *Gemmatimonadetes* (%0.5) ve *Fusobacteria* (%0.2) ise nadir gruplar arasında yer almış ve gölün mikrobiyal çeşitliliğine katkıda bulunmuştur.



Şekil 4.15 Uludağ Karagöl 16S okumalarındaki bakteri popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.



Şekil 4.17 Çalışma Alanlarında en bol bulunan filum seviyesinde taksonomik birimlerin değişimi.

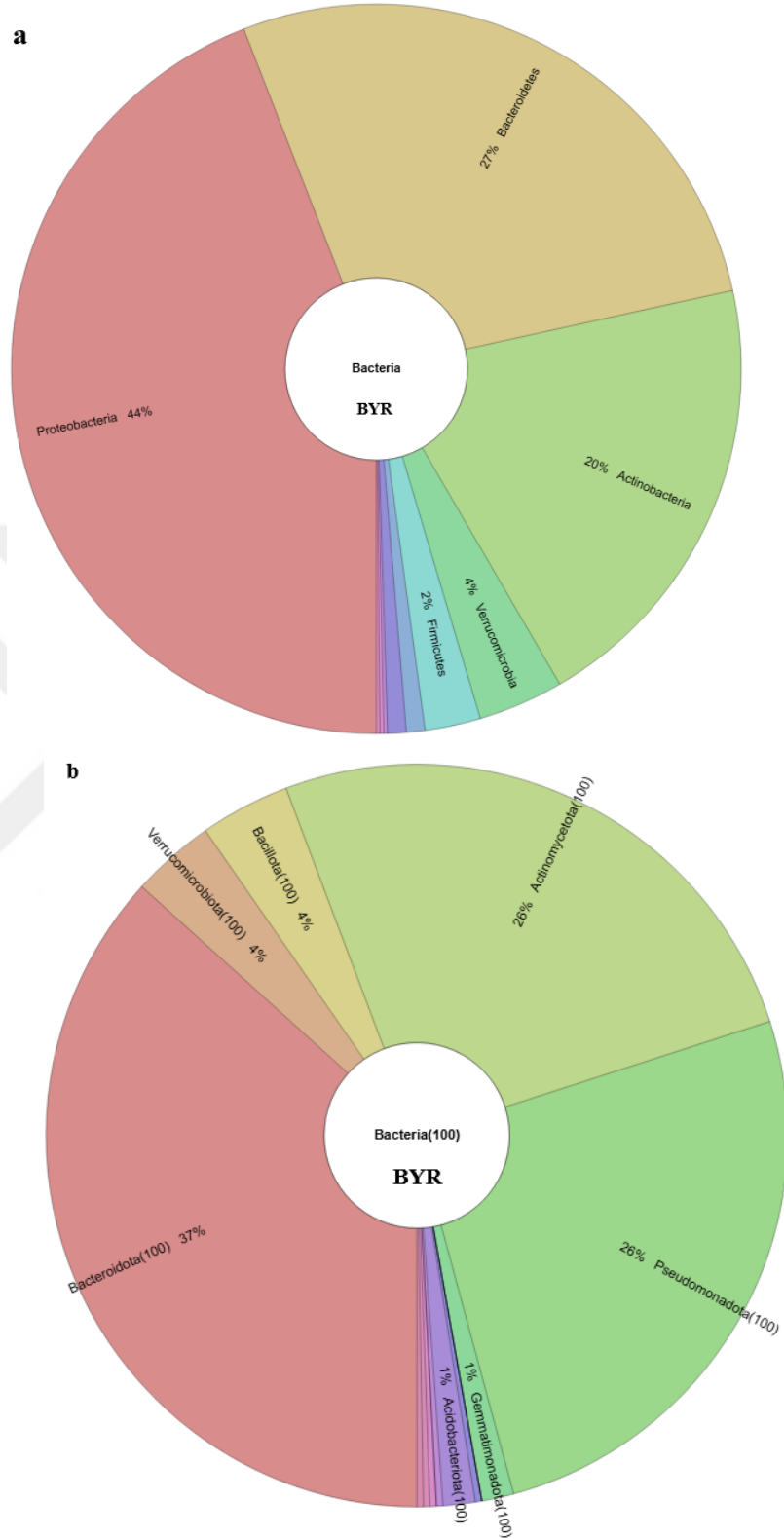


Şekil 4.18 Çalışma Alanlarında en bol bulunan cins seviyesinde taksonomik birimlerin değişimi.

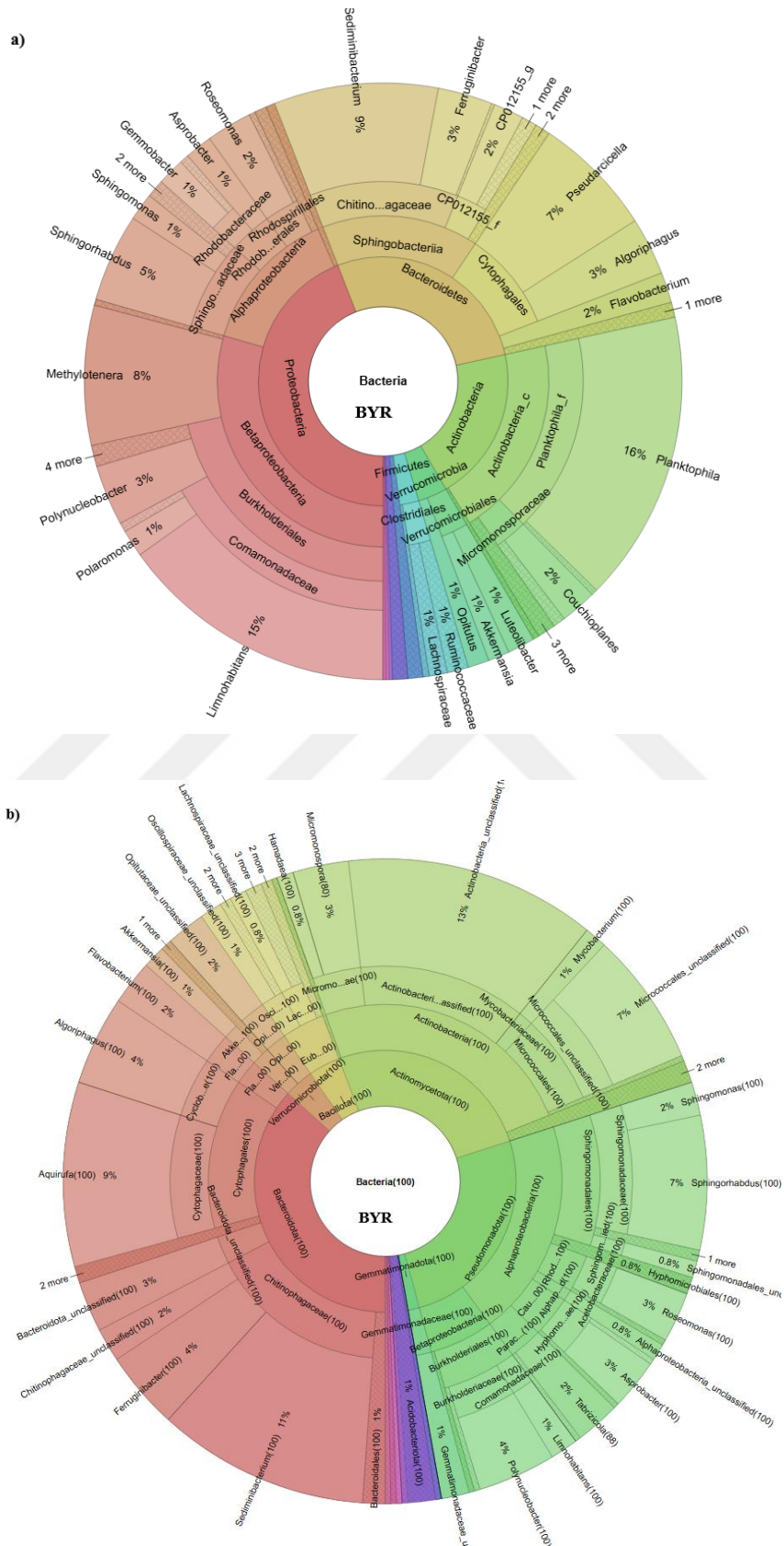
4.6 EZBİOCLOUD VE MOTHUR SİSTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRMASI

