



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GÖKÇEADA TUZ GÖLÜ LAGÜNÜ MİKROORGANİZMA
ÇEŞİTLİLİĞİNİN METABARKODLAMA İLE BELİRLENMESİ VE
BİYOTEKNOLOJİK POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

İLKE KARAKAŞ

Tez Danışmanı

PROF. DR. NURCİHAN HACIOĞLU DOĞRU

ÇANAKKALE – 2025



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GÖKÇEADA TUZ GÖLÜ LAGÜNÜ MİKROORGANİZMA ÇEŞİTLİLİĞİNİN
METABARKODLAMA İLE BELİRLENMESİ VE BİYOTEKNOLOJİK
POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

İLKE KARAKAŞ

Tez Danışmanı

PROF. DR. NURCİHAN HACIOĞLU DOĞRU

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK-1002A) ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 123Y332 / FDK-2024-4741

ÇANAKKALE – 2025



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



İlke KARAKAŞ tarafından Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU yönetiminde hazırlanan ve **30/06/2025** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan **“Gökçeada Tuz Gölü Lagünü Mikroorganizma Çeşitliliğinin Metabarkodlama ile Belirlenmesi ve Biyoteknolojik Potansiyelinin Araştırılması”** başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

(Danışman)

Doç. Dr. Kaan HÜRKAN

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan GÜLEÇ

Doç. Dr. Nurşen ÇÖRDÜK

Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

Tez No : 10731451

Tez Savunma Tarihi : 30/06/2025

.....
Prof. Dr. Melis ULU DOĞRU
Enstitü Müdürü

.../.../2025

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

(İmza)

İlke KARAKAŞ

30/06/2025

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU'ya

Çalışmam boyunca birlikte emek harcadığımız değerli yüksek lisans öğrencileri İzem GÜLER, Esmenur ÇELİKTEN ve Beyza AKIN ve doktora öğrencisi Bilge ERKMEN KARACAN'a

Arazi çalışmaları sırasında büyük özveriyle yanımda olan, Uzman Biyolog Nihal AHISKALIOĞLU'na

Beni her zaman destekleyen, araştırma sürecinde karşılaştığım güçlüklerde motivasyonumu artıran, değerli dostluğuyla yanımda olan Dr. Gamze BALTACIER'e, Dr. Eda GÜNAY ve Dr. Müge TEKER YILDIZ'a,

Doktora eğitim dönemimde sağlamış oldukları destekten dolayı TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB)'na,

Bu tez çalışmasına FDK-2024-4741, FHD-2025-4960 ve 123Y332 no'lu projeler ile destek sağlayan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu ve TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığı'na,

Meteorolojik verilerin sağlanmasında yardımcı olan Çanakkale Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü'ne

Akademik yolculuğum boyunca bana inanan, her koşulda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim. Bu tez, burada adı geçen ve geçmeyen, bana katkı sağlayan tüm değerli insanlarla birlikte şekillenmiş olup, onların desteği olmadan tamamlanamazdı. Her birine minnettarım.

İlke KARAKAŞ

Çanakkale, Haziran 2025

ÖZET

GÖKÇEADA TUZ GÖLÜ LAGÜNÜ MİKROORGANİZMA ÇEŞİTLİLİĞİNİN METABARKODLAMA İLE BELİRLENMESİ VE BİYOTEKNOLOJİK POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

İlke KARAKAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

30/06/2025, 242

Bu çalışmada, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'ndeki mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla dört mevsimi temsil eden Eylül 2023, Aralık 2023, Nisan 2024 ve Temmuz 2024 aylarında dört farklı istasyondan su ve sediment numuneleri alınmış, çevresel faktörlerle mikrobiyal topluluklar arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir. Lagün su ve sediment numunelerinde fizikokimyasal ve bakteriyolojik parametrelerin mevsimsel ölçümleri yapılmıştır. Çalışmada hem kültüre dayalı hem de kültüre dayalı olmayan yöntemler kullanılarak kapsamlı analizler gerçekleştirilmiştir. Kültüre dayalı yöntemlerle, su ve sediment numunelerinden SW-25 besiyeri kullanılarak halofil mikroorganizmalar izole edilmiş ve Gram boyama, oksidaz, katalaz, indol, nitrit ve nitrat gibi biyokimyasal özellikleri değerlendirilmiştir. İzolatların Ampisilin (AM10), Basitrasin (B10), Eritromisin (E15), Tetrasiklin (TE30), Penisilin G (P10), Streptomisin (S10) ve Novobiyosin (NV5) antibiyotiklerine karşı direnç profilleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca, izolatların bitki büyümesini teşvik etme (PGP) potansiyelleri kapsamında siderofor üretimi, fosfor çözme, azot fiksasyonu ve indol-3-asetik asit (IAA) üretimi test edilmiştir. Seçilen 54 temsili izolatın biyoremediasyon kapasiteleri, Mn ($MnSO_4$), Zn ($ZnCl_2$), S (SCl_2), Fe ($FeSO_4$) ve Cu ($CuSO_4$) tuzları kullanılarak değerlendirilmiştir. İzolatların biyoteknolojik potansiyellerinin değerlendirilmesi kapsamında bakteriyorodopsin ve ekzopolisakkarit (EPS) üretim yetenekleri araştırılmıştır. Kültüre dayalı olmayan yaklaşımlar kapsamında ise, sediment numunelerinden elde edilen DNA ile metabarkodlama analizleri gerçekleştirilmiş; bu analizlerde 16S rRNA V3-V4 ve 18S rRNA V4-V9 gen bölgeleri kullanılarak mikrobiyal

çeşitlilik belirlenmiştir. Seçilen 54 izolat için ise moleküler tanımlama amacıyla 16S rRNA gen dizilemesi yapılmıştır.

Su (n=200) ve sediment (n=200) numunelerinden toplam 400 bakteri izolatu elde edilmiştir. Su ve sediment numunelerinin sırasıyla %79'u ve %76,5'i Gram pozitif bulunmuş olup, isolatlar arasında en yaygın morfolojik özellik basil formda gözlemlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde, en yüksek direnç AM10 (%65), E15 (%40) ve B10 (%35) antibiyotiklerine karşı gözlemlenmiştir. İzolatların çoğunda Çoklu Antibiyotik Direnç (ÇAD) indeksi $\geq 0,2$ olarak belirlenmiştir. Biyoteknolojik analizler kapsamında, en yüksek biyoremediasyon kapasitesi B3T6 izolatında, rodopsin üretimi A2S5 (217,35 mg/L) izolatında ölçülmüştür. EPS üretimi en yüksek A3T5 (76,0 mg/L) izolatında tespit edilmiştir. PGP analizlerinde belirli bakterilerin siderofor üretimi, fosfor çözünürlüğü, azot fiksasyonu ve indol asetik asit (IAA) üretimi açısından yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir. QIIME2 yazılımı ile gerçekleştirilen metabarkodlama analizlerinde, 16S ASV sayısının Eyl/23'te 740 iken, Tem/24'te 1875'e yükseldiği belirlenmiştir. 18S ASV sayıları da benzer bir artış göstermiş, en yüksek değer Nis/24'te 514 ASV (18S-V9) olarak kaydedilmiştir. Filum seviyesinde *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidota* ve *Halobacteriota* baskın olarak belirlenmiştir. 16S moleküler analiz sonuçlarında, su numunelerinde baskın olarak *Marinococcus*, *Halomonas*, *Bacillus* ve *Rhodobacter* cinsleri belirlenirken, sediment numunelerinde *Halomonas*, *Bacillus*, *Virgibacillus* ve *Pseudomonas* cinsleri öne çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyorodopsin, Ekzopolisakkarit, Mikrobiyal Topluluk, Tuzcul Ekosistem

ABSTRACT

DETERMINATION OF GÖKÇEADA SALT LAKE LAGOON MICROORGANISMS DIVERSITY BY METABARCODING AND INVESTIGATION OF ITS BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL

İlke KARAKAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Biology Science

Advisor: Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

30/06/2025, 242

In this study, in order to determine the microbial diversity in Gökçeada Salt Lake Lagoon, water and sediment samples were taken from four different stations in September 2023, December 2023, April 2024 and July 2024, representing four seasons, and the relationships between environmental factors and microbial communities were evaluated. Seasonal measurements of physicochemical and bacteriological parameters were made in lagoon water and sediment samples. In the study, comprehensive analyzes were carried out using both culture-based and non-culture-based methods. Halophilic microorganisms were isolated from water and sediment samples using SW-25 medium with culture-based methods and their biochemical properties such as Gram stain, oxidase, catalase, indole, nitrite and nitrate were evaluated. The resistance profiles of the isolates against Ampicillin (AM10), Bacitracin (B10), Erythromycin (E15), Tetracycline (TE30), Penicillin G (P10), Streptomycin (S10) and Novobiocin (NV5) antibiotics were determined by disk diffusion method. In addition, within the scope of plant growth promotion (PGP) potential of the isolates, siderophore production, phosphorus solubilization, nitrogen fixation and indole-3-acetic acid (IAA) production were tested. Bioremediation capacities of 54 selected representative isolates were evaluated using Mn (MnSO₄), Zn (ZnCl₂), S (SCL₂), Fe (FeSO₄) and Cu (CuSO₄) salts. Within the scope of evaluating the biotechnological potential of the isolates, bacteriorhodopsin and exopolysaccharide (EPS) production abilities were investigated. Within the scope of non-culture-based approaches, metabarcoding analyses

were performed with DNA obtained from sediment samples; microbial diversity was determined using 16S rRNA V3-V4 and 18S rRNA V4-V9 gene regions in these analyses. 16S rRNA gene sequencing was performed for molecular identification purposes for 54 selected isolates.

A total of 400 bacterial isolates were obtained from water (n=200) and sediment (n=200) samples. 79% and 76,5% of water and sediment samples were found to be Gram positive, respectively, and the most common morphological feature among the isolates was observed to be the bacillus form. In antibiotic susceptibility tests, the highest resistance was observed against AM10 (65%), E15 (40%), and B10 (35%) antibiotics. The Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index was determined as $\geq 0,2$ in most of the isolates. Within the scope of biotechnological analyses, the highest bioremediation capacity was measured in the B3T6 isolate, and rhodopsin production was measured in the A2S5 (217,35 mg/L) isolate. The highest EPS production was detected in A3T5 (76,0 mg/L) isolate. In PGP analyses, it was determined that certain bacteria showed high activity in terms of siderophore production, phosphorus solubility, nitrogen fixation and indole acetic acid (IAA) production. In metabarcoding analyses performed with QIIME2 software, it was determined that the number of 16S ASV increased from 740 on Sep/23 to 1875 on Jul/24. The number of 18S ASVs also showed a similar increase, and the highest value was recorded as 514 ASVs (18S-V9) on Apr/24. At the phylum level, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidota* and *Halobacteriota* were dominant. In the 16S molecular analysis results, *Marinococcus*, *Halomonas*, *Bacillus* and *Rhodobacter* genera were determined dominantly in water samples, while *Halomonas*, *Bacillus*, *Virgibacillus* and *Pseudomonas* genera were prominent in sediment samples.

Keywords: Bacteriorhodopsin, Exopolysaccharide, Microbial Community, Halophilic Ecosystem

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xviii

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

5

2.1. Mikrobiyal Çeşitlilik.....	5
2.2. Ekstremofil Ortamlar.....	5
2.2.1. Hıpersalin Habitatlar.....	6
2.2.2. Bakteriyel Çeşitlilik.....	8
2.2.3. Arke Çeşitliliği.....	10
2.2.4. Ökaryotik Çeşitlilik.....	11
2.3. Metabarkodlama.....	12
2.3.1. Hıpersalin Ortamlarda Metagenom Analizi.....	14
2.4. Mikrobiyal Biyoteknolojik Ürünler ve Halofillerin Kullanımı	16
2.4.1. Halofilik Mikroorganizmaların Bitki Büyüme Teşvikleme (PGP) Özellikleri.....	16
2.4.2. Halofilik Mikroorganizmaların Rodopsin Üretimi.....	18
2.4.3. Halofilik Mikroorganizmaların Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi.....	19
2.4.4. Halofilik Mikroorganizmaların Biyoremediasyon Yetenekleri.....	19

2.5.	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü.....	20
2.6.	Kıtaıçı Yüzeysel Suların Sınıflandırılması.....	22

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL YÖNTEM

31

3.1.	Örnekleme Noktalarının Belirlenmesi ve Arazi Çalışmaları.....	30
3.2.	Su Numunelerine Yönelik Fizikokimyasal Parametre Ölçümleri ve Analiz Yöntemleri.....	33
3.2.1.	Suyun Sıcaklık Değerlerinin Ölçümü.....	34
3.2.2.	Suyun pH Değerlerinin Ölçümü.....	34
3.2.3.	Suyun Elektriksel İletkenlik (Eİ) Değerlerinin Ölçümü.....	34
3.2.4.	Askıda Katı Madde (AKM) Tayini.....	35
3.2.5.	Çözünmüş Oksijen (ÇO) Ölçümü.....	35
3.2.6.	Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ ₅) Ölçümü.....	35
3.3.	Su ve Sediment Numunelerine Yönelik Mikrobiyolojik Analizler.....	37
3.3.1.	Su ve Sediment Numunelerinde Toplam Canlı Bakteri (TCB) Sayımı.....	37
3.3.2.	Su ve Sediment Numunelerinde Toplam Koliform (TK) Sayımı.....	38
3.3.3.	Su ve Sediment Numunelerinde Fekal Koliform (FK) Sayımı.....	38
3.3.4.	Su ve Sediment Numunelerinde Fekal Enterokok (FE) Sayımı.....	38
3.4.	Sediment Numunelerine Yönelik Fiziksel ve Kimyasal Parametre Analizleri....	39
3.4.1.	Sediment Numunelerinde Tuzluluk, pH, Organik Madde ve Besin Elementi Analizleri.....	39
3.5.	Kültüre Dayalı Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesi.....	40
3.5.1.	Su ve Sediment Numunelerinden Halofil İzolasyonu.....	40
3.5.2.	Halofil İzolatların Gram Boyama Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	41
3.5.3.	Halofil İzolatların Oksidaz Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	41
3.5.4.	Halofil İzolatların Katalaz Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	41
3.5.5.	Halofil İzolatların İndol Oluşturma Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	41
3.5.6.	Halofil İzolatların Nitrattan Nitrit Oluşturma Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	41
3.5.7.	Halofil İzolatların Nitrattan Gaz Oluşturma Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	42
3.5.8.	Halofil İzolatların Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi.....	42

3.6.	Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen Halofil Bakterilerin Biyoteknolojik Uygulamalarının Değerlendirilmesi.....	43
3.6.1.	Halofil İzolatların PGP Özelliklerinin Değerlendirilmesi.....	43
	İzolatların Siderofor Üretim Potansiyellerinin Değerlendirilmesi.....	44
	İzolatların IAA Üretim Potansiyellerinin Değerlendirilmesi.....	44
	İzolatların Azot Fiksasyon Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	45
	İzolatların Fosfor Çözme Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	46
3.6.2.	Halofil İzolatların Ağır Metal Toleranslarının Değerlendirilmesi.....	47
3.6.3.	Halofil İzolatların 16S rRNA Moleküler Tanımlaması.....	47
3.6.4.	Halofil İzolatların Bakteriyorodopsin Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	48
3.6.5.	Halofil İzolatların EPS Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	49
3.7.	Kültüre Dayalı Olmayan Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesi.....	50
3.7.1.	DNA Barkodlama Analizi.....	51
3.7.2.	Genomik DNA İzolasyonu.....	52
3.7.3.	Dizileme ve Kütüphane Oluşturulması.....	52
3.7.4.	Biyoinformatik Analizler.....	53
3.8.	İstatistiksel Analizler.....	55

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.	Su Numunelerinin Fizikokimyasal Analiz ve Bakteriyolojik Parametre Sonuçları	57
4.2.	Sediment Numunelerinin Bakteriyolojik Parametre Sonuçları.....	69
4.3.	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü Sediment Numunelerinde Fizikokimyasal Özelliklerin ve Besin Element İçeriğinin Değerlendirilmesi.....	76
4.3.1.	Mikro Besin Elementleri ve Olası Mikrobiyal Etkileşimler.....	80
4.4.	Meteorolojik Veriler.....	81
4.5.	Kültüre Dayalı Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinden Halofil Mikroorganizma İzolasyonu ve Saflaştırılması.....	82
4.5.1.	Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen Halofil Mikroorganizmaların Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	83
4.5.2.	Halofil İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri.....	109
4.6.	Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen Halofil Mikroorganizmaların Biyoteknolojik Uygulama Sonuçları.....	127
4.6.1.	Halofil İzolatların PGP Yetenekleri.....	127

4.7.	Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen ve Temsili Olarak Seçilen Halofil Mikroorganizmaların Biyoremediasyon Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	145
4.8.	16S rRNA Moleküler Tanımlama.....	148
4.9.	Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen ve Temsili Olarak Seçilen Halofil Mikroorganizmaların Rodopsin Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	154
4.10.	Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen ve Temsili Olarak Seçilen Halofil Mikroorganizmaların EPS Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi.....	158
4.11.	Kültüre Dayalı Olmayan Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesi.....	162
4.12.	Sediment Numunelerinin Metabarkodlama Analiz Sonuçları.....	162
4.12.1.	Sediment Numunelerinin Taksonomik Profilleme Analizi.....	163
4.12.2.	16S Okumalarının Biyoinformatik Analiz Sonuçları.....	166
4.12.3.	18S Okumalarının Biyoinformatik Analiz Sonuçları.....	185
	BEŞİNCİ BÖLÜM	211
	SONUÇ ve ÖNERİLER	
	KAYNAKÇA	216

SİMGELER VE KISALTMALAR

TUBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
SW	Tuzlu su
MHA	Mueller Hinton Agar
ÇAD	Çoklu antibiyotik direnci
mL	Mililitre
Kg	Kilogram
gr	Gram
%	Yüzde oranı
µL	Mikrolitre
L	Litre
mg	Miligram
mm	Milimetre
cm	Santimetre
km ²	Kilometre
IAA	İndol 3- Asetik Asit
K	Potasyum
N	Azot
P	Fosfor
kob	Koloni oluşturan birim
U	Unit (Birim)
rpm	Devir sayısı/dakika
ppm	Milyonda bir
nm	Nanometre
V	Volt
EPS	Ekzopolisakkarit
AM	Ampisilin
P	Penisilin
B	Basitrasin
S	Streptomisin
TE	Tetrasiklin
NV	Novobiyosin

E	Eritromisin
ASV	Amplikon dizi varyantı
bp	Baz çifti
ng	Nanogram
DADA	The divisive amplicon denoising algorithm
DNA	Deoksiribonükleik asit
eDNA	Çevresel DNA
QIIME	Quantitative insights into microbial ecology
rDNA	Ribozomal DNA
Na ⁺	Sodyum iyonu
K ⁺	Potasyum iyonu
NGS	Yeni nesil dizileme
OTU	Operasyonel taksonomik birim
Fe	Demir
ATP	Adenozin trifosfat
PSB	Fosfat çözen bakteriler
NH ₃	Amonyak
SR	Sensör rodopsin
BR	Bakteriyorodopsin
Cd	Kadmiyum
Pb	Kurşun
As	Arsenik
Hg	Cıva
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbon
°C	Santigrat derece
NaCl	Sodyum klorür
Eİ	Elektriksel iletkenlik
BOİ	Biyolojik oksijen ihtiyacı
ÇO	Çözünmüş oksijen
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
MgCl ₂	Magnezyum klorür
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
NaBr	Sodyum bromür

H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Mn	Mangan
CuSO ₄	Bakır sülfat
KNO ₃	Potasyum nitrat
Se	Selenyum
BGLBB	Brilliant green laktoz broth
ddH ₂ O	Distile su
MCASA	Modifiye chrome azurol S agar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
PEG	Polietilen glikol
TCA	Trikloroasetik asit

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Hipersalin habitatlarda bulunan bakteri türleri	9
Tablo 2	Kıtaıçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri	22
Tablo 3	Moleküler tanımlama analizinde kullanılan primer çiftleri	53
Tablo 4	Su numunelerinin fizikokimyasal parametre sonuçları	59
Tablo 5	Su numunelerinin bakteriyolojik parametre sonuçları	61
Tablo 6	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü su numunelerine ait korelasyon verileri	63
Tablo 7	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü su numunelerinde saptanan kirlilik parametrelerinin istasyonlara göre Tukey ve LSD testlerine ait fark grupları	66
Tablo 8	Sediment numunelerinin bakteriyolojik parametre sonuçları	70
Tablo 9	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü sediment numunelerine ait korelasyon verileri	72
Tablo 10	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü sediment numunelerinde saptanan kirlilik parametrelerinin istasyonlara göre Tukey ve LSD testlerine ait fark grupları	74
Tablo 11	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü sediment numunelerinin mevsimsel fizikokimyasal ve elementel içerik analiz sonuçları	78
Tablo 12	Çanakkale Meteoroloji İstasyonu'na ait aylık ortalama sıcaklık, toplam yağış ve açık yüzey buharlaşma verileri (2023-2024)	81
Tablo 13	Su ve sediment numunelerinden izole edilen toplam bakteri sayılarının zaman ve istasyona göre dağılımı	82
Tablo 14	I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	85
Tablo 15	II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	87
Tablo 16	III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	89

Tablo 17	IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	91
Tablo 18	I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	97
Tablo 19	II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	99
Tablo 20	III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	101
Tablo 21	IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu	103
Tablo 22	I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	111
Tablo 23	II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	113
Tablo 24	III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	114
Tablo 25	IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	116
Tablo 26	I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	119
Tablo 27	II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	120
Tablo 28	III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	122
Tablo 29	IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri	124
Tablo 30	I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	128
Tablo 31	II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	130
Tablo 32	III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	132
Tablo 33	IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	134

Tablo 34	I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	136
Tablo 35	II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	138
Tablo 36	III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	140
Tablo 37	IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri	142
Tablo 38	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait biyoremediasyon yüzdeleri	146
Tablo 39	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait biyoremediasyon yüzdeleri	147
Tablo 40	Su numunelerinden izole edilen halofil suşların 16S rRNA analiz sonuçları	149
Tablo 41	Sediment numunelerinden izole edilen halofil suşların 16S rRNA analiz sonuçları	150
Tablo 42	16S ve 18S dizilerin kalite kontrol sonuçları	163
Tablo 43	Gözlemlenen ASV sayıları	163
Tablo 44	16S ve 18S dizilerinin FastQC analiz sonuçları	165

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü örnekleme istasyonlarının konumlarına ait görsel	31
Şekil 2	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde belirlenen örnekleme istasyonlarının konumu, a: I. istasyon, b: II. istasyon, c: III. istasyon, d: IV. istasyon	32
Şekil 3	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde arazi çalışması sırasında su örnekleme ve yerinde fizikokimyasal parametre ölçümlerinin gerçekleştirilmesi	34
Şekil 4	Glikoz standart eğrisi	50
Şekil 5	DNA barkodlama çalışmasına ait iş akış şeması	51
Şekil 6	Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde gerçekleştirilen arazi çalışmalarına ait görseller, a: Eyl/23, b: Ara/23, c: Nis/24, d: Tem/24	57
Şekil 7	Su numunelerine ait TCB sayımı, a: Mezofil, b: Maya/küf, c: Psikrofil	60
Şekil 8	Su numunelerinin bakteriyolojik parametrelerine ait görseller, a: TK, b: FK, c: FE	62
Şekil 9	Sediment numunelerine ait TCB sayımı, a: Mezofil, b: Maya/küf, c: Psikrofil	69
Şekil 10	Sediment numunelerinin bakteriyolojik parametrelerine ait görseller, a: TK, b: FK, c: FE	71
Şekil 11	Su numunelerine ait izolasyon görselleri	83
Şekil 12	Su numunelerinden saflaştırılan izolat görselleri	84
Şekil 13	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gram boyama görselleri, a: B1S13, b: A4S7, c: C1S12, d: D3S1	93
Şekil 14	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait indol testi görseli, a: D4S1, b: D3S5	93
Şekil 15	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait nitrat ve nitrit üretim testi görseli, a: A1S12, b: A2S4, c: A3S6	94

Şekil 16	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gaz oluşum testi görseli, a: B1S2, b: C4S1, c: A2S10	94
Şekil 17	Sediment numunelerine ait izolasyon görselleri	95
Şekil 18	Sediment numunelerinden saflaştırılan izolat görselleri	95
Şekil 19	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gram boyama görselleri, a: B1T4, b: A4T5, c: C1T1, d: B3T1	104
Şekil 20	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait indol testi görseli, a: B1T1, b: B2T2	104
Şekil 21	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait nitrat ve nitrit üretim testi görseli, a: A1T1, b: A4T2, c: A2T4	105
Şekil 22	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gaz oluşum testi görseli, a: A1T14, b: A3T6, c: A2T17	105
Şekil 23	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin antibiyotik direnç profilleri petri görselleri, a: A4S3, b: B1S10, c: C3S3, d: D3S6	110
Şekil 24	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin antibiyotik direnç profilleri petri görselleri, a: A1T11, b: B1T6, c: C3T11, d: D2T6	118
Şekil 25	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin siderofor üretimi görselleri	129
Şekil 26	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin azot fiksasyonu görselleri	131
Şekil 27	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin fosfor üretim görselleri	133
Şekil 28	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin IAA üretimindeki renk değişim görseli	135
Şekil 29	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin siderofor üretimi görselleri	135
Şekil 30	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin azot fiksasyonu görselleri	137
Şekil 31	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin fosfor üretim görselleri	139
Şekil 32	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin IAA üretimindeki renk değişim görseli	141

Şekil 33	Halofil izolatların rodopsin üretim görselleri, a: Sucul izolatlar, b: Sediment izolatları	155
Şekil 34	Halofil izolatlardan rodopsin sentez görseli	155
Şekil 35	Halofil izolatların rodopsin üretim miktarlarındaki değişim görseli	155
Şekil 36	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin rodopsin üretim miktarları	156
Şekil 37	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin rodopsin üretim miktarları	157
Şekil 38	Halofil izolatların EPS üretim görselleri, a: Sucul izolatlar, b: Sediment izolatları	159
Şekil 39	Halofil izolatlardan EPS sentez görseli	159
Şekil 40	Halofil izolatların EPS üretim miktarlarındaki renk değişim görseli	159
Şekil 41	Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin EPS üretim miktarları	160
Şekil 42	Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin EPS üretim miktarları	161
Şekil 43	Örneklerin 16S ve 18S okumalarının ASV yoğunluk grafiği	164
Şekil 44	Örneklerin 16S okumalarının ASV yoğunluk grafiği	167
Şekil 45	16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı	168
Şekil 46	16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun familya seviyesinde dağılımı	160
Şekil 47	16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı	170
Şekil 48	16S metagenomik analiz ısı haritası görseli (Filum)	171
Şekil 49	16S metagenomik analiz ısı haritası görseli (Familya)	173
Şekil 50	16S metagenomik analiz ısı haritası görseli (Cins)	175
Şekil 51	16S örnekleri arasında ortak veya benzersiz ASV sayısını gösteren Venn diyagramı	177
Şekil 52	16S alfa çeşitlilik analizi	178

Şekil 53	16S örneklerinde gözlenen taksonlar arasındaki Bray-Curtis mesafelerinin PCoA çizimi	182
Şekil 54	Örneklerin 18S-V4 okumalarının ASV yoğunluk grafiği	186
Şekil 55	Örneklerin 18S-V9 okumalarının ASV yoğunluk grafiği	187
Şekil 56	18S-V4 okumalarının filum seviyesinde dağılımı	188
Şekil 57	18S-V9 okumalarının filum seviyesinde dağılımı	189
Şekil 58	18S-V4 okumalarının familya seviyesinde dağılımı	190
Şekil 59	18S-V9 okumalarının familya seviyesinde dağılımı	191
Şekil 60	18S-V4 okumalarının cins seviyesinde dağılımı	193
Şekil 61	18S-V9 okumalarının cins seviyesinde dağılımı	193
Şekil 62	18S-V4 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Filum)	195
Şekil 63	18S-V9 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Filum)	196
Şekil 64	18S-V4 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Familya)	197
Şekil 65	18S-V9 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Familya)	198
Şekil 66	18S-V4 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Cins)	199
Şekil 67	18S-V9 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Cins)	200
Şekil 68	18S-V4 örnekleri arasında ortak veya benzersiz ASV sayısını gösteren Venn diyagramı	203
Şekil 69	18S-V9 örnekleri arasında ortak veya benzersiz ASV sayısını gösteren Venn diyagramı	204
Şekil 70	18S-V4 alfa çeşitlilik analizi	205
Şekil 71	18S-V9 alfa çeşitlilik analizi	206
Şekil 72	18S-V4 örneklerinde gözlenen taksonlar arasındaki Bray-Curtis mesafelerinin PCoA çizimi	207
Şekil 73	18S-V9 örneklerinde gözlenen taksonlar arasındaki Bray-Curtis mesafelerinin PCoA çizimi	208

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Mikroorganizmalar, yalnızca belirli ekosistemlerle sınırlı kalmamakta, ekstrem çevresel koşullara da uyum sağlayabilmektedir. Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalar, mikrobiyal toplulukların yüksek sıcaklık, basınç, tuzluluk ve ekstrem pH gibi çeşitli stres koşullarında hayatta kalabildiğini ortaya koymaktadır. Ekstremofilik mikroorganizmalar, keşfedilmelerinden bu yana, biyolojik adaptasyon mekanizmalarının anlaşılması açısından önemli bir araştırma alanı oluşturmakta ve biyoteknolojik uygulamalar açısından dikkat çekmektedir. Ekstremofiller, insanlar için "aşırı" olarak tanımlanan, yüksek veya düşük sıcaklık, aşırı pH değerleri, yüksek tuz konsantrasyonları veya yüksek basınç gibi olumsuz çevresel koşulların varlığı ile karakterize edilen ekolojik nişlerde hayatta kalacak mikroorganizmaları içermektedir. "Ekstremofil" terimi 1974 yılında MacElroy tarafından ilk kez tanıtılmıştır (Kumar vd., 2016). Ekstremofillerin habitatları oldukça çeşitlidir. Sıcaklık (psikrofiller, termofiller), pH (nötrofiller, asidofiller, alkalifiller), tuz (halofiller), ekstrem kuru koşullar (kserofiller), kayalar (endolitler) ve yüksek şeker içeriği (ozmofiller) gibi ortamlarda ekstremofiller bulunabilmektedir. Dünyanın birçok yerinde, jeotermal ortamlar, kutup bölgeleri, asit ve alkalın çevreler ve okyanusların soğuk basınçlı derinlikleri gibi yerler ekstrem çevreler olarak kabul edilmektedir. Bu şartların uç noktalarda olması nedeniyle bu bölgelerde yalnızca arke ve bakteriler yaşayabilmektedir. Çok hücreli organizmalar, hücresel yapıları ve bölümlerinin farklılığı nedeniyle ekstrem koşullarda canlılığını sürdürememektedirler.

Halofilik mikroorganizmalar, yüksek tuz konsantrasyonlarına uyum sağlamış ve ekstrem çevresel koşullarda yaşayabilen mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bu organizmalar, hücresel düzeyde geliştirdikleri fizyolojik ve biyokimyasal adaptasyon mekanizmaları sayesinde, ozmotik basıncı dengeleyebilmekte ve yüksek tuz konsantrasyonlarının proteinler ve diğer hücresel bileşenler üzerindeki denatüre edici etkilerine karşı direnç gösterebilmektedir. Halofiller, genellikle hipersalin göller, soda gölleri, tuz kristalleri, kayalar ve deniz suyunun buharlaşmasıyla oluşan tuz yatakları gibi yüksek tuz içeriğine sahip ortamlarda yaşamaktadır. Evrimsel süreçte, halofilik mikroorganizmalar, aşırı tuzluluk koşullarına maruz kalan habitatlarda seçim baskısı altında gelişmiş ve bu ortamlara özgü çeşitli metabolik ve genetik özellikler kazanmıştır. Bu

organizmalar, çevresel koşullara bağlı olarak halotolerant, orta derecede halofilik ve aşırı halofilik olarak sınıflandırılmaktadır (Oren, 2024). Halofilik mikroorganizmalar arasında, bakteriler ve arkeler geniş bir çeşitlilik göstermektedir. Ekstrem halofilik arkeler, yüksek tuz konsantrasyonuna sahip ortamlarda yaşamlarını sürdürebilmek için özel biyokimyasal adaptasyon mekanizmaları geliştirmiş organizmalardır. Bu mikroorganizmalar, hücresel dengenin korunması için hücre içindeki potasyum iyonlarını artırarak ozmotik basınca karşı bir denge oluşturur ve protein yapılarını stabil hale getirir. Halobacteriaceae familyasına ait türler, hipersalin göller, tuz madenleri, deniz tuzu üretim tesisleri ve kristalize tuz yatakları gibi ekstrem koşullarda bulunur. Bu aile içinde yer alan *Halobacterium*, *Haloferax*, *Haloarcula*, *Halorubrum*, *Natronomonas* ve *Halobaculum* gibi cinsler, tuzlu ekosistemlerin en yaygın üyeleri arasındadır (Oren, 2002; Edbeib vd., 2016; Oren, 2020). *Halobacterium salinarum*, ışığa duyarlı bakteriyorodopsin proteini üretmesiyle dikkat çeker ve bu özellik holografik veri depolama teknolojilerinde kullanılmaktadır (Seyedkarimi vd., 2015). *Haloferax volcanii*, genetik çalışmalarda model organizma olarak değerlendirilmekte olup, ekstrem koşullarda rekombinant protein üretimi için potansiyel sunmaktadır (Strillinger vd., 2016). *Haloarcula marismortui*, ribozom yapısı üzerinde yapılan araştırmalarda önemli bir model olarak kabul edilirken, bazı türleri enzimatik ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmaktadır (Oren vd., 2020). Halofilik arkeler ayrıca biyoteknoloji, gıda, çevre ve enerji sektörlerinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. *Halorubrum* türleri, yüksek karotenoid üretimi sayesinde antioksidan özellikleriyle gıda ve sağlık sektöründe değerlendirilmektedir (Naziri vd., 2013). *Natronomonas pharaonis*, aşırı alkali ve tuzlu ortam koşullarına dayanıklı olması nedeniyle biyosensör ve endüstriyel enzim üretimi çalışmalarında kullanılmaktadır (Ihara vd., 2008). *Halobaculum gomorense*, hipersalin ortamlardaki metabolik aktiviteleriyle ağır metal biyoremediasyonunda potansiyel göstermektedir (Paul ve Mormile, 2017). Ayrıca, *Haloarcula* ve *Haloferax* türlerinden elde edilen bazı enzimler, endüstriyel biyokatalizör olarak kullanılırken, hidrokarbon bozunumu sağlayan enzimleri sayesinde biyolojik arıtım süreçlerinde değerlendirilmektedir. Bu organizmaların ürettiği ektoin ve betain gibi bileşikler, tarım ve kozmetik sektöründe hücresel koruyucu ajan olarak önem kazanmaktadır. Özellikle, halofilik arkeler tarafından sentezlenen bazı enzimler yüksek sıcaklık, tuz ve pH toleransına sahip olduğundan deterjan, tekstil ve gıda işleme gibi çeşitli endüstriyel uygulamalarda yer almaktadır (Ghosh vd., 2019; Dutta ve Bandopadhyay, 2022).

Mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesi, ekosistemlerin işleyişini anlamak ve çevresel süreçleri değerlendirmek açısından büyük önem taşımaktadır. Ancak, geleneksel kültür teknikleri, birçok mikroorganizmanın laboratuvar ortamında üretilmesini gerektirdiğinden, ekosistemlerde doğal olarak bulunan mikrobiyal toplulukların yalnızca sınırlı bir kısmını tespit edebilmekte ve bu durum mikrobiyal çeşitliliğin eksik değerlendirilmesine yol açmaktadır. Son yıllarda, kültüre bağımlı yöntemlerin sınırlamalarını aşmak ve daha kapsamlı bir mikrobiyal çeşitlilik analizi gerçekleştirmek amacıyla moleküler biyoloji tabanlı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlar arasında en etkili yöntemlerden biri, çevresel DNA (eDNA) analizine dayalı metabarkodlama tekniğidir (Callahan vd., 2017). Metabarkodlama, mikroorganizmalara ait genetik materyalin doğrudan çevresel örneklerden izole edilerek, belirli genetik belirteçler aracılığıyla tanımlanmasını sağlamaktadır. Bu yöntemde yaygın olarak kullanılan belirteçler arasında bakteriler için 16S rRNA, ökaryotlar için 18S rRNA ve funguslar için iç transkribe edilen spacer (ITS) bölgeleri yer almaktadır. Metabarkodlama, yüksek çözünürlüklü ve kapsamlı bir analiz imkânı sunarak, geleneksel yöntemlerle tespit edilemeyen veya kültürlenemeyen mikroorganizmaların belirlenmesine olanak tanımaktadır (Taberlet vd., 2018).

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü, Çanakkale ilinde bulunmakta ve halofilik mikroorganizmaların yaşaması için uygun bir ekosistem sunmaktadır. Bu ekosistem, yüksek tuz konsantrasyonu ve değişken fizikokimyasal parametreleri ve kuşların göç yolları üzerinde olması ile öne çıkmaktadır. Lagün ortamı, mevsimsel değişikliklere bağlı olarak mikrobiyal çeşitliliği etkileyen önemli bir doğal habitat oluşturmaktadır. Bu nedenle, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde yaşayan mikroorganizmaların tespiti, ekolojik ve biyoteknolojik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Gökçeada, Türkiye'nin turistik açıdan önemli bölgelerinden biridir. Sahip olduğu doğal güzellikler, ekoturizm potansiyeli ve koruma altındaki alanları ile dikkat çekmektedir. Ancak turistik faaliyetlerin artması ve antropojenik etkiler, sulak alanların mikrobiyal yapısında değişimlere yol açabilmektedir.

Bu doktora tezinde, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden Eylül 2023- Temmuz 2024 tarihleri arasında üçer aylık periyotlarda su ve sediment numuneleri alınarak mikrobiyal topluluklar ve mikrobiyal çeşitlilik, metabarkodlama ve kültürel yöntemlerle belirlenmiştir. Bunun temel nedeni, mikrobiyal çeşitliliğin daha kapsamlı ve doğru bir şekilde ortaya konabilmesidir. Geleneksel kültür yöntemleri, yalnızca laboratuvar koşullarında üreyebilen

mikroorganizmaların tespitine olanak tanımakta ve çevresel örneklerde doğal olarak bulunan mikroorganizmaların büyük bir kısmı bu yöntemlerle tespit edilememektedir. Buna karşılık, 16S rRNA genine dayalı metabarkodlama, çevresel DNA'nın doğrudan analiz edilmesini sağlayarak, kültürlenemeyen veya nadir bulunan mikroorganizmaların da belirlenmesini mümkün kılmaktadır. Bu iki yöntemin bir arada kullanılması, hem izole edilen türlerin fonksiyonel ve biyoteknolojik özelliklerinin derinlemesine incelenmesini hem de lagün ekosistemindeki mikrobiyal topluluk yapısının yüksek çözünürlükte değerlendirilmesini sağlamaktadır. Ayrıca su ve sediment numunelerinden izole edilen halofillerin rodopsin, ekzopolisakkarit üretme yetenekleri, bitki büyüme teşvikleme (PGP) özellikleri ve biyoremediasyon biyoteknolojik potansiyelleri araştırılmıştır. Böylece, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde yaşayan halofilik mikroorganizmaların hem çeşitlilik düzeyi hem de biyoteknolojik potansiyeli bütüncül bir yaklaşımla ortaya konulmuştur. Bu çalışma, bölgedeki halofilik mikroorganizmaların ekolojik rolünü ve endüstriyel potansiyelini ortaya koyarak bilimsel literatüre önemli katkılar sunmayı amaçlamaktadır.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Mikrobiyal Çeşitlilik

Mikrobiyal çeşitlilik, doğadaki biyolojik süreçlerin devamlılığı ve ekosistemlerin dengesi için büyük bir önem taşımaktadır. Mikroorganizmalar, hem sucul hem de karasal ekosistemlerde geniş bir alana yayılmış durumdadır ve ekosistemlerin sağlıklı işleyişine çeşitli şekillerde katkıda bulunurlar. Karbon, azot, kükürt ve fosfor gibi temel elementlerin döngüsünde kritik roller üstlenirler ve organik maddelerin parçalanması ile besin döngülerinin sürdürülebilirliğini sağlarlar (Falkowski vd., 2008; Shu ve Huang, 2022). Bu süreçler, doğrudan canlıların yaşamını etkiler. Ayrıca mikrobiyal çeşitlilik, ekosistemlerin değişen koşullara uyum sağlama yeteneğini de artırmaktadır. Çevresel değişiklikler veya stres faktörleri karşısında mikroorganizmaların genetik ve işlevsel çeşitliliği, ekosistemlerdeki dengeyi korumaya yardımcı olmaktadır. Bu esneklik sayesinde, mikroorganizmalar farklı koşullara hızla adapte olabilmekte ve bu da ekosistemlerin sağlıklı kalmasını sağlamaktadır. Biyolojik çeşitliliğin kaybının olumsuz etkilerini hafifletmede mikrobiyal çeşitlilik kritik bir rol oynamaktadır (Loreau vd., 2001).

2.2. Ekstremofil Ortamlar

Ekstremofilik habitatlar, çevresel koşulların aşırı olarak değerlendirilebileceği sıcaklık, pH, tuzluluk, basınç gibi faktörlerin uç değerlerde bulunduğu ortamlardır. Bu zorlu koşullar, mikroorganizmaların benzersiz adaptasyonlar geliştirmesine neden olmakta ve bu sayede ekosistemlerin devamlılığını sağlamaktadır. Hipersalin habitatlar, yüksek tuz konsantrasyonlarına sahip olup, deniz suyu buharlaşmasından oluşan tuz gölleri ve tuz düzlükleri gibi alanları içermektedir. Bu ortamlarda halofilik mikroorganizmalar, hücre içi ozmotik dengeyi koruyarak hayatta kalmaktadır. Termofilik habitatlar, genellikle sıcak su kaynakları ve volkanik bölgelerde bulunan yüksek sıcaklıklara adapte olmuş mikroorganizmalar içerirken, psikrofilik habitatlar, kutup bölgeleri ve derin denizlerdeki düşük sıcaklıkları tolere eden organizmalara ev sahipliği yapmaktadır. Bu tür mikroorganizmalar, ekstrem sıcaklıklarda protein yapılarını ve enzim aktivitelerini koruyabilmektedir (Rothschild ve Mancinelli, 2001; Ventosa vd., 2015).

Bunun yanında, asidik ve bazik habitatlar, pH değeri açısından ekstrem koşullar sunan diğer önemli ortamlardır. Asidik habitatlar, maden drenajları ve volkanik bölgelerde bulunmakta olup, mikroorganizmalar bu ortamlarda hücre içi pH dengesini koruyabilmektedir. Aksine, soda gölleri gibi bazik habitatlarda yaşayan mikroorganizmalar, yüksek pH'a karşı direnç mekanizmaları geliştirmiştir. Yüksek basınçlı derin deniz ortamları ve radyasyona maruz kalan habitatlar da ekstremofilik mikroorganizmalar için benzersiz nişler sunmaktadır. Bu ortamların mikroorganizmaları, DNA ve protein yapılarını stabilize eden adaptasyonlar sayesinde bu tür zorluklara karşı dayanıklılık göstermektedir. Ekstremofilik mikroorganizmalar, enzimatik aktiviteleri ve metabolik esneklikleri ile biyoteknolojik uygulamalarda, özellikle biyoremediasyon ve endüstriyel süreçlerde önemli bir potansiyele sahip bulunmaktadır (D'Amico vd., 2006; Elleuche vd., 2015).

2.2.1. Hipersalin Habitatlar

Hipersalin habitatlar, yüksek tuz konsantrasyonlarına sahip zorlu çevreler olup, bu ortamlarda yaşayan mikroorganizmalar, bu ekstrem koşullara uyum sağlamaktadır. Tuz gölleri, tuz düzlükleri ve tuzlu yeraltı suları gibi habitatlar, deniz suyunun buharlaşmasıyla oluşmakta olup, ekstremofilik mikroorganizmalar için yaşam alanı sunmaktadır (Oren, 2024). Hipersalin ortamlarda bulunan mikroorganizmalar, aşırı tuzluluk, yüksek ozmotik basınç, düşük su aktivitesi ve genellikle yüksek sıcaklık gibi zorlu koşullara karşı adaptasyon göstermektedir.

Bu habitatlarda yaşayan mikroorganizmalar arasında halofiller (tuz seven mikroorganizmalar) baskın olarak bulunmaktadır. Halofiller, yüksek tuz konsantrasyonlarında büyüebilmekte ve hayatta kalabilmektedir. Halofilik mikroorganizmalar, prokaryotlar (bakteri ve arke) ve ökaryotlar (algler, mantarlar) dahil geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır. Özellikle arke türleri, hipersalin ortamların baskın sakinleri arasında yer almakta olup, bu ortamlarda yüksek çeşitlilik göstermektedir (Ventosa vd., 2015; Thombre ve Mangrola, 2022). Bakteriler ve arkeler, ortak bir prokaryotik ataya sahip olmalarına rağmen, birbirlerinden genetik, fizyolojik ve ekolojik açıdan önemli farklılıklar göstermektedirler (Wang vd., 2020). Her iki grup da farklı ekosistemlerde çeşitli nişlerde yer alarak biyolojik işlevlerin düzenlenmesinde kilit roller üstlenmektedirler.

Hipersalin habitatlarda bulunan gruplar arasında halofiller, heterotroflar, fototroflar, kemolitototroflar, metanojenler ve aerobik ya da anaerobik solunum yoluyla büyüyen mikroorganizmalar yer almaktadır. Bu mikroorganizmalar, özellikle oksijenli ve oksijensiz fototrofik bakteriler, aerobik heterotroflar ve fermentatif mikroorganizmalar gibi alt gruplarda çeşitlenmektedir.

Oksijenik fototrofik mikroorganizmalar, ekstrem koşullarda yüksek sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonları gibi stres faktörlerine uyum sağlamış organizmalardır. Bu mikroorganizmalar, ışık enerjisini klorofil kullanarak absorbe eder ve suyu oksijene oksitler. *Dunaliella* cinsi yeşil algler, hipersalin ortamlar için tipik örneklerdir. Bu algler, aşırı ışık ve besin stresinde β -karoten üretir ve hücrelerini oksidatif hasardan korur (McGenity ve Oren, 2012). Ayrıca diatomlar ve siyanobakteriler de hipersalin ortamlarda bolca bulunur ve genellikle bentik mikrobiyal alanlarda yoğunurlar. Anoksijenik fototrofik bakteriler ise farklı bir fotosentetik süreçle enerji elde eder. Bu mikroorganizmalar, reaksiyon merkezleri aracılığıyla inorganik bileşenleri oksitler ve enerji ile indirgeyici güç üretir. *Halorhodospira* ve *Ectothiorhodospira* gibi mikroorganizmalar, özellikle hipersalin soda göllerinde yaygındır ve ışık enerjisini kullanarak büyür (McGenity ve Oren, 2012). Aerobik heterotroflar, yüksek tuzlu ortamlarda besin maddelerini aerobik olarak oksitlemektedir. Halobacteriaceae familyası bu tür mikroorganizmaların çoğunun yer aldığı bir aile olup, karbon kaynakları olarak basit organik bileşenleri kullanır. Bazı türler, aerobik karbon metabolizmasını trikarboksilik asit döngüsü ile desteklerken, *Haloferax mediterranei* gibi türler daha basit büyüme koşullarında gelişir (Falb vd., 2008). Bu organizmalar, karbon döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır ve aerobik halofilik arkeler, siyanobakterilerle metabolik etkileşimlere girerek karbon kaynaklarını paylaşmaktadır (Abed vd., 2018).

Fermentatif mikroorganizmalar, yüksek tuzlu ortamlarda anaerobik koşullarda büyüyerek, şekerler veya amino asitler gibi basit organik bileşenler üzerinde fermente olmaktadır. Halofilik fermentatif bakteriler, genellikle anaerobik ortamda gelişir ve bazıları alternatif elektron alıcıları kullanarak enerji üretir (McGenity ve Oren, 2012). Bu türler, özellikle *Halanaerobiales* takımına ait olup, etanol ve diğer basit organik bileşenlerin fermentasyonunda önemli rol oynar. Metanojenik mikroorganizmalar, karbon döngüsünde ve biyogaz üretiminde kritik bir rol oynamaktadır. Metanojenik arkeler, hidrojenotrofik, metilotrofik ve asetoklastik yollarla metan üretirler. Bu mikroorganizmalar, özellikle

hipersalin koşullarda metan üreterek çevreye önemli bir biyokimyasal etki yapmaktadır (Eleui vd., 2008; Sorokin vd., 2017). Sülfat indirgeyici bakteriler ise, sülfat gibi bileşenleri indirger ve bu süreçler anoksik ortamlarda yaygın olarak gerçekteşir. Büyük Tuz Gölü gibi bölgelerde, Desulfohalobiaceae gibi sülfat indirgeyici bakteriler yaygındır. Bu mikroorganizmalar, çeşitli sülfat indirgeme yolları kullanarak enerji elde eder ve çevresel sülfat döngüsüne katkıda bulunurlar (Kjeldsen vd., 2007; Muyzer ve Stams, 2008).

2.2.2. Bakteriyel Çeşitlilik

Hipersalin habitatlarda yaşayan bakteriler, tuzlu çevrelere adapte olmuş çok çeşitli türlerden oluşmaktadır. Bu habitatlar, deniz suyu tuzluğunun çok üzerinde tuz konsantrasyonlarına sahip olduğu için, burada yaşayan bakteriler, aşırı tuzlu koşullara karşı dayanıklılık göstermektedir. Ekstrem ortamlarda bulunan bakteriler, sadece bu zorlu koşullarda hayatta kalmakla kalmayıp, aynı zamanda bu ortamlarda gelişip çoğalabilmektedir. Bakterilerin bu koşullara uyum yeteneği, hücre içi ozmotik dengeyi korumalarını sağlayan çeşitli fizyolojik ve genetik mekanizmalara dayanmaktadır (Oren, 2002).

Hipersalin ortamlarda bulunan bakteriler, tuz toleranslarına göre üç ana gruba ayrılmaktadır: hafif halofiller, orta derecede halofiller ve ekstrem halofiller. Hafif halofiller, %3-5 tuz konsantrasyonunda gelişmekte, orta derecede halofiller %5-20 tuz konsantrasyonunu tercih etmekte, ekstrem halofiller ise %20 ve üzeri tuz seviyelerinde hayatta kalabilmektedir. *Halomonas* ve *Salinibacter* gibi türler hipersalin ortamlarda yaygın olarak bulunmakta olup, hücrelerinde yüksek miktarda potasyum ve diğer tuzlar biriktirerek tuzlu koşullara karşı direnç göstermektedirler (Ventosa vd., 2015; Almeida-Dalmet ve Baxter, 2020). Bu mikroorganizmalar, çevredeki yüksek tuz seviyesinin neden olduğu hücre içi su kaybını önlemek için bu tür ozmotik dengeleme stratejileri kullanmaktadır. Halofil bakteriler, yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere etmek için hücre zarlarında bulunan özel proteinler ve enzimler üretmektedir. Hücrelerinde glisin betain ve trehaloz gibi ozmolit biriktirerek, hem hücre içi su dengesini korumakta hem de protein ve enzimlerinin işlevini sürdürmektedirler. Hipersalin ortamlarda hem halofilik hem de halotolerant mikroorganizmaların varlığı dikkat çekmektedir. Bu ortamlarda, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes ve Actinobacteria gibi çeşitli filumlar da bulunmaktadır. Bu filumlar, yüksek

tuz konsantrasyonlarına dayanabilen farklı metabolik özelliklere sahip türler içermektedir. Özellikle, Firmicutes grubuna ait bakteriler, yüksek tuzlu ortamlarda gelişme yetenekleriyle bilinirken, Proteobacteria ise geniş bir metabolik çeşitlilik sunmaktadır. Bacteroidetes ve Actinobacteria filumları ise, hipersalin habitatlarda çeşitli ekolojik rollere sahip mikroorganizmalarla temsil edilmektedir (Tablo 1).

Tablo 1

Hipersalin habitatlarda bulunan bakteri türleri

Bakteri Taksonomisi	Cins	Tür	Optimum Tuz Aralığı (%)
Filum Proteobacteria Ordo Chromatiales Familya Ectothiorhodospiraceae	<i>Arhodomonas</i>	<i>A. aquaeolei</i>	15
		<i>H. halophile</i>	11-32
	<i>Halorhodospira</i>	<i>H. halocloris</i>	14-27
		<i>H. abdelmalekii</i>	12-18
Filum Firmicutes, Ordo Halanaerobiales, Familya Halanaerobiaceae	<i>Halanaerobium</i>	<i>H. lacusrosei</i>	18-20
	<i>Halocella</i>	<i>H. cellulosilytica</i>	15
	<i>Natrionela</i>	<i>N. acetigena</i>	12-15
		<i>H. halobius</i>	9-15
Filum Firmicutes, Ordo Halanaerobiales, Familya Halobacteroidaceae	<i>Halobacteroides</i>	<i>H. elegans</i>	10-15
		<i>A. arabaticum</i>	15-18
	<i>Acetohalobium</i>	<i>H. chitinivorans</i>	12-18
		<i>H. lacunarum</i>	15-18
		<i>H. salinarius</i>	14-15
	<i>Halanaerobacter</i>		
Filum Firmicutes, Ordo Bacillales, Familya Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>B. halophilus</i>	15
Filum Actinobacteria, Ordo Actinomycetales, Familya Pseudonocardiaceae	<i>Actinopolyspora</i>	<i>A. halophile</i>	15-20
		<i>A. mortivallis</i>	10-15
		<i>A. iraqiensis</i>	10-15
Filum Bacteroidetes, Ordo Sphingobacteriales, Familya Crenotrichaceae	<i>Salinibacter</i>	<i>S. ruber</i>	20-25

Kaynak: Oren, 2002

Halofilik bakterilerin, tuzlu ortamlarda hayatta kalmalarını sağlayan genetik adaptasyonlar, bu bakterilerin DNA, RNA ve protein yapılarını stabilize eden tuza dayanıklı proteinler üretmesini sağlamaktadır. Genetik seviyede, tuza karşı dirençli enzimlerin sentezinden sorumlu genler, bu bakterilerin tuzlu ortamlarla başa çıkma kapasitelerini artırmaktadır (Oren, 2011). Hipersalin habitatlarda yaşayan bakteriler, bu adaptasyonlar sayesinde, aşırı koşullara rağmen biyolojik işlevlerini sürdürmektedirler.

Halofilik mikroorganizmalar, ozmotik dengeyi koruyarak su kaybını önlemek ve hücrel işlevlerini sürdürebilmek için iki temel strateji kullanmaktadırlar. Birinci strateji, hücre içinde ozmotik dengenin sağlanmasını sağlayan uyumlu çözücülerin üretimidir. Bu organik moleküller, hücrel proteinler ve enzimler üzerinde olumsuz bir etki yaratmadan, hücre içi ozmotik basıncı artırarak suyun hücre içinde tutulmasını sağlamaktadır. Halofilik bakteriler ve arkeler, ektain, betain, trehaloz, prolin ve glikozilgliserol gibi bileşikler sentezleyerek tuz stresine karşı direnç geliştirmektedirler (Edbeib vd., 2016). İkinci strateji ise tuz-in stratejisi olarak adlandırılan mekanizmadır. Bu yöntemde, halofilik mikroorganizmalar, hücre içi iyonik dengeyi sağlamak için sitoplazmalarına yüksek miktarda tuz iyonu (Na^+ ve K^+) alarak çevresel tuz konsantrasyonuna uyum sağlamaktadırlar. Bu adaptasyon mekanizması, özellikle *Halobacterium salinarum* gibi ekstrem halofilik arkelerde yaygın olarak görülmektedir. Bu mikroorganizmalar, protein yapılarında yüksek oranda asidik amino asit bulundurarak hücrel enzimlerini ve metabolik sistemlerini yüksek tuz konsantrasyonlarında stabil tutabilmektedirler (Gunde-Cimerman vd., 2018; Wani vd., 2022). Bu iki temel adaptasyon stratejisinin yanı sıra, halofilik mikroorganizmalar hücrel zarlarının bileşiminde de değişiklikler yaparak aşırı tuz konsantrasyonlarına karşı direnç geliştirmektedirler. Hücre zarında doymamış yağ asitlerinin oranı artırılarak zar akışkanlığı korunmakta, aynı zamanda lipid içeriği hücrenin ozmotik basınca karşı dayanıklılığını artırmaktadır (Kumar vd., 2022).

2.2.3. Arke Çeşitliliği

Hipersalin ortamlar, yüksek tuz konsantrasyonlarına sahip ekstrem çevreler olup, arkeler bu zorlu koşullara karşı adaptasyon yetenekleri ile öne çıkmaktadır. Deniz suyu buharlaşmasıyla oluşan tuz gölleri gibi habitatlarda, ekstrem halofilik arkeler baskın bir yer tutmaktadır. Bu mikroorganizmalar, hücre içi ozmotik basıncı dengelemek için K^+ ve diğer inorganik iyonları biriktirme stratejileri geliştirmiştir (Wang vd., 2023). Hipersalin ortamların biyolojik çeşitliliği içerisinde arke türleri, karbon ve azot döngülerine katkıda bulunarak ekosistem dengesini sağlamaktadır. Bu özellikleri ile arkeler hem temel ekoloji hem de biyoteknolojik uygulamalar açısından büyük önem taşımaktadır (Ghosh vd., 2019).

Hipersalin ortamlarda en yaygın bulunan arke türleri arasında *H. salinarum*, *Haloarcula marismortui*, *Halococcus morrhuae* ve *Natronococcus occultus* gibi türler yer

almaktadır. Özellikle *H. salinarum*, yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklı proteinler ve enzimler üreterek bu ortamlarda hayatta kalabilmektedir (Murthy vd., 2024). *H. marismortui* ise hücre zarlarında bulunan lipid yapıları sayesinde hipersalin koşullarda stabilite sağlamaktadır (Grant ve Sorokin, 2011). Bunun yanı sıra, genetik analizler bu türlerin genom düzeyinde benzersiz adaptasyonlara sahip olduğunu göstermektedir. Halofilik arkelerin hücresel mekanizmaları, hipersalin ortamlardaki düşük su aktivitesine ve yüksek ozmotik basınca karşı hayatta kalmalarını mümkün kılmaktadır (Wang vd., 2023).

Arke çeşitliliğinin biyoteknolojik uygulamalardaki önemi de dikkat çekmektedir. Hipersalin ortamlardan izole edilen arkeler, lipit ve enzim üretimi gibi sanayiye yönelik alanlarda kullanılmaktadır. Özellikle *H. morrhuae* ve *H. marismortui* gibi türlerden elde edilen enzimler, ekstrem koşullarda işlevselliğini koruyabilmekte ve bu özellikleri ile gıda, ilaç ve biyomedikal sektörlerinde kullanılmaktadır (Ghosh vd., 2019). Hipersalin ortamlardaki arke türlerinin incelenmesi, ekosistemlerin işleyişine dair yeni bilgiler sunmakta ve bu organizmaların biyoteknolojik potansiyelinin keşfedilmesine olanak tanımaktadır.

2.2.4. Ökaryotik Çeşitlilik

Hipersalin ortamlar, yalnızca prokaryotlar için değil, aynı zamanda belirli ökaryotik mikroorganizmalar için de yaşam alanı sağlamaktadır. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte, halotolerant ve halofilik özellik gösteren ökaryotların bu ortamlarda daha küçük popülasyonlar oluşturduğu gözlemlenmektedir (Edgcomb ve Bernhard, 2013). Üç temel yaşam üst alemi arasında yer alan ökaryotlardan bazı mikroorganizma grupları, aşırı tuzlu ekosistemlere adapte olabilmiş ve burada kendilerine özgü yaşamsal stratejiler geliştirmişlerdir. Bu mikroorganizmalar arasında mantarlar, algler ve protozoalar gibi türler yer almakta ve hipersalin ortamlarda varlıklarını sürdürebilmektedirler. Tuzlu ortamlar üzerine yapılan araştırmalarda, *Dunaliella salina* ve *Dunaliella bardawil* gibi yeşil alglerin biyoteknolojik öneme sahip olduğu belirlenmiştir. Bu mikroalgler, serbest radikalleri etkisiz hale getirmede önemli rol oynayan β -karoten üretimi açısından öne çıkmakta ve bu özellikleri nedeniyle yaygın olarak kültüre alınmaktadırlar (Edgcomb vd., 2014; Elevi vd., 2008). Ekosistem içerisindeki rollerine bakıldığında, ökaryotik mikroorganizmalar organik

materyallerin ayrışmasında ve temel elementlerin geri dönüşümünde görev almakta, ayrıca fotosentez yoluyla enerji üretimine katkı sağlamaktadırlar.

Prokaryotlarla karşılaştırıldığında, hipersalin ortamlarda yaşayan ökaryotların tür çeşitliliği daha sınırlı olmakla birlikte, belirli gruplar bu aşırı koşullara uyum sağlayabilmektedir. Yeşil algler, protozoalar (*Ciliates* ve *Flagellates*) ve bazı mantar türleri (*Aspergillus* ve *Penicillium*) bu zorlu koşullarda gelişim gösterebilen ökaryotlar arasında yer almaktadır (Thamizhmani vd., 2013). Hipersalin habitatlarda yaşayan mikrobiyal ökaryotlar, aşırı ozmotik basınca karşı hayatta kalabilmek için çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bazı türler, prokaryotlarda olduğu gibi sitoplazmalarında uyumlu çözünür maddeler biriktirerek su kaybını minimize ederken, diğerleri hücresel iyon dengesini koruyarak tuz stresine karşı direnç kazanmaktadır. Özellikle bazı halofilik ökaryotlar, hücre içinde potasyum iyonu konsantrasyonunu artırıp, sodyum iyonlarını dışarı atmak amacıyla sodyum pompalarını kullanarak ozmotik basınç regülasyonu sağlamaktadırlar (Galinski, 1993). Yapılan mikrobiyal çeşitlilik çalışmalarında, hipersalin ekosistemlerde Alveolates, Chlorophyta ve *Dunaliella* spp. gibi ökaryotik organizmaların varlığı belirlenmiştir (Heidelberg vd., 2013; Zaikova vd., 2018). Bu mikroorganizmalar, ekstrem çevresel koşullara rağmen metabolik süreçlerini sürdürebilmekte ve ekolojik döngülerde önemli roller üstlenmektedirler.

2.3. Metabarkodlama

Metabarkodlama, çevresel DNA (eDNA) veya organizmalardan izole edilen DNA örneklerini kullanarak mikrobiyal çeşitliliği ve topluluk yapısını yüksek çözünürlükle analiz etme yöntemidir. Geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerin aksine, bu teknik kültüre alınamayan mikroorganizmaların da belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Metabarkodlama çalışmaları, 16S rRNA, ITS, 18S rRNA gibi belirli gen bölgelerinin PCR ile çoğaltılmasını ve bu ampikonların yeni nesil dizileme (NGS) teknolojileriyle analiz edilmesini içermektedir (Thompson vd., 2017). Böylelikle mikrobiyal çeşitlilik, topluluk dinamikleri ve işlevsel potansiyel hakkında kapsamlı bilgiler elde edilmektedir.