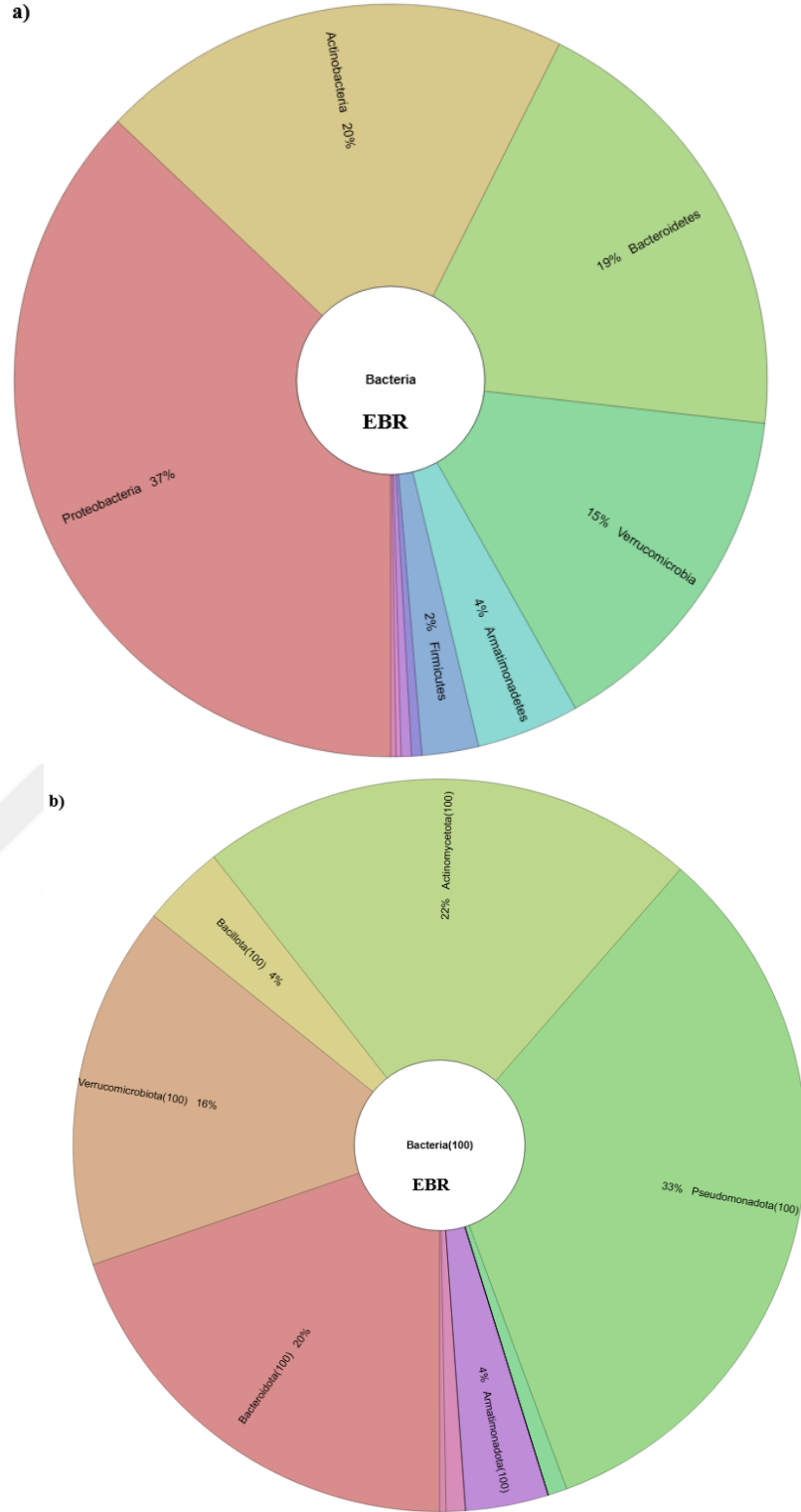
Bu tez çalışması temelleri oluşturulurken en çok kullanılan sistemlerden bir tanesi olan Mothur sistemi ve daha yenilikçi ve barındırdığı analiz ve gen dizileri için Ezbiocloud ile karşılaştırması yapılmıştır. Elde edilen bulguların görsel olarak Krona grafikleri kullanılarak karşılaştırmaları yapılmıştır.



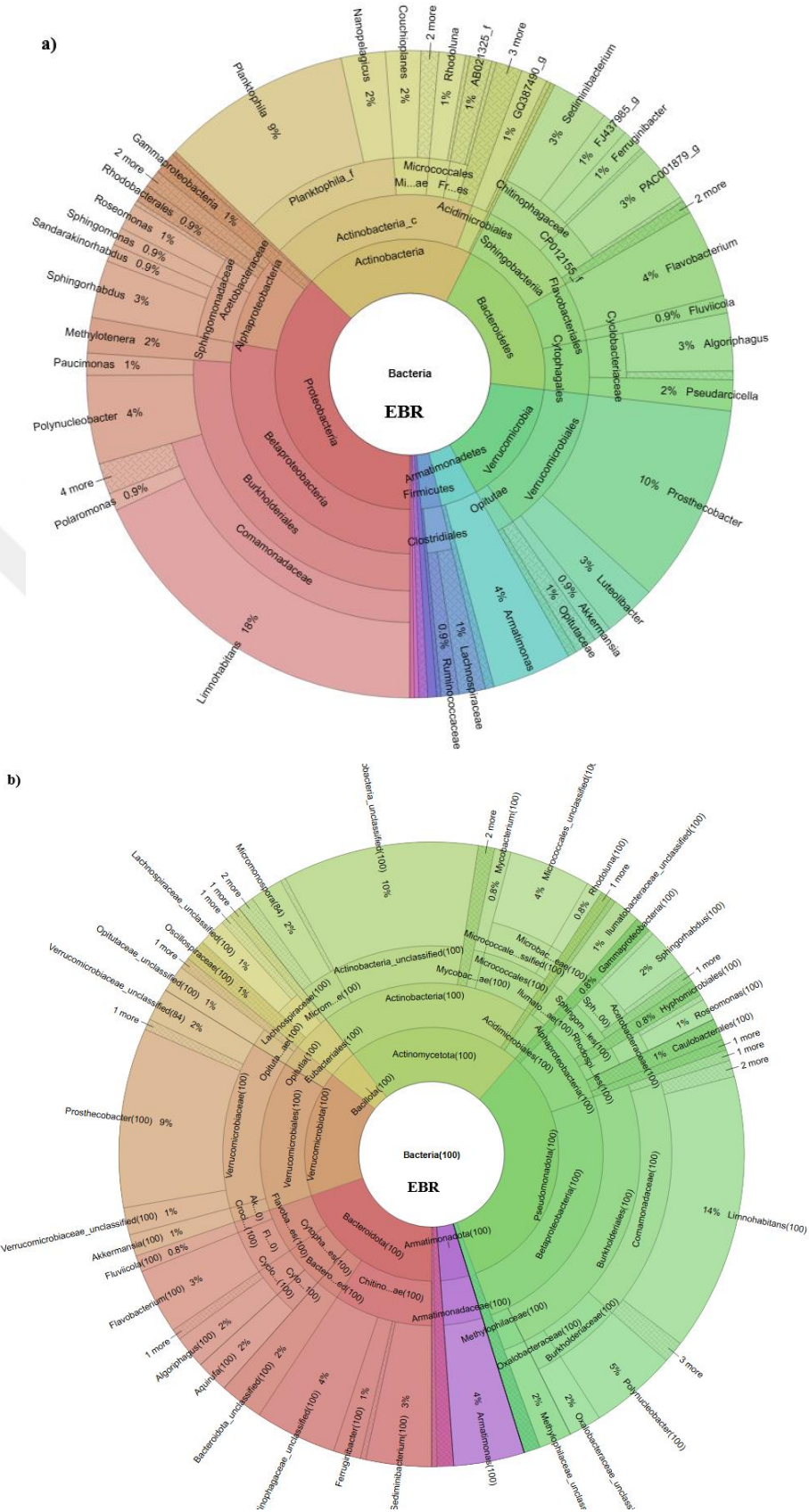


Şekil 4.19 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Beyşehir gölü filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Beyşehir gölü filum seviyesi krona grafiği.