Operasyonel Taksonomik Birimler (OTU), belirli bir benzerlik eşiğine (genellikle %97) dayanarak benzer dizilimlere sahip mikroorganizmaların bir araya getirildiği bir

gruplama yöntemidir (Blaxter vd., 2005). OTU yaklaşımı, mikrobiyal çeşitliliği genel bir perspektifte incelemeyi mümkün kılmaktadır. Ancak, benzerlik eşik değerleri biyolojik çeşitliliği maskeleyebilmekte ve dizilim hataları yanlış OTU'ların oluşmasına neden olabilmektedir (Edgar, 2013).

Amplikon Dizilim Varyantları (ASV) ise OTU'ya kıyasla daha yeni bir yaklaşım olup dizilimlerin tek baz çözünürlüğünde ayrılmasını sağlamaktadır. ASV analizi, dizilim hatalarını modelleyerek her bir eşsiz dizilimi tanımlayabilmektedir (Callahan vd., 2016). Bu yöntem, özellikle tür seviyesinde hassas tespitler yapmak ve filogenetik analizler gerçekleştirmek için kullanılsa da daha fazla işlem süresi ve hesaplama gücü gerektirmektedir (Fasolo vd., 2024). OTU ve ASV yöntemleri, mikrobiyal toplulukların analizinde farklı avantajlar sunmaktadır. OTU, düşük kaliteli veya eski dizileme verileriyle çalışırken avantaj sağlarken, ASV yüksek kaliteli verilerle daha doğru ve hassas sonuçlar vermektedir. Saccò vd. (2021) halofil mikroorganizmaların işlevsel rollerini incelemek için ASV analizlerini kullanmış, tür seviyesinde daha detaylı veriler elde etmiştir. Küçükçıldırım Çelik (2021) ise Tuz Gölü'nden (Gökçeada, Çanakkale, Türkiye) elde edilen mikrobiyal çeşitliliği değerlendirirken OTU analizinden yararlanmıştı.

Biyoinformatik, dizileme verilerinin işlenmesi, filtrelenmesi ve biyolojik anlamlandırılması süreçlerinde kritik bir rol oynamaktadır. Dizileme sonrası biyoinformatik analizler, verilerin taksonomik sınıflandırılması, işlevsel genlerin ve çevresel DNA'nın ekosistem fonksiyonlarına olan etkilerinin araştırılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu analizler, aynı zamanda potansiyel biyoteknolojik uygulamalar için yeni enzimler veya biyomoleküller keşfetme fırsatları sunmaktadır. Biyoinformatik yöntemlerle yapılan işlevsel analizler, temel biyokimyasal döngülere dahil olan enzimlerin ve genetik yolların tanımlanmasına da olanak vermektedir. Özellikle ekstremofilik mikroorganizmaların, bu gibi çevresel süreçlerde özel adaptasyon mekanizmalarına sahip olduğu bilinmektedir. Biyoinformatik analizler, metabarkodlama çalışmalarında ham dizileme verilerinin veriye dayalı sonuçlara dönüştürülmesini sağlamaktadır. Bu analizlerde, dizileme verileri kalite kontrol, sıralama ve taksonomik atamalar gibi işlemlerden geçirilir. QIIME2, Mothur ve DADA2 gibi yazılımlar, yaygın olarak kullanılan araçlardır (Callahan vd., 2016). Veriler, OTU veya ASV temelinde analiz edilmekte, mikrobiyal toplulukların çeşitliliği ve kompozisyonu hakkında çıkarımlar yapılmaktadır.

2.3.1. Hipersalin Ortamlarda Metagenom Analizi

Metagenomik analizler, çevresel örneklerdeki mikrobiyal yapının taksonomik olarak incelenmesi bakımından oldukça önemlidir. Bu tür analizlerin ana amacı, bir örnekteki tür çeşitliliğini, farklı mikrobiyal türlerin sayısını ve bunların bolluklarını anlamaktır. Ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmalar, genellikle kültürlenme açısından zorluklar oluşturur. Hipersalin göller gibi ekstrem ortamlarda bulunan mikroorganizmaların tamamı, çoğu zaman laboratuvar koşullarında yetiştirilemez. Bu bağlamda, metagenomik yaklaşımlar, bu aşırı koşullara uyum sağlamış mikrobiyal çeşitliliği araştırmak, mikroorganizmaların adaptasyon süreçlerini moleküler düzeyde aydınlatmak ve bu bilgileri biyoteknolojik uygulamalara dönüştürmek için büyük avantajlar sunmaktadır.

Hipersalin ekosistemler, yüksek tuzluluk dışında, yüksek alkalinite, düşük oksijen seviyeleri ve yoğun UV ışınları gibi aşırı koşullarla da karakterize edilebilir. Hipersalin habitatlar, genellikle “talassohalin” ve “atalassohalin” sular olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Talassohalin habitatlar, denizle doğrudan ilişkili ortamlarken, atalassohalin habitatlar, deniz kaynaklı olmayan ve kıtasal kökenli mineral tuz çökeltilerinin çözünmesiyle oluşan terminal göllerden oluşmaktadır (Ventosa, 2006). Atalassohalin habitatlar, sodyum iyonları ile yüksek oranda doymuş hale gelmiş, pH'ı 9,5-11 arasında değişen, yüksek karbon dioksit içeren ve düşük seviyelerde kalsiyum ile magnezyum bulunan soda göllerini kapsamaktadır. Orta düzeyde tuzlu soda gölleri, haloalkalifilik mikroorganizmaların gelişmesi için oldukça uygun su ortamları olarak kabul edilmektedir (Jones ve Grant, 2000; Sorokin vd., 2014). Ghai vd. (2011), halofilik adaptasyonlarla ilişkili olduğu bilinen amino asit dağılımı ve izoelektrik noktaları analiz etmişlerdir. Araştırmada incelenen proteinlerin büyük bir kısmının yüksek izoelektrik noktaya sahip olduğu, daha küçük bir kısmının ise düşük izoelektrik nokta dağılımı sergilediği belirlenmiştir. Hipersalin ortamlarda her iki pik değerinin de korunduğu, ancak tuzluluk seviyesinin artmasıyla düşük piklerin yüksek piklere oranla daha belirgin hale geldiği gözlenmiştir.

Yüksek tuz içeriğine sahip habitatlar, özellikle salin atık suların arıtımı ve fermente gıdaların üretimi gibi tuz açısından zengin ortamlara ihtiyaç duyan endüstriyel süreçler için ideal çalışma alanları sunmaktadır. Hipersalin ortamlar, biyolojik atık su arıtımı, β -karoten üretimi ve tuza dayanıklı enzimlerin keşfi gibi biyoteknolojik uygulamalar açısından büyük

ilgi görmektedir (Oren, 2010; Doğan ve Kocabaş, 2021). Halofilik enzimler, yüksek tuz konsantrasyonlarında aktif olabilen ve biyoteknoloji alanında önemli işlevlere sahip enzimlerdir. Bunun yanı sıra, geniş bir pH aralığında ve yüksek sıcaklıklarda stabilitelerini koruyarak aktivite gösterebilmektedirler. Halofilik mikroorganizmalar tarafından üretilen hidrolazlar arasında amilaz, proteaz, selülaz, lipaz, ksilenaz ve pektinaz gibi enzimler yer almaktadır (Delgado-García vd., 2012). Derin deniz hipersalin anoksik havzasından izole edilen çevresel DNA'nın vektör aracılığıyla metagenomik ekspresyon kütüphanesine entegre edilmesi sonucunda, tarama yoluyla beş farklı esteraz enzimi tanımlanmış ve saflaştırılmıştır (Ferrer vd., 2005).

Hipersalin ortamlarda yaşayan mikroorganizmaların biyoçeşitliliğinde meydana gelen değişimler, spesifik taksonların bolluk oranları ve ozmoadaptasyon mekanizmalarının tuzluluk seviyelerine bağlı olarak nasıl farklılık gösterdiği gibi konular, shotgun ve amplikon metagenomik yaklaşımlar kullanılarak detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu kapsamda gerçekleştirilen araştırmalar, özellikle kültüre edilmesi zor mikroorganizmaların genomlarının ortaya çıkarılmasına önemli katkılar sağlamıştır. Narasingarao vd (2012), Avustralya'daki hipersalin Victoria Gölü'nde yürüttükleri çalışmada, kültüre edilemeyen *Halobacteria* sınıfına ait iki yeni filogenetik kolun genom dizisini Sanger sekanslama yöntemiyle elde etmişlerdir. Araştırma sonuçları, bu mikroorganizmaların genomlarının büyük bir kısmının daha önce bilinmeyen genlerden oluştuğunu göstermiştir. Tanımlanan genler incelendiğinde, çoğunun aerobik heterotrofik bir yaşam tarzına sahip olduğu ve Arke türlerinde daha önce tanımlanmamış olan tam bir pentoz fosfat yolunun varlığını ortaya koyduğu belirlenmiştir (Verhees vd., 2003). Benzer şekilde, Jacob vd (2017), Ölü Deniz'de yaptıkları metagenomik analizde, bu ekstrem ortamda mikrobiyal çeşitliliğin büyük ölçüde arke türleri tarafından domine edildiği belirlemişlerdir. Çalışmada, arke popülasyonunun en baskın cinsleri *Halorhabdus* (%52) ve *Natronomonas* (%12) olarak tespit edilmiştir. Ek olarak toplam popülasyonun %45'inin bakterilerden oluştuğu saptanmıştır. Proteobacteria (%56) ve Firmicutes (%42) en bol bulunan bakteri filumları olurken, daha düşük oranlarda Bacteroidetes (%1), Cyanobacteria (%0,08) ve Spirochetes (%0,01) filumlarına da rastlanmıştır.

Çelik ve Ünal (2020), Tuz Gölü'ndeki (Gökçeada, Çanakkale, Türkiye) prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmaların çeşitliliğini metabarkodlama yöntemiyle incelemiş,

16S/18S rDNA dizilemesi ile toplam 29 arke, 23 bakteri ve 61 ökaryot OTU tespit edilmiştir. Prokaryotik OTU'ların oranı %65,3 olarak belirlenmiş, en yaygın arke OTU *Haloquadratum walsbyi*, en yaygın bakteriyel OTU ise *Salinibacter* türleri olarak saptanmıştır. 18S rDNA analizine göre en yaygın ökaryotik OTU *Dunaliella salina* bulunmuştur. Ayrıca, *in vitro* kültürü yapılamayan birçok OTU belirlenmiş ve veritabanlarında %97'den düşük benzerliğe (%92) sahip bir OTU tespit edilmiştir.

2.4. Mikrobiyal Biyoteknolojik Ürünler ve Halofillerin Kullanımı

Yüksek tuzlu ortamlarda yaşamlarını sürdürebilen halotolerant ve halofilik mikroorganizmalar, ekstrem koşullara adapte olma yetenekleri sayesinde biyoteknolojinin pek çok alanında geniş bir uygulama sunmaktadır. Bu mikroorganizmalar, zorlu koşullarda çeşitli biyolojik ürünler ve metabolitler üreterek, endüstriyel süreçlerden çevre temizliğine, sağlık sektöründen gıda üretimine kadar birçok alanda yenilikçi çözümler geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

2.4.1. Halofilik Mikroorganizmaların Bitki Büyüme Teşvik Etme (PGP) Özellikleri

Halofilik ve halotolerant mikroorganizmalar, ekstrem çevresel koşullara adaptasyon yetenekleri sayesinde tarımsal biyoteknoloji alanında önemli bir potansiyele sahip olmaktadır. Bu mikroorganizmalar, bitki büyümesini teşvik edici mekanizmalar ile bitkilerin stres toleransını artırmakta ve tarımsal üretimde sürdürülebilirliği desteklemektedir. Özellikle, siderofor üretimi, fosfor çözünürlüğünün artırılması, azot fiksasyonu ve indol-3-asetik asit (IAA) sentezi gibi biyolojik süreçler, bitki gelişimini teşvik eden başlıca mekanizmalar arasında yer almaktadır.

Demir (Fe), bitki büyümesi için değerli bir mikro element olup enzim aktivitesi, fotosentez ve klorofil sentezi gibi temel fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Ancak, yüksek pH'lı sedimentler ve tuzlu ortamlar, demirin çözünürlüğünü azaltarak bitkiler tarafından alımını zorlaştırmaktadır. Halofilik ve halotolerant mikroorganizmalar tarafından üretilen sideroforlar, demirin şelatlanarak çözünürlüğünü artırmakta ve bitkilerin demir ihtiyacını karşılamaktadır (Ahmed ve Holmström, 2014). Sideroforlar, demiri kök yüzeyine

taşıyarak bitki tarafından emilimini kolaylaştırmakta ve kloroz gibi demir eksikliğine bağlı fizyolojik bozuklukları önlemektedir. Bunun yanı sıra, siderofor üreten bakteriler, patojen mikroorganizmalar ile rekabete girerek onların gelişimini baskılamaktadır. Özellikle *Halomonas*, *Pseudomonas* ve *Bacillus* türleri tarafından üretilen sideroforlar, biyokontrol ajanı olarak görev almakta ve bitki sağlığını koruyucu bir etki göstermektedir (Rajkumar vd., 2010).

Fosfor (P), bitki gelişimi için kritik bir besin elementi olup DNA, ATP ve hücre zarlarının temel bileşenlerinden biri olarak enerji metabolizması ve hücresel süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır. Ancak, fosforun büyük bir kısmı sediment partiküllerine bağlı olarak bulunmakta ve bitkiler tarafından doğrudan alınamamaktadır. Bu durum, bitki büyümesini kısıtlayan temel faktörlerden biri olmaktadır. Halofilik ve halotolerant mikroorganizmalar, organik ve inorganik fosfor formlarını çözerek biyoyararlanımını artıran mekanizmalara sahiptir. Fosfat çözen bakteriler (Phosphate Solubilizing Bacteria, PSB), organik asitler ve fosfataz enzimleri üreterek sedimentte bağlı halde bulunan fosforu çözünür forma çevirmektedir (Sharma vd., 2013). Bu mikroorganizmalar tarafından üretilen sitrik, glukonik ve malik asit gibi bileşikler, sediment pH'ını düşürerek fosforun bitki kökleri tarafından alınmasını kolaylaştırmaktadır. Özellikle *Halomonas* ve *Marinobacter* türleri, tuzlu ortamlarda yüksek fosfat çözünürlüğü göstererek bitki büyümesini teşvik etmektedir (Etesami ve Beattie, 2018).

Azot (N), bitkilerin protein sentezi, klorofil üretimi ve hücre büyümesi gibi hayati fonksiyonları için gerekli temel besin maddelerinden biri olmaktadır. Ancak, atmosferik azotun (N_2) bitkiler tarafından doğrudan kullanılamaması, tarım sistemlerinde azot gübrelerine olan ihtiyacı artırmaktadır. Halofilik ve halotolerant azot fikse eden bakteriler, diazotrofik özellikleri sayesinde serbest azotu bitkilerin kullanabileceği amonyak (NH_3) formuna dönüştürerek tarımsal sürdürülebilirliği desteklemektedir. Bu mikroorganizmalar, nitrojenaz enzim kompleksi aracılığıyla atmosferik azotu indirgemekte ve bitkilerin azot ihtiyacını karşılamaktadır. *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Halomonas* ve *Klebsiella* gibi bakteri cinsleri, ekstrem çevre koşullarında bile yüksek azot fiksasyon kapasitesine sahip olmaktadır (Berger vd., 2013). Bu durum, özellikle tuzlu ve fakir sedimentlerde azotlu gübre kullanımını azaltarak çevresel sürdürülebilirliği desteklemektedir.

IAA, bitkilerde kök gelişimini, hücre bölünmesini ve uzamasını düzenleyen en önemli oksin türlerinden biri olmaktadır. Halofilik ve halotolerant bakteriler, L-triptofan amino asidini kullanarak IAA sentezleyebilmekte ve bitki büyümesini teşvik edici etki göstermektedir (Spaepen vd., 2007). IAA üretimi, bitkilerin stres koşullarına karşı toleransını artırarak tuz stresi, su kıtlığı ve besin eksikliği gibi olumsuz faktörlerin etkilerini azaltmaktadır. Özellikle halofilik *Bacillus* ve *Pseudomonas* türleri, yüksek tuzluluk altında bile IAA sentezleyerek bitki büyümesini artırmaktadır (Egamberdieva vd., 2017). IAA üretimi, aynı zamanda lateral kök gelişimini teşvik ederek bitkilerin sedimentteki su ve besin alım kapasitesini artırmaktadır.

2.4.2. Halofilik Mikroorganizmaların Rodopsin Üretimi

Halofilik arkeler ve bazı bakteriler tarafından sentezlenen rodopsinler, ışık ile aktive olan membran proteinleri olup fotobiyolojik süreçlerde görev almakta ve özellikle enerji üretimi, iyon dengesi ve çevresel adaptasyon gibi mekanizmalarda kritik roller üstlenmektedir. Protein temelli rodopsinler, farklı işlevsel özelliklere sahip olup bakteriyorodopsin, halorodopsin, sensör rodopsin I (SRI) ve sensör rodopsin II (SRII) olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadır (Sudo, 2019). Bu proteinler, proton pompaları, klor iyon pompaları veya fotoreseptörler olarak görev yaparak mikroorganizmaların yaşamsal süreçlerini düzenlemektedir. Rodopsinlerin biyoteknolojik potansiyeli, özellikle optogenetik, yapay fotosentez ve biyosensör sistemleri gibi alanlarda değerlendirilmektedir (Kim, 2010).

Bakteriyorodopsin (BR), ışık enerjisini kullanarak protonları hücre dışına pompalayan bir proton pompası olarak görev yapmaktadır. Halofilik *H. salinarum* gibi mikroorganizmalar tarafından üretilmekte olup, hücre zarına gömülü olarak bulunmakta ve ATP sentezinde önemli bir rol üstlenmektedir. Bakteriyorodopsin, 570 nm dalga boyunda ışığı absorbe ederek retinal kromoforu aracılığıyla konformasyonel değişiklikler geçirmekte ve protonların hücre dışına taşınmasını sağlamaktadır (Oesterhelt ve Stoeckenius, 1971). Bu proton gradyanı, ATP sentaz aracılığıyla ATP üretimine katkı sağlamak ve mikroorganizmaların enerji metabolizmasına doğrudan etki etmektedir. Bakteriyorodopsin, biyoteknoloji alanında geniş bir uygulama potansiyeline sahip olmaktadır. Özellikle biyolojik güneş hücreleri, optik bellek sistemleri ve yapay fotosentez gibi alanlarda

değerlendirilmektedir. Biyofilm tabanlı sistemlerde bakteriyorodopsin kullanımı, yenilenebilir enerji kaynaklarının geliştirilmesine katkı sunmaktadır (Govorunova vd., 2017).

2.4.3. Halofilik Mikroorganizmaların Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi

EPS'ler, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve hücre dışına salgılanan biyopolimerlerdir. Bu polisakkaritler, hücresel stabilitenin korunması, stres koşullarına adaptasyon ve çevresel faktörlere karşı koruma gibi birçok önemli biyolojik fonksiyona sahiptir. Halofilik mikroorganizmalar, özellikle hipersalin ortamların ekstrem koşullarına uyum sağlamak amacıyla ekzopolisakkarit üretmektedir (Nicolaus vd., 2010). Halofilik bakteriler ve arkeler tarafından üretilen ekzopolisakkaritler, yüksek viskozite, su tutma kapasitesi ve biyoaktif özellikleri sayesinde biyofilm oluşumu, hücresel koruma, nem dengesinin sağlanması ve ağır metal toleransı gibi süreçlerde önemli roller üstlenmektedir. Ek olarak, bu polisakkaritler biyomedikal, farmasötik, gıda, kozmetik ve çevre mühendisliği gibi sektörlerde de değerlendirilmektedir (Poli vd., 2013).

Halomonas türleri, özellikle *Halomonas maura* ve *Halomonas eurihalina*, anyonik polisakkaritler üreterek biyomedikal ve çevresel uygulamalarda kullanılmaktadır (Arias vd., 2003). *Salipiger mucescens* tarafından sentezlenen EPS'ler, su tutucu özellikleri nedeniyle tarımsal biyoteknoloji alanında değerlendirilmektedir (Quesada vd., 2004). *Alteromonas* türleri, ağır metalleri bağlama kapasiteleri yüksek polisakkaritler üreterek biyoremediasyon süreçlerinde önemli rol oynamaktadır (Chakraborty vd., 2016). Arke grubu içerisinde yer alan *Haloferax mediterranei*, biyoplastik üretimi için uygun özelliklere sahip ekzopolisakkaritler sentezlemektedir (Wang ve Zhang, 2020). *Halobacterium* türleri ise hipersalin ortam koşullarına adaptasyon sağlayan biyofilm oluşturuucu polisakkaritler üretmektedir (İbrahim vd., 2020).

2.4.4. Halofilik Mikroorganizmaların Biyoremediasyon Yetenekleri

Ağır metaller, endüstriyel faaliyetler sonucunda çevreye yayılan toksik kirleticiler arasında yer almakta olup, biyolojik olarak parçalanmamaktadır. Bu nedenle, ağır metallerin çevreden uzaklaştırılması fizikokimyasal yöntemlerin yanı sıra biyolojik yöntemlerle de

gerçekleştirilmektedir. Halofilik mikroorganizmalar, metal iyonlarını hücre duvarlarında bağlayarak, hücre içi detoksifikasyon mekanizmaları ile metal toleransı geliştirerek ve metal biyokristalizasyonu yoluyla bu kirleticileri etkisiz hale getirmektedir. *Halomonas* spp., *Chromohalobacter* spp. ve *Salinivibrio* spp. gibi bakteriler, kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), arsenik (As) ve cıva (Hg) gibi ağır metalleri biyosorpsiyon ve biyopresipitasyon mekanizmalarıyla çevreden uzaklaştırmaktadır (Zare vd., 2019). *Halomonas elongata*, yüksek tuz konsantrasyonlarında bile kurşun ve bakır iyonlarını bağlayarak sucul ekosistemlerdeki ağır metal kirliliğinin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır (Biswas vd., 2023). Arke grubunda ise *Haloferax* spp. ve *Halobacterium* spp. türleri, metal iyonlarını hücre dışı polimerik maddeler (EPS) yoluyla bağlayarak biyoremediasyon sağlamaktadır. *H. mediterranei*, demir ve çinko iyonlarını hücre dışı polimerlerle yakalayıp toksisiteyi azaltmaktadır (Bonete vd., 2015). Petrol sızıntıları ve diğer hidrokarbon kirlilikleri, özellikle kıyı bölgelerinde önemli çevresel sorunlara yol açmaktadır. Halofilik mikroorganizmalar, yüksek tuz konsantrasyonlarında hidrokarbonları parçalayarak biyoremediasyon süreçlerinde rol almaktadır. Özellikle *Marinobacter* spp., *Halomonas* spp. ve *Alcanivorax* spp., alkanları ve polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH) biyodegrade edebilmektedir (Fathepure vd., 2014). *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, yüksek tuz içeren ortamda petrol türevlerini parçalayarak deniz ve göl ekosistemlerinin korunmasına katkı sağlamaktadır (Al-Mailem vd., 2013). Hidrokarbon degradasyonunda etkin olan *Halomonas* sp. strain GTW, özellikle n-alkanlar ve toluen gibi kirleticileri parçalayarak biyoremediasyon süreçlerine katkıda bulunmaktadır (Zhuang vd., 2010). Pestisitler, farmasötik atıklar ve sentetik boyalar gibi organik kirleticilerin giderilmesinde de halofilik mikroorganizmalar kullanılmaktadır. *Salinicoccus* spp., *Planococcus* spp. ve *Psychrobacter* spp., fenol, nitrobenzen ve klorlu bileşikleri parçalayarak endüstriyel atıkların arıtımında önemli roller üstlenmektedir (Oyewusi vd., 2020).

2.5. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü

Tez çalışmasında örnekleme alanı olarak belirlenen Gökçeada Tuz Gölü Lagünü, Çanakkale iline bağlı Gökçeada ilçesinin güneydoğusunda yer alan ve kıyı lagünü niteliği taşıyan önemli bir sulak alan ekosistemidir. Lagünün derinliği 0,8 ile 1,20 metre arasında değişmekte olup, toplam yüzey alanı ise yaklaşık 2 km²'yi bulmaktadır. Kıyı lagünleri, tatlı su ve tuzlu su arasında geçiş bölgesi oluşturan özel hidrolojik yapılarıyla öne çıkmakta, bu

durum lagün içerisindeki ekolojik dengelerin dinamik bir yapı sergilemesine neden olmaktadır. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü de benzer şekilde hem fizikokimyasal parametreleri hem de biyolojik çeşitliliği açısından önemli bir araştırma sahası olarak değerlendirilmektedir (Aslan vd., 2018; Çelik, 2021).

Sulak alan ekosistemleri, sahip oldukları özgün çevresel koşullar sebebiyle farklı mikrobiyal ve biyotik topluluklara ev sahipliği yapmaktadır. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün ekosistem dinamikleri, lagünün fizikokimyasal özellikleri, besin döngüsü ve mikrobiyal çeşitliliği ile yakından ilişkilidir. Lagünün mevsimsel değişimlere duyarlı bir yapısı bulunmakta, su seviyesi ve tuzluluk oranı iklimsel faktörlere bağlı olarak dalgalanmaktadır. Mevsimsel yağış rejimi, buharlaşma oranları ve kara kökenli tatlı su girdileri, lagün ekosisteminde belirleyici unsurlar arasında yer almaktadır. Bunun yanı sıra, lagün çevresinde gerçekleşen biyotik ve abiyotik etkileşimler, bu ekosistemdeki mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Aslan vd., 2018; Gönülal vd., 2021). Gökçeada Tuz Gölü Lagünü, sıcaklık rejimi açısından incelendiğinde, kış aylarında ortalama 7 °C, yaz aylarında ise 25 °C civarında sıcaklıklara sahip olmaktadır (Aslan vd., 2018).

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü, yalnızca bilimsel açıdan değil, aynı zamanda yöre halkı ve turistler tarafından sediment çamurunun potansiyel terapötik özellikleri nedeniyle geleneksel uygulamalarda da kullanılmaktadır. Özellikle yaz aylarında, çamurun dermatolojik rahatsızlıklara karşı faydalı olduğuna dair yaygın inanış doğrultusunda bölgeye gelen ziyaretçiler tarafından doğrudan uygulamalar gerçekleştirilmektedir. Ancak bu tür uygulamalar, bilimsel temele dayanmayan kullanım biçimleri nedeniyle, insan sağlığı açısından potansiyel mikrobiyolojik ve toksikolojik riskler barındırmaktadır. Ayrıca lagünün fiziksel yapısında ve mikrobiyal kompozisyonunda, bu tür antropojenik müdahalelere bağlı olarak meydana gelebilecek değişimlerin, ekosistemin doğal dengesi üzerinde olumsuz etkiler oluşturabileceği öngörülmektedir. Bu bağlamda, lagünün geleneksel kullanımlarının çevresel ve halk sağlığı temelli bilimsel değerlendirmelere konu edilmesi, ekosistem sürdürülebilirliği ve kamu sağlığı açısından gereklidir.

2.6. Kıtaıçi Yüzeysel Suların Sınıflandırılması

Yüzey suları, akarsular, göller ve baraj rezervuarlarında birikerek farklı kalite seviyelerine ayrılmaktadır (Anonim, 2004). Bu sınıflandırmaya göre sular yüksek kaliteli su (Sınıf I), hafif kirlenmiş su (Sınıf II), kirlenmiş su (Sınıf III) ve yoğun şekilde kirlenmiş su (Sınıf IV) olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadır. Bir su kaynağının belirli bir sınıfa dahil edilebilmesi için, tüm su kalite parametrelerinin ilgili sınıfın kriterleriyle uyumlu olması gerekmektedir (Tablo 2).

Tablo 2

Kıtaıçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri (Anonim, 2023)

Su Kalite Parametreleri	Su Kalite Sınıfları			
	I	II	III	IV
A) Fiziksel ve inorganik-kimyasal Parametreler				
1) Sıcaklık (°C)	25	25	30	>30
2) pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6,0-9,0	6,0-9,0 dışında
3) Çözünmüş oksijen (mg O ₂ /L) ^a	8	6	3	<3
4) Toplam çözünmüş madde (mg/L)	500	1500	5000	> 5000
5) Elektriksel iletkenlik (µS/cm)	<22	100	880	>880
B) Organik parametreler				
1) Biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ ₅) (mg/L)	4	8	20	>20
C) Bakteriyolojik parametreler				
1) Fekal koliform (EMS/100 mL)	≤10	10-200	200-2000	>2000
2) Toplam koliform (EMS/100 mL)	≤100	100-20000	20000-100000	>100000

a: Konsantrasyon veya doygunluk yüzdesi parametrelerinden sadece birisinin sağlanması yeterlidir.

Kaynak: Anonim, 2023

Sınıf I olarak tanımlanan yüksek kaliteli sular, yalnızca dezenfeksiyon işlemine tabi tutularak içme suyu temininde, yüzmeye gibi doğrudan vücut teması gerektiren rekreasyonel

faaliyetlerde, alabalık yetiştiriciliği, hayvancılık ve çiftlik ihtiyaçları gibi alanlarda ve diğer amaçlar için kullanılabilir. Sınıf II, hafif kirlenmiş su kategorisinde yer almakta olup, ileri düzey veya uygun bir arıtma işleminden geçirilerek içme suyu elde edilebilir. Rekreatif faaliyetler için kullanılmasının yanı sıra, alabalık harici balık yetiştiriciliğine uygun olup, ayrıca, Teknik Usuller Tebliği'nde belirtilen sulama suyu kalite kriterlerine uyum sağlaması halinde tarımsal sulamada da kullanılabilir. Bunun dışında, Sınıf I kapsamına girmeyen diğer tüm kullanım alanları için de değerlendirilebilir.

Sınıf III, kirlenmiş su kategorisinde yer almakta olup, gıda ve tekstil gibi yüksek kaliteli su gerektiren sektörler dışında, uygun arıtma işlemlerinden geçirildiğinde sanayi sektöründe kullanılabilir. Sınıf IV ise yoğun şekilde kirlenmiş su olarak tanımlanmaktadır. Bu gruptaki sular, Sınıf III'te belirtilen kalite parametrelerinden daha düşük seviyede olup, doğrudan kullanıma uygun değildir. Ancak, gerekli iyileştirme süreçlerinden geçirilmesi halinde daha yüksek kalite seviyelerine ulaştırılarak kullanılabilir hale getirilebilir. Yüzey suları için geçerli su kalite parametreleri ve bunlara ait sınır değerleri Tablo 2'de Sınıf I, II, III ve IV için ayrı ayrı verilmiştir.

Tuz gölleri gibi hipersalin ortamlar, zorlu koşullara uyum sağlamış mikroorganizmalar barındırmaktadır. Bu mikroorganizmalar, ekosistem dengesi açısından önemli oldukları gibi biyoteknolojik uygulamalar için de büyük bir potansiyele sahiptir. Son yıllarda, bu tür ortamlardaki mikrobiyal çeşitliliği anlamak için geleneksel kültür yöntemlerinin ötesine geçilerek, özellikle metabarkodlama gibi ileri moleküler teknikler kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan araştırmalar, tuzlu göllerdeki pek çok farklı ekstrem ortamda yaşayan bakteriler, arkeler ve ökaryotik mikroorganizmaların çeşitliliğini ortaya koymakta ve bu canlıların yüksek tuz konsantrasyonuna nasıl adapte olduklarını incelemektedir. Ayrıca, bu mikroorganizmaların enzim üretimi, çevre kirliliğinin giderilmesi ve endüstriyel süreçlerde kullanımı gibi konular da araştırılmaktadır. Aşağıda, bu alanda yapılmış bazı çalışmalar özetlenmiştir.

Tian vd. (2009), Arktik bölgesinde yer alan Svalbard'daki Kongsfjorden'den alınan sediment numunelerindeki mikrobiyal çeşitliliği araştırmışlardır. Araştırmacılar, 2005 yazında toplanan numunelerde 16S rRNA ve 18S rRNA gen klon kütüphanelerini analiz ederek bakteri, arkeler ve ökaryotlara ait çeşitliliği belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışmada,

klonlanan 16S ve 18S rRNA gen dizileri bilinen türlerin genetik verileriyle karşılaştırılmış ve tür kimlikleri veya en yakın akrabaları tespit edilmiştir. Araştırmacılar, diğer Arktik ve Antarktika bölgelerinden elde edilen mikrobiyal çeşitlilikle karşılaştırıldığında, Kongsfjorden sedimentindeki mikrobiyal çeşitliliğin çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bakteriyel diziler, Proteobacteria (α -, β -, γ -, δ -, ve ϵ -Proteobacteria), Bacteroidetes, Fusobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Chlamydiae, Acidobacteria, Actinobacteria, Planctomycetes, Verrucomicrobiae ve Lentisphaerae olmak üzere Bacteria domainine ait 11 büyük filuma ayrılmıştır. Arke klonları içerisinde ise Crenarchaeota grubu baskın bulunmuştur. Ökaryotlar açısından yapılan analizlerde, Cercozoa, Fungi, Telonema, Stramenopiles, Alveolata ve Metazoa grupları tespit edilmiştir. Çalışmanın en dikkat çekici bulgularından biri, Lentisphaerae grubunun Arktik sedimentinde ilk kez rapor edilmiş olmasıdır.

Vahed vd. (2011), Urmiye Gölü'ndeki halofilik izolatları fenotipik ve genotipik yöntemlerle karakterize etmişlerdir. İzolatların 25–35°C sıcaklık, pH 6–9 ve %7–20 NaCl konsantrasyonlarında büyüme gösterdikleri belirlenmiştir. Çoğu izolatın katalaz, oksidaz ve üreaz aktiviteleri pozitif bulunmuştur. 16S rRNA filogenetik analizi sonucunda izolatların %92'sinin Gammaproteobacteria (*Salicola* [%46], *Pseudomonas* [%13,5], *Marinobacter* [%11], *Idiomarina* [%11] ve *Halomonas* [%8]) ve %8'inin Firmicutes (*Bacillus* [%5] ve *Halobacillus* [%3]) sınıflarına ait olduğu saptanmıştır. Ayrıca, 16S rRNA gen dizisi DSM 3050T, *Halovibrio denitrificans* HGD 3T ve *Halospina denitrificans* HGD 1–3 ile %98 benzerlik gösteren yeni bir bakteri türü izole edilmiştir.

Roohi vd. (2012), Karak bölgesindeki tuz madenlerinde bulunan halotolerant ve halofilik bakterilerden %5-40 NaCl konsantrasyonlarında büyüeyebilen 21 bakteri suşu izole etmişlerdir. İzolatların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri, pH, NaCl ve sıcaklık gibi büyüme koşulları optimize edilerek belirlenmiştir. Düşük NaCl konsantrasyonlarında yüksek mikrobiyal yoğunluk gözlemlenmiş, izolatlar tuz toleranslarına göre hafif halotolerant/halofilik, orta derecede halofilik ve aşırı halofilik olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. 16S rRNA gen sekansına dayalı filogenetik analizler, izolatların *Thalassobacillus*, *Halomonas*, *Brevibacterium*, *Oceanobacillus*, *Terribacillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Halobacillus*, *Staphylococcus* ve *Virgibacillus* cinslerine ait türlerle yakın akraba olduğunu göstermiştir.

León vd. (2014), İspanya'nın Isla Cristina tuzlasında ılımlı halofil Euryarchaeota ve halofilik bakterilerin baskın olduğunu belirlemiş, toplam prokaryotik popülasyonun %15'ini oluşturan *Gammaproteobacterium* sp. izole etmişlerdir. Gram-negatif, aerobik, hareketsiz ve orta derecede halofilik olan bu bakteri, optimum gelişimini %15 NaCl'de göstermiştir. 16S rRNA gen analizi, fenotipik ve genotipik analizler, bu bakterinin yeni bir cins ve tür olduğunu göstermiştir. *Spiribacter salinus* gen. nov. sp. nov. olarak adlandırılmıştır.

Fernandez vd. (2014), İspanya'nın Santa Pola bölgesindeki bir tuzlanın orta tuzluluğa sahip bir havuzundan alınan su numunelerinden toplam prokaryotik DNA'yı pirosekanslama yöntemiyle analiz etmişlerdir. Çalışmada, elde edilen metagenom diğer iki tuzla havuzuna ve deniz ile kıyı lagün habitatlarına ait referans metagenomlarla karşılaştırılmıştır. Analizler sonucunda Euryarchaeota, Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia ve Betaproteobacteria gibi yedi ana taksonu içeren geniş bir mikrobiyal çeşitlilik tespit edilmiştir. Ancak dizilerin %57'si daha önce tanımlanmış herhangi bir cinse atanamamıştır. Tetranükleotid frekanslarına dayalı temel bileşen analizi, *Haloquadratum walsbyi* ve Halobacteriaceae üyeleriyle ilişkili ancak daha önce tanımlanmamış yeni Euryarchaeota gruplarının varlığını ortaya koymuştur. Ayrıca, yakın zamanda izole edilen *Spiribacter salinus* bakterisi ile ilişkili yeni Gammaproteobacteria türleri de belirlenmiştir.

Çınar ve Mutlu (2016), Bingöl, Fadlum, Kemah ve Tuzlagözü tuzlalarındaki prokaryotik toplulukları hem kültüre bağımlı hem de kültürden bağımsız yöntemlerle incelemiştir. Metagenomik analizler sonucunda en yaygın arkeyal OTU'lar Bingöl'de *Halorubrum* (%49,6), Fadlum'da *Haloarcula* (%27,8), Tuzlagözü'nde *Halonotius* (%59,8) ve Kemah'ta *Haloquadratum* (%76,8) olarak belirlenmiştir. Bakteriyel çeşitlilik açısından Fadlum (%71,5) ve Bingöl (%79) örneklerinde en baskın filumun Bacteroidetes olduğu, Kemah'ta ise Proteobacteria'nın (%79,6) öne çıktığı saptanmıştır. Tuzlagözü'nden elde edilen bakteriyel OTU'ların ise Bacteroidetes (%35,0), Cyanobacteria (%35,7) ve Proteobacteria (%25,5) filumlarına ait olduğu belirlenmiştir.

Naghoni vd. (2017), İran'daki Meyghan Gölü'nden alınan tuzlu su numunelerini kültüre bağımlı ve bağımsız yöntemlerle analiz ederek mikrobiyal çeşitliliği incelemiştir. Rastgele seçilen 35 izolat için 16S rRNA gen dizilemesi yapılmıştır. Düşük tuzluluk

seviyesinde çoğunlukla Bacteria domainine ait mikroorganizmalar tespit edilmiş olup, baskın gruplar Gammaproteobacteria ve Alphaproteobacteria olmuştur. Orta tuzlulukta, Firmicutes, Gammaproteobacteria ve Actinobacteria tanımlanırken, en yüksek tuzluluk seviyesinden ise Gammaproteobacteria, Firmicutes ve Alphaproteobacteria üyesi elde edilmiştir. Arke izolatları Halobacteria sınıfına ait olup, Halobacteriaceae, Haloferacaceae ve Natrionalbaceae familyalarında yer almıştır. En baskın cinsler *Haloarcula*, *Halorubrum* ve *Natrinema* olarak belirlenmiştir.

Haferburg vd. (2019), Bolivya'da lityumca zengin hipersalin alandan su numuneleri olarak metabarkodlama çalışması yapmışlardır. Metabarkodlama analiz verileri, *Halapricum*, *Halorubellus* ve *Salinarchaeum* gibi yakın zamanda tanımlanan cinsler de dahil olmak üzere 24 halobakteri türünden oluşan, yalnızca arke topluluğun varlığını ortaya çıkardı.

Zhu vd. (2020), Çin'in Qaidam Havzası'ndaki beş farklı hipersalin gölden alınan tuzlu su numunelerini kültüre bağımsız yeni nesil dizileme yöntemiyle analiz etmiştir. Çalışmada, bu aşırı tuzlu göllerin sıcaklık aralığının 15,6–28,7 °C, pH seviyelerinin ise 6,2–7,8 olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler, tuzlu su numunelerinde baskın bakteri filumlarının Proteobacteria, Firmicutes ve Bacteroidetes olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bu ekstrem ortamlarda yaşayan mikrobiyal topluluklar içinde en yaygın bakteri cinsleri *Pseudomonas*, *Lactococcus*, *Anoxybacillus* ve *Acinetobacter* olarak tespit edilmiştir.

Leoni vd. (2020), Savoia Tuzlası'nda tuzluluk oranı %4,9 ile %36,0 arasında değişen dokuz farklı havuzda mikrobiyal toplulukları incelemiştir. Çalışmada, Bacteria ve Arke'ye ait 16S rRNA geninin V5-V6 ve V3-V4 hiper değişken bölgeleri hedef alınarak mikroorganizma profili oluşturulmuştur. Bakteri domaininde en fazla hücre yoğunluğu %14,5 tuzluluk seviyesinde tespit edilirken, Arke domainine ait hücrelerin en yoğun bulunduğu tuzluluk seviyesi %24,1 olarak belirlenmiştir. Prokaryotik topluluk içinde en bol bulunan cinsin *Salinibacter* olduğu görülmüştür. Ayrıca, Arke domainine ait *Haloquadratum* ve *Natronomonas* ile Bacteria domainine ait *Candidatus aquiluna* cinslerinin de yüksek oranlarda bulunduğu rapor edilmiştir.

Çelik (2021), Nevşehir, Kızılcahamam, Yozgat ve Dalaman termal kaynaklarının mikrobiyomunun ve bu kaynaklardan izole edilen çevresel DNA'ların metabarkodlama yöntemi kullanılarak tespit edilmesini sağlamıştır. Nevşehir örneğinden elde edilen sonuçlar bu kaynaktaki mikrobiyal yaşamın *Caldimicrobium*, *Geothermobacterium*, *Geobacillus*, *Thermodesulfobacterium* ve *Deinococcus* gibi hipertermofil ve termofiller, Kızılcahamam'da *Ignisphaera*, *Nitrospira*, *Hydrothermae*, *Hydrogenobacter*, *Denitratisoma* gibi hipertermofil, termofil ve nitrat bakterileri, Yozgat'ta Nitrospirota, *Methylothermus*, *Desulfotomacule*, Aminicenantales, *Candidatus* ve *Nitrosotenuis* gibi termofil ve sülfür bakterileri ve Dalaman'da *Malaoiobacter*, *Sulfurovum*, *Arcobacter*, *Hyprocyclius*, *Halarcobacter* gibi halotolerant ve sülfür bakterilerince baskın olduğu sonucuna varılmıştır.

Küçükyıldırım Çelik (2021), Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden su örneği alarak fizikokimyasal analizler ve prokaryotik metabarkodlama çalışması gerçekleştirmiş mikrobiyal yoğunluğun %63,2'sini arkelerin oluşturduğunu bildirmiştir.

Saccò vd. (2021), Rottneş Adası'nda bulunan beş hipersalin göldeki mikrobiyal çeşitliliği araştırmak için hidrokimyasal analizlerle birleştirilmiş bakteriyel 16S metabarkodlama tekniği kullanmışlardır. Çalışmada, taksonomik ve işlevsel olarak orta ile aşırı derecede halofilik gruplarla karakterize edilmiştir.

Akpolat (2022), Tuz Gölü, Derin Bölge ve Kayacık, Kaldırım ve Yavşan Tuzlalarından 30 adet tuzlu su örneği toplayarak prokaryotik toplulukları 16S rRNA ampikon dizileme tekniği ve standart yöntemler kullanarak analiz etmiştir. Tuzlaların mikrobiyal topluluğunda %98,41 oranında arke ve %1,38 oranında bakteri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, *Haloquadratum*, *Haloarcula*, *Halorhabdus*, *Natronomonas*, *Halosimplex*, *Halomicrobium*, *Halorubrum*, *Halonotius*, *Halolamina* ve *Halobacterium* arke cinsleri ve Rhodothermaeota şubesine ait *Salinibacter* bakteriyel cinsinin varlığı belirlenmiştir.

Rathakrishnan ve Gopalan (2022), Hindistan'daki Tamil Nadu (Thoothukudi, Marakkanam, Kanyakumari), Kerala (Ernakulum) ve Goa (Ribandar) tuzlalarından orta derecede halofilik bakteriler izole etmiştir. Çoğu izolatin Gram-pozitif olduğu belirlenmiştir.

ve renkleri krem beyazdan parlak turuncuya kadar değişiklik göstermiştir. 1127 izolat arasından 28 halofilik bakteri, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle karakterize edilmiştir. Bu isolatların *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Ochrabactrum* ve *Oceanobacillus* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir.

Şahin Doğan (2022), Tuz Gölü'ndeki bakteri, arke ve alg çeşitliliğini metabarkodlama yöntemi kullanarak araştırmıştır. Metagenomik analiz sonucunda Tuz Gölü'ndeki tüm arke popülasyonun Euryarchaeota ve Nanoarkeota filumlarına ait olduğu belirlenmiştir. En bol ve çeşitli bakteriyel filum Bacteroidetes ve Proteobacteria olarak bulunmuştur. Yaygın arke türlerinin ise *Haloquadratum* (%34) ve *Haloparvum* (%31) olduğu tespit edilmiştir.

Halofilik enzimler yüksek tuzlu ve hipersalin koşullarda endüstriyel uygulamalar için büyük öneme sahiptir. *Haloarcula*, *Haloferax*, *Halobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Halobacillus* ve *Halothermothrix* cinslerinde bu enzimler incelenmiştir (Morozkina vd., 2010). Halofillerden yeni ve endüstriyel olarak önemli enzimlerin izolasyonu, karakterizasyonu; tuzun, sıcaklığın, alkali ve organik çözücü stabilitesinin benzersiz özellikleri, endüstriyel olarak stabil enzimlerin farklı alanlarda talebini karşılayabilmektedir. Halofiller, hipersalin kirliliklerin iyileştirilmesinde, peptit sentezlerinde, deterjanlarda, tekstil, ilaç ve gıda endüstrisi gibi bazı endüstriyel uygulamalarda tercih edilen katalizörler olarak önerilmektedirler (Souza, 2010).

Dang vd. (2009), Güney Okinawa Çukurunun derin deniz çökeltilerinden halofilik bakteri izole etmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda, isolatların %72,4'ünden fazlasının amilaz, proteaz, lipaz ve DNaz gibi ekstraselüler hidrolitik enzim aktivitesi gösterdiğini ve yaklaşık %59,2'sinin soğukta aktif ekzoenzim üreticileri olduğunu göstermiştir. Hem RNaz hem de DNaz'dan oluşan nükleazlar halofilik *Bacillus* sp. ve *Micrococcus varians*'dan izole edilmiştir. Gutierrez vd., (2009) *Halomonas* TG39 ve TG67 suşlarının glikoprotein bazlı biyoemülsifiyer madde ürettiklerini, ayrıca *Halomonas* sp.'nin, glikolipid yapıda biyosürefektan madde ve kalınlaşma, pıhtılaşma, yapışma, dengeleme ve jelleştirme dahil olmak üzere çeşitli faydalı özelliklere sahip ekzopolisakarit (EPS) ürettiği de bildirilmişlerdir.

Chakraborty vd., (2011), halofilik amilazların, *Chromohalobacter* sp., *Halobacillus* sp., *Halothermothrix orenii*, *Micrococcus halobitus* ve *Streptomyces* sp. tarafından ürettiklerini rapor etmiştir. Jayachandra vd. (2012), *Salinicoccus* cinsine ait türlerin, amilaz, proteaz, inulinaz ve jelatinaz gibi hücre dışı enzimleri üretme potansiyeline sahip olduklarını, ancak lipaz aktivitelere sahip olmadıklarını belirlemişlerdir.

Naziri vd. (2014), *Halorubrum* sp.'nin karotenoid üretebildiğini bildirmişlerdir. Başer ve Yüksekdağ (2019), halofilik bakterilerden *Halomonas aquamarina* ve *Halobacillus trueperi* suşlarının kültür ortamlarındaki EPS üretim yetenekleri araştırmıştır. Suşların EPS üretimi miktarları 15-55 mg/L arasında değiştiği tespit edilmiştir. Hacıoğlu Doğru, (2020), Gökçeada Tuz Gölü'nün bazı fizikokimyasal kalite parametreleriyle birlikte Gökçeada Tuz Gölü'nden toplanan su ve sediment numunelerinden halofilik mikroorganizma izolasyonu yapmış ve bu isolatların optimum üreme koşulları ile birlikte Dnaz, kazeinaz, amilaz, selüloz, lipaz, esteraz ve jelatinaz enzimatik aktivitelerini araştırmıştır.

Chookietwattana ve Maneewan (2012), ACC deaminaz üreten tuza toleranslı bakteri suşlarını seçerek, tuzlu şartlar altındaki domates (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Seeda) bitkisinin büyümesi ve çimlenmesi üzerine etkisini araştırmıştır. Çalışmada, 0,6 M NaCl'li şartlarda azot kaynağı olarak yüksek ACC deaminaz aktivitesine sahip *Bacillus licheniformis* B2r suşu seçilmiştir. Çeşitli tuzlu koşullarda (0, 30, 60, 90 ve 120 mM NaCl) seçilen bakterinin domates bitkisi ile inokulasyonunun, 30-90 mM NaCl tuzluluk seviyelerinde çimlenme oranını, çimlenme indeksini, kök uzunluğunu ve kuru ağırlığı önemli derecede arttırdığı raporlanmıştır.

Goswami vd. (2014), halotolerant *Suaeda fruticosa* bitkisinin rizosferinden izole edilen bakterilerin IAA üretimi, fosfat çözücülüğünün yanı sıra amonyak, kitinaz, siderefor, HCN üretimi ve antifungal özelliklerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada PGPR özelliğine sahip *Bacillus licheniformis* suşunun tuzlu şartlarda yerfıstığı (*Arachis hypogaea*) büyüme parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 50 mM NaCl ilave edilmiş sedimentte *B. licheniformis* uygulanmış bitkilerin biyomasında, toplam ve kök uzunluğunda sırasıyla %28, %24 ve %17 oranında; NaCl yokluğunda ise %43, %31 ve %39 artış görülmüştür.

Oren (2010), nitrati tuzlu sulardan uzaklaştırmak için, *Haloferax denitrificans* tarafından denitrifikasyona dayalı bir membran biyoreaktör ve kıyı bölgelerindeki tuzlu yeraltı sularında nitrat ve nitritin biyolojik olarak artırılması için *Haloferax mediterranei* kullanmıştır. Lara vd. (2012), aşırı halofilik *Haloferax* sp.'nin poliaromatik hidrokarbonu parçaladığı, aşırı halofilik *Halomonas* sp.'nin ise seleniti elementel selenyuma indirgediğini bildirmişlerdir. Oyewusi vd. (2020), Tuz Gölü'nden izole edilen *Bacillus subtilis* H1 suşu ve *Bacillus thuringiensis* H2 suşunun biyoremediasyon potansiyeline sahip olduklarını vurgulamışlardır. Diba vd. (2021), tuzlu ortamdan izole ettikleri *Oceanobacillus* sp. A22 suşunun, yüksek kurşun biyoremediasyonu (%98,8) ve buna oranla daha düşük nikel biyoremediasyon kapasitesi (%73,5) gösterdiği bildirmişlerdir.



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Örneklemeye Noktalarının Belirlenmesi ve Arazi Çalışmaları

Çanakkale İli Gökçeada İlçesi'nde yer alan Tuz Gölü Lagünü'nden, dört farklı istasyondan ($40^{\circ}07'49.6''N$, $25^{\circ}56'55.5''E$; $40^{\circ}07'50.4''N$, $25^{\circ}57'08.1''E$; $40^{\circ}08'06.5''N$, $25^{\circ}56'54.2''E$; $40^{\circ}08'00.5''N$, $25^{\circ}57'21.1''E$) (Şekil 1) Eylül/23 (Eyl/23), Aralık/23 (Ara/23), Nisan/24 (Nis/24) ve Temmuz/24 (Tem/24) tarihlerinde, tüm mevsimleri temsil edecek şekilde su ve sediment numuneleri alınmış ve fiziksel ve kimyasal parametreleri değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü örneklemeye istasyonlarının konumlarına ait görsel.

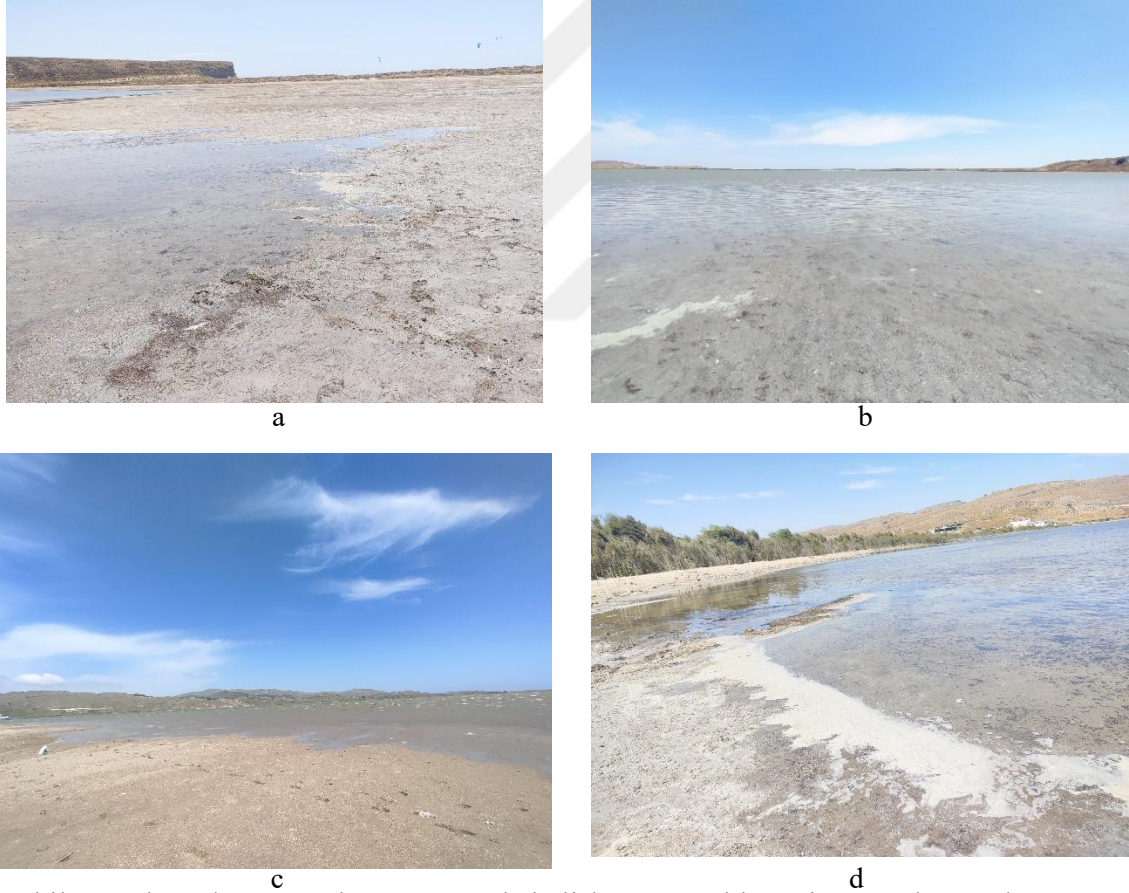
Arazi çalışması kapsamında, her istasyondan yaklaşık olarak 5 kg sediment, 2 L su numunesi ve biyolojik oksijen ihtiyacının (BOI_5) belirlenmesi için 2'şer şişe su numunesi alınmıştır. Numuneler aseptik olarak alınıp laboratuvara ulaştırılmış ve ileriki analizler için $20^{\circ}C$ 'de stoklanmıştır.

İstasyonlar, lagünün genel ekolojik yapısını temsil edecek şekilde belirlenmiş olup, her biri farklı çevresel koşulları ve alan özelliklerini yansıtacak biçimde

konumlandırılmıştır. Bu sayede, lagün içerisindeki farklılıkların su ve sediment kalitesi ile mikrobiyolojik özellikler üzerindeki etkisi ayrıntılı olarak değerlendirilebilmiştir.

I. istasyon, gölün kuzeybatı kısmında yer almakta olup ana yola yaklaşık 300 metre mesafededir ve yerleşim alanlarından uzakta, insan etkisinin en az olduğu bölgeyi temsil etmektedir. Ancak yine de bölgede bulunan çöp konteynerleri istasyonun dolaylı yoldan evsel atıklara maruz kaldığını göstermektedir.

II. istasyon, batı bölümde yer almakta olup inşaat alanına yaklaşık 150 metre, yerleşim bölgesi ve Kefalos Plajı'na ise 100 metre mesafededir (Şekil 2).



Şekil 2. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde belirlenen örnekleme istasyonlarının konumu, a: I. istasyon, b: II. istasyon, c: III. istasyon, d: IV. istasyon.

III. istasyon, gölün güney ucunda, deniz kıyısına yaklaşık 50 metre uzaklıkta yer almakta olup kıyı geçiş zonunu temsil etmektedir.

IV. istasyon ise gölün kuzeydoğusunda yer almakta olup mandıraya ve tarım alanlarına yaklaşık 100 metre, kaz çiftliğine yaklaşık 150 metre mesafededir. Bu istasyon, tarım ve hayvancılığa bağlı fekal kirlilik potansiyelini değerlendirmek amacıyla belirlenmiştir. Tüm istasyonlar, lagünün farklı ekolojik baskılara maruz kalan alanlarını temsil edecek şekilde konumlandırılmıştır (Şekil 2).

Ayrıca, hem su hem de sediment numunelerinde mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiş, toplam canlı bakteri (TCB) sayımı, toplam koliform (TK), fekal koliform (FK) ve fekal enterokok (FE) düzeyleri belirlenmiştir. Her istasyon ve mevsim için alınan su ve sediment numunelerinden ayrı ayrı bakteri izolasyonları yapılmış, izole edilen bakteri suşları ileri morfolojik ve biyokimyasal analizler için saf kültür haline getirilmiştir.

Sediment analizleri kapsamında ise her arazi çalışmasında dört farklı istasyondan alınan sediment numuneleri homojen şekilde birleştirilmiş ve analizler için Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Bu birleşik numuneler üzerinden toplam tuz, pH, elektriksel iletkenlik (EC), toplam kireç, organik madde, yarıyıllı fosfor (P_2O_5), alınabilir potasyum (K_2O) ve sedimentin bünye (tekstür) analizleri yaptırılmıştır. Ayrıca, elementel içeriklerin belirlenmesi amacıyla ICP-OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen veriler, mevsimsel değişkenlik göz önünde bulundurularak yorumlanmıştır.

3.2. Su Numunelerine Yönelik Fizikokimyasal Parametre Ölçümleri ve Analiz Yöntemleri

Bu çalışmada, su numunelerine yönelik temel fizikokimyasal parametrelerin belirlenmesi amacıyla analizler gerçekleştirilmiştir. Su kalitesini yansıtan bu parametreler, lagün ekosisteminin mevcut durumunun değerlendirilmesinde önemli bir gösterge niteliği taşımaktadır. Yapılan analizler aşağıda sıralandığı şekilde uygulanmıştır.

3.2.1. Suyun Sıcaklık Değerlerinin Ölçümü

Arazi çalışmaları sırasında istasyonlara ait su sıcaklığı ölçümleri, taşınabilir HQ40d18 katalog numaralı Hatch-Lange marka ekolojik kit termometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde arazi çalışması sırasında su örnekleme ve yerinde fizikokimyasal parametre ölçümlerinin gerçekleştirilmesi.

3.2.2. Suyun pH Değerlerinin Ölçümü

Arazi çalışmaları sırasında istasyonlara ait su numunelerinin pH değerinin belirlenmesi, HQ40d18 katalog numaralı Hatch-Lange marka taşınabilir ekolojik kit pH metre ile yapılmıştır.

3.2.3. Suyun Elektriksel İletkenlik (Eİ) Değerlerinin Ölçümü

Arazi çalışmaları sırasında istasyonlara ait su numunelerinin Eİ ölçümleri, HQ40d18 katalog numaralı Hatch-Lange marka taşınabilir ekolojik kit cihazı kullanılarak yerinde gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, her istasyondan alınan su numuneleri üzerinden yapılmış olup, suyun iletkenlik düzeyleri doğrudan arazi ortamında tespit edilmiştir.

3.2.4. Askıda Katı Madde (AKM) Tayini

AKM analizinde, su numuneleri 0,45 µm gözenek çapına sahip Whatman 42 numaralı membran filtrelerden geçirilmiştir. Filtreler, 100±2°C sıcaklıkta 24 saat boyunca kurutulmuş ve kurutma işlemi öncesi ile sonrası arasındaki ağırlık farkı dikkate alınarak hesaplamalar yapılmıştır (Anonim, 1995).

3.2.5. Çözünmüş Oksijen (ÇO) Ölçümü

ÇO miktarının belirlenmesinde, yaklaşık 250-300 mL hacminde alınan numune, BOİ şişesine aktarılmış ve içerisinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde iyice karıştırılmıştır. Numune üzerine sırasıyla 2 mL MnSO₄ çözeltisi ve 2 mL alkali iyodür-azotür reaktifi ilave edilmiş, ardından şişe alt-üst edilerek çökelek oluşumu gözlenmiştir. Daha sonra, 2 mL H₂SO₄ çözeltisi eklenmiş ve çökelti tamamen çözünene kadar beklenmiştir. Çözünen karışımdan 200 mL'lik bir kısım erlene alınmış ve bu numune, 0,025 N tiyosülfat çözeltisi ile açık sarı renk elde edilene kadar titre edilmiştir. Titrasyon sırasında, açık sarı renkten sonra numuneye nişasta çözeltisi eklenmiş, oluşan mavi renk tamamen kayboluncaya kadar işlem devam ettirilmiştir.

Sonuçların hesaplanmasında, 200 mL orijinal numune için 1 mL 0,025 N tiyosülfat çözeltisinin 1 mg/L ÇO konsantrasyonuna eşdeğer olduğu kabul edilmiştir. Elde edilen sonuç, 0 °C sıcaklık ve 760 mm Hg basınca göre düzeltilerek, ÇO miktarının (mg/ÇO) 0,70 ile çarpılması sonucu ifade edilmiştir (Şengül ve Türkman, 1991).

3.2.6. Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ₅) Ölçümü

BOİ₅ tayininde, ÇO'nun mikroorganizmalar tarafından tüketimi esas alınarak organik madde miktarı dolaylı olarak belirlenir. Bu yöntemde 250–300 mL hacmindeki özel kapaklı BOİ₅ şişeleri ile 20 °C ±1 sıcaklıkta sabit ısı sağlayan termostat kontrollü inkübatör kullanılır.

BOİ tayininde öncelikle mikroorganizmaların yaşamasına elverişli, toksik bileşen içermeyen ve doygunluğa yakın ÇO içeren bir seyreltme suyu hazırlanır. Bu amaçla 20°C'deki distile su tercih edilir; su önce havalandırılır ve ağzı pamuk tıkaçla kapatılarak dış etkenlerden korunur. Ardından her bir litre distile suya sırasıyla 1 mL fosfat tamponu, 1 mL MgSO₄, 1 mL CaCl₂ ve 1 mL FeCl₃ çözeltileri ilave edilir. Karışım, mikrobiyal faaliyetlerin etkin şekilde sürdürülebilmesi için karıştırılarak veya hava pompası yardımıyla havalandırılır.