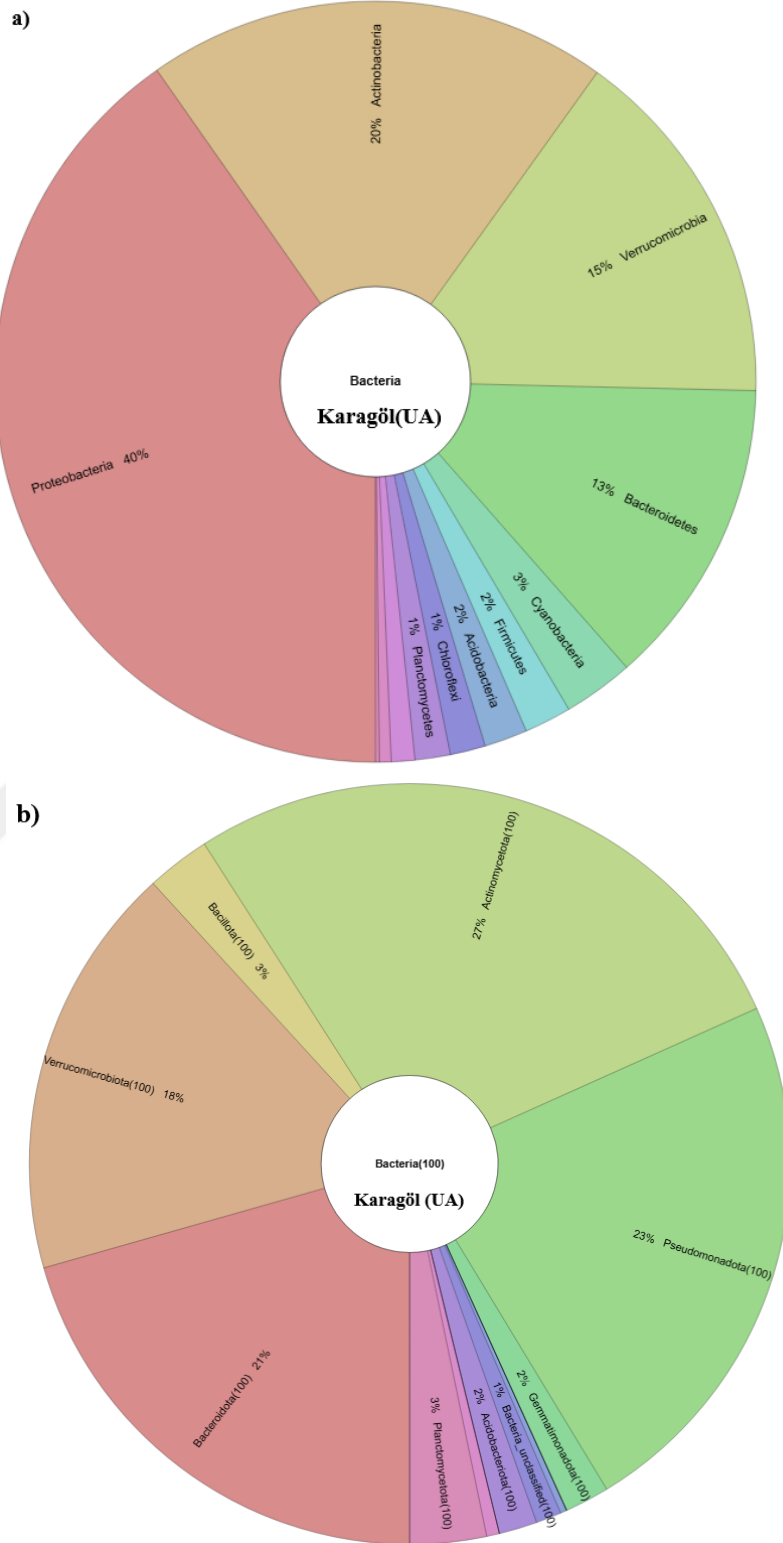




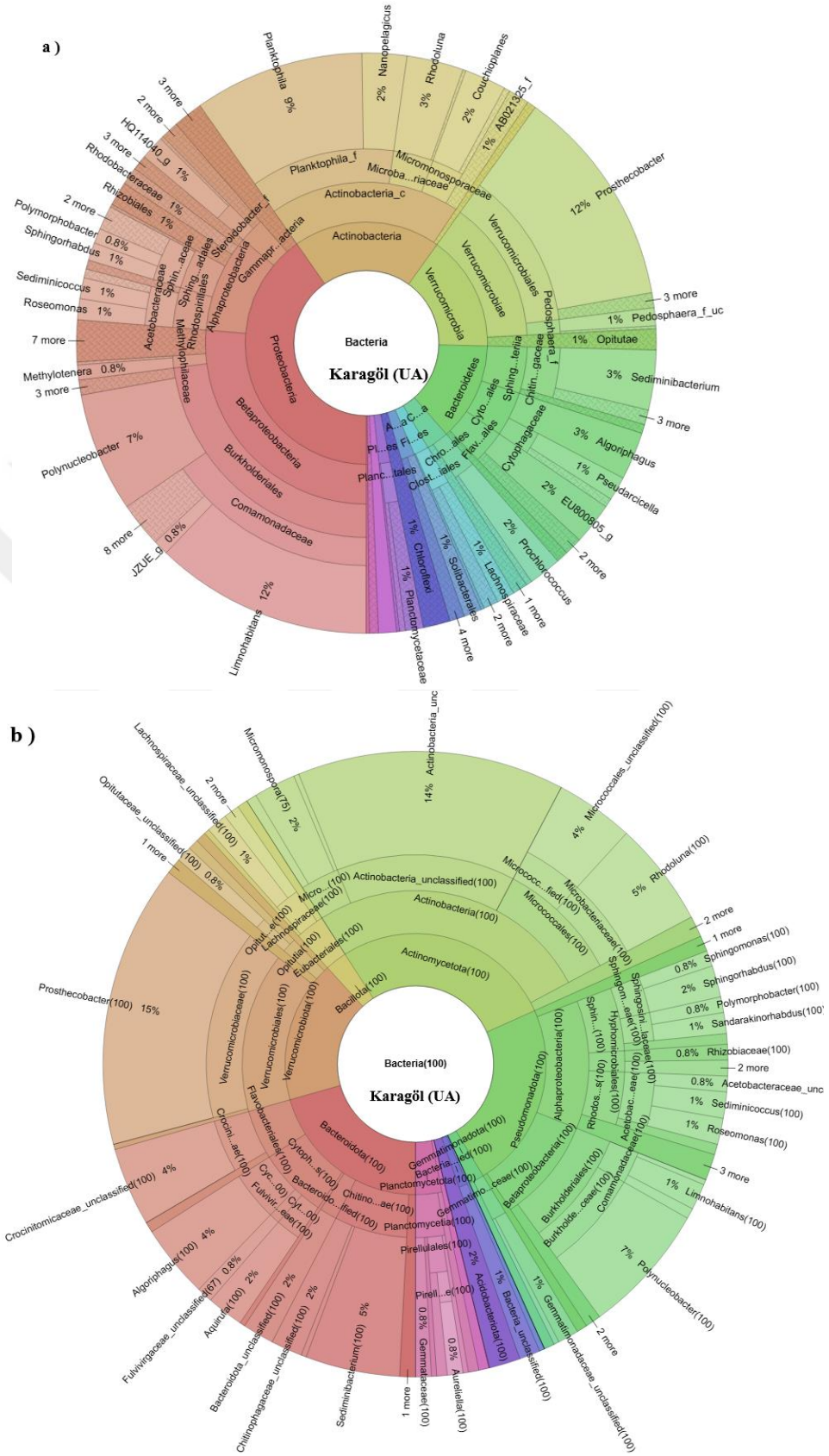
Şekil 4.21 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü filum seviyesi krona grafiği.



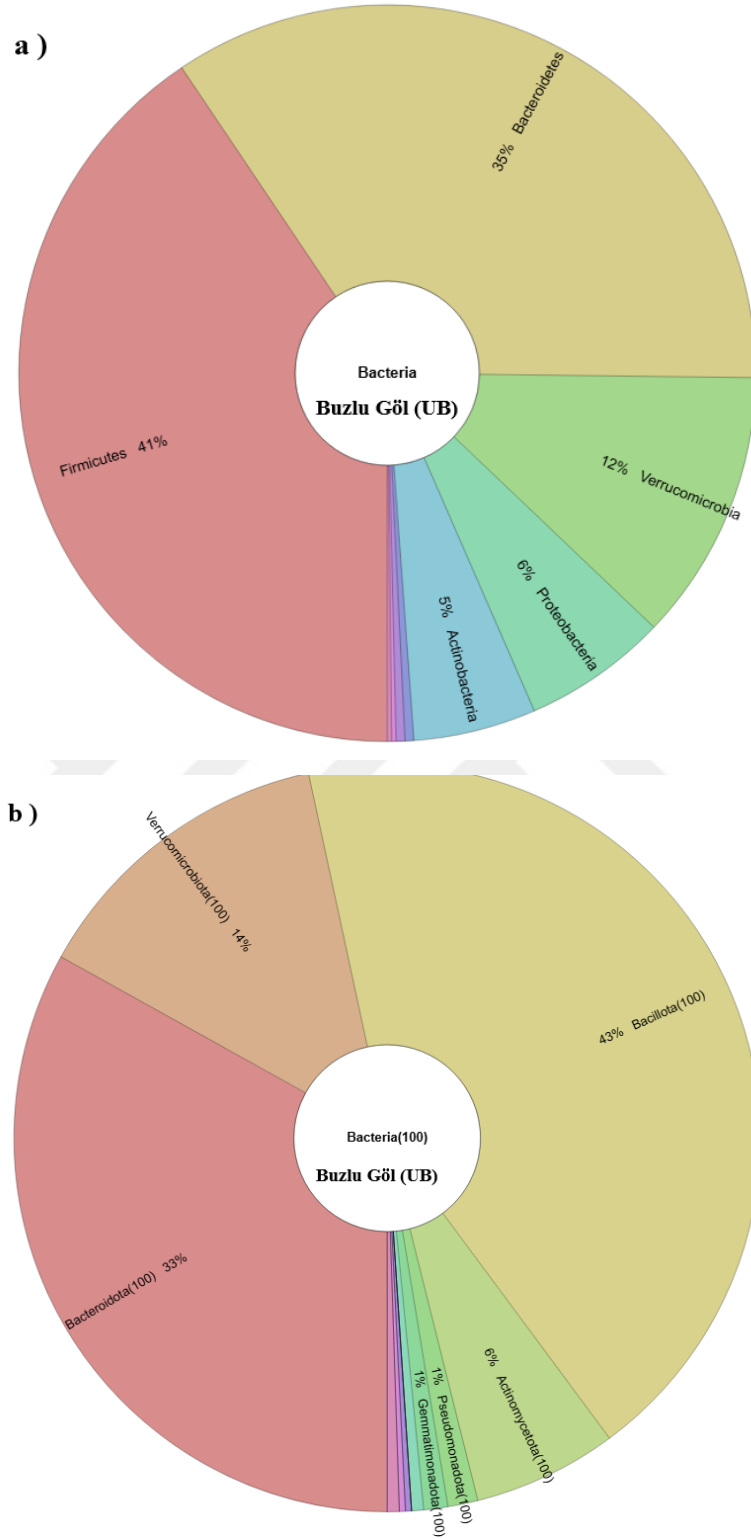
Şekil 4.22 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Eber gölü cins seviyesi krona grafiği.



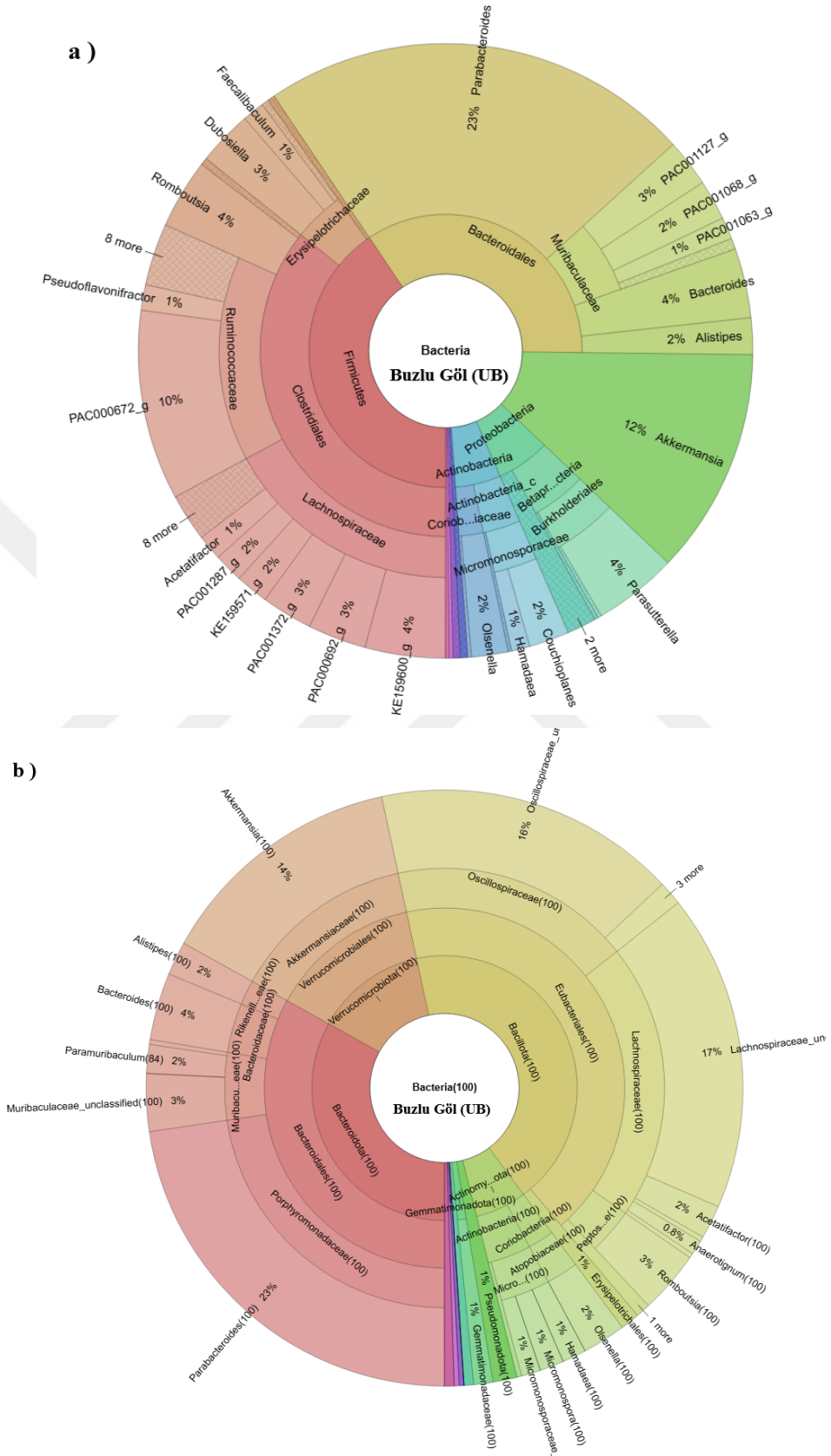
Şekil 4.23 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Karagöl filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Karagöl filum seviyesi krona grafiği.