Numunede yeterli mikroorganizma bulunmadığı durumlarda, seyreltme suyu evsel atıksu ya da özel mikrobiyal kültürlerle aşılanarak mikrobiyal yoğunluk artırılır. ÇO tüketimini sağlayacak şekilde (1/10, 1/50, 1/100 ve 1/200 oranlarında) seyreltmeler hazırlanır. Bu oranlara uygun biçimde örnek hacmi belirlenerek ölçülü kaba alınan seyreltme suyuna eklenir ve iyice karıştırılır. Hazırlanan karışım sifon yöntemiyle BOİs şişelerine aktarılır; şişelerden biri inkübasyon için 20 °C'de 5 gün süreyle inkübatöre yerleştirilir, diğeri ise ÇO tayini için hemen analiz edilir. Beşinci günün sonunda inkübasyondan alınan şişelerdeki ÇO miktarı tekrar belirlenir. Güvenilir bir sonuç elde edilebilmesi için, 5. gün sonunda şişede en az 1 mg/L ÇO kalması ve ilk gün ile beşinci gün arasındaki oksijen farkının en az 2 mg/L olması beklenir. Eğer analizde aşılı seyreltme suyu kullanılmışsa, aşının kendi oksijen tüketimi ayrıca belirlenmeli ve bu değer örneğin toplam oksijen tüketiminden düşülmelidir. Ancak, yüksek derecede seyreltilmiş aşının 5 gün boyunca önemli bir oksijen tüketimi yaratma olasılığı bulunduğundan, doğrudan aş düzeltmesi uygulanmamalıdır.

Seyreltme suyunun deneyde kullanılabilirliğini kontrol etmek amacıyla, sadece seyreltme suyu içeren iki adet BOİs şişesi hazırlanır. Bunlardan biri doğrudan ÇO tayini için kullanılırken, diğeri inkübasyona alınır. İlk ve beşinci gün ölçümleri arasındaki fark 0,2 mg/L'den az, tercihen 0,1 mg/L düzeyinde ise seyreltme suyunun deney için uygun olduğu kabul edilir.

BOİs hesaplaması, aş kullanılmadığı durumda seyreltme oranı ile (D_1-D_2) farkının çarpılması ile yapılır. Aşılı örneklerde ise (D_1-D_2) ile (B_1-B_2) farkı arasından, aş oranı (f) ile düzeltilmiş değer çıkarılır. Burada D_1 , numunenin hazırlandıktan 15 dk sonraki çözünmüş oksijen değerini; D_2 , beşinci gün sonundaki değerini; B_1 ve B_2 sırasıyla aşının inkübasyon

öncesi ve sonrası oksijen değerlerini; P, seyreltme oranını; f ise numunedeki aşının, kontrol şişesindeki aşya oranını ifade eder (Şengül ve Türkman, 1991).

3.3. Su ve Sediment Numunelerine Yönelik Mikrobiyolojik Analizler

Su ve sediment numunelerinde genel sanitasyonun tespit edilmesi için TCB (4 °C, 25 °C ve 37 °C), TK, FK, FE bakteri sayımları yapılmıştır.

Su ve sediment numunelerinde TCB sayımı ile TK, FK ve FE bakterilerinin belirlenmesi, çevresel ve halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu mikroorganizmalar, su ve sediment ortamlarının mikrobiyal yükü ve sanitasyon durumu hakkında doğrudan bilgi vermektedir. TCB sayısı, ortamın genel mikrobiyal faaliyeti ve biyolojik kalite düzeyini yansıtırken, TK ve FK özellikle atık su ve fekal kirliliğin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu bakterilerin varlığı, potansiyel patojenlerin bulunma riskini işaret ederek, su kaynaklarının kullanımı ve çevresel güvenlik açısından kritik veriler sağlamaktadır (Edberg vd., 2000; Almeida-Dalmet ve Baxter, 2020; Akpolat, 2022). FE, FK'ya göre çevresel stres koşullarına daha dirençli olmaları nedeniyle, dışkı kaynaklı kirliliğin daha uzun süreli göstergesi olarak kabul edilmektedir (Geldreich, 1978). Çalışmanızda hem FK hem de FE parametrelerinin birlikte değerlendirilmesi, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde özellikle tarım ve hayvancılığa dayalı faaliyetlerden kaynaklanabilecek mikrobiyolojik kirlilik risklerinin belirlenmesini ve bu kirliliğin kaynağına yönelik daha sağlam çevresel değerlendirmelerin yapılmasını sağlamaktadır.

3.3.1. Su ve Sediment Numunelerinde Toplam Canlı Bakteri (TCB) Sayımı

Hipersalin bakterilerin izolasyonu amacıyla, literatür taramaları (Bilgi, 2012; Bozkurt, 2016; Yıldız, 2023) ve ön deneme çalışmaları sonucunda en iyi koloni gelişimini sağlayan besiyeri %20 NaCl içerikli SW-25 seçilmiş ve çalışmalara bu besiyeri ile devam edilmiştir. TCB sayımı için hipersalin ortamdan alınan su ve sediment numuneleri 10^{-3} seyreltme seviyesine kadar on kat seri seyreltmeler yapılmıştır. Her bir seyreltme sırasında su numuneleri için 1 mL su, sediment numuneleri için ise 1 gr sediment 9 mL steril seyrelme sıvısı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan SW-25 besiyerine [NaCl (202,5 g/L), MgCl₂ (17,5 g/L),

MgSO₄ (24 g/L), CaCl₂ (0,9 g/L), KCl (5 g/L), NaHCO₃ (0,15 g/L), NaBr (0,065 g/L), Maya özütü (5 g/L), Agar (20 g/L)] uygun seyreltmelerden seçilen 0,1 mL örnek bu besiyerine inoküle edilmiştir. Plakalar, hipersalin koşullarda bakteriyel gelişimi desteklemek için 4°C (Psikrofil), 25 °C (Maya/küf) ve 37 °C’de (Mezofil) 1-7 gün arası inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayılmış ve başlangıç örneğindeki toplam canlı bakteri sayısı, kolonilerin sayıldığı dilüsyon faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır.

3.3.2. Su ve Sediment Numunelerinde Toplam Koliform (TK) Sayımı

TK sayımı için su ve sediment numunelerine seyreltme işlemi uygulanmış olup numuneler Brilliant Green Laktoz Broth (BGLBB) besiyeri içeren çift kuvvetli 3 tüpe 10 mL, tek kuvvetli tüplerin ilk üçüne 1 mL, sonraki üç tüpe ise 0,1 mL eklenmiş ve 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, her tüpteki Durham tüpünde gaz birikimi değerlendirilmiş ve En Muhtemel Sayı (EMS) tabloları kullanılarak toplam koliform sayısı belirlenmiştir (Finsten, 1972; Gürgün ve Halkman, 1990).

3.3.3. Su ve Sediment Numunelerinde Fekal Koliform (FK) Sayımı

TK pozitif çıkan tüplerden, BGLBB besiyerine ekim yapılmış ve 44,5 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, Durham tüplerinde gaz oluşumu gözlemlenerek, en muhtemel fekal koliform sayısı belirlenmiştir (Finsten, 1972).

3.3.4. Su ve Sediment Numunelerinde Fekal Enterokok (FE) Sayımı

FE sayımı için, steril Sodyum Azidli Entereococci Broth besiyerlerine uygun seyreltmelerden 1 mL örnek eklenmiş ve tüpler 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında renk değişimi gözlemlenen seyreltmeler pozitif olarak kabul edilerek, FE sayısı hesaplanmıştır (Balcı, 2007).

3.4. Sediment Numunelerine Yönelik Fiziksel ve Kimyasal Parametre Analizleri

Sedimentler, su ortamındaki kirleticilerin, besin maddelerinin ve çeşitli elementlerin biriktiği doğal depo alanlarıdır (Philippot vd., 2007). Bu nedenle, sedimentlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi, kirlilik kaynaklarının tespiti, ekosistemdeki biyolojik çeşitlilik üzerindeki etkilerin anlaşılması ve su kalitesinin korunması açısından büyük önem taşımaktadır (Türetken vd., 2025). Ayrıca, sedimentlerde biriken ağır metaller ve besin elementlerinin miktarının izlenmesi, çevresel risklerin değerlendirilmesine ve sürdürülebilir yönetim stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır (Yılmaz ve Tuncer, 2021). Biyoteknolojik açıdan ise sedimentlerin içerdiği organik madde ve mineral bileşenler, mikroorganizma topluluklarının yapısı ve fonksiyonları hakkında bilgi vererek, potansiyel uygulamaların keşfedilmesine katkıda bulunmaktadır (Philippot vd., 2007; Güven vd., 2018).

Her arazi çalışma döneminde, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'ne ait dört farklı istasyondan sediment numuneleri alınmıştır. Her bir istasyonda belirlenen noktalardan alınan yüzey sedimentleri, temsil edici bir numune elde edebilmek amacıyla homojenize edilerek oluşturulmuştur. Bu homojen numuneler, analizlerde kullanılmak üzere laboratuvar ortamında değerlendirilmiştir.

3.4.1. Sedimentler Numunelerinde Tuzluluk, pH, Organik Madde ve Besin Elementi Analizleri

Arazi çalışmalarından toplanan sediment numunelerinin toplam tuz, pH, EC, toplam kireç, organik madde, yarıyışlı fosfor (P_2O_5), bünye, alınabilir potasyum (K_2O) ve ICP-OES element analizleri [kükürt (S), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), sodyum (Na), mangan (Mn), bakır (Cu), demir (Fe), çinko (Zn), bor (B), selenyum (Se)] Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spektrometre cihazı kullanılarak hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.5. Kültüre Dayalı Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinde Mikrobiyal  eşitliliğin Belirlenmesi

Kültüre dayalı yöntemler, çevresel numunelerdeki mikroorganizmaların saf kültür şeklinde izole edilerek morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerine göre tanımlanmasını sağlayan klasik mikrobiyolojik yaklaşımlar arasında yer almaktadır. Bu yöntemler sayesinde yalnızca mikroskobik düzeyde değil, aynı zamanda işlevsel düzeyde de mikroorganizmaların karakterizasyonu mümkün olmaktadır (Tamer vd., 1989). Kültüre dayalı yöntemlerin en önemli avantajlarından biri, izole edilen mikroorganizmalar üzerinde doğrudan morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik testlerin yapılabilmesine olanak tanınmasıdır. Bu sayede mikroorganizmaların canlılığı, metabolik aktiviteleri ve çevresel stres faktörlerine tepkileri gözlemlenebilir. Ayrıca, bu yöntemlerle elde edilen saf kültürler genetik ve moleküler analizlerde referans materyal olarak değerlendirilebilmektedir (G rg n ve Halkman, 1990).

Bu  alışmada, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan su ve sediment numunelerinden kültüre edilebilir mikroorganizmaların izolasyonu sağlanmış, elde edilen izolatlar üzerinde çeşitli biyokimyasal ve fenotipik analizler uygulanmıştır. Kültüre dayalı yöntemler kapsamında yapılan analizler aşağıda listelenmiştir.

3.5.1. Su ve Sediment Numunelerinden Halofil İzolasyonu

Halofil bakteri izolasyonu için literatür taramaları sonucunda halofil mikroorganizmaların en iyi üreme gösterdiği modifiye besiyerinin SW-25 (Bilgi, 2012; Bozkurt, 2016; Yıldız, 2023) olduğu belirlenmiş ve çalışmalarda SW-25 besiyeri kullanılmıştır. Su numuneleri için 10 mL, sediment numuneleri için ise 10 gr örnek, 90 mL serum fizyolojik izotonik solüsyonda (%0,9) süspanse işlemi uygulanıp, çözeltiden 10^{-5} 'e kadar seri dilüsyonlar yapılmıştır. Her bir dilüsyondan 100 μ L alınmış ve SW-25 besiyerlerine yayma plaka yöntemi ile ekimler yapılmıştır. 37-40 C'de 7 gün inkübasyon süresi sonunda bakteri izolatlarının saflaştırılma işlemi SW-25 agarda yapılmıştır. Saflaştırma işlemi tamamlanan tüm izolatlar -20 C'de gliserollü ortamda saklanmıştır (Bilgi, 2012).

3.5.2. Halofil İzolatların Gram Boyama Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Saf kültürler elde edildikten sonra, hücre morfolojileri gram boyama yöntemi kullanılarak ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Hazırlanan preparatlar, 100X objektifle ışık mikroskobu altında gözlemlenmiştir. Koyu mor-menekşe rengindeki mikroorganizmalar Gram pozitif (+), açık pembe renkli olanlar ise Gram negatif (-) olarak sınıflandırılmıştır (Tamer vd., 1989).

3.5.3. Halofil İzolatların Oksidaz Özelliklerinin Değerlendirilmesi

SW-25 ortamında 40°C’de 7 gün inkübe edilen katı kültürlerden steril eküvyonla alınıp oksidaz striplerine yayılarak mavi renk oluşumu gözlenmiştir (Gerhardt vd., 1994).

3.5.4. Halofil İzolatların Katalaz Özelliklerinin Değerlendirilmesi

SW-25 agar ortamında 40°C’de 7 gün inkübe edilen kültür üzerine %3 lük H₂O₂ damlatılmış ve gaz çıkışı gözlenmiştir (Montalvo-Rodriguez vd., 1997; Gerhardt vd., 1994).

3.5.5. Halofil İzolatların İndol Oluşturma Özelliklerinin Değerlendirilmesi

%1 tripton içeren SW-25 sıvı ortamlarına bakteriler aşılanarak, 40°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplere 2-3 damla kovaks ayırıcı damlatılmış ve tüpün üst kısmında kırmızı halka oluşumu gözlenenler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Montalvo-Rodriguez vd., 1997).

3.5.6. Halofil İzolatların Nitrattan Nitrit Oluşturma Özelliklerinin Değerlendirilmesi

%1 KNO₃ içeren SW-25 sıvı ortamlarına bakteriler aşılanarak, 40°C’de inkübe edilmiştir. 5-10. günler arası tüplerden alınan 1 mL örneğe 3 damla trommsdorf ayırıcı ve 1 damla sülfirik asit (1 kısım H₂SO₄’e 3 kısım H₂O) damlatıldığında koyu mavi-siyah renk

oluşumu nitrit varlığı için pozitif, nitrit negatif olan tüplere 1 damla alfa-naftol ve 2 damla konsantre sülfirik asit damlatıldığında koyu mavi-siyah renk oluşumu nitrat varlığı için pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir (Karaboz, 1988; Birbir vd., 2004).

3.5.7. Halofil İzolatların Nitrattan Gaz Oluşturma Özelliklerinin Değerlendirilmesi

%1 KNO₃ içeren durham tüplü SW-25 sıvı ortamlarına bakteriler aşılanmış ve 40°C’de 10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda durham tüplerinde gözlenen gaz oluşumu pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir (Karaboz, 1988; Birbir vd., 2004).

3.5.8. Halofil İzolatların Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada halofilik bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesinde kullanılan antibiyotikler; güncel literatür taramaları doğrultusunda (Zhuang vd., 2010; Roohi vd., 2012; Sadi, 2012; Velmurugan vd., 2013; Hacıoğlu Doğru, 2020; Wang vd., 2023), halofilik mikroorganizmalarla ilgili önceki araştırmalarda sıklıkla tercih edilen, karşılaştırılabilir sonuçlar sunan ve Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından önerilen antibiyotik ajanlar dikkate alınarak seçilmiştir. Antibiyotiklerin seçiminde hem geniş spektrumlu [Tetrasiklin (TE30), Ampisilin (AM10), Streptomisin (S10), Eritromisin (E15)] hem de dar spektrumlu [Penisilin G (P10), Basitrasin (B10), Novobiyosin (NV5)] antibiyotiklerin bulunmasına özen gösterilmiştir (CLSI, 2024). Geniş spektrumlu antibiyotikler hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkili olduklarından, izolatların genel direnç düzeyleri hakkında daha kapsamlı bilgi sunmaktadır (Wang vd., 2023). Buna karşılık, dar spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, özellikle belirli bakteri gruplarına karşı özgül direnç mekanizmalarının anlaşılmasını ve çevresel izolatların klinik önemi olabilecek direnç özelliklerinin saptanmasını kolaylaştırmaktadır.

İzolatların antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için SW-25 agar besiyerine yoğunluğu 0,5 McFarland olarak ayarlanan bakterilerden Mueller Hinton Agar (MHA) petriye 100 µL aktarılıp steril L baget ile yayma ekimleri yapılmış ve antibiyotik diskleri

steril pens yardımıyla dizilerek 37°C’de 24 saat inkübe edilerek inhibisyon zon çapları değerlendirilmiştir (Birbir vd., 2007; CLSI, 2024).

İzolatların çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi, izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısının, denenen toplam antibiyotik sayısına oranı ile hesaplanmıştır. ÇAD indeksi 0,2’den büyükse, organizmanın yüksek antibiyotik kullanımı olan bir kaynaktan geldiği, 0,2 veya daha küçükse, antibiyotik kullanımının az olduğu ya da hiç kullanılmadığı bir ortamdan geldiği kabul edilmiştir (Krumpermann, 1985).

3.6. Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen Halofil Bakterilerin Biyoteknolojik Uygulamalarının Değerlendirilmesi

Su ve sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyoteknolojik uygulamalarının değerlendirilmesi, bu mikroorganizmaların çevresel ve endüstriyel açıdan taşıdığı potansiyelin ortaya konması açısından büyük önem taşımaktadır. Halofil bakteriler, yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanabilme özellikleri sayesinde ekstrem çevre koşullarında hayatta kalabilen ve metabolik çeşitlilik gösteren mikroorganizmalar olarak dikkat çekmektedir (Çınar ve Mutlu, 2016). Bu özellikleri, biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilecek enzimlerin, metabolitlerin ve biyosentez yollarının keşfedilmesini mümkün kılmaktadır (Wang vd., 2023). Özellikle tarımda bitki büyümesini teşvik eden (PGP) özellikleri, ağır metallerin biyoremediasyonu, antibiyotik üretimi ve diğer endüstriyel proseslerde bu bakterilerin işlevsel potansiyelini artırmaktadır. Bu kapsamda yapılan değerlendirmeler, halofil bakterilerin biyoteknolojik açıdan kullanılabilirliğini anlamaya ve sürdürülebilir çevre ve endüstri uygulamalarına katkı sağlamaya yöneliktir. Böylece elde edilen veriler hem ekosistemlerin korunması hem de yenilikçi biyoteknolojik ürünlerin geliştirilmesi için önemli veriler sağlanmaktadır.

3.6.1 Halofil İzolatların PGP Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Halofil izolatların PGP özelliklerinin değerlendirilmesi, özellikle tuzlu ve stresli ortamlarda tarımsal verimliliğin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır. İzolatların PGP özelliklerinin belirlenmesinde yapılan siderofor, IAA üretimi, azot fikse etme ve fosfor

İzolatların Siderofor Üretim Potansiyellerinin Değerlendirilmesi

İzolatların IAA Üretim Potansiyellerinin Değerlendirilmesi

44

IAA standardı kullanılarak hazırlanan 10, 20, 30, 40 ve 50 ppm'lik çözeltiler, UV spektrofotometrede 530 nm dalga boyunda ölçülmüş ve bir standart eğri oluşturulmuştur. Elde edilen standart eğriye dayanarak, izolatların IAA üretim kapasiteleri hesaplanarak belirlenmiştir (Ahmad vd., 2008).

İzolatların Azot Fiksasyon Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

İzolatların azot bağlama potansiyelleri, Jensen besiyeri kullanılarak değerlendirilmiştir. İzolatlar, Jensen besiyerine nokta ekimi yöntemiyle inoküle edilmiş ve 37°C'de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, gelişim gösteren izolatlar azot fiksasyonu yapabilme kapasitesine sahip olarak kabul edilmiş ve pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Ahmad vd., 2008).

İzolatların Fosfor Çözme Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

İzolatların fosfor çözme kapasiteleri, National Botanical Research Institute's Phosphate (NBRIP) besiyeri kullanılarak değerlendirilmiştir. Öncelikle, izolatlar NBRIP sıvı besiyerinde ön zenginleştirmeye tabi tutulmuş ve ardından NBRIP katı besiyerine nokta ekim yöntemiyle inoküle edilmiştir. İnkübasyon, 30±1°C'de 3 gün süreyle gerçekleştirilmiştir. Bu sürenin sonunda, izolatların çevresinde oluşan şeffaf zonların çapı ölçülmüş ve zon oluşturan izolatlar pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

İzolatların fosfor çözme katsayıları, aşağıdaki formüle göre hesaplanmış ve sonuçlar mm cinsinden kaydedilmiştir (Perez vd., 2007).

$$\text{Fosfor Çözme Katsayısı} = \frac{\text{Şeffaf zon çapı}}{\text{Bakteri koloni çapı}}$$

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen mikrobiyolojik analizlerin ilk aşamasında, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan su ve sediment numunelerinden toplam 400 bakteri izole edilmiştir (Su:200, Sediment:200). Tüm izolatlara temel morfolojik ve biyokimyasal testler uygulanmış, antibiyotik direnç profilleri ve PGP yetenekleri değerlendirilmiştir. Bu kapsamda mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesine yönelik ilk değerlendirmeler yapılmıştır.

Ancak çalışmanın sonraki aşamalarında planlanan analizler (ağır metal toleransı, rodopsin ve EPS sentezi) daha fazla materyal ve iş gücü gerektiren, ayrıntılı ve ileri düzey biyolojik testleri içermektedir. Bu nedenle, tüm izolatlarla bu analizlerin uygulanması bilimsel ve teknik açıdan sürdürülebilir görülmemiştir. İleri analizlerin her biri, yalnızca yüksek sayıda malzeme ve sarf tüketimi gerektirmekle kalmayıp, aynı zamanda uzun süreli inkübasyonlar, özel reaktif kullanımı, tekrar gerektiren deney düzenleri ve sonuçların doğrulanması açısından zaman alıcı süreçler içermektedir. Bu gerçeklik göz önünde bulundurularak, ön değerlendirme testlerinden elde edilen sonuçlar ışığında, morfolojik ve biyokimyasal çeşitliliği temsil eden, farklı antibiyotik direnç profillerine sahip, potansiyel biyoteknolojik özellik gösterme kapasitesi yüksek toplam 54 izolat (Su:29, sediment:25) detaylı analizler için seçilmiştir. Temsili izolatlar, çalışmanın bilimsel güvenilirliğini zedelemekten mikrobiyal çeşitliliği temsil etme amacını korumaktadır. Seçim yapılırken, sadece rastgele değil; aynı zamanda mevsimsel çeşitliliği, farklı morfolojik grupları, antibiyotik duyarlılık profillerini ve temel biyokimyasal özelliklerdeki farklılıkları da dikkate alan bir örnekleme yöntemi benimsenmiştir. Böylelikle, elde edilen veriler üzerinden yapılacak yorumların daha genel bir mikrobiyal bakış açısı sunması hedeflenmiştir. Ayrıca, benzer çevresel mikrobiyoloji çalışmalarında da yaygın şekilde uygulanan bir yaklaşım olarak, ilk tarama basamağında geniş bir izolat havuzu oluşturulmakta, ardından kapsamlı testler için temsil niteliği taşıyan daha küçük bir grup üzerinde derinlemesine analizler gerçekleştirilmektedir (Saccò vd., 2021; Şahin Doğan, 2022). Bu strateji hem kaynak kullanımını optimize etmekte hem de elde edilen sonuçların daha odaklı, anlamlı ve uygulanabilir olmasını sağlamaktadır.

Sonuç olarak, tüm izolatlarla çalışmanın olanaksızlığı yalnızca fiziksel sınırlılıklardan değil; aynı zamanda bilimsel analizlerin odaklanmasını artırma, verilerin kalitesini yükseltme ve sonuçların değerlendirme süreçlerini daha yönetilebilir kılma gerekliliğinden doğmuştur. Seçilen 54 izolat üzerinde gerçekleştirilen biyoremediasyon ve 16S moleküler dizileme analizlerinin ve seçilen 11 bakteri üzerinde gerçekleştirilen EPS ve rodopsin sentez analizlerinin, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün mikrobiyal çeşitliliği ve biyoteknolojik potansiyeline dair ön bilgi sunma açısından yeterli ve anlamlı bir çerçeve oluşturduğu düşünülmektedir.

3.6.2. Halofil İzolatların Ağır Metal Toleranslarının Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan ağır metallerin hazırlanmasında, Mn (MnSO₄), Zn (ZnCl₂), S (SCL₂), Fe (FeSO₄) ve Cu (CuSO₄) tuzları tercih edilmiştir. Her bir metal için 1000 ppm derişiminde ana stok çözeltiler hazırlanmış; bu süreçte ilgili metal tuzlarının kimyasal formülleri dikkate alınarak gerekli kütle-hacim hesaplamaları yapılmıştır (Keloğlu, 2017). Deney süresince bu stok çözeltilerden uygun oranlarda seyreltmeler yapılarak, analizlerde kullanılmak üzere çalışma çözeltileri elde edilmiştir. İzolatların ağır metal toleranslarının belirlenebilmesi amacıyla, steril 96 kuyucuklu mikropaklar kullanılmıştır. Her bir izolat için, yalnızca tek bir ağır metali içerecek şekilde 12 farklı derişim hazırlanarak (%100, %50, %25, %12,5, %6,25, %3,13, %1,56, %0,78, %0,39, %0,20, %0,10 ve %0,05) test edilmiştir. Mikropaklar 37 °C’de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda kuyucuklarda herhangi bir mikrobiyal büyüme ya da parçalanma olup olmadığı görsel olarak değerlendirilmiştir. Kuyucuk merkezinde beyaz ya da krem renkli kolonilerin varlığı, bakterinin ilgili ağır metali tolere edebildiğini veya biyotransformasyona uğratabildiğini göstermiş ve bu durum pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Rahman vd., 2002).

Yapılan literatür taraması sonucunda, kontrol bakterisi olarak model mikroorganizmalardan biri olan *Escherichia coli* (ATCC 25922) tespit edilmiş ve çalışmada referans suş olarak kullanılmıştır (Gadd, 2009; Kang vd., 2016). Bu kontrol suşu, test edilen halofilik izolatların ağır metal varlığındaki büyüme ve tolerans seviyelerinin karşılaştırılmasına olanak sağlamıştır. Ağır metal giderim etkinliğinin değerlendirilmesinde ise literatüre dayalı olarak referans aralıklar belirlenmiş; %20 ve üzeri giderim oranları biyoremediasyon potansiyeli açısından anlamlı kabul edilmiştir (Gadd, 2009).

3.6.3. Halofil İzolatların 16S rRNA Moleküler Tanımlaması

İzolatların genomik DNA izolasyonu için ticari bir bakteriyal genomik DNA izolasyon kiti (Monarch, Genomik DNA kiti, TE3010S) kullanılmıştır. İzolatlar, SW-25 Broth besiyerinde 37°C’de 24 saat inkübe edilmiş ve kitin önerdiği hücre yoğunluğuna ulaşılmasının ardından genomik DNA izolasyonuna başlanmıştır. Ticari DNA izolasyon kitinin işlem basamakları doğrultusunda genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde

edilen genomik DNA'nın kalitatif miktar tayini, %1'lik agaroz jel elektroforez yöntemiyle yapılmıştır. İlk kuyucuğa 1µl bromo fenol mavisi, 1 µl syber green ve 2.5µl DNA ladder, diğer kuyucuklara ise sırasıyla 1µl bromo fenol mavisi, 1 µl syber green ve 2.5µl PCR ürünü pipetajlanarak yükleme yapılmıştır. Jel, 120 V'da 20 dk süreyle çalıştırılmış ve UV ışık altında kontrol edilerek genomik DNA bantları incelenmiştir.

16S rRNA geninin analizi için yapılan literatür taramasında en yüksek verimliliği sağlayacak primer çiftleri (0341f 5'→3' CCTACGGGGGCGCAG, 0785r 5'→3' GACTACGGGTATCTAATCC) Sentegen Primer 50 nM olacak şekilde sentezlenmiştir (Klindworth vd., 2013). Tür düzeyinde tanımlama için kullanılacak 16S rRNA gen bölgesinin çoğaltımı için gerekli PCR bileşenleri, laboratuvarımızda yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenmiştir. PCR amplifikasyonunda ilk denatürasyon adımı 95°C'de 5 dakika süreyle uygulanmıştır. Bunu takiben, 45 döngü boyunca 95°C'de 15 saniye denatürasyon, 58°C'de 25 saniye primerlerin bağlanması ve 72°C'de 45 saniye uzama adımları gerçekleştirilmiştir. Son olarak, ampikonların tam uzaması için 72°C'de 10 dakika sonlanma adımı uygulanmıştır. Ayrıca reaksiyonun stabilizasyonu için 35°C'de 10 saniyelik bekleme süresi kullanılmıştır. PCR ürünlerinin varlığı, %1'lik agaroz jelde 1 µl bromo fenol mavisi ve syber green kullanılarak kontrol edilmiş ve doğrulama sağlanmıştır. Elde edilen PCR örnekleri dizileme analizi hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.4. Halofil İzolatların Bakteriyorodopsin Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

Bakteriyorodopsin üretimi için NaCl; 125g/L, Maya özütü; 20g/L, Kasamino asit; 7,5g/L, Na₃-sitrat; 3g/L, MgSO₄·7H₂O; 20g/L, KCl; 2g/L, FeSO₄·7H₂O; 0,05g/L, MnSO₄·7H₂O; 0,2g/L bileşenleri ile besiyeri hazırlanmıştır. Deneyler, 40 Watt beyaz ışık kaynağı ile aydınlatma altında yürütülmüştür. Bakteriyorodopsin saflaştırılması için ilk aşamada, 100 mL bakteri kültürü 8000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen hücre pelletleri, 68,7 µL DNase (2000U/mL, NEB) enzimi içeren 5 mL deiyonize su ile süspanse edilmiştir. Süspansiyon, oda sıcaklığında ve dikey tüp karıştırıcıda 30 dk boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra, karışıma 10 mL %24 (w/w) pH 8 potasyum fosfat solüsyonu ve 10 mL %24 (w/w) PEG (Poli Etilen Glikol) 8000 çözeltisi eklenmiş ve 1 saat süreyle karıştırmaya devam edilmiştir (Başer, 2020). Faz ayırımı için hazırlanan karışım, 8000

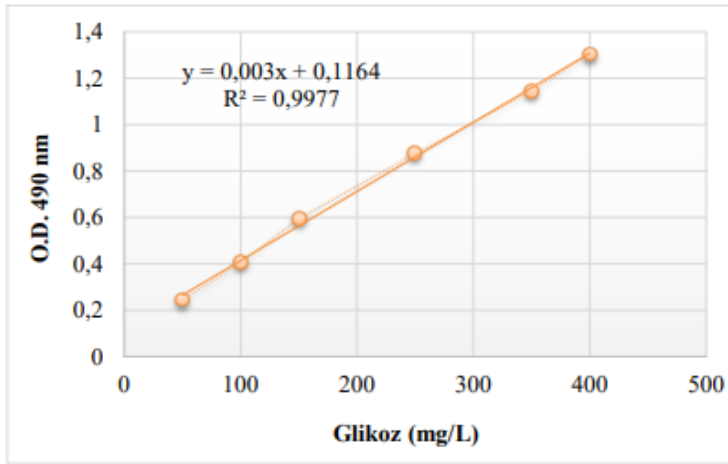
rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. PEG bakımından zengin üst faz ile fosfat zengin alt faz arasında bir bant oluşumu gözlemlenmiştir (Shiu vd., 2014). Bu bant, pipet yardımıyla toplanarak birleştirilmiştir. Son aşamada, saflaştırılmış bakteriyorodopsin yapısının lipidlerden arındırılması sağlanmıştır. Bunun için, mor çökeltiler 10 mL deiyonize su ile yeniden süspanse edilmiş ve 0,6 mL BR solüsyonuna 41,4 µL 20 mM CHAPS (3-[(3-Cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate hydrate) çözeltisi eklenerek, oda sıcaklığında gece boyunca yavaşça karıştırılmıştır. Lipitlerden ayrılan bakteriyorodopsin, 15000 rpm’de 30 dk santrifüj edilerek toplanmıştır (Shiu vd., 2014). Elde edilen bakteriyorodopsin, +4°C’de saklanmıştır.

3.6.5. Halofil İzolatların EPS Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

Aktif kültürlerin optik yoğunlukları, spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda $0,600 \pm 0,002$ olacak şekilde ayarlanmış ve Medium C (NaCl; 175g/L, MgCl₂.6H₂O; 20g/L, CaCl₂.2H₂O; 0,1g/L, Maya özütü; 5g/L, K₂SO₄; 5g/L) besiyerine %2 oranında inoküle edilmiştir. Her bir bakteriye uygun olan inkübasyon süreleri (5 ve 7 gün) sonunda, kültürlerden 1’er mL mikrosantrifüj tüplerine alınarak 95 °C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dakika ısıtma işlemi uygulanmıştır. Örnekler oda sıcaklığına soğuduktan sonra, üzerine 1,7 µL Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklenmiş ve 13000 rpm’de 25 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen filtratlar yeni mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve üzerine %96’lık etil alkol çözeltisi 1:3 oranında eklenmiştir. Bu aşamada, iki paralel numune hazırlanarak her mikrosantrifüj tüpüne 500 µL örnek ve 1,5 mL etanol eklenmiştir. Örnekler, 13000 rpm’de 25 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında, oluşan pelletin üzerine 500 µL etanol eklenmiş ve 13000 rpm’de 15 dk süreyle tekrar santrifüj uygulanmıştır. Santrifüj sonrasında mikrosantrifüj tüpleri, alkolün tamamen buharlaştırılarak kurummasını sağlamak amacıyla 24 saat boyunca etüvde bekletilmiştir. Kuruma işleminin ardından, 500 µL deiyonize su ile çözülen numuneler birleştirilerek her bir tüp için toplam hacim 1 mL olacak şekilde tek bir mikrosantrifüj tüpünde toplanmıştır (Tsuda vd., 2008). Elde edilen numunelere, üretilen EPS miktarını belirlemek amacıyla fenol-sülfürik asit yöntemi uygulanmıştır.

Fenol sülfürik asit metodunda, her bir örneğin üzerine 0,5 mL fenol ve 5 mL sülfürik asit ilave edilmiş, ardından oda sıcaklığında 10 dk süreyle bekletilmiştir. Bekleme süresinin

ardından, çözeltiler iyice karıştırılmış ve 37°C sıcaklıkta 15-20 dk süreyle inkübe edilmiştir. Elde edilen numunelerin optik yoğunlukları, 490 nm dalga boyunda spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Kùltürler tarafından üretilen EPS miktarını hesaplamak amacıyla, 50-500 mg/L aralığında glikoz çözeltileri kullanılarak bir standart eğri oluşturulmuş (Şekil 4) ve bu eğriye dayanarak EPS miktarı mg/L birimiyle belirlenmiştir (Dubois vd., 1956). Deneysel çalışma, üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. Glikoz standart eğrisi.

3.7. Kültüre Dayalı Olmayan Yöntemler Kullanılarak Sediment Numunelerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesi

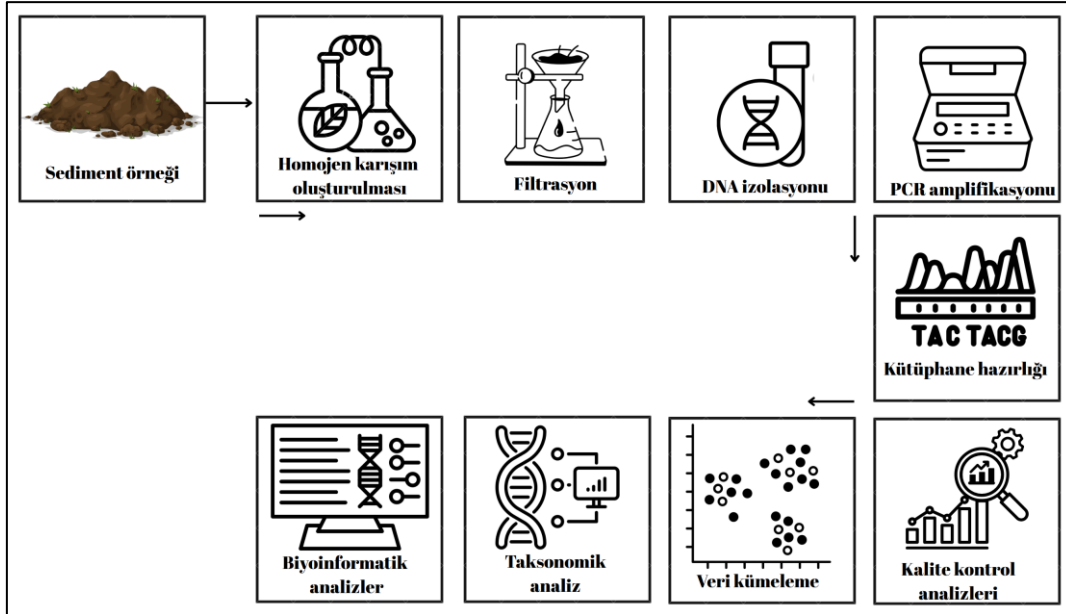
Doğal ortamlarda bulunan mikroorganizmaların büyük bir kısmı, klasik kültüre dayalı yöntemlerle laboratuvar koşullarında üretilmemektedir. Bu durum, çevresel mikrobiyal çeşitliliğin tam olarak anlaşılmasını önemli ölçüde kısıtlamaktadır (Edgar, 2013). Özellikle ekstrem ve tuzlu ortamlarda, mikrobiyal yaşamın büyük çoğunluğu kültürlenemeyen mikroorganizmalardan oluşmaktadır (Thompson vd., 2017). Bu nedenle, yalnızca kültür temelli analizlere dayanmak, sistemdeki mikrobiyal çeşitliliğin önemli bir bölümünün göz ardı edilmesine yol açmaktadır. Bu eksikliği gidermek amacıyla, kültüre dayalı olmayan moleküler yöntemler geliştirilmiş ve son yıllarda çevresel mikrobiyoloji araştırmalarında yoğun şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Fasolo vd., 2024). Bu yöntemlerin başında, bakterilere özgü 16S ribozomal DNA gen bölgesinin analizine dayanan metabarkodlama yaklaşımı gelmektedir. Bu yöntem sayesinde, doğrudan çevresel DNA

üzerinden yapılan analizlerle, örneklerdeki tüm bakteriyel topluluk yapısı belirlenebilmekte, kültürülenemeyen türler de dahil olmak üzere çok geniş bir taksonomik kapsama ulaşılabilir (Çelik, 2021; Fasolo vd., 2024). Metabarkodlama çalışmaları, sadece daha fazla türü ortaya koymakla kalmamakta; aynı zamanda su ve sediment gibi farklı ekolojik nişlerdeki mikrobiyal toplulukların karşılaştırmalı olarak incelenmesine de olanak sağlamaktadır (Edgar, 2013). Ayrıca bu yöntemle, geleneksel yöntemlere kıyasla çok daha hızlı, detaylı ve yüksek çözünürlüklü veriler elde edilebilmektedir.

Bu çalışmada da kültüre alınamayan mikroorganizmaların tespiti ve toplam mikrobiyal çeşitliliğin daha bütüncül şekilde değerlendirilmesi amacıyla, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü’nden alınan sediment örneklerinden elde edilen çevresel DNA’lar üzerinden metabarkodlama analizi uygulanmaktadır.

3.7.1 DNA Barkodlama Analizi

Tez çalışmasında gerçekleştirilen DNA barkodlamasına ait iş akış şeması Şekil 5’te verilmiştir.



Şekil 5. DNA barkodlama çalışmasına ait iş akış şeması.

3.7.2. Genomik DNA İzolasyonu

Eyl/23-Tem/24 tarihleri arasında yapılan arazi çalışmalarındaki dört farklı istasyondan alınan sediment numunelerine DNA izolasyonu yapılmıştır. Metabarkodlama analizi arazi bazında gerçekleştirilmiştir. Arazi dönemlerini temsilen istasyonlardan alınan örnekler homojenize edilmiş ve genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Arazilere ait her istasyon için 10 gr olmak üzere toplam 40 g sediment numunesi tartılarak 2 L ddH₂O içerisine eklenmiş ve 30 dk boyunca çalkalanmıştır (Lentendu vd., 2024). Süre sonunda sediment karışımı vakumla filtreden (0,22 µm) süzölmüştür. Filtre membranları daha sonra çıkartılmış ve ticari DNA izolasyon kiti (Monarch, Genomik DNA kiti, TE3010S) ile talimatlara uygun olarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA miktarı Qubit 2.0 kullanılarak belirlenmiştir.

Numunelerden izole edilen DNA, dizileme hizmeti için MSM Ürün ve Hizmet Şirketi'ne gönderilmiştir. Prokaryotik 16S rRNA geninin V3-V4 değişken bölgelerini hedefleyen özgül primerler ve ökaryotik mikroorganizmaların tespit edilmesi için 18S rRNA geninin V4-V9 değişken bölgesine özgül primerler kullanılmıştır (Çelik ve Ünal, 2020). Protokollere uygun barkod primer seti Illumina MiSeq cihazına adapte edilmiştir. Amplikon kütüphaneleri hazırlandıktan sonra, ürünlerin miktarı, qPCR floresan okumaları ile ölçülmüş ve eşit molaritede birleştirilmiştir. Birleştirilmiş kütüphane, Select-a-Size DNA Clean ve Concentrator™ (Zymo Research, Irvine, CA) kullanılarak saflaştırılmış, TapeStation® ve Qubit® cihazları ile nitel ve nicel kontrolleri yapılmıştır.

3.7.3. Dizileme ve Kütüphane Oluşturulması

Dizileme kütüphaneleri, Illumina 16S Metagenomik Dizileme Kütüphane protokollerine uygun olarak V3 ve V4 bölgelerini amplifiye etmek için hazırlanmıştır. Girdi olarak kullanılan 5 ng gDNA, 5x reaksiyon tamponu, 1 mM dNTP karışımı, her biri 500 nM konsantrasyonda evrensel forward (F) ve revers (R) PCR primerleri ve Herculanse II füzyon DNA polimeraz (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) içeren bir karışımda PCR ile çoğaltılmıştır. İlk PCR için döngü koşulları, 95°C'de 3 dk ısı aktivasyonu, ardından 25 döngü boyunca 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye bağlanma,

son olarak 72°C'de 5 dk son uzama aşamasını içermektedir. İlk amplifikasyonlar için Illumina adaptör uzantı dizilerine sahip evrensel primer çiftleri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3

Moleküler tanımlama analizinde kullanılan primer çiftleri

Primer Adı	Nükleotid Dizisi
	5'-
V3-F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGN
	GGCWGCAG-3'
	5'-
V4-R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHV
	GGGTATCTAATCC-3'
V9-R	5'-CCTTCYGCAGGTTACCTAC-3'
V9-F	5'-CCCTGCCHTTTGTACACAC-3'

İlk PCR ürünü, AMPure boncukları (Agencourt Bioscience, Beverly, MA) kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırma sonrasında, PCR ürününden 2 µL alınarak Nextera XT indeksli primerler kullanılarak son kütüphane yapımı için PCR ile çoğaltılmıştır. PCR'nin döngü koşulları, ilk PCR koşulları ile aynı olmakla birlikte 10 döngü ile sınırlandırılmıştır. PCR ürünü, AMPure boncukları ile saflaştırılmıştır. Nihai saflaştırılmış ürün, Illumina Dizileme platformları için KAPA Kütüphane Kantifikasyon kitleri protokolüne uygun olarak qPCR ile miktarlandırılmış ve TapeStation D1000 ScreenTape (Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya) kullanılarak kalite kontrolü yapılmıştır. Çift uçlu (2×300 bp) dizileme, Macrogen tarafından MiSeq™ platformu (Illumina, San Diego, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.7.4. Biyoinformatik Analizler

İzole edilen DNA örneklerinin biyoinformatik analizi için yeni nesil dizileme teknolojileri 2x300 bp paired end dizileme tercih edilmiştir. Prokaryotlar için 16S rDNA V3-V4 (515F-806R) primerleri, ökaryotlar için V9 (1380F-1510R) primerleri kullanılmıştır. Sekans sonucu elde edilen 16S ve 18S verilerinin ilk olarak FastQC aracı ile her bir aya ait

örnekteki toplam okuma sayısı, GC yüzdesi, ortalama kalitesi ve okumaların uzunluğu belirlenmiştir. 16S ve 18S verilerinin biyoinformatik analizleri gerçekleştirilmiştir. 16S ve 18S rRNA gen bölgelerinin dizilenmesinin ardından, taksonomik sınıflandırma filum, familya ve cins düzeylerinde gerçekleştirilmiş; ayrıca ısı haritası analizi ile alfa ve beta çeşitlilik analizleri uygulanmıştır.

16S (V3-V4), 18S (V4F-V4R) ve 18S (V9F-V9R) dizileme örnekleri, QIIME 2 (Bolyen vd., 2019) (2024.5 sürümü) metagenomik analiz hattı kullanılarak ayrı ayrı analiz edilmiştir. Okuma kalitesinin düzeltilmesinin ardından, bir Amplikon Dizi Varyantı (ASV) Tablosu (QIIME 2’de "feature table" olarak adlandırılır) oluşturulmuş ve taksonomik analizde kullanılmıştır. Dizi varyantlarının taksonomik sınıflandırılması için GreenGenes (GG) veritabanı (2022.10 sürümü) (McDonald vd., 2024) ve Protist Ribozomal Referans Veritabanı (PR2) (Guillou vd., 2013) kullanılmıştır. QIIME 2’nin Scikit-learn tabanlı naif Bayes sınıflandırıcısı ile gerçekleştirilen bu süreçte, 16S örneklerinin taksonomik sınıflandırılması için GreenGenes veritabanı, 18S örneklerinin sınıflandırılması için ise PR2 veritabanı tercih edilmiştir. Yaygın olarak kullanılan bir diğer veritabanı olan SILVA (16S/18S SSU- küçük alt birim) ise analiz sürecinde, birçok özelliğe taksonomi atayamadığı için kullanılamamıştır. Daha sonra, örneklerde tespit edilen her taksonun sayısal verileri, QIIME 2’de bulunan "relative-frequency" yöntemi ile bağıl bolluklara dönüştürülmüştür. Bu yöntemde, her taksonun ham sayısı, o örnekte bulunan tüm taksonların toplam sayısına bölünerek bağıl bolluk değeri hesaplanmıştır.

Çeşitlilik analizleri, QIIME 2 yazılımında çekirdek ölçüm filogenetik yöntemi kullanılarak hesaplanmış ve ggplot2 R paketi (3.4.2) (Wickham, 2016) ile görselleştirilmiştir. Shannon’ın çeşitlilik endeksi hem tür hem de taksonların göreceli bolluğunu tahmin eden bir ölçüttür. Richness, her örnekte gözlemlenen özelliklerin mutlak sayısını temsil ederken, Faith’in Filogenetik Çeşitliliği (PD), gözlemlenen özellikler arasındaki filogenetik ilişkileri de dikkate alan topluluk zenginliğinin nitel bir ölçüsüdür. Evenness ise her örnekte takson bolluğunun ne kadar eşit dağıldığını gösteren bir ölçüt olarak değerlendirilmiştir.

Beta çeşitliliği, örnekler arası çeşitliliği tanımlar ve örnekler arasındaki mikrobiyal topluluklardaki farklılığı değerlendirir. Bu analiz için, bolluk verilerine dayalı topluluk

farklılığının nicel bir ölçüsü olan Bray-Curtis farklılığı metriği, QIIME 2'deki çekirdek-ölçümler-filogenetik yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Örnekler arasındaki farklılıkları görselleştirmek için ggplot2 kullanılarak Ana Koordinat Analizi (PCoA) grafikleri oluşturulmuştur.

3.8. İstatistiksel Analizler

Fizikokimyasal analizler ve mikrobiyal parametreler arasındaki farklılıkların önem düzeyini belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış, gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığını tespit etmek için ise Least Significant Difference (LSD) ve TUKEY testleri kullanılmıştır. Bu analizler, MINITAB Statistical Software programı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları, aynı harfler ise benzer grupları ifade etmektedir (Montgomery, 2017). Parametreler arasındaki pozitif ve negatif ilişkilerin derecesini belirlemek için Pearson Korelasyon Katsayısı hesaplanmış ve bu analizler de MINITAB Statistical Software programı kullanılarak yürütülmüştür (Field, 2024).

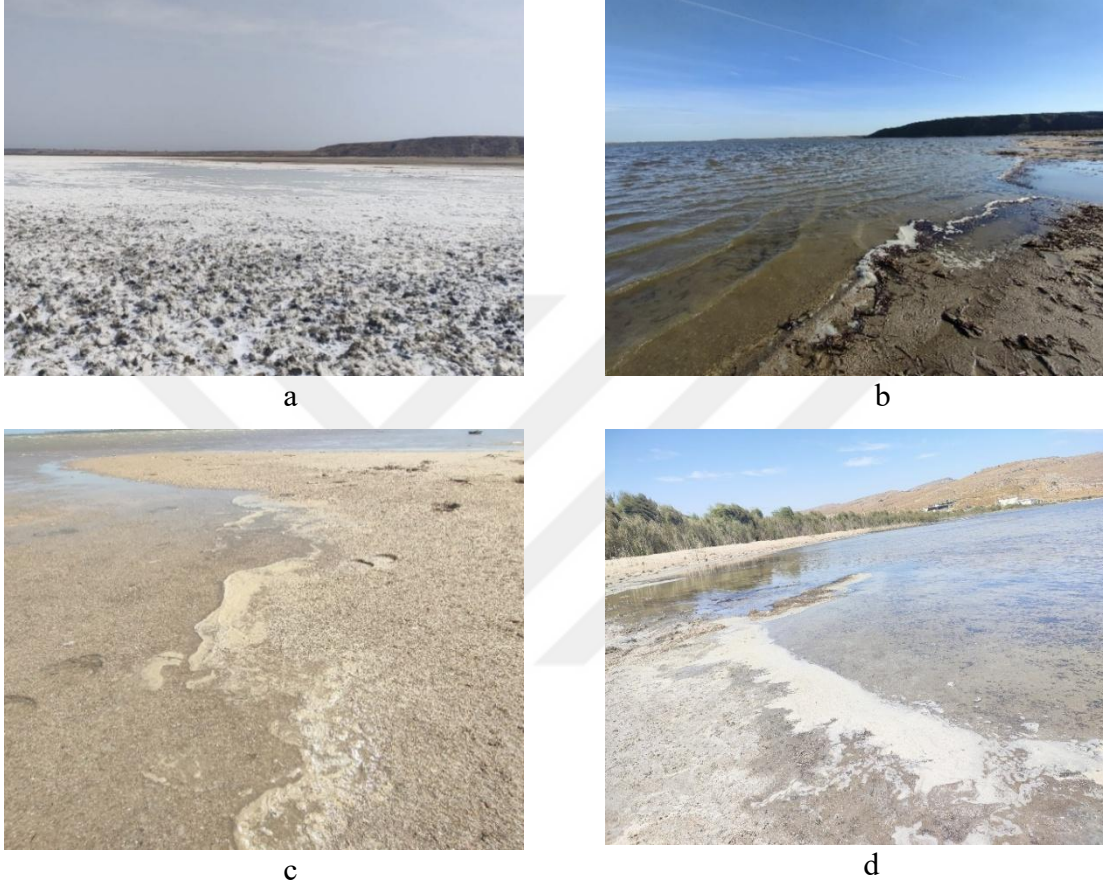
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

Arazi çalışmaları Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24 tarihlerinde gerçekleştirilmiş olup, bu dönemlerin seçimi lagün ekosistemindeki mevsimsel değişimlerin izlenebilmesi amacıyla planlanmıştır. Söz konusu tarihler, yılın dört temel mevsimsel periyodunu temsil etmekte ve lagün sisteminde sıcaklık, yağış, buharlaşma, tuzluluk, biyolojik üretkenlik ve antropojenik etkiler gibi çevresel parametrelerin zaman içinde nasıl farklılık gösterdiğini değerlendirmek için uygun aralıkları oluşturmaktadır.

Eyl/23, yaz mevsiminin hemen sonuna denk geldiği için, yüksek sıcaklıkların ve buharlaşmanın etkisiyle su seviyelerinde azalma ve tuzluluk oranında artış gözlemlenmiştir. Bu dönemde özellikle yüzey sularında konsantre hale gelen bazı fizikokimyasal parametreler ve kötü koku gibi belirtiler, kirlilik varlığına işaret etmiştir. Ayrıca, çevredeki insan faaliyetlerine bağlı olarak lagünde gözle görülür tortu birikimleri ve renk değişimleri dikkati çekmiştir. Ara/23, kış mevsimini temsil etmekte olup, daha düşük sıcaklık ve artan yağış miktarları nedeniyle lagün suyunda seyreltme etkisi oluşmuştur. Bu süreçte, önceki döneme kıyasla tuzluluk oranlarında düşüş ve su seviyelerinde yükselme tespit edilmiştir. Kirlilik açısından ise bu dönemde özellikle kıyısız bölgelerde yağışlarla taşınan yüzey akışlarının etkisiyle bulanıklık artmıştır. Nis/24 örnekleme, lagün ekosisteminde ilkbahar mevsimine özgü biyolojik canlanmanın başladığını açıkça ortaya koymuştur. Sahada yapılan gözlemler sırasında, özellikle sıcaklığın artması ile birlikte mikrobiyal faaliyetlerin hız kazandığı, su yüzeyinde ve özellikle sediment bölgelerinde biyolojik üretimin yoğunlaştığı belirlenmiştir. Özellikle II. ve III. istasyon gibi mandıra ve kaz çiftliğine yakın alanlarda, su yüzeyinde dikkat çekici şekilde köpüklenme gözlenmiştir. Bu durum, hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklı organik atıkların ve olası ilaç kalıntılarının lagüne taşındığını düşündürmektedir. Bu gözlemler, lagün çevresindeki tarımsal ve hayvancılık faaliyetlerinin etkilerinin, özellikle ilkbahar döneminde, su kalitesi ve mikrobiyal yapı üzerinde doğrudan etkili olabileceğini göstermektedir. Tem/24 arazi gözlemlerine göre, yaz mevsiminin etkisiyle sıcaklık önemli ölçüde artmış, buna bağlı olarak buharlaşma hızlanmış ve lagün içerisindeki su seviyesi gözle görülür şekilde azalmıştır. Bu durumun, özellikle kapalı havzaya sahip alanlarda tuzluluk oranının belirgin şekilde artmasına neden olduğu düşünülmektedir. Su yüzeyinde yer yer beyazımsı köpüklenmelerin yanı sıra, sarı-yeşil tonlarında renk

değişimleri de fark edilmiştir. Özellikle I ve III. istasyon gibi plajların ve hayvancılığın daha yoğun olduğu bölgelere yakın noktalarda, koku ve yosun birikimi daha belirgin hale gelmiştir. Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24 dönemlerinde Gökçeada Tuz Gölü Lagünü’nde gerçekleştirilen arazi çalışmalarına ait görseller Şekil 6’da gösterilmiştir.



Şekil 6. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü’nde gerçekleştirilen arazi çalışmalarına ait görseller, a: Eyl/23, b: Ara/23, c: Nis/24, d: Tem/24

4.1. Su Numunelerinin Fizikokimyasal Analiz ve Bakteriyolojik Parametre Sonuçları

Çalışmada elde edilen sıcaklık verileri incelendiğinde, mevsimsel değişimlere bağlı olarak önemli dalgalanmalar gözlemlenmiştir. Eyl/23 ve Tem/24’te, sıcaklık değerlerinin 29,8–32,5°C arasında değiştiği belirlenmiş ve bu durum suyun fizikokimyasal yapısını etkileyebilecek bir faktör olarak değerlendirilmiştir. Ara/23’te ise sıcaklık değerlerinin 11,9°C olduğu tespit edilmiştir. pH değerleri incelendiğinde, Eyl/23’te 4,88–5,24 arasında

değişen değerlerin Kıta İçi Su Kalitesi Yönetmeliği'ne göre Sınıf IV kategorisinde yer aldığı belirlenmiştir. Bu durum suyun yüksek asidik karakter taşıdığını göstermektedir. Ancak Ara/23 itibarıyla pH değerleri 7,00–7,84 arasında değişmiş ve Sınıf I seviyesine yükselmiştir. Nis/24 ve Tem/24'te ise pH değerleri 6,20–6,76 arasında kaydedilmiş olup, Sınıf II sınırları içinde kaldığı görülmüştür (Tablo 4). ÇO seviyeleri Ara/23'te 12,66–20,34 mg/L aralığında olduğu tespit edilmiş ve bu değerlerin Sınıf I seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Ancak Eyl/23'te ÇO seviyeleri 5,15–7,13 mg/L arasında değişmiş ve Sınıf III kategorisine girdiği görülmüştür. Tem/24'te ise ÇO miktarının 7,47–8,19 mg/L arasında değiştiği ve Sınıf II seviyesinde gruplandırılmıştır. Eİ açısından değerlendirildiğinde, en yüksek değerlerin Tem/24 döneminde kaydedildiği (138,1–144,8 mS/cm) belirlenmiştir. Eyl/23 ve Tem/24'te bu değerlerin Sınıf III seviyesinde olduğu ve iyonik bileşenlerin yoğun olduğunu gösterdiği tespit edilmiştir. Ara/23 ve Nis/24'te ise iletkenlik değerleri 49,5–55,4 mS/cm arasında değişmiş ve Sınıf II seviyesine gerilediği anlaşılmıştır (Tablo 4). BOİs değerleri açısından değerlendirildiğinde, en yüksek değerlerin 91 mg/L ile Tem/24'te IV. istasyonda olduğu ve bu durumun Sınıf IV olarak sınıflandırıldığı belirlenmiştir. Eyl/23'te 35–70 mg/L arasında değişen BOİs seviyelerinin Sınıf III olarak değerlendirildiği görülmüştür. Ara/23 ve Nis/24'te ise BOİs değerlerinin 25,7–37,5 mg/L arasında olduğu ve bu dönemde Sınıf II seviyesinde kaldığı belirlenmiştir. AKM seviyeleri açısından incelendiğinde, en yüksek değerlerin Eyl/23'te (0,4761 mg/L) kaydedildiği ve bu değerlerin Sınıf I seviyesine karşılık geldiği anlaşılmıştır. Benzer şekilde Ara/23 ve Nis/24'te ise AKM değerlerinin 0,013–0,1391 mg/L arasında değiştiği ve Sınıf I seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Fizikokimyasal parametreler mevsimsel değişimlere bağlı olarak dalgalanmalar göstermiştir. Özellikle Eyl/23 ve Tem/24'te sıcaklık, Eİ, BOİs ve AKM seviyelerinde artış gözlenmiş ve bu durum su kalitesinin düştüğünü göstermiştir (Tablo 4).

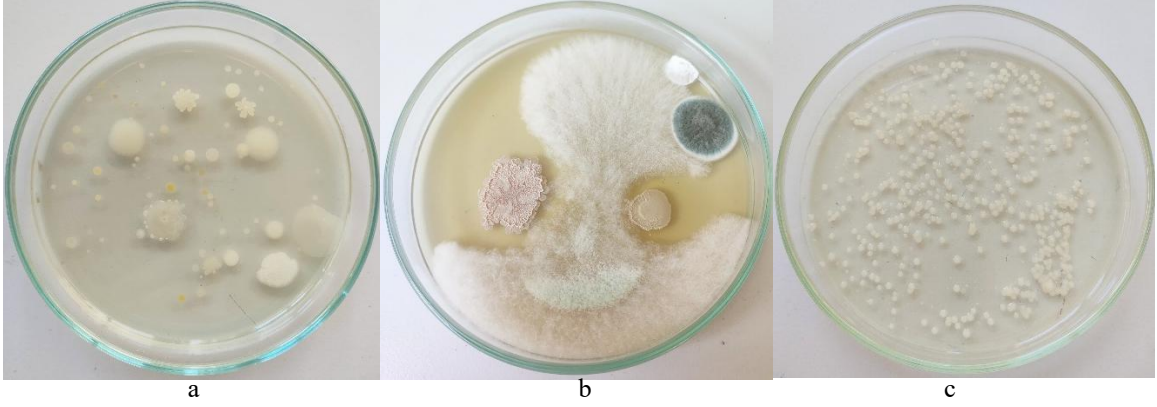
Tablo 4

Su numunelerinin fizikokimyasal parametre sonuçları

İstasyonlar	Parametreler					
	Sıcaklık (°C)	pH	ÇO (mg/L)	Eİ (ms/cm)	BOİ ₅ (mg/L)	AKM (mg/L)
I.						
Eyl/23	31,9 (IV)	4,88 (IV)	6,32 (II)	110,9 (III)	56 (IV)	0,4761
Ara/23	12,2 (I)	7,00 (I)	13,02 (I)	49,5 (II)	35,6 (IV)	0,1391
Nis/24	20,2 (I)	6,76 (I)	8,41 (I)	54,5 (II)	37,5 (IV)	0,0162
Tem/24	31,3 (IV)	6,20 (III)	7,68 (II)	144,8 (III)	55 (IV)	0,1435
II.						
Eyl/23	32,3 (IV)	4,92 (IV)	5,86 (II)	118,2 (III)	37,5 (IV)	0,4607
Ara/23	14,6 (I)	7,84 (I)	20,34 (I)	54,3 (II)	30,3 (IV)	0,0902
Nis/24	21,2 (I)	6,67 (I)	9,02 (I)	55,4 (II)	36 (IV)	0,013
Tem/24	29,8 (III)	6,28 (III)	7,63 (II)	138,3 (III)	67 (IV)	0,0644
III.						
Eyl/23	31,7 (IV)	5,23 (IV)	7,13 (II)	103,0 (III)	35 (IV)	0,344
Ara/23	13,9 (I)	7,40 (I)	12,66 (I)	52,5 (II)	25,7 (IV)	0,1224
Nis/24	19,7 (I)	6,33 (III)	8,60 (I)	54,3 (II)	49 (IV)	0,0329
Tem/24	30,7 (IV)	6,32 (III)	7,47 (II)	139,2 (III)	74 (IV)	0,0445
IV.						
Eyl/23	32,5 (IV)	5,24 (IV)	5,15 (II)	122,0 (III)	70 (IV)	0,4668
Ara/23	16,3 (I)	7,41 (I)	18,59 (I)	52,0 (II)	62,1 (IV)	0,1126
Nis/24	23,1 (I)	6,35 (III)	9,19 (I)	53,6 (II)	61 (IV)	0,1121
Tem/24	30,8 (IV)	5,70 (IV)	8,19 (I)	138,1 (III)	91 (IV)	0,0693

Eyl: Eylül, Ara: Aralık, Nis: Nisan, Tem: Temmuz, ÇO: Çözünmüş oksijen, Eİ: Elektriksel iletkenlik, BOİ₅: Biyolojik oksijen ihtiyacı, AKM: Askıda katı madde miktarı

Bakteriyolojik parametreler, su kalitesinin izlenmesinde kritik öneme sahiptir. Verilen parametrelerin minimum ve maksimum değerleri bakımından yapılan incelemeler, her bir istasyon ve örnekleme dönemi için değişken sonuçlar ortaya koymaktadır. TCB sayımı (kob/mL) değerleri 37°C’de minimum 103×10^2 kob/mL (II. istasyon, Eyl/23) ve maksimum 267×10^3 kob/mL (IV. istasyon, Ara/23) arasında değişmiştir. 25°C’de, minimum 53×10^2 kob/mL (IV. istasyon, Nis24) ve maksimum 55×10^4 kob/mL (I. istasyon, Tem/24) kaydedilmiştir. 4°C’de ise minimum 67×10^2 kob/mL (IV. istasyon, Tem/24) ve maksimum 294×10^4 kob/mL (III. istasyon, Ara/23) olarak bulunmuştur (Şekil 7).