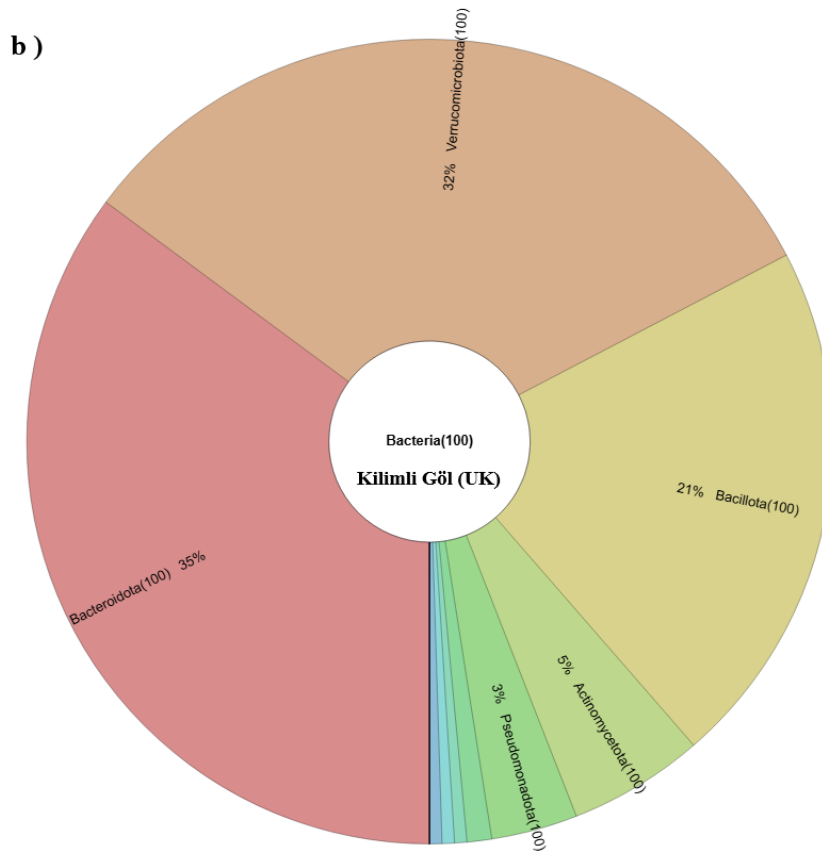
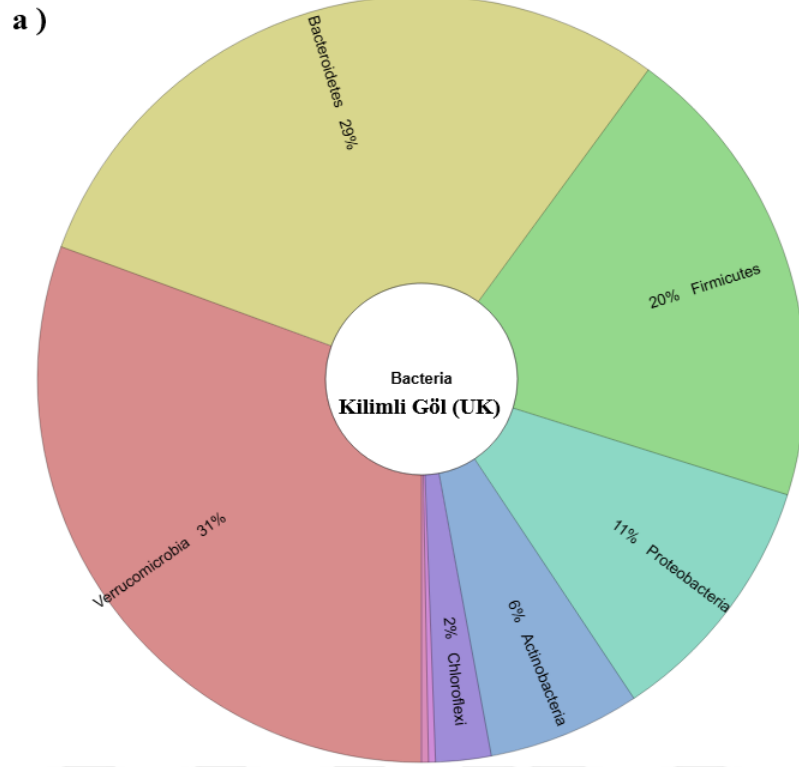
Şekil 4.24 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Karagöl cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Karagöl cins seviyesi krona grafiği.



Şekil 4.25 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl filum seviyesi krona grafiği.



Şekil 4.26 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl cins seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Buzlu Göl cins seviyesi krona grafiği.



Şekil 4.27 (a) Ezbiocloud yazılım kullanılarak oluşturulmuş Kilimli Göl filum seviyesi krona grafiği, (b) Mothur yazılımı kullanılarak oluşturulmuş Kilimli Göl filum seviyesi krona grafiği.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında 9 farklı örneğin DNA izolasyonu, Qiagen firmasının DNeasy PowerWater Kit'i kullanılarak sudan DNA izolasyonu için tasarlanmıştır. DNA miktarları spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve ortalama DNA konsantrasyonları 42,54 ng/µl olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). PCR sonucunun nitel analizi yapıldı ve 9 örneğin tamamında V3-V4 bölgelerinin başarılı bir şekilde çoğaltıldığı tespit edildi (Şekil 4.1). Bu işlem sonucunda yaklaşık 465 baz çifti uzunluğunda DNA dizileri elde edildi. Illumina novaseq teknolojisi kullanılarak fastq formatında diziler elde edilerek, metagenomik analiz yapıldı. Analiz sonucunda, 9 örnekten azaltılarak 5 nihai örnekten toplam 1 alem, 17 şube, 44 sınıf, 81 takım, 129 familya ve 238 cins ve 333 tür tespit edildi. Taksonomik analiz verileri, bu çalışma kapsamında cins düzeyine kadar değerlendirildi (Şekil 4.2-4.12).

Bu tez çalışmasında Beyşehir Gölünde en baskın filumlar *Proteobacteria* (%44.07), *Bacteroidetes* (%27.46), *Actinobacteria* (%20.06), *Verrucomicrobia* (%3.78), *Firmicutes* (%2.46), *Acidobacteria* (%0.82), *Gemmatimonadetes* (%0.82), *Armatimonadetes* (%0.16), *Chloroflexi* (%0.16) dir. Eber Gölünde ise *Proteobacteria* (%37), *Acidobacteria* (%20.3), *Bacteroidetes* (%19.42), *Verrucomicrobia* (%15), *Armatimonadetes* (%4.41), *Firmicutes* (%2.42), *Chloroflexi* (%0.44), *TM6* (%0.44), *Acidobacteria* (%0.22), *Gemmatimonadetes* (%0.22) dir. Uludağ Karagöl'den alınan örnekte ise *Proteobacteria* (%40.26), *Actinobacteria* (%19.63), *Verrucomicrobia* (%15.47), *Bacteroidetes* (%13.14), *Cyanobacteria* (%2.99), *Firmicutes* (%1.99), *Acidobacteria* (%1.83), *Chloroflexi* (%1.49), *Planctomycetes* (%1.49), *Chlorobi* (%1) dir. Uludağ Buzlu Gölde ise en yüksek oranda tespit edilen filumlar *Firmicutes* (%40), *Bacteroidetes* (%34), *Verrucomicrobia* (%11.92), *Proteobacteria* (%6.34), *Actinobacteria* (%5.38), *Chloroflexi* (%0.38), *Planctomycetes* (%0.38), *Acidobacteria* (%0.19), *Nitrospirae* (%0.19) dir. Uludağ Kilimli Gölde ise *Verrucomicrobia* (%30.61), *Bacteroidetes* (%29.44), *Firmicutes* (%19.82), *Proteobacteria* (%10.78), *Actinobacteria* (%6.41), *Chloroflexi* (%2.33), *Acidobacteria* (%0.29) *Spirochaetes* (%0.29) dir (Şekil 4.16).

Bu tez çalışmasında incelenen beş gölün her birinin prokaryotik çeşitlilik açısından kendine özgü bir yapıya sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Beyşehir, Eber ve Uludağ Karagöl Göllerinde *Proteobacteria* filumu baskınken, Uludağ Buzlu Gölü'nde bu rolü *Firmicutes* filumu üstlenmiştir. Uludağ Kilimli Gölü'nde *Verrucomicrobia* filumu öne çıkmıştır. Bu bulgular,

özellikle Beyşehir ve Eber Göllerinin birbirine benzer prokaryotik çeşitlilik yapısına sahip olduğunu kalıcı kar ve orman sınırı üzerinde olan göllerin ise farklı olduğunu göstermektedir.