Şekil 7. Su numunelerine ait TCB sayımı, a: Mezofil, b: Maya/küf, c: Psikrofil.

TK değerlerine bakıldığında, en düşük değer 2×10^1 EMS/100 mL (I. istasyon, Ara/23) ve en yüksek değer 11×10^3 EMS/100 mL (I. istasyon, Tem/24; II. istasyon Eyl/23 ve Nis/24) olarak kaydedilmiştir. FK, minimum 0 (I. ve II. istasyonlar, Ara/23) ve maksimum 92×10^2 EMS/100 mL (IV. istasyon, Nis/24) arasında değişim göstermiştir. FE, minimum 1×10^2 EMS/100 mL (I. istasyon, Eyl/23) ve maksimum 11×10^3 EMS/100 mL (I. istasyon, Tem/24 ve III. istasyon Nis/24) olarak kaydedilmiştir (Tablo 5). Elde edilen bulgular doğrultusunda istasyonlardaki TK ve TF değerleri Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'ne (SKKY) göre değerlendirilerek kalite sınıfları belirlenmiştir. Bu sınıflar, yüzeysel suların mikrobiyolojik kalite durumunu yansıtmaktadır (Tablo 5).

Tablo 5

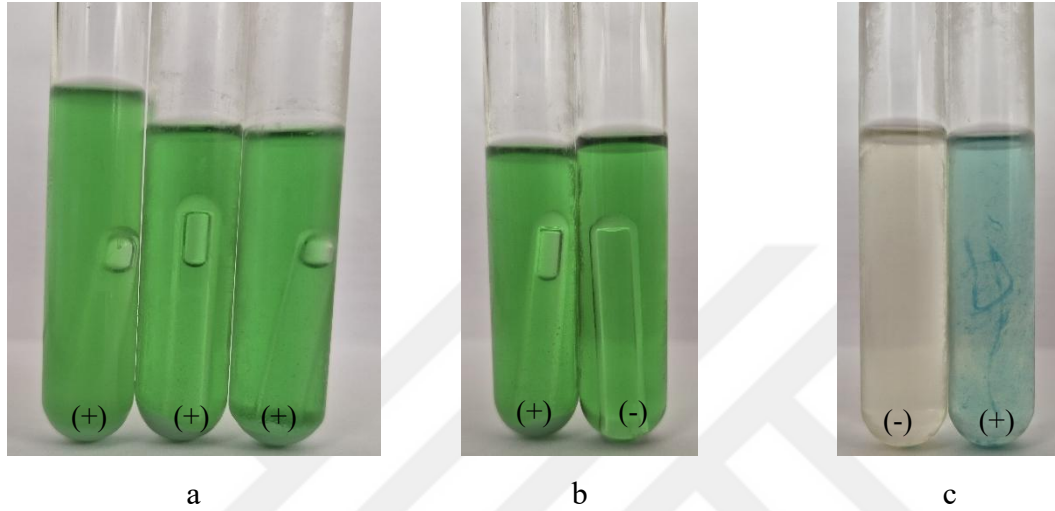
Su numunelerinin bakteriyolojik parametre sonuçları

İstasyonlar	Parametreler					
	TK	FK	FE	Toplam Canlı (kob/mL)		
	(EMS/100 mL)	(EMS/100 mL)	(EMS/100 mL)	TMB	Maya/Küf	TPB
I.						
Eyl/23	43x10 ¹ (II)	11x10 ¹ (II)	1x10 ²	245x10 ³	32x10 ³	79x10 ³
Ara/23	2x10 ¹ (I)	0 (I)	12x10 ¹	165x10 ²	2x10 ⁴	101x10 ²
Nis/24	93x10 ¹ (II)	36 (I)	75x10 ¹	131x10 ³	67x10 ³	136x10 ²
Tem/24	11x10 ³ (II)	2x10 ² (II)	11x10 ³	103x10 ³	55x10 ⁴	121x10 ³
II.						
Eyl/23	11x10 ³ (II)	43x10 ¹ (III)	74	103x10 ²	63x10 ²	39x10 ³
Ara/23	74 (I)	0 (I)	36	143x10 ³	266x10 ²	183x10 ²
Nis/24	11x10 ³ (II)	14x10 ¹ (II)	75x10 ¹	201x10 ²	135x10 ²	163x10 ²
Tem/24	2x10 ² (II)	74 (II)	21x10 ²	207x10 ²	297x10 ²	97x10 ³
III.						
Eyl/23	12x10 ¹ (II)	8x10 ¹ (II)	46x10 ²	157x10 ²	206x10 ²	177x10 ²
Ara/23	46x10 ² (II)	46x10 ² (III)	28x10 ¹	242x10 ³	31x10 ⁴	294x10 ⁴
Nis/24	46x10 ² (II)	46x10 ² (III)	11x10 ³	176x10 ³	157x10 ³	81x10 ³
Tem/24	14x10 ¹ (II)	21x10 ² (III)	15x10 ¹	102x10 ³	167x10 ²	206x10 ²
IV.						
Eyl/23	75x10 ¹ (II)	29x10 ² (III)	11x10 ¹	122x10 ²	78x10 ²	231x10 ²
Ara/23	11x10 ¹ (II)	36 (II)	2x10 ²	267x10 ³	221x10 ³	206x10 ³
Nis/24	92 (I)	92 (II)	74	119x10 ²	53x10 ²	143x10 ²
Tem/24	11x10 ¹ (II)	28x10 ¹ (III)	43x10 ¹	221x10 ²	108x10 ²	67x10 ²

Eyl: Eylül, Ara: Aralık, Nis: Nisan, Tem: Temmuz, TK: Toplam koliform, FK: Fekal koliform, FE: Fekal enterokok, TMB: Toplam mezofil bakteri, TPB: Toplam psikrofil bakteri

Genel olarak, TK değerleri çoğunlukla II. sınıf su kalitesine işaret etmektedir; bu durum suyun orta düzeyde kirlilik içerdiğini ve kontrollü kullanım gerektirdiğini göstermektedir. Ancak özellikle I. ve II. istasyonlarda, Tem/24'te gözlenen 11x10³ EMS/100 mL gibi yüksek değerler, II. sınıf sınırlarını zorlayarak, kirlenme eğiliminin arttığını ortaya koymaktadır. II. istasyonda Eyl/23 ve Nis/24 dönemlerinde de benzer şekilde yüksek TK değerleri kaydedilmiş olup, bu da çevredeki tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan yüzey akışı, gübre ve pestisit kalıntılarının yağışlarla taşınarak lagüne ulaşması ve sediment hareketliliği gibi lokalize kirlilik kaynaklarının etkisini ortaya koymaktadır (Cabral, 2010). FK sonuçlarına göre ise kalite sınıfları daha değişkendir. Pek çok ölçüm II. sınıf sınırlarında kalmakla birlikte, II. ve III. istasyonlarda özellikle Eyl/23, Nis/24 ve Tem/24 tarihlerinde tespit edilen değerler III. sınıf su kalitesine işaret etmektedir. Bu durum, fekal kaynaklı kirleticilerin varlığını ve halk sağlığı açısından potansiyel riskleri gündeme getirmektedir.

Bazı dönemlerde gözlenen I. sınıf su kalitesi (I. ve II. istasyonda Ara/23 FK 0 olarak ölçülmüş), suyun yüksek kalitede ve insan teması açısından güvenli olduğunu göstermektedir (Şekil 8). Ancak bu durum dönemsel olup, diğer sezonlarda tespit edilen artışlar dikkate alındığında, mevsimsel etkiler ve antropojenik baskılarla birlikte mikrobiyolojik kalite durumunun dalgalandığı anlaşılmaktadır.



Şekil 8. Su numunelerinin bakteriyolojik parametrelerine ait görseller, a: TK, b: FK, c: FE.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan su numunelerine ilişkin Pearson Korelasyon Analizi gerçekleştirilmiş ve su kalitesini belirleyen fizikokimyasal ve mikrobiyolojik parametreler arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Elde edilen korelasyon katsayıları, istasyonlar arasındaki değişimlerin nedenlerini anlamada önemli bilgiler sunmaktadır. Korelasyon analizinde, $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı olan değerler (*) ile işaretlenmiş ve yorumlanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü su numunelerine ait korelasyon verileri

Parametreler	Sıcaklık (°C)	pH	ÇO (mg/L)	Eİ (ms/cm)	BOİ ₅ (mg/L)	AKM (mg/L)	TK (EMS/100 mL)	FK (EMS/100 mL)	FE (EMS/100 mL)	TMB (kob/mL)	Maya/Küf (kob/mL)	TPB (kob/mL)
Sıcaklık (°C)	1	-0,312	0,415	0,573*	0,267	-0,125	-0,416	-0,381	-0,453	0,289	0,315	0,401
pH		1	-0,614*	-0,692*	-0,382	-0,287	0,526*	0,438	0,495	-0,341	-0,372	-0,482
ÇO (mg/L)			1	0,351	-0,489	-0,415	-0,597*	-0,524*	-0,568*	0,217	0,435	-0,453
Eİ (ms/cm)				1	0,674*	0,514*	-0,325	-0,289	-0,432	0,567*	0,495	0,674*
BOİ ₅ (mg/L)					1	0,427	-0,438	-0,394	-0,517*	0,287	0,264	0,538*
AKM (mg/L)						1	-0,514*	-0,473	-0,412	0,378	0,329	0,487
TK (EMS/100 mL)							1	0,843*	0,769*	-0,487	-0,532*	-0,389
FK (EMS/100 mL)								1	0,902*	-0,431	-0,498	-0,317
FE (EMS/100 mL)									1	-0,397	-0,438	-0,419
TMB (kob/mL)										1	0,713*	0,692*
Maya/Küf (kob/mL)											1	0,719*
TPB (kob/mL)												1

ÇO: Çözülmüş oksijen, Eİ: Elektriksel iletkenlik, BOİ₅: Biyolojik oksijen ihtiyacı, AKM: Askıda katı madde miktarı, TK: Toplam koliform, FK: Fekal koliform, FE: Fekal enterokok, TMB: Toplam mezofil bakteri, TPB: Toplam psikrofil bakteri

Çalışmada, Eİ ile sıcaklık ($r = 0,573$) ve BOİ₅ ($r = 0,674$) arasında pozitif yönlü anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu durum, sıcaklık artışıyla birlikte buharlaşmanın da artması sonucu suyun iyon konsantrasyonunun yükseldiğini ve böylece Eİ değerlerinin arttığını göstermektedir. Aynı zamanda, organik madde yükünün artmasıyla birlikte BOİ₅ ve çözünmüş iyon miktarının yükselmesi, Eİ ile BOİ₅ arasında gözlemlenen pozitif korelasyonu açıklamaktadır. Organik maddelerin ayrışması sonucu oluşan inorganik bileşikler, elektriksel iletkenlik üzerinde doğrudan etkili olmaktadır (Wetzel, 2001). Benzer şekilde, pH ile Eİ ($r = -0,692$) arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon belirlenmiştir. Özellikle, tarımsal ve endüstriyel atıklarla kirlenmiş sularda yüksek iletkenlik seviyelerinin pH değerini düşürdüğü önceki araştırmalarda da gösterilmiştir (Wetzel, 2001). BOİ₅ seviyesinin artması, sudaki biyolojik oksijen ihtiyacının arttığını gösterdiğinden, çözünmüş oksijenin azalması beklenen bir durumdur (Boyd ve Tucker, 1998).

Mikrobiyolojik parametreler arasında belirgin ilişkiler gözlemlenmiştir. Özellikle TK ile FK arasında güçlü korelasyonlar tespit edilmiştir. TK ile FK ($r = 0,843$) ve FK ile FE ($r = 0,902$) arasında yüksek pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu bulgular, fekal kirliliğin belirli noktalarda daha yoğun olduğunu göstermekte olup, insan ve hayvan kaynaklı atıkların lagün ekosistemine etkisinin yüksek olabileceğine işaret etmektedir (Ashbolt, 2004; WHO, 2022).

Mikrobiyolojik parametreler ile fizikokimyasal faktörler arasındaki ilişkilere bakıldığında, TK ile ÇO arasında ($r = -0,597$) negatif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, fekal kontaminasyonun olduğu noktalarda organik maddenin bakteriler tarafından parçalanması sonucu oksijen tüketiminin arttığını göstermektedir (Leclerc vd., 2001). Benzer şekilde, FE ile BOİ₅ arasında negatif bir korelasyon bulunması ($r = -0,517$) fekal kirlenmenin olduğu bölgelerde BOİ'nin arttığını göstermektedir. Bu durum, özellikle göl ve lagün ekosistemlerinde, dışkı kaynaklı kirleticilerin biyolojik ayrışması sürecinde oksijen seviyelerinin düşmesine yol açtığını gösteren önceki çalışmalarla da örtüşmektedir (Edberg vd., 2000). TPB ile BOİ₅ ($r = 0,538$) ve TMB ile maya/küf ($r = 0,713^*$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (Tablo 6). Bu durum, yüksek organik madde içeriğine sahip bölgelerde mikrobiyal yükün arttığını göstermektedir. Bu sonuç, daha önce yapılan çalışmalarda, besin maddesi konsantrasyonunun artışı ile mikrobiyal büyüme arasında güçlü bir bağlantı olduğunu gösteren bulgularla paralellik göstermektedir (Pecher vd., 2019). TPB

ile maya/küf arasında pozitif korelasyon ($r = 0,719$) belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda gelişen bakteriler ve küf sporlarının, su ortamında uzun süre hayatta kalabilmesi, organik madde yükünün fazla olduğu bölgelerde mikrobiyal aktivitenin arttığını göstermektedir (Boyd, 2015).

Dört farklı istasyondan alınan su numuneleri üzerinde gerçekleştirilen LSD testi ve Tukey testi sonuçlarına göre istasyonlar arasındaki değişkenlik analiz edilmiştir. Elde edilen veriler, çalışma alanındaki su kalitesinin belirli istasyonlarda değişiklik gösterdiğini ve bu farklılıkların su kütlesine karışan atık sular, tarımsal akışkanlar, jeolojik yapı ve çevresel faktörler ile ilişkilendirilebileceğini göstermektedir (Tablo 7). İstatistiksel analizlerde $p < 0,05$ değeri, anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir. Bu, istasyonlar arasındaki farkın rastgele bir değişimden kaynaklanmadığını, belirli çevresel veya antropojenik faktörlerin etkisiyle oluştuğunu göstermektedir. $p > 0,05$ olan değişkenler ise anlamsız (istatistiksel olarak farklı olmayan) parametreler olarak değerlendirilmiştir. Bu durum, değişkenin tüm istasyonlarda benzer dağılım gösterdiğini veya değişimin rastgele olabileceğini göstermektedir. Tukey Testine göre a fark gruplarından birini temsil etmektedir (Tablo 7).

Tablo 7

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü su numunelerinde saptanan kirlilik parametrelerinin istasyonlara göre Tukey ve LSD testlerine ait fark grupları

Parametreler	İstasyonlar (Ort $\pm$ SS)				Ortalama	
	I.	II.	III.	IV.		
Sıcaklık (°C)	23,9 ^a $\pm$ 1,2 (I)	24,5 ^a $\pm$ 1,8 (I)	24,0 ^a $\pm$ 1,3 (I)	25,7 ^a $\pm$ 2,0 (II)	24,53 ^a $\pm$ 1,6 (I)	Ft > Fh, qt > qh
pH	6,21 ^a $\pm$ 0,5 (III)	6,43 ^a $\pm$ 0,7 (III)	6,32 ^a $\pm$ 0,6 (III)	6,18 ^a $\pm$ 0,4 (III)	6,29 ^a $\pm$ 0,55 (III)	Ft > Fh, qt > qh
ÇO (mg/L)	8,86 ^a $\pm$ 1,4 (I)	10,71 ^a $\pm$ 1,7 (I)	8,96 ^a $\pm$ 1,2 (I)	10,28 ^a $\pm$ 1,6 (I)	9,70 ^a $\pm$ 1,5 (I)	Ft > Fh, qt > qh
Eİ (ms/cm)	89,92 ^a $\pm$ 2,3 (III)	91,55 ^a $\pm$ 2,8 (III)	87,25 ^a $\pm$ 2,1 (III)	91,42 ^a $\pm$ 2,6 (III)	90,04 ^a $\pm$ 2,45 (III)	Ft > Fh, qt > qh
BOİ₅ (mg/L)	46,02 ^a $\pm$ 4,2 (IV)	42,7 ^a $\pm$ 3,8 (IV)	46,37 ^a $\pm$ 4,5 (IV)	71,02 ^a $\pm$ 5,1 (IV)	51,03 ^a $\pm$ 4,4 (IV)	IV. İstasyon (p < 0,05)
AKM (mg/L)	0,1937 ^a $\pm$ 0,02 (I)	0,157 ^a $\pm$ 0,01 (I)	0,135 ^a $\pm$ 0,01 (I)	0,1902 ^a $\pm$ 0,02 (I)	0,169 ^a $\pm$ 0,015 (I)	Ft > Fh, qt > qh
TK (EMS/100 mL)	3095 ^a $\pm$ 450 (II)	5568,5 ^a $\pm$ 680 (II)	2365 ^a $\pm$ 400 (II)	265,5 ^a $\pm$ 200 (I)	2823 ^a $\pm$ 432 (II)	II. İstasyon (p < 0,05)
FK (EMS/100 mL)	86,5 ^a $\pm$ 8,4 (II)	161 ^a $\pm$ 10,2 (II)	2845 ^a $\pm$ 210 (IV)	827 ^a $\pm$ 50 (II)	980 ^a $\pm$ 90 (III)	Ft > Fh, qt > qh
FE (EMS/100 mL)	2992,5 ^a $\pm$ 350	740 ^a $\pm$ 90	4007,5 ^a $\pm$ 420	203,5 ^a $\pm$ 40	1736,38 ^a $\pm$ 225	Ft > Fh, qt > qh
TMB (kob/mL)	123875 ^a $\pm$ 12500	48525 ^a $\pm$ 4800	133925 ^a $\pm$ 1280	78300 ^a $\pm$ 7600	96156 ^a $\pm$ 9400	Ft > Fh, qt > qh
Maya/Küf (kob/mL)	167250 ^a $\pm$ 15500	19025 ^a $\pm$ 1800	126075 ^a $\pm$ 1200	61225 ^a $\pm$ 6000	93093 ^a $\pm$ 9750	Ft > Fh, qt > qh
TPB (kob/mL)	55925 ^a $\pm$ 5000	42650 ^a $\pm$ 4000	764825 ^a $\pm$ 7200	62525 ^a $\pm$ 6000	231231 ^a $\pm$ 21500	III. İstasyon (p < 0,05)

*Tukey Testine göre a fark gruplarından birini temsil etmektedir. Ft: Tablo F değeri ($\alpha = 0,05$), Fh: Hesaplanan F değeri, qt: Tablo q değeri ($\alpha = 0,05$), qh: Hesaplanan q değeri.

Çalışmada, su kalitesi fizikokimyasal ve mikrobiyolojik parametreler açısından değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren parametreler, istasyonlar arasında önemli değişimler olduğunu ve çevresel faktörler veya antropojenik etkiler nedeniyle belirli bölgelerin diğerlerinden farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. BOİ₅, IV. istasyonda diğer istasyonlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu durum, bölgedeki tarımsal ve hayvansal kalıntıların yüzey sularının etkisi ile lagüne taşınması veya yeraltı suyundaki tuz konsantrasyonunun artışıyla ilişkilendirilebilir (Kirchman, 2018). Benzer şekilde, TK II. istasyonda diğer istasyonlardan anlamlı şekilde farklı bulunmuştur ($p < 0,05$). Koliform bakteriler, özellikle insan ve hayvan kaynaklı dışkı kirliliğini gösteren önemli göstergelerdir (Ashbolt, 2004). Bu durum, II. istasyondaki suyun insan sağlığı açısından risk taşıdığını göstermektedir. WHO, (2022), çalışma verileri ile benzer şekilde, kentsel alanlara yakın yüzme ve içme suyu kaynaklarında fekal bakterilerin yoğunluğunun arttığını rapor etmiştir.

Mikrobiyal yük açısından TPB seviyesi III. istasyonda en yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu parametrelerdeki artış, su ortamındaki organik madde konsantrasyonunun yüksek olmasıyla doğrudan ilişkilidir. Özellikle psikrofil bakterilerin III. istasyonda daha yüksek olması, bu bölgelerde sıcaklık koşullarının mikrobiyal gelişimi teşvik ettiğini göstermektedir. Su numunelerinin istatistiksel analizinde, sıcaklık, pH, ÇO, Eİ, tuzluluk ve diğer bakteriyolojik parametrelerde istasyonlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Bu durum, çalışma alanındaki su kütlesinin genel olarak benzer çevresel koşullara sahip olduğunu ve bu parametrelerin doğal süreçlerle dengelendiğini ve lagündeki biyolojik aktivitenin ve hidrodinamik süreçlerin istasyonlar arasında büyük ölçüde benzer olduğunu göstermektedir (Fowler vd., 2013).

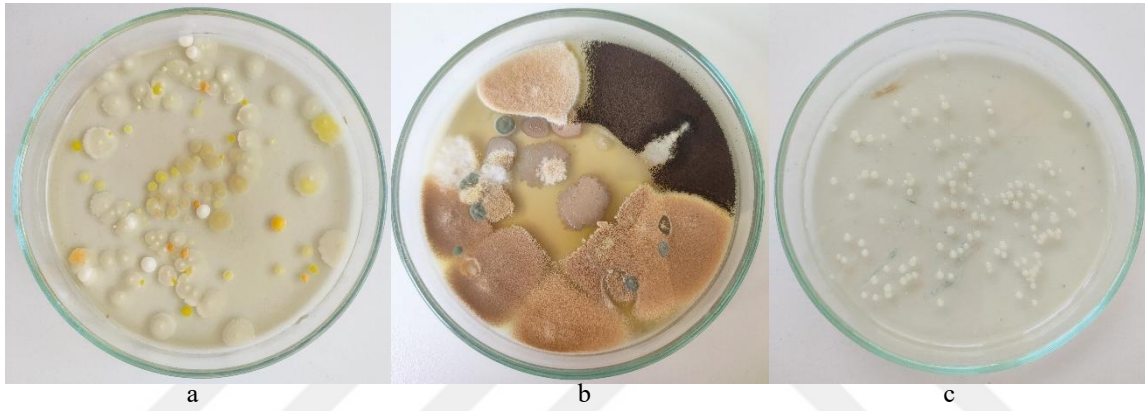
Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'ne ait dört farklı istasyonda yapılan fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler sonucunda elde edilen veriler, lagün ekosisteminin genel su kalitesi açısından önemli bulgular sunmuştur. Eİ değerleri ortalama 90,04 mS/cm olup, bu değerler SKKY kapsamında değerlendirildiğinde III. sınıf (kirli su) kalitesine işaret etmektedir. pH değerleri tüm istasyonlarda ortalama 6,29 olup, bu durum suyun hafif asidik özellik gösterdiğini ve yine III. sınıf kalite aralığında yer aldığını göstermektedir. Bu durum lagünde ciddi düzeyde organik kirlilik bulunduğuna işaret etmektedir. AKM düzeyi ise düşük bulunmuş ve I. sınıf sınır değerleri içinde yer alarak fiziksel kirliliğin nispeten düşük

olduğunu göstermiştir. Mikrobiyolojik parametreler değerlendirildiğinde ise TK ortalama 2823 EMS/100 mL ile II. sınıf (hafif kirli) düzeyde; FK ise 980 EMS/100 mL ile III. sınıfa karşılık gelmektedir. FE düzeyinin 1736 EMS/100 mL olması ise mikrobiyolojik açıdan III. ve IV. sınıf sınırlarında, dolayısıyla ciddi halk sağlığı riski oluşturabilecek düzeyde kirlilik bulunduğunu göstermektedir. Bu bulgular ışığında, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün genel su kalitesinin fiziksel ve kimyasal olarak yer yer orta, mikrobiyolojik ve organik parametreler açısından ise yer yer çok kirli seviyelerde olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında FK ve FE parametrelerinin birlikte analiz edilmesi, lagün ekosisteminin mikrobiyolojik kirlilik düzeyinin daha doğru ve güvenilir bir şekilde değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. FK, özellikle insan ve sıcakkanlı hayvanların dışkılarından kaynaklanan kirliliği göstermek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir gösterge mikroorganizma grubudur. Ancak tek başına FK varlığı, kirliliğin kaynağının insan/hayvan kökenli olduğunu tam olarak ortaya koymada yetersiz kalabilmektedir. Bu noktada FE, özellikle *Enterococcus* türlerini kapsayan grup, FK'ya göre çevresel stres koşullarına daha dirençli olmaları nedeniyle, dışkı kaynaklı kirliliğin daha uzun süreli göstergesi olarak kabul edilmektedir (Geldreich, 1978). Bu bağlamda, çalışmada hem FK hem de FE parametrelerinin birlikte değerlendirilmesi, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde özellikle tarım ve hayvancılığa dayalı faaliyetlerden kaynaklanabilecek mikrobiyolojik kirlilik risklerinin belirlenmesini ve bu kirliliğin kaynağına yönelik daha sağlam çevresel değerlendirmelerin yapılmasını mümkün kılmıştır.

4.2. Sediment Numunelerinin Bakteriyolojik Parametre Sonuçları

Sediment numunelerinde TMB (kob/mL) değerleri 37°C’de minimum 9×10^3 kob/mL (IV. istasyon, Tem/24) ve maksimum 276×10^4 kob/mL (I. istasyon, Ara/23) arasında değişmiştir. 25°C’de, minimum 33×10^2 kob/mL (II. istasyon, Eyl/23 ve Ara/23) ve maksimum 34×10^4 kob/mL (II. istasyon, Nis/24) kaydedilmiştir. 4°C’de ise minimum 116×10^2 kob/mL (I. istasyon, Tem/24) ve maksimum 298×10^4 kob/mL (II. istasyon, Ara/23) olarak bulunmuştur (Şekil 9).



Şekil 9. Sediment numunelerine ait TCB sayımı, a: Mezofil, b: Maya/küf, c: Psikrofil.

TK, en düşük değer 92 EMS/100 mL (III. istasyon, Ara/23) ve en yüksek değer 46×10^2 EMS/100 mL (IV. istasyon, Tem/24) olarak kaydedilmiştir. FK, minimum 36 EMS/100 mL (III. ve IV. istasyonlar, Ara/23) ve maksimum 75×10^1 EMS/100 mL (IV. istasyon, Nis/24) arasında değişim göstermiştir. FE, minimum 2×10^2 EMS/100 mL (III. istasyon, Ara/23) ve maksimum 11×10^3 EMS/100 mL (I. istasyon, Tem/24; II. ve III. istasyon Ara/23 ve Nis/24) olarak kaydedilmiştir (Tablo 8).

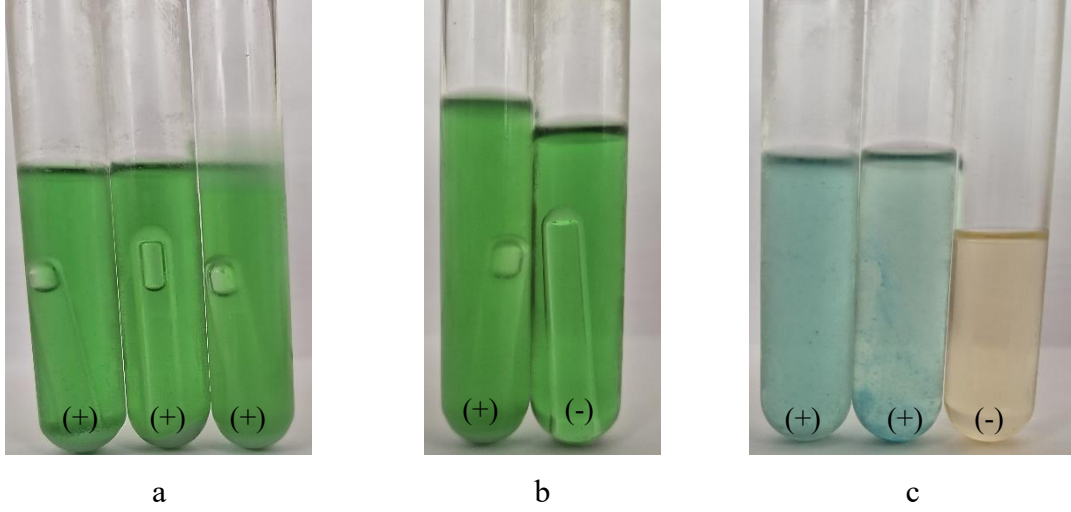
Tablo 8

Sediment numunelerinin bakteriyolojik parametre sonuçları

İstasyonlar	Parametreler					
	TK	FK	FE	Toplam Canlı (kob/mL)		
	(EMS/100 mL)	(EMS/100 mL)	(EMS/100 mL)	TMB	Maya/Küf	TPB
I.						
Eyl/23	21x10 ¹ (I)	15x10 ¹ (II)	14x10 ¹	197x10 ³	3x10 ⁴	196x10 ⁴
Ara/23	21x10 ² (I)	28x10 ¹ (III)	15x10 ²	276x10 ⁴	32x10 ³	116x10 ²
Nis/24	11x10 ¹ (I)	15x10 ¹ (II)	23x10 ¹	114x10 ⁴	115x10 ³	9x10 ⁴
Tem/24	93x10 ¹ (I)	15x10 ¹ (II)	11x10 ³	182x10 ²	46x10 ²	166x10 ²
II.						
Eyl/23	12x10 ² (I)	14x10 ¹ (II)	15x10 ²	283x10 ²	33x10 ²	272x10 ⁴
Ara/23	2x10 ² (I)	11x10 ¹ (II)	11x10 ³	136x10 ³	33x10 ²	298x10 ⁴
Nis/24	14x10 ¹ (I)	28x10 ¹ (III)	11x10 ³	133x10 ³	34x10 ⁴	108x10 ³
Tem/24	15x10 ¹ (I)	14x10 ¹ (II)	29x10 ²	207x10 ²	65x10 ³	127x10 ³
III.						
Eyl/23	28x10 ¹ (I)	8x10 ¹ (II)	24x10 ²	256x10 ⁴	34x10 ²	212x10 ³
Ara/23	92(I)	36(II)	2x10 ²	113x10 ³	157x10 ³	254x10 ²
Nis/24	14x10 ¹ (I)	21x10 ¹ (III)	43x10 ¹	14x10 ⁴	49x10 ³	131x10 ³
Tem/24	15x10 ² (I)	28x10 ¹ (III)	15x10 ²	97x10 ²	44x10 ²	47x10 ³
IV.						
Eyl/23	28x10 ¹ (I)	14x10 ¹ (II)	15x10 ²	203x10 ³	36x10 ³	79x10 ⁴
Ara/23	15x10 ¹ (I)	36(II)	11x10 ³	257x10 ⁴	296x10 ³	221x10 ⁴
Nis/24	75x10 ¹ (I)	75x10 ¹ (III)	11x10 ³	43x10 ³	95x10 ³	38x10 ³
Tem/24	46x10 ² (I)	2x10 ² (II)	15x10 ¹	9x10 ³	37x10 ³	246x10 ²

Eyl: Eylül, Ara: Aralık, Nis: Nisan, Tem: Temmuz, TK: Toplam koliform, FK: Fekal koliform, FE: Fekal enterokok, TMB: Toplam mezofil bakteri, TPB: Toplam psikrofil bakteri

I. istasyon TK parametresi Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24 dönemlerinde I. sınıf kaliteye karşılık gelmektedir. FK ise Eyl/23, Nis/24 ve Tem/24'te II. sınıf; Ara/23'te III. sınıf kalitesindedir. II. istasyon TK değerleri tüm dönemlerde I. sınıf düzeyindedir. FK parametresi ise Eyl/23, Ara/23, Tem/24'te II. sınıf; Nis/24'te III. sınıf düzeyindedir. III. istasyon TK parametresi Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24'te I. sınıf düzeyindedir. FK değeri Eyl/23 ve Ara/23'te II. sınıf, Nis/24 ve Tem/24'te III. sınıf kalitesindedir. IV. istasyonda ise TK tüm dönemlerde I. sınıf sınırları içerisinde. FK ise Eyl/23, Ara/23, Tem/24'te II. sınıf; Nis/24'te ise III. sınıf düzeyindedir (Şekil 10).