Proteobacteria filumunun Beyşehir, Eber ve Karagöl'de %35'nin üzerinde bir orana sahip olduğunu göstermiştir. Ancak, kalıcı kar sınırının olduğu düşünülen 2300 metre yükseklikteki Kilimli Göl ve Buzlu Göl'de bu filumun oranı sırasıyla %10.79 ve %6.35'e kadar düşmüştür. Bu, belirgin bir azalışı işaret etmekte ve yükseklik artışının bu filumun göl ekosistemlerindeki baskınlığını önemli ölçüde etkileyebileceğini düşündürmektedir. *Firmicutes* filumu ise Uludağ Buzlu ve Kilimli göllerinde oldukça baskın %40 ve %19.83 olarak bulunurken diğer göllerde %3 oranının altında tespit edilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında incelenen beş gölün cins seviyesinde taksonomik analiz sonucunda Beyşehir Gölünde en bol cins *Planktophila* ve *Limnohabitans*, Eber Gölünde en bol cins *Limnohabitans*, Uludağ Karagölde en bol cins *Prostheco bacter* ve *Limnohabitans*, Uludağ Kilimli Gölde en bol cins *Akkermansia* ve *Parabacteroides*, Uludağ Buzlu Gölde ise *Parabacteroides* ve *Akkermansia* dir. Bu sonuçlara göre değerlendirdiğimiz zaman kalıcı kar sınırında bulunan Uludağ Kilimli Göl ve Uludağ Buzlu gölde diğer göllere göre prokaryotik çeşitliliği daha düşük yükseltide bulunan diğer üç gölden önemli oranda farklı olduğu bulunmuştur.

Proteobacteria, organik kirleticilerin biyolojik olarak ayrıştırılmasında, karbon döngüsünde ve sucul ekosistemlerdeki çeşitli biyojeokimyasal süreçlerde aktif rol oynayabilir (Cheng ve diğ., 2014). *Proteobakteriler* (çoğunlukla Alfa, Beta ve *Gammaproteobakteri*) genellikle tatlı su habitatlarında baskındır (Kwon ve diğ., 2011). Yüksek rakımlı göllerin sularında *Proteobakteri* bolluğu ve bileşimi hakkında da birkaç rapor bulunmaktadır. Sommaruga ve Casamayor (2009), Everest Dağı bölgesindeki (Nepal) yüksek rakımlı göllerde *Betaproteobakteri* yaygın olarak baskın olduğunu bulmuştur. *Betaproteobacteria* aynı zamanda en büyük Tibet gölü olan Namco Gölü'nde de baskın gruptu (Liu ve diğ., 2013). Wu ve arkadaşları (2006) Tibet Platosu'nda (Çin) bulunan 16 yüksek dağ gölünde *Betaproteobacteria*'nın tüm tatlı su göllerinde bol miktarda bulunduğunu, Alfa ve *Gammaproteobacteria*'nın ise tuzlu göllerde çok daha yüksek bolluk kazandığını ortaya koymuştur. Dorador ve arkadaşları (2013) Şili Altiplano'sunun yüksek rakımlı sulak alanlarında *Proteobakterileri* (alfa, beta, gama ve delta alt grupları) bolluğunu rapor etmiştir. Çalışma alanımızdaki göllerde ise kalıcı kar sınırında bulunan Uludağ Buzlu ve yakın yükseltide bulunan Kilimli gölünde diğer göllere oranla önemli ölçüde az oranda

bulunmuştur. Diğer çalışmaların aksine *Proteobakteri* kalıcı kar sınırından sonra belirgin oranda baskınlıklarının düştüğü görülmüştür.

Zwart ve diğerleri (1998) Parker Nehri'nden (Massachusetts, ABD), Soyang Gölü'nden (Güney Kore) 42 ve IJssel Gölü'nden (Hollanda) 148 16S rDNA dizilerinin mevcut veritabanını analiz etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda 764 dizinin 75'inin kloroplast dizileri olarak ve 689 dizinin bakteriyel kökenli olduğunu tanımlamışlardır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi Zwart ve diğerlerinin yaptığı çalışmada da kloroplast dizilerini analiz etmemişlerdir. Çoğu veya tüm tatlı su alanlarında temsil edilen *Proteobacteria*, *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides (CFB) grubu*, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* en bol oranda tespit etmişlerdir. *Verrucomicrobia* hariç, bu bölümlerden organizmaların tatlı suda yaygın olarak bulunması, bu gruplar için özgü problemler kullanan in situ hibridizasyon çalışmalarının bulgularıyla uyumludur (Glöckner ve diğ., 2000). Zwart ve diğerlerinin yaptığı bu tatlı su çalışmalarındaki bakteri bölümleri arasındaki dizi tiplerinin dağılımı, bakteri topluluklarını deniz ve toprak habitatlarındaki topluluklardan açıkça ayırt etmektedir. Methé ve diğ., (1998) tarafından ilk olarak belirtildiği gibi, tatlı suda β -subdivizyonun *Proteobacteria*'nın yaygınlığı, bu subdivizyonun açık okyanuslarda nispeten yokluğu ile keskin bir tezat oluşturmaktadır. Bizim çalışmamız ile karşılaştırdığımızda yakın rakımda bulunan Eber ve Beyşehir göllerinde benzer filumların baskın olduğu görülmüştür. Buna karşın kalıcı kar sınırında bulunan Uludağ Buzul Gölünde ise belirgin bir fark olduğu gözlenmiştir.

Iliev ve diğerleri (2017) Bulgaristan'da bulunan iki büyük tatlı su rezervinde yapılan bir çalışmada, DNA örnekleri alınarak 16S rRNA genlerinin V3 ve V5 bölgeleri çoğaltılmış ve metagenomik analiz yapılmıştır. Her iki rezervardaki mikrobiyal topluluklar, büyük hidrojeolojik farklılıklarına rağmen, %95'ten fazla göreceli bollukla temsil edilen *Proteobacteria*, ardından *Actinobacteria* ve *Bacteroidetes* tarafından domine ettiklerini ortaya çıkarmışlardır.

Zhang ve arkadaşlarının (2021) Luoshijiang Sulak Alanı'ndaki (2056 m) bakteriyoplankton topluluğunu araştırmıştır. *Verrucomicrobia* ve *Proteobacteria* en bol bulunan filumlar olduğunu tespit etmişlerdir. *Verrucomicrobia*'nın göllerdeki bolluğu besin zenginliği ve fosfor mevcudiyeti ile pozitif ilişkili olabileceğini ve mevsimler arasında ve daha fazla ve daha az hüyük havzalar arasında değişebileceğini ortaya koymuştur (Arnds ve ark. 2010). Çalışma alanlarında *Luteolibacter* en baskın cins olduğunu tespit etmişler ayrıca *Luteolibacter* tatlı su

ortamlarında ilk tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Bizim çalışma alanımızdaki göllerde ise *Luteolibacter* cinsi sadece Beyşehir ve Eber göllerinde tespit edilmiş olup yüksek rakımdaki göllerde tespit edilmediğinden *Luteolibacter* cinsine ait yükselti farkına ait ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

De Figueiredo ve arkadaşları (2007) *Verrucomicrobia*'nın en oligotrofik sucul ekosistemlerle ve düşük pH değerleriyle ilişkili olduğunu bulmuştur. Ancak bizim çalışmamızın sonucunda pH değeri en yüksek ölçülen Uludağ Kilimli Gölünde *Verrucomicrobia*'nın en yüksek oranda bulunduğu, pH değeri aynı şekilde yüksek olan Beyşehir gölünde ise çalışma alanımızı oluşturan göller arasında en düşük oranda bulunduğu göl olduğu tespit edilmiştir. pH değeri en düşük tespit edilen Uludağ Karagöl(6.85) *Verrucomicrobia*'nın oranı pH 8.69 olan Eber gölü ile aynı oranda tespit edilmiştir.

Saleem ve arkadaşlarının (2019) Pakistan'da farklı rakımlarda bulunan tatlı su göllerinin metagenomik profillemesi çalışması ile Tatlı su gölleri, etrafında yaşayan toplulukların yararına ekosistemin sürdürülebilirliği açısından kritik bir rol oynadığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada, Pakistan'daki üç tatlı su ekosisteminin farklı metagenomik özellikleri değerlendirilmiştir. Saleem ve arkadaşlarının çalışma alanları sırasıyla, 21, 527 ve 3224 metre rakımlarında bulunan Keenjhar, Rawal ve Saif-ul-Muluk gölleri içermektedir. Bu çalışmada, Keenjhar, Rawal ve Saif-ul-Muluk göllerinden yüzey suyu örnekleri kullanılarak mikrobiyal toplulukların metagenomik DNA'sı, Illumina Hi-Seq 2500 dizileme teknolojisi kullanılarak Next Generation Sequencing (NGS) ile analiz etmişlerdir. Biyoinformatik analiz sonucunda, en baskın filumun (%58-79) *Proteobacteria* olduğu tespit etmişlerdir. Onu sırasıyla *Planctomycetes* (%34), *Cyanobacteria* (%12) ve *Bacteroidetes* (%15) takip etmektedir. *Vibrio*, *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Escherichia* gibi bakteri cinslerinin en yüksek bolluğu Saif-ul-Muluk Gölü'nde bulunurken, Keenjhar ve Rawal göllerinde *Microcystis* yaygın olarak bulunduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Alfaproteobakteriyel cinslerden (*Rhodobacter* ve *Sphingomonas*), betaproteobakteriyel cinslerden (*Hydrogenophaga* ve *Acidovorax*) ve gammaproteobakteriyel cinslerden (*Pseudomonas*, *Shewanella* ve *Aeromonas*) mikroorganizmalar çeşitli çevresel organik kirleticilerin biyolojik olarak parçalanması ile bilinmektedir (Ogugbue ve diğ., 2012; Wang ve diğ., 2012; Cheng ve diğ., 2013; Johnson ve diğ., 2013; Liao ve diğ., 2013a; Liu ve diğ., 2013b; Zhang ve diğ., 2014). Dolayısıyla, bu mikroorganizmaların varlığı özellikle ötrofikasyon

tehlikesi altında olan Eber gölünün organik kirleticilerin azaltılmasında ve suyun kendi kendini arıtmasında önemli roller oynayabilir.

Şekil 4.6 da gösterildiği üzere, göllerin mikrobiyal topluluklarının ekolojik özelliklerinin ve çevresel faktörlerin etkisiyle belirgin şekilde farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle Karagöl, benzersiz cins sayısı ile diğer göllere kıyasla oldukça farklı bir ekosisteme sahip olup, mikrobiyal çeşitliliği ile öne çıkmaktadır. Göller arasında ortak cins sayısının düşük olması, her bir gölün farklı çevresel dinamiklere ve mikrobiyal yapılara sahip olduğunu göstermektedir. Beyşehir ve Eber, Karagöl'e kıyasla daha düşük bir çeşitliliğe sahip olsa da diğer göllere göre daha fazla ortak cins paylaşımı yapmaktadır.

Tez çalışması kapsamında incelenmiş olan göllerden Beyşehir ve Eber tipik sulak alan özellikleri gösterirken Uludağ Buzul gölleri Dünya'daki diğer ortamlarla kolayca karşılaştırılmayacak benzersiz mikrobiyal topluluk yapıları sergilemiştir. Genel olarak, 16S rDNA dizilerinin kültüre alınmış akrabalarıyla benzerliği azalmış ve çoğu kültüre alınmamış bakteriler ile ilişkilendirilmiştir. Mikroorganizmaların bu sistemlerdeki rolünü anlamak için belirli biyojeokimyasal döngülere odaklanan daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Ayrıca, bu çalışma alanımız Asya ve Avrupa arasında bir köprü görevi gördüğü için gelecekte yapılacak daha büyük çalışmalar Dünya çapında sulak alanlar ile ilgili büyük etkiye sahip olacaktır ve bu sistemlerin korunmasını teşvik etmek için benzersiz özellikleri hakkında bilgi sağlamaya yardımcı olabilir. Son yıllarda gelişen teknoloji ile sürdürülebilir enerji kaynakları ile Dünyamızın temiz enerji ihtiyacı karşılanabilecek olduğu düşünülse bile en temiz enerji kaynağı olan Güneş ve rüzgâr enerjisi santralleri kurulurken bile oldukça yüksek oranda karbon salınımı yapılmaktadır. Dünyanın karbon döngüsü büyük oranda iç sular aracılığı ile olduğu için iç suların mikrobiyal bileşimi ve bu mikrobiyal toplulukların fonksiyonlarını araştırıp atmosferdeki karbon salınımı başta olmak üzere pek çok çevresel sorunun çözümü için bir yol gösterici olabilir.

KAYNAKLAR

- Akgöz, C. (1998). Beyşehir Gölü (Konya)'nün Limnolojisi. Selçuk Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi, Konya.
- Anonim. (2023). Türkiye Kültür Portalı URL: <https://www.kulturportali.gov.tr/turkiye/afyonkarahisar/TurizmAktiviteleri/eber-golu> (accessed date: March 07, 2023).
- Arnds, J., Knittel, K., Buck, U., Winkel, M., & Amann, R. (2010). Development of a 16S rRNA-targeted probe set for Verrucomicrobia and its application for fluorescence in situ hybridization in a humic lake. *Systematic and Applied Microbiology*, 33(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2009.12.005>
- Arda, M., 2000, Temel Mikrobiyoloji, İkinci Baskı (Genişletilmiş), Medisan Yayın Serisi, 46, 548.
- Balık, S., Sasrı, H. M., S, D. Ö. M. İ., Aygen, C., Özbek, M., İlhan, A., Taşdemir, A., Yıldız, S., & Topkara, E. T. (2008). Uludağ (Bursa)'daki Buzul Gölleri ve akarsularında faunal bir çalışma. *Su Ürünleri Dergisi*, 25(4), 295–299. <https://search.trdizin.gov.tr/tr/yayin/detay/98026/uludag-bursadaki-buzul-golleri-ve-akarsularinda-faunal-bir-calisma>
- Batut et al., 2018 Community-Driven Data Analysis Training for Biology Cell Systems 10.1016/j.cels.2018.05.012
- Battin, T. J., Besemer, K., Bengtsson, M. M., Romani, A. M., & Packmann, A. I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 14(4), 251–263. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.15>
- Battin, T. J., Luysaert, S., Kaplan, L. A., Aufdenkampe, A. K., Richter, A., & Tranvik, L. J. (2009). The boundless carbon cycle. *Nature Geoscience*, 2(9), 598–600. <https://doi.org/10.1038/ngeo618>
- Biller, S. J., Berube, P. M., Lindell, D., & Chisholm, S. W. (2015). Prochlorococcus: the structure and function of collective diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 13(1), 13–27. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3378>
- Boon, E., Meehan, C. J., Whidden, C., Wong, D. H.-J., Langille, M. G. I., & Beiko, R. G. (2014). Interactions in the microbiome: communities of organisms and communities of genes. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(1), 90–118. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12035>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>

- Bowers, R. M., Kyrpides, N. C., Stepanauskas, R., Harmon-Smith, M., Doud, D., Reddy, T. B. K., Schulz, F., Jarett, J., Rivers, A. R., Eloie-Fadrosch, E. A., Tringe, S. G., Ivanova, N. N., Copeland, A., Clum, A., Becraft, E. D., Malmstrom, R. R., Birren, B., Podar, M., Bork, P., ... Consortium, T. G. S. (2017). Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea. *Nature Biotechnology*, *35*(8), 725–731. <https://doi.org/10.1038/nbt.3893>
- Capone, D. G., & Kiene, R. P. (1988). Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments: Contrasts in anaerobic carbon catabolism. *Limnology and Oceanography*, *33*(4_part_2), 725–749. https://doi.org/10.4319/lo.1988.33.4_part_2.0725
- Carpenter, S. R., Cole, J. J., Pace, M. L., Batt, R., Brock, W. A., Cline, T., Coloso, J., Hodgson, J. R., Kitchell, J. F., Seekell, D. A., Smith, L., & Weidel, B. (2011). Early Warnings of Regime Shifts: A Whole-Ecosystem Experiment. *Science*, *332*(6033), 1079–1082. <https://doi.org/10.1126/science.1203672>
- Carroll, K. C., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., McKerrow, J. H., & Sakanari, J. A. (2019). Cultivation of Microorganisms. In *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 27e*. McGraw-Hill Education. accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1114732603
- Chauhan, T., 2020, What is Metagenomics?-Definition, Steps, Process and Applications, [Geneticeeducation.co](https://geneticeeducation.co), <https://geneticeeducation.co.in/what-is-metagenomics-definition-steps-process-and-applications/>, [Ziyaret Tarihi: 10 Eylül 2022].
- Cheng, W., Zhang, J., Wang, Z., Wang, M., & Xie, S. (2014). Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir. *Annals of Microbiology*, *64*(2), 875–878. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0712-z>
- Cole, J. J., Prairie, Y. T., Caraco, N. F., McDowell, W. H., Tranvik, L. J., Striegl, R. G., Duarte, C. M., Kortelainen, P., Downing, J. A., Middelburg, J. J., & Melack, J. (2007). Plumbing the Global Carbon Cycle: Integrating Inland Waters into the Terrestrial Carbon Budget. *Ecosystems*, *10*(1), 172–185. <https://doi.org/10.1007/s10021-006-9013-8>
- Cowan, D. (2000). Use your neighbour's genes. *Nature*, *407*(6803), 466–467. <https://doi.org/10.1038/35035195>
- Çınar S (2019) Tuz gölü sedimentlerindeki prokaryotik çeşitliliğin metagenomik, tek hücre genomu ve kültür bağımlı yaklaşımlarla belirlenmesi. Doktora Tezi, Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Dash, H.R., Das, S., 2018, Molecular methods for studying microorganisms from atypical environments, methods in microbiology, In: Gurtler, V., Trevors, J.T. (ed.), Chapter 4, Elsevier Ltd., ISBN: 978-0-12-814604-0, 45, 89.
- de Figueiredo, D. R., Pereira, M. J., Moura, A., Silva, L., Bãrrrios, S., Fonseca, F., Henriques, I., & Correia, A. (2007). Bacterial community composition over a dry winter in meso- and eutrophic Portuguese water bodies. *FEMS Microbiology Ecology*, *59*(3), 638–650. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00241.x>

- Dick, G. J., Anantharaman, K., Baker, B. J., Li, M., Reed, D. C., & Sheik, C. S. (2013). The microbiology of deep-sea hydrothermal vent plumes: ecological and biogeographic linkages to seafloor and water column habitats. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00124>
- di Capua, F., Iannacone, F., Sabba, F., & Esposito, G. (2022). Simultaneous nitrification–denitrification in biofilm systems for wastewater treatment: Key factors, potential routes, and engineered applications. *Bioresource Technology*, 361, 127702. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127702>
- Dorador, C., Vila, I., Witzel, K.-P., & Imhoff, J. F. (2013). Bacterial and archaeal diversity in high altitude wetlands of the Chilean Altiplano. *Fundamental and Applied Limnology*, 182(2), 135–159. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2013/0393>
- Downing, J. A., Prairie, Y. T., Cole, J. J., Duarte, C. M., Tranvik, L. J., Striegl, R. G., McDowell, W. H., Kortelainen, P., Caraco, N. F., Melack, J. M., & Middelburg, J. J. (2006). The global abundance and size distribution of lakes, ponds, and impoundments. *Limnology and Oceanography*, 51(5), 2388–2397. <https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.5.2388>
- Edgar, R. C., Haas, B. J., Clemente, J. C., Quince, C., & Knight, R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27(16), 2194–2200. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr381>
- Francis, C. A., Roberts, K. J., Beman, J. M., Santoro, A. E., & Oakley, B. B. (2005). Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(41), 14683–14688. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506625102>
- Feller, G. (2013). Psychrophilic Enzymes: From Folding to Function and Biotechnology. *Scientifica*, 2013, 1–28. <https://doi.org/10.1155/2013/512840>
- Garland, J. L. (1997). Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 24(4), 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00446.x>
- Ghazanfar, S., Arbabi, A., Ghazanfar, M., Anjum, M., & Begum, I. (2010). Metagenomics and its application in soil microbial community studies: Biotechnological prospects. *J. Anim. Plant Sci.*, 6, 611–622.
- Glöckner, F. O., Zaichikov, E., Belkova, N., Denissova, L., Pernthaler, J., Pernthaler, A., & Amann, R. (2000). Comparative 16S rRNA Analysis of Lake Bacterioplankton Reveals Globally Distributed Phylogenetic Clusters Including an Abundant Group of Actinobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 5053–5065. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.11.5053-5065.2000>
- Giddings, L.-A., & Newman, D. (2015). *Bioactive Compounds from Extremophiles* (pp. 1–47). https://doi.org/10.1007/978-3-319-14836-6_1

- Goodwin, S., McPherson, J. D., & McCombie, W. R. (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17(6), 333–351. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.49>
- Güven, S. ve Demirel Zorba, N. N. (2015). Genel Mikrobiyoloji ve Laboratuvar Kılavuzu (6. bs.). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık
- Guillemette, F., & del Giorgio, P. A. (2011). Reconstructing the various facets of dissolved organic carbon bioavailability in freshwater ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 56(2), 734–748. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.2.0734>
- Guckert, J. B., Carr, G. J., Johnson, T. D., Hamm, B. G., Davidson, D. H., & Kumagai, Y. (1996). Community analysis by Biolog: curve integration for statistical analysis of activated sludge microbial habitats. *Journal of Microbiological Methods*, 27(2), 183–197. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(96\)00948-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0167-7012(96)00948-7)
- Handelsman, J. (2004). Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(4), 669–685. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004>
- Hedlund, B. P., Dodsworth, J. A., Murugapiran, S. K., Rinke, C., & Woyke, T. (2014). Impact of single-cell genomics and metagenomics on the emerging view of extremophile “microbial dark matter.” *Extremophiles*, 18(5), 865–875. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0664-7>
- Herlemann, D. P. R., Labrenz, M., Jürgens, K., Bertilsson, S., Waniek, J. J., & Andersson, A. F. (2011). Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *The ISME Journal*, 5(10), 1571–1579. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.41>
- Hozzein, W. (2020). *Introductory Chapter: Metagenomics and Metagenomic Approaches*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.87949>
- Hutchins, D. A., & Fu, F. (2017). Microorganisms and ocean global change. *Nature Microbiology*, 2(6), 17058. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.58>
- Hugenholtz, P., Goebel, B. M., & Pace, N. R. (1998). Impact of Culture-Independent Studies on the Emerging Phylogenetic View of Bacterial Diversity. *Journal of Bacteriology*, 180(18), 4765–4774. <https://doi.org/10.1128/JB.180.18.4765-4774.1998>
- Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M. H., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0040-1>
- Iliev, I., Yahubyan, G., Marhova, M., Apostolova, E., Gozmanova, M., Gecheva, G., Kostadinova, S., Ivanova, A., & Baev, V. (2017). Metagenomic profiling of the microbial freshwater communities in two Bulgarian reservoirs. *Journal of Basic Microbiology*, 57(8), 669–679. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700137>

- Jain, K., Pandita, P., Mathuria, A., Mehak, Das, D., Saini, A., & Mani, I. (2024). Emerging Tools for Generating Genomics Data. In V. Singh (Ed.), *Advances in Genomics: Methods and Applications* (pp. 1–39). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-3169-5_1
- Johnson, R. J., Smith, B. E., Rowland, S. J., & Whitby, C. (2013). Biodegradation of alkyl branched aromatic alkanolic naphthenic acids by *Pseudomonas putida* KT2440. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 81, 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.11.008>
- Kang, D. D., Froula, J., Egan, R., & Wang, Z. (2015). MetaBAT, an efficient tool for accurately reconstructing single genomes from complex microbial communities. *PeerJ*, 3, e1165. <https://doi.org/10.7717/peerj.1165>
- Kwon, S., Moon, E., Kim, T.-S., Hong, S., & Park, H.-D. (2011). Pyrosequencing Demonstrated Complex Microbial Communities in a Membrane Filtration System for a Drinking Water Treatment Plant. *Microbes and Environments*, 26(2), 149–155. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME10205>
- Kolbert, C. and Persing, D., 1999, Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens, *Current Opinion in Microbiology*, 2, 299-305.
- Krumbein 1937-2021 (viaf)74170, W. E., Paterson (viaf)4425525, D. M., & Stal, L. J. (viaf)5029257. (1994). *Biostabilization of sediments : including the final report of the project : microbially mediated processes in tide influenced deposits and their importance in stabilization and diagenesis of sediments*. Oldenburg : Bibliotheks- und Informationssystem der Universität Oldenburg. <http://lib.ugent.be/catalog/rug01:000688710>
- Kraft, B., Strous, M., & Tegetmeyer, H. E. (2011). Microbial nitrate respiration – Genes, enzymes and environmental distribution. *Journal of Biotechnology*, 155(1), 104–117. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.12.025>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., & Glöckner, F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1), e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Liao, X., Chen, C., Wang, Z., Wan, R., Chang, C.-H., Zhang, X., & Xie, S. (2013a). Changes of biomass and bacterial communities in biological activated carbon filters for drinking water treatment. *Process Biochemistry*, 48(2), 312–316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.12.016>
- Liao, X., Chen, C., Wang, Z., Wan, R., Chang, C.-H., Zhang, X., & Xie, S. (2013b). Pyrosequencing analysis of bacterial communities in drinking water biofilters receiving influents of different types. *Process Biochemistry*, 48(4), 703–707. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.02.033>
- Lindeman, R. L. (1942). The Trophic-Dynamic Aspect of Ecology. *Ecology*, 23(4), 399–417. <https://doi.org/10.2307/1930126>

- Llaca, V. (2012). *Sequencing Technologies and Their Use in Plant Biotechnology and Breeding*. <https://doi.org/10.5772/37918>
- Liu, Y., Yao, T., Jiao, N., Liu, X., Kang, S., & Luo, T. (2013). Seasonal Dynamics of the Bacterial Community in Lake Namco, the Largest Tibetan Lake. *Geomicrobiology Journal*, 30(1), 17–28. <https://doi.org/10.1080/01490451.2011.638700>
- Maddock, I. (2008). *Groundwater in the environment: an introduction*, by Paul L. Younger, 2007. Blackwell: London, 390 pages. ISBN 1-4051-2143-2. River Research and Applications - RIVER RES APPL, 24, 1377. <https://doi.org/10.1002/rra.1202>
- Maier, R. M. (2015). Chapter 16 - Biogeochemical Cycling. In I. L. Pepper, C. P. Gerba, & T. J. Gentry (Eds.), *Environmental Microbiology (Third Edition)* (pp. 339–373). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00016-8>
- Markowitz, V. M., Chen, I.-M. A., Palaniappan, K., Chu, K., Szeto, E., Grechkin, Y., Ratner, A., Jacob, B., Huang, J., Williams, P., Huntemann, M., Anderson, I., Mavromatis, K., Ivanova, N. N., & Kyrpides, N. C. (2012). IMG: the integrated microbial genomes database and comparative analysis system. *Nucleic Acids Research*, 40(D1), D115–D122. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1044>
- Méthé, B. A., Hiorns, W. D., & Zehr, J. P. (1998). Contrasts between marine and freshwater bacterial community composition: Analyses of communities in Lake George and six other Adirondack lakes. *Limnology and Oceanography*, 43(2), 368–374. <https://doi.org/https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.2.0368>
- Morita, R. Y., 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 39, 144-167.
- Myers, E. W., & Miller, W. (1988). Optimal alignments in linear space. *Bioinformatics*, 4(1), 11–17. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/4.1.11>
- Neelakanta, G., & Sultana, H. (2013). The Use of Metagenomic Approaches to Analyze Changes in Microbial Communities. *Microbiology Insights*, 6, MBLS10819. <https://doi.org/10.4137/MBLS10819>
- Nogales, B., Lanfranconi, M. P., Piña-Villalonga, J. M., & Bosch, R. (2011). Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(2), 275–298. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00248.x>
- Ogugbue, C. J., Sawidis, T., & Oranusi, N. A. (2012). Bioremoval of chemically different synthetic dyes by *Aeromonas hydrophila* in simulated wastewater containing dyeing auxiliaries. *Annals of Microbiology*, 62(3), 1141–1153. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0354-y>
- Ondov, B.D., Bergman, N.H. and Phillippy, A.M. (2011) “Interactive metagenomic visualization in a Web browser,” *BMC Bioinformatics*, 12(1), p. 385. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-385>.

- Oulas, A., Pavloundi, C., Polymenakou, P., Pavlopoulos, G.A., Papanikolaou, N., Kotoulas, G., Arvanitidis, C. and Iliopoulos, I., 2015, Metagenomics: tools and insights for analyzing next-generation sequencing data derived from biodiversity studies, *Libertas academica*, 9, 75-88.
- Ozbek, M., İlhan, A., Taşdemir, A., Yıldız, S., & Topkara, E. (2008). A faunal study of the glacier lakes and rivers on Uludağ (Bursa) Mountain. *Su Urun Derg*, 25. <https://doi.org/10.12714/egejfas.2008.25.4.5000156612>
- Özcan K (2012) *Türkiye 'deki bazı denizel sedimentlerin prokaryotik çeşitliliğinin metagenomik analizle belirlenmesi ve denizel aktinomisetlerden antimikrobiyal bileşiklerin izolasyonu*. Doktora, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Psenner, R., A. Alfreider & A. Schwarz (2008). Aquatic Microbial Ecology: Water Desert, Microcosm, Ecosystem. What's Next? *Int. Rev. Hydrobiol.* 93: 606-623
- Panikov, N.S., Sizova, M.V., 2006. Growth kinetics of microorganisms isolated from Alaskan soil and permafrost in solid media frozen down to 35 °C. *FEMS Microbiology Ecology*, 59, 500-512.
- Petrosino, J.F., Highlander, S., Luna, R.A., Gibbs, R.A. and Versalovic, J., 2009, Metagenomic pyrosequencing and microbial identification, *Clinical Chemistry*, 55 (5), 856-66.
- Quast, C. *et al.* (2012) “The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools,” *Nucleic Acids Research*, 41(D1), pp. D590–D596. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- Rafferty, J. P. (2024, September 3). biodiversity loss. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/biodiversity-loss>
- Reuter, J. A., Spacek, D. v., & Snyder, M. P. (2015). High-Throughput Sequencing Technologies. *Molecular Cell*, 58(4), 586–597. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>
- Rich, V. I., & Maier, R. M. (2015). Aquatic Environments. In *Environmental Microbiology* (pp. 111–138). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00006-5>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Sağlam M (2021) Balık gölü (19 Mayıs, Samsun) siyanobakteri komünitesinin mevsimsel biyoçeşitliliğinin metagenomik analizi. Yüksel Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Saleem, F., Azim, M. K., Mustafa, A., Kori, J. A., & Hussain, M. S. (2019). Metagenomic profiling of fresh water lakes at different altitudes in Pakistan. *Ecological Informatics*, 51, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2019.02.013>
- Saunders, D. L., Meeuwig, J. J., Vincent, C.J. (2002). Freshwater protected areas: Strategies for conservation. *Conservation Biology*, 16(1), 30-41.

- Schloss, P.D. *et al.* (2009) “Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities,” *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), pp. 7537–7541. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>.
- Schmeisser, C., Steele, H., & Streit, W. (2007). Metagenomics, biotechnology with non-culturable microbes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75, 955–962. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0945-5>
- Schmieder, R., & Edwards, R. (2011). Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics*, 27(6), 863–864. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr026>
- Selma Güven, & N. Demirel Zorba. (2015). Genel Mikrobiyoloji ve Laboratuvar Kılavuzu. Nobel Akademik Yayıncılık.
- Seeley, M. E., Song, B., Passie, R., & Hale, R. C. (2020). Microplastics affect sedimentary microbial communities and nitrogen cycling. *Nature Communications*, 11(1), 2372. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16235-3>
- Shokralla, S., Spall, J., Gibson, J., & Hajibabaei, M. (2012). Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Molecular Ecology*, 21, 1794–1805. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05538.x>
- Shiklomanov, I. (2000). Appraisal and Assessment of World Water Resources. *Water International*, 25, 11–32. <https://doi.org/10.1080/02508060008686794>
- Sigee, D.C. (2005) *Freshwater Microbiology: Biodiversity and Dynamic Interactions of Microorganisms in the Freshwater Environment*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 573.
- Sickerman, N. S., Hu, Y., & Ribbe, M. W. (2019). *Nitrogenases* (pp. 3–24). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8864-8_1
- Sklarz, M. Y., Angel, R., Gillor, O., & Soares, M. I. M. (2009). Evaluating amplified rDNA restriction analysis assay for identification of bacterial communities. *Antonie van Leeuwenhoek*, 96(4), 659–664. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9380-1>
- Spieck, E., Wegen, S., & Keuter, S. (2021). Relevance of Candidatus Nitrotoga for nitrite oxidation in technical nitrogen removal systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(19), 7123–7139. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11487-5>
- Sloan, W. T., Lunn, M., Woodcock, S., Head, I. M., Nee, S., & Curtis, T. P. (2006). Quantifying the roles of immigration and chance in shaping prokaryote community structure. *Environmental Microbiology*, 8(4), 732–740. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00956.x>
- Simpson, J. T., & Durbin, R. (2012). Efficient de novo assembly of large genomes using compressed data structures. *Genome Research*, 22(3), 549–556. <https://doi.org/10.1101/gr.126953.111>

- Sommaruga, R., & Casanayor, E. O. (2009). Bacterial ‘cosmopolitanism’ and importance of local environmental factors for community composition in remote high-altitude lakes. *Freshwater Biology*, 54(5), 994–1005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2008.02146.x>
- Stepanauskas, R. (2012). Single cell genomics: an individual look at microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 15(5), 613–620. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.09.001>
- Toplat S. (2022) Kilis ili göletlerinin su kalitesinin ve prokaryotik çeşitliliğinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Tsai, C.-J., Cseke, L., & Harding, S. A. (2004). Isolation and purification of RNA. *Hand Book of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine*.
- Tranvik, L. J., Downing, J. A., Cotner, J. B., Loiselle, S. A., Striegl, R. G., Ballatore, T. J., Dillon, P., Finlay, K., Fortino, K., Knoll, L. B., Kortelainen, P. L., Kutser, T., Larsen, Soren., Laurion, I., Leech, D. M., McCallister, S. L., McKnight, D. M., Melack, J. M., Overholt, E., ... Weyhenmeyer, G. A. (2009). Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. *Limnology and Oceanography*, 54(6part2), 2298–2314. https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.6_part_2.2298
- Üstek, D., Abacı, N., Sırma, S., Çakiris, A., 2011, Yeni Nesil Dizileme, İstanbul Üniversitesi Genetik Anabilim Dalı, *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1 (1), 11-18.
- Vakhlu, J., Sudan, A. K., & Johri, B. N. (2008). Metagenomics: Future of microbial gene mining. *Indian Journal of Microbiology*, 48(2), 202–215. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0033-2>
- Varlı Y. (2017) Akgöl gölünde (Terme, Samsun) toksin üreten siyanobakteri komünitesinin metagenomik analizi. Yüksek Lisans, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Vieites, J., Guazzaroni, M.-E., Beloqui, A., Golyshin, P., & Ferrer, M. (2010). Molecular Methods to Study Complex Microbial Communities. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 668, 1–37. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-823-2_1
- Wang, Q. *et al.* (2007) “Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy,” *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16), pp. 5261–5267. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>.
- Wang, J., Wang, Q., Tang, Y.-J., Fu, H.-M., Fang, F., Guo, J.-S., Yan, P., & Chen, Y.-P. (2023). Unraveling the structure and function of bacterioferritin in *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*: Iron storage sites maintain cellular iron homeostasis. *Water Research*, 238, 120016. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120016>
- Wang, Y., Wan, R., Zhang, S., & Xie, S. (2012). Anthracene biodegradation under nitrate-reducing condition and associated microbial community changes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(2), 371–376. <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0567-8>

- Westcott, S.L. and Schloss, P.D. (2017) "OptiClust, an Improved Method for Assigning Amplicon-Based Sequence Data to Operational Taxonomic Units," *mSphere*, 2(2). Available at: <https://doi.org/10.1128/mSphereDirect.00073-17>.
- Woese, C. R., & Fox, G. E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(11), 5088–5090. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.11.5088>
- Wheeler, T. J., & Eddy, S. R. (2013). nhmmer: DNA homology search with profile HMMs. *Bioinformatics*, 29(19), 2487–2489. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt403>
- Wu, Q. L., Zwart, G., Schauer, M., Kamst-van Agterveld, M. P., & Hahn, M. W. (2006). Bacterioplankton Community Composition along a Salinity Gradient of Sixteen High-Mountain Lakes Located on the Tibetan Plateau, China. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(8), 5478–5485. <https://doi.org/10.1128/AEM.00767-06>
- Wuchter, C., Abbas, B., Coolen, M. J. L., Herfort, L., van Bleijswijk, J., Timmers, P., Strous, M., Teira, E., Herndl, G. J., Middelburg, J. J., Schouten, S., & Sinninghe Damsté, J. S. (2006). Archaeal nitrification in the ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(33), 12317–12322. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600756103>
- Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., Gao, X., Li, F., Li, H., & Yu, H. (2018). Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02885>
- Yoon, S.-H., Ha, S.-M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(5), 1613–1617. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001755>
- Zakıal-qaraghulı A (2023) Akkaya baraj gölü mikrobiyal florasının metagenomik yöntemlerle belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Zhang, L., Chen, F., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y., Hao, H., Yi, W., Li, M., & Xie, Y. (2021). Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.766364>
- Zhang, J., Zhang, X., Liu, Y., Xie, S., & Liu, Y. (2014). Bacterioplankton communities in a high-altitude freshwater wetland. *Annals of Microbiology*, 64(3), 1405–1411. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0785-8>
- Zwart, G., Crump, B., Agterveld, M., Hagen, F., & Han, S. (2002). Zwart G, Crump BC, Agterveld MPKV, Hagen F, Han SK.. Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers. *Aquat Microb Ecol* 28: 141-155. *Aquat. Microb. Ecol.*, 28, 141–155. <https://doi.org/10.3354/ame028141>

Zwart, G., Hiorns, W. D., Methé, B. A., van Agterveld, M. P., Huismans, R., Nold, S. C., Zehr, J. P., & Laanbroek, H. J. (1998). Nearly Identical 16S rRNA Sequences Recovered from Lakes in North America and Europe Indicate the Existence of Clades of Globally Distributed Freshwater Bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 21(4), 546–556. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(98\)80067-2](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(98)80067-2)



EKLER



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Fahri PAT
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fakülte	Fen-Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	15.06.2012

Yüksek Lisans	
Üniversite	Afyon Kocatepe Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Programı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Programı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Makale ve Bildiriler	
Pat, F. ve diğ. (2024) “Comparative 16s metagenomic analysis of prokaryotic diversity in freshwater and permanent snow-line glacial lakes in Türkiye,” Archives of Biological Sciences, 76(2), pp. 233–243. Available at: https://doi.org/10.2298/ABS240324016P .	
PAT, F. ve diğ. (2024) “Eber Gölü Prokaryotik Çeşitliliğinin Metagenomik Çalışmasıyla Karakterizasyonu,” Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 14(1), pp. 437–446. Available at: https://doi.org/10.21597/jist.1265800 .	
Pat, F. ve diğ. (2023) “The Characterization of Prokaryotic Diversity in Lake Beyşehir Using a 16s Metagenomics Study,” Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences, 9(3), pp. 719–729. Available at: https://doi.org/10.28979/jarnas.1217912 .	