Şekil 10. Sediment numunelerin bakteriyolojik parametrelerine, ait görseller a: TK, b: FK, c: FE.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan sediment numunelerine ait korelasyon analizi gerçekleştirilmiş ve mikrobiyolojik parametreler arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak değerlendirilmiş, $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı olan değerler (*) ile işaretlenmiş ve yorumlanmıştır (Tablo 9).

Tablo 9

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü sediment numunelerine ait korelasyon verileri

Parametreler	TK (EMS/100 mL)	FK (EMS/100 mL)	FE (EMS/100 mL)	TMB (kob/mL)	Maya/Küf (kob/mL)	TPB (kob/mL)
TK (EMS/100 mL)	1	0,832*	0,751*	-0,469	-0,521*	-0,381
FK (EMS/100 mL)		1	0,891*	-0,414	-0,481	-0,327
FE (EMS/100 mL)			1	-0,387	-0,421	-0,411
TMB (kob/mL)				1	0,725*	0,698*
Maya/Küf (kob/mL)					1	0,721*
TPB (kob/mL)						1

TK: Toplam koliform, FK: Fekal koliform, FE: Fekal enterokok, TMB: Toplam mezofil bakteri, TPB: Toplam psikrofil bakteri

Mikrobiyolojik parametrelerde, TK ile FK arasında güçlü pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Özellikle TK ile FK ($r = 0,832$) ve FK ile FE ($r = 0,891$) arasındaki güçlü korelasyonlar, fekal kontaminasyonun belirli alanlarda daha yoğun olduğunu göstermektedir. Sediment mikrobiyal yükünü belirleyen önemli faktörlerden biri olan TMB ile maya/küf ($r = 0,725$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Bu bulgular, besin maddesi ve iyonik içerik bakımından zengin sedimentlerde mikrobiyal faaliyetlerin arttığını göstermektedir (Boyd ve Tucker, 2012). Benzer şekilde, maya/küf ile TPB arasında güçlü bir ilişki ($r = 0,721$) bulunmuştur, bu da düşük sıcaklık koşullarında bile mikrobiyal aktivitenin devam ettiğini göstermektedir (Boyd vd., 2016). Sediment numunelerine ait korelasyon analizi sonuçları, mikrobiyolojik parametreler arasındaki güçlü ilişkileri ortaya koymuştur. Özellikle FK ve FE arasındaki yüksek korelasyon, sedimentte fekal kontaminasyon kaynaklı kirlenmenin belirli bölgelerde yoğunlaştığını ortaya koymaktadır.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan sediment numunelerine mikrobiyolojik kirlilik parametrelerinin istasyonlar arası karşılaştırmasında, yapılan Tukey ve LSD çoklu karşılaştırma testlerine göre bazı parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır (Tablo 10). Sediment numunelerinde, TK, maya-küf ve TPB parametreleri istasyonlar arasında özellikle II. ve IV. istasyonlarda anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Literatürde yapılan benzer çalışmalarda, benzer alanlarda organik madde birikiminin maya ve küf gelişimini artırdığı gösterilmiştir (Boyd vd., 2016; Baş, 2023). Buna karşın, değerlendirilen diğer parametrelerde istasyonlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 10).

Tablo 10

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü sediment numunelerinde saptanan kirlilik parametrelerinin istasyonlara göre Tukey ve LSD testlerine ait fark grupları

Parametreler	İstasyonlar (Ort $\pm$ SS)				Ortalama	
	I.	II.	III.	IV.		
TK (EMS/100 mL)	837,5 ^a $\pm$ 50	422,5 ^a $\pm$ 45	503 ^a $\pm$ 48	1445 ^a $\pm$ 80	802 ^a $\pm$ 55	IV. İstasyon (p < 0,05)
FK (EMS/100 mL)	182,5 ^a $\pm$ 12	167,5 ^a $\pm$ 10	151,5 ^a $\pm$ 9	281,5 ^a $\pm$ 15	195,75 ^a $\pm$ 11	Ft > Fh, qt > qh
FE (EMS/100 mL)	3217,5 ^a $\pm$ 300	6600 ^a $\pm$ 500	1132,5 ^a $\pm$ 250	5912,5 ^a $\pm$ 450	4215 ^a $\pm$ 375	Ft > Fh, qt > qh
TMB (kob/mL)	1028800 ^a $\pm$ 95000	79500 ^a $\pm$ 8500	705675 ^a $\pm$ 80000	706250 ^a $\pm$ 75000	722806 ^a $\pm$ 81000	Ft > Fh, qt > qh
Maya/Küf (kob/mL)	45400 ^a $\pm$ 4000	102900 ^a $\pm$ 9000	53450 ^a $\pm$ 5000	116000 ^a $\pm$ 11000	79187,5 ^a $\pm$ 7500	IV. İstasyon (p < 0,05)
TPB (kob/mL)	519550 ^a $\pm$ 48000	1483750 ^a $\pm$ 135000	103850 ^a $\pm$ 9500	765650 ^a $\pm$ 70000	718200 ^a $\pm$ 88000	II. İstasyon (p < 0,05)

*Tukey Testine göre a fark gruplarından birini temsil etmektedir. Ft: Tablo F değeri ($\alpha = 0,05$), Fh: Hesaplanan F değeri, qt: Tablo q değeri ($\alpha = 0,05$), qh: Hesaplanan q değeri.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan su ve sediment numunelerinde mikrobiyolojik parametreler arasında güçlü ilişkiler gözlemlenmiştir. Özellikle FK ve FE gibi fekal kaynaklı bakteriler arasında saptanan korelasyonlar, bölgesel olarak fekal kontaminasyonun yoğun olduğunu göstermektedir. Bu durum, lagün çevresindeki insan kaynaklı faaliyetlerin veya hayvansal atıkların sediment yapısına etki edeceğini düşündürmektedir. Ayrıca, TMB ile maya/küf arasındaki pozitif ilişki, sedimentin organik madde ve iyonik içerik bakımından zengin olduğu alanlarda mikrobiyal faaliyetin arttığını ortaya koymaktadır (Perez vd., 2007). Bu da çevresel koşulların, özellikle besin maddesi yoğunluğunun mikrobiyal çoğalma üzerinde doğrudan etkili olduğunu göstermektedir. İstatistiksel analizler, bazı mikrobiyolojik parametrelerde istasyonlar arasında anlamlı farklılıklar bulunduğunu ortaya koymuştur. Özellikle maya-küf, TK ve TPB sayıları bakımından, II. ve IV. istasyonların diğer istasyonlara kıyasla daha yüksek değerlere sahip olması, bu alanların mikrobiyolojik açıdan daha kirli olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, ilgili istasyonların çevresel yüklerinin veya kirletici kaynaklara yakınlıklarının diğerlerinden farklı olabileceğini göstermektedir. Literatürle kıyaslandığında, su ortamlarında fekal kontaminasyonun en önemli göstergelerinden biri olan *E. coli*, özellikle yaz aylarında sıcaklık artışına bağlı olarak çoğalma eğilimi göstermektedir. Byappanahalli vd. (2012), kıyı ve tatlı su ekosistemlerinde yaptıkları çalışmalarda *E. coli* suşlarının mevsimsel dalgalanma gösterdiğini ve yaz aylarında bakteriyel yoğunluğun belirgin şekilde arttığını vurgulamışlardır. Bu bulgu, çalışmamızda yaz dönemine ait sediment numunelerinde fekal kontaminasyon göstergelerinin yüksek çıkmasıyla örtüşmektedir. Benzer şekilde, Ishii ve Sadowsky (2008), *E. coli*'nin yalnızca geçici bir kontaminant olmadığını, aynı zamanda sedimentlerde uzun süreli varlık gösterebildiğini, hatta bu ortamlarda çoğalabileceğini bildirmiştir. Bu durum, çalışmamızda sediment numunelerinde gözlemlenen fekal kökenli bakterilerin yüksekliğiyle paralellik göstermektedir. Ayrıca, Jang vd. (2017), tropikal bölgelerdeki sıcak ve nemli koşulların *E. coli* gibi fekal indikatör mikroorganizmaların çevresel sularda daha uzun süre canlı kalmasına olanak tanıdığını belirtmişlerdir. Bu açıdan bakıldığında, Gökçeada gibi yaz aylarında sıcaklıkların yükseldiği bölgelerde FK'ların hem su hem de sedimentte yüksek düzeyde saptanması beklenen bir durumdur. Graves ve Hagedorn (2011), kırsal alanlarda tarımsal faaliyetlerin ve hayvan yetiştiriciliğinin, yüzeysel sulara fekal kontaminasyon yükünü önemli ölçüde artırdığını bildirmiştir. Çalışma sahamızın çevresinde gözlemlenen benzer antropojenik etkenler de bu

bulguları destekler niteliktedir. Çalışmamızdaki bulgular literatürde belirtilen mikrobiyal kontaminasyon kaynakları ve mevsimsel etkilerle tutarlılık göstermektedir.

4.3. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü Sediment Numunelerinde Fizikokimyasal Özelliklerin ve Besin Element İçeriğinin Değerlendirilmesi

Sediment analizleri kapsamında tuzluluk, pH, kireç, organik madde, makro ve mikro besin elementleri gibi temel parametreler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, literatürde belirlenen sınır değerler ışığında yorumlanmış ve örnekleme dönemlerinin genel sediment özellikleri ortaya konulmuştur. Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24 tarihlerinde yapılan dört arazi içerisinde, özellikle Tem/24'te belirlenen yüksek El değeri (23,30 dS/m) ve toplam tuz içeriği (%0,41) nedeniyle halofil mikroorganizmalar için elverişli bir ortam sunduğu düşünülmektedir. Diğer arazilerde ise tuzluluk seviyeleri düşük olup Eyl/23 (%0,009), Ara/23 (%0,04) ve Nis/24 (%0,075) arazi numuneleri tuzsuz olarak sınıflandırılmıştır. Sediment pH değeri açısından değerlendirildiğinde, Eyl/23'te nötr (7,35), diğer arazilerde ise hafif alkali (7,83-8,36) arasında bulunmuştur. Sediment bünye analizleri, Eyl/23, Ara/23 ve Tem/24 arazilerinin kumlu, Nis/24 arazisinin ise tınlı yapıda olduğunu göstermektedir. Kumlu sedimentlerin, tuzun taşınımı ve difüzyonu açısından uygun koşullar sunabileceği, mikroorganizmaların habitat oluşturabileceği gözenekli bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Buna karşılık, tınlı sediment yapısına sahip Nisan 2024 arazisi, su tutma kapasitesinin görece yüksek olması nedeniyle belirli mikroorganizmalar için daha stabil bir ortam sağlayabilir. Analiz edilen numunelerde organik madde içeriğinin genel olarak düşük olduğu belirlenmiştir. Eyl/23'te yapılan ilk arazide organik madde oranı %2,21 ile orta düzeydeyken, diğer üç arazide (%0,43, %0,28, %0,97) oldukça düşük seviyelerdedir. Halofil mikroorganizmaların çoğu heterotrof olduğu için, organik madde miktarının düşük olması, bazı türlerin büyümesini sınırlandırabilir. Ancak bazı ekstrem halofilik arke ve bakterilerin, düşük organik madde içeriğine sahip ortamlarda da gelişim gösterdiği bilinmektedir. Halofil mikroorganizmaların gelişimi için kritik öneme sahip olan sodyum (Na) içeriği incelendiğinde, özellikle Eyl/23 (73,609 ppm), Nis/24 (571,25 ppm) ve Tem/24'te (3,267 ppm) oldukça yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Na içeriği, Eyl/23, Nis/24 ve Tem/24'te IV. kalite olarak değerlendirilirken, Ara/23'te I. kalite olarak bulunmuştur. Na konsantrasyonunun yüksek olması, halofilik mikroorganizmaların yaşaması için gerekli olan hiperosmotik ortamların oluşumunu destekleyebilir (Perez vd., 2007). Özellikle Eyl/23'te,

aşırı yüksek Na içeriği ile ekstrem halofil mikroorganizmalar için uygun bir habitat sunmaktadır (Shrestha vd., 2019). Kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) seviyeleri açısından değerlendirildiğinde, Ara/23'te ve Nis/24'te Ca'nın yüksek (2.876,85 ppm ve 14.869,75 ppm) olduğu görülmüştür. Mg içeriği, Nis/24 ve Tem/24'te IV. kalite olarak değerlendirilirken, Eyl/23 ve Ara/23'te II. kalite olarak bulunmuştur. Ca içeriği, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24'te IV. kalite olarak değerlendirilirken, Eyl/23'te I. kalite olarak bulunmuştur. Ca içeriğinin yüksek olması, bazı halofilik mikroorganizmaların hücre duvar stabilitesi için gerekli olan iyonik dengenin sağlanmasına katkıda bulunmaktadır (Mutlu vd., 2008). Mg içeriği ise Eyl/23 ve Ara/23'te düşük, Nis/24 ve Tem/24'te ise yüksek bulunmuştur. Özellikle bazı *Halobacterium* türlerinin yüksek magnezyum konsantrasyonlarını tolere edebildiği bilinmektedir (Lentzen ve Schwarz, 2006; Birbir vd., 2007)). Kükürt (S) içeriği, Eyl/23 (8.718,5 ppm), Nis/24 (623 ppm) ve Tem/24'te (465,5 ppm) yüksek seviyeler tespit edilmiş ve S miktarı tüm araziler için IV. kalite olarak değerlendirilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü sediment numunelerinin mevsimsel fizikokimyasal ve elementel içerik analiz sonuçları

Tuzluluk ve Bitiştirme												
Tuzluluk ve Bitiştirme												Rederanslar
Analiz Adı	Analiz Yöntemi	Alt Sınır	Üst Sınır	Analiz Sonucu	Değerlendirme	Analiz Sonucu	Değerlendirme	Analiz Sonucu	Değerlendirme	Analiz Sonucu	Değerlendirme	
Toplam Tuz (%)	Saturasyon	<0,98	>6,07	0,009	Tuzsuz	0,04	Tuzsuz	0,075	Tuzsuz	0,41	Orta Tuzlu	Richards, 1954 Tüzüner, 1990
pH	Saturasyon	4,5	8,5	7,35	Nötr	7,83	Hafif Alkalin	8,36	Hafif Alkalin	8,22	Hafif Alkalin	Richards, 1954 Tüzüner, 1990
Eİ (ds/m)		<0,98	>6,07	0,0523	Tuzsuz	2,41	Az Tuzlu	3,06	Hafif Tuzlu	23,30	Çok Fazla Tuzlu	
Toplam Kireç (%)	Scheibler Kalsimetresi	4	15	5,22	Orta Kireçli	7,59	Orta Kireçli	6,36	Orta Kireçli	5,64	Orta Kireçli	Çağlar, 1949 Tüzüner, 1990
Organik Madde (%)	Walkley-Black Islak Yakma	1,70	3,00	2,21	Orta	0,43	Çok Az	0,28	Çok az	0,97	Çok Az	Richards, 1954
Yarayışlı Fosfor (kg P ₂ O ₅ /da)	Olsen (pH>7)	4,5	14,3	3,1	Az	1,5	Az	2,7	Az	5,9	Yeterli	Olsen, 1954
Bünye (%)	Su İle Doygunluk	<30	>110	28,6	Kumlu	24,20	Kumlu	34,10	Tınlı	27,50	Kumlu	Richards, 1954
Ahnabilir Potasyum (kg K ₂ O/da)	Amonyum Asetat	42	110	72	Yeterli	71	Yeterli	115	Yüksek	277	Yüksek	Tüzüner, 1990
S (ppm)	ICP-OES	0,110	60,000	8718,5±0,508 (IV)	Yüksek	21,068±3,957 (IV)	Yeterli	623,0±0,009 (IV)	Yüksek	465,5±0,023 (IV)	Yüksek	Kelderman (2005)
Ca (ppm)	ICP-OES	10	2500	20,128±3,947 (I)	Yeterli	2876,85±376,34 (IV)	Yüksek	14869,75±0,124 (IV)	Yüksek	2064,25±0,367 (IV)	Yeterli	Kelderman (2005)
Mg (ppm)	ICP-OES	50	100,000	27,75±0,003 (II)	Düşük	29,75±0,004 (II)	Düşük	1765,0±0,012 (IV)	Yüksek	2147,75±0,039 (IV)	Yüksek	Kelderman (2005)
Na (ppm)	ICP-OES	0,008	120,000	73609,25±7,009 (IV)	Yüksek	104,5±0,001 (I)	Yeterli	571,25±0,059 (IV)	Yüksek	3267,25±0,019 (IV)	Yüksek	Kelderman (2005)
Mn (ppm)	ICP-OES	0,356	120,000	189,450±16,890 (IV)	Yüksek	70,25±0,001 (IV)	Yeterli	136,665±0,872 (IV)	Yüksek	67,216±10,113 (IV)	Yeterli	Kelderman (2005)
Cu (ppm)	ICP-OES	0,689	120,000	0,611±1,449 (I)	Düşük	<0,689 (I)	Düşük	<0,689 (I)	Düşük	<0,689 (I)	Düşük	Kelderman (2005)
Fe (ppm)	ICP-OES	0,006	120,000	5159,25±0,482 (IV)	Yüksek	<0,006 (I)	Düşük	4932,0±0,032 (IV)	Yüksek	1186,5±0,178 (IV)	Yüksek	Kelderman (2005)
Zn (ppm)	ICP-OES	0,261	90,000	15,34±1,937 (I)	Yeterli	0,489±0,089 (I)	Yeterli	66,585±1,009 (IV)	Yeterli	2,059±0,510 (I)	Yeterli	Kelderman (2005)
B (ppm)	ICP-OES	13,232	120,000	83,02±12,788 (IV)	Yeterli	<13,232 (I)	Düşük	98,11±13,818 (IV)	Yeterli	<13,232 (I)	Düşük	Kelderman (2005)
Se (ppm)	ICP-OES	2,757	120,000	13,712±0,898 (IV)	Yeterli	10,25±1,220 (IV)	Yeterli	5,27±1,420 (IV)	Yeterli	8,664±0,991 (IV)	Yeterli	Kelderman (2005)

Bu çalışmada elde edilen sediment verileri, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün halofilik mikroorganizmaların gelişimi için elverişli habitat koşullarına sahip olduğunu destekler nitelikte bulunmuştur. Özellikle Tem/24'te Eİ değeri (23,30 dS/m) ve tuz içeriği (%0,41), halofilik ve ekstrem halofilik mikroorganizmaların yaşamı için uygun bir hipersalin ortam sunduğunu göstermektedir (Bilgi, 2012). Literatürde, halofilik mikroorganizmaların genellikle 3–25 dS/m arası Eİ değerlerinde optimum gelişim gösterdiği bildirilmektedir (Oren, 2011; Ventosa vd., 2015). Benzer şekilde, Pérez vd. (2007), Na konsantrasyonunun yüksek olduğu sedimentlerin halofilik bakteriler için yaşamsal önem taşıdığını vurgulamıştır. Bu çalışmada özellikle Eyl/23 ve Nis/24'te Na içeriğinin bu görüşü destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Sediment bünye yapısının mikroorganizmalar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Kumlu yapının gözenekliliği, gaz değişimi ve iyon hareketliliği açısından mikrobiyal faaliyetleri desteklediği bildirilmiştir (Wang vd., 2012). Bu bağlamda, çalışmamızda kumlu sediment yapısına sahip Eyl/23, Ara/23 ve Tem/24'te, halofil mikroorganizmalar için daha geçirgen ve uygun habitat koşulları sunduğu düşünülebilir. Öte yandan, Nis/24'te tınlı yapıdaki sediment, daha fazla su ve organik madde tutma kapasitesi ile belirli mikrobiyal gruplar için daha stabil bir ortam oluşturabileceği yönündeki bulgularla örtüşmektedir (Rath ve Rousk, 2015). Çalışmada ölçülen pH değerleri hafif alkali aralıkta seyretmiş olup, bu durum halofilik mikroorganizmaların çoğunluğunun tercih ettiği pH aralığı ile uyumludur (7,5–9,0) (Mutlu vd., 2008). Ayrıca, organik madde içeriğinin düşük olduğu gözlemlenen Tem/24 ve Nis/24'te bile, yüksek tuzluluk ve iyon konsantrasyonları sayesinde halofilik mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürebildiği değerlendirilmektedir. Literatürde, birçok ekstrem halofil türünün, sınırlı organik madde içeriğine rağmen enerji metabolizmalarını sürdürebildiği ve tuz stresi altında bile aktif kalabildiği belirtilmiştir (Birbir ve Sesal, 2003; Oren, 2010).

Ca ve Mg iyonlarının hücre duvar stabilizasyonu ve enzimatik aktivitelerdeki rolü düşünüldüğünde, özellikle Nis/24 ve Tem/24'te yüksek Ca ve Mg düzeylerinin, bazı *Halobacterium* türleri başta olmak üzere birçok halofil organizma için destekleyici bir çevresel faktör olduğu söylenebilmektedir (Lentzen ve Schwarz, 2006; Mutlu vd., 2008). Ayrıca S konsantrasyonunun tüm arazilerde yüksek düzeylerde bulunması, sülfat redükte edici mikroorganizmaların potansiyel varlığına işaret edebilir. Bu durum, Shrestha vd.

(2019) tarafından da vurgulandığı üzere, tuzlu ortamlarda S döngüsünün sürdürülebilirliği açısından önem arz etmektedir.

4.3.1. Mikro Besin Elementleri ve Olası Mikrobiyal Etkileşimler

Mn, Fe ve Zn içeriği, birçok mikrobiyal metabolizma için gerekli olan iz elementlerdir (Lara vd., 2012; Kang vd., 2016). Mn içeriği tüm arazilerde IV. kalite olarak değerlendirilmiştir. Fe içeriği açısından Eyl/23 (5,159 ppm), Nis/24 (4,932 ppm) ve Tem/24'te (1,186 ppm) yüksek değerlere sahip olup, bu durum demir metabolizmasıyla ilişkili bazı ekstremofilik mikroorganizmaların gelişimini destekler niteliktedir (Kang vd., 2016). Fe içeriği, Eyl/23, Nis/24 ve Tem/24'te IV. kalite olarak değerlendirilirken, Ara/23'te I. kalite olarak bulunmuştur. Öte yandan, Cu içeriği tüm arazilerde düşük bulunmuştur (<0,689 ppm). Cu eksikliği, bazı enzimlere bağlı mikroorganizma türlerinin büyümesini kısıtlayabilmesine rağmen, birçok ekstrem halofil mikroorganizmanın düşük Cu içeriğine uyum sağladığı bilinmektedir (Kaneke vd., 2012). Cu içeriği tüm arazilerde I kalite olarak bulunmuştur. Zn seviyesi, Eyl/23 (15,34 ppm, I.), Ara/23 (0,489 ppm, I.), Nis/24 (66,585 ppm, IV.) ve Tem/24'te (2,059 ppm, I.) yeterli seviyede bulunmuştur. Zn içeriği Nis/24'te IV. kalite olarak değerlendirilirken, diğer üç arazide I. kalite olarak bulunmuştur. Bor (B), Eyl/23 ve Nis/24'te yeterli, ancak Ara/23 ve Tem/24'te düşük ölçülmüştür. B, hücre duvar stabilitesi ve membran bütünlüğü açısından bazı mikroorganizmalar için önemli bir mikro besin elementidir (Perez vd., 2007; Kang vd., 2016). B içeriği, Eyl/23 ve Nis/24'te IV. kalite olarak değerlendirilirken, Ara/23 ve Tem/24'te I. kalite olarak bulunmuştur. Selenyum (Se) içeriği ise tüm arazilerde yeterli seviyelerde bulunmuştur. Se, bazı mikroorganizmaların antioksidan sistemlerinde rol oynayan enzimler için gerekli bir element olup, bu ortamların belirli ekstremofilik türler için elverişli olabileceğini göstermektedir (Nanchaiah ve Lens, 2015). Se içeriği IV. kalite olarak değerlendirilmiştir.

Analiz sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde özellikle Tem/24'te, yüksek tuzluluk, alkalinite ve yüksek Na içeriği ile halofil mikroorganizmalar için en elverişli ortamı sunacağı düşünülmektedir. Ara/23 ve Nis/24'te daha düşük tuzluluk seviyelerine sahip olmakla birlikte, özellikle Ca ve Mg içeriğinin yüksek olduğu alanlar olarak öne çıkmaktadır. Bu tür iyonik dengenin sağlandığı ortamlarda, belirli halotolerant mikroorganizma türleri izole edilebilir olmaktadır.

4.4. Meteorolojik Veriler

Meteorolojik veriler, çalışma alanının çevresel koşullarını anlamak ve elde edilen fizikokimyasal ile mikrobiyolojik sonuçları iklimsel değişkenlik bağlamında değerlendirmek açısından önem taşımaktadır. Sıcaklık, yağış ve buharlaşma gibi parametreler; su kütlesinin sıcaklığı, tuzluluk derecesi, çözünmüş oksijen düzeyi ve mikrobiyal aktivite üzerinde doğrudan etkili olduğundan, bu veriler lagün ekosistemindeki mevsimsel değişimlerin yorumlanmasına katkı sağlamaktadır. Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü'nün 2023-2024 Çanakkale ili gözlem istasyonu verileri Tablo 12'de gösterilmiştir. Buna göre Çanakkale ilinde, en düşük sıcaklık -1,3°C (Oca/24); en yüksek sıcaklık 39,8°C (Tem/24); en düşük toplam yağış 0,0 mm (Haz/24; Ağu/23, Ağu/24); en yüksek toplam yağış 241,3 mm (Kas/23) ve buharlaşma oranları en düşük 0,6 mm (Şub/24), en yüksek 309,3 mm (Tem/24) olarak ölçülmüştür (Anonim, 2025).

Tablo 12

Çanakkale Meteoroloji İstasyonu'na ait aylık ortalama sıcaklık, toplam yağış ve açık yüzey buharlaşma verileri (2023–2024)

Aylar	Ortalama Sıcaklık(°C)	Toplam Yağış (mm)	Açık Yüzey Buharlaşması (mm)
Eyl/23	24,3	4,8	165,2
Eki/23	19,3	6,6	116,1
Kas/23	15,9	241,3	73,8
Ara/23	11,9	178,1	58,4
Oca/24	8,8	91,6	22,4
Şub/24	10,7	31,1	0,6
Mar/24	11,5	34,3	1,4
Nis/24	16,7	44,6	143,6
May/24	17,8	2,5	173,3
Haz/24	26,0	0,0	272,8
Tem/24	29,0	0,2	309,3
Ağu/24	27,9	0,0	268,6
Eyl/24	23,7	24,9	175,9
Eki/24	18,2	0,3	126,3
Kas/24	12,3	28,4	72,1
Ara/24	10,1	145,3	54,3

4.5. Kültüre Dayalı Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinden Halofil Mikroorganizma İzolasyonu ve Saflaştırılması

Bu çalışmada, su ve sediment numunelerinden laboratuvar ortamında bakteri izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Farklı istasyonlardan elde edilen izolatlar ve izolasyon zamanı verileri Tablo 13'te sunulmuştur. Buna göre, su numunelerinden I. istasyondan 54, II. istasyondan 53, III. istasyondan 43 ve IV. istasyondan 50 izolat elde edilmiştir. Sediment numunelerinden ise I. istasyondan 53, II. istasyondan 53, III. istasyondan 50 ve IV. istasyondan 44 olmak üzere toplamda 400 adet bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Hipersalin bakterilerin izolasyonu amacıyla, literatür taramaları (Birbir ve Sesal, 2003; Bilgi, 2012) ve ön deneme çalışmaları sonucunda en iyi koloni gelişimini sağlayan besiyeri %20 NaCl içerikli SW-25 seçilmiş ve çalışmalara bu besiyeri ile devam edilmiştir.

Tablo 13

Su ve sediment numunelerinden izole edilen toplam bakteri sayılarının zaman ve istasyona göre dağılımı

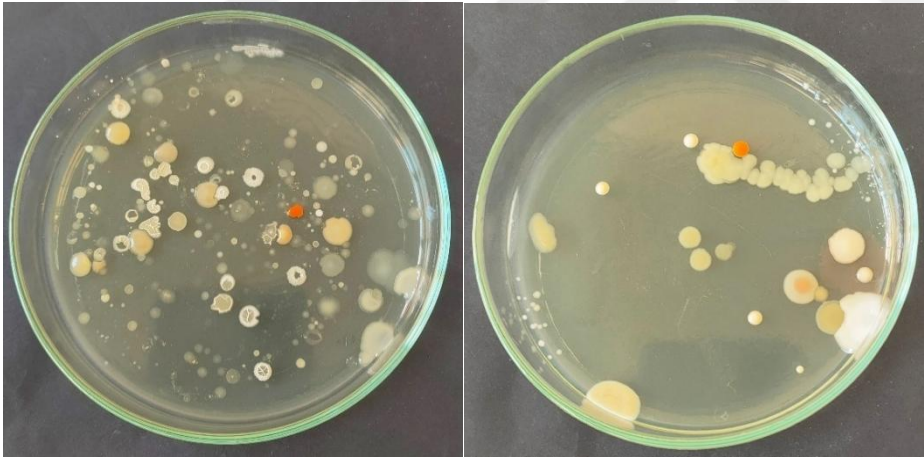
Örnekleme Zamanı	İstasyonlar								Toplam	
	I.		II.		III.		IV.		S	T
	S	T	S	T	S	T	S	T		
Eyl/23	A1S	A1T	A2S	A2T	A3S	A3T	A4S	A4T	n=48	n=56
	(n=12)	(n=14)	(n=17)	(n=17)	(n=7)	(n=13)	(n=12)	(n=12)		
Ara/23	B1S	B1T	B2S	B2T	B3S	B3T	B4S	B4T	n=46	n=52
	(n=15)	(n=12)	(n=12)	(n=16)	(n=10)	(n=12)	(n=9)	(n=12)		
Nis/24	C1S	C1T	C2S	C2T	C3S	C3T	C4S	C4T	n=51	n=44
	(n=15)	(n=12)	(n=12)	(n=13)	(n=12)	(n=13)	(n=12)	(n=6)		
Tem/24	D1S	D1T	D2S	D2T	D3S	D3T	D4S	D4T	n=55	n=48
	(n=12)	(n=15)	(n=12)	(n=7)	(n=14)	(n=12)	(n=17)	(n=14)		

A: 1. Arazi kodu, B: 2. Arazi kodu, C: 3. Arazi kodu, D: 4. Arazi kodu, A1: I. İstasyon kodu, S: Su, T: Sediment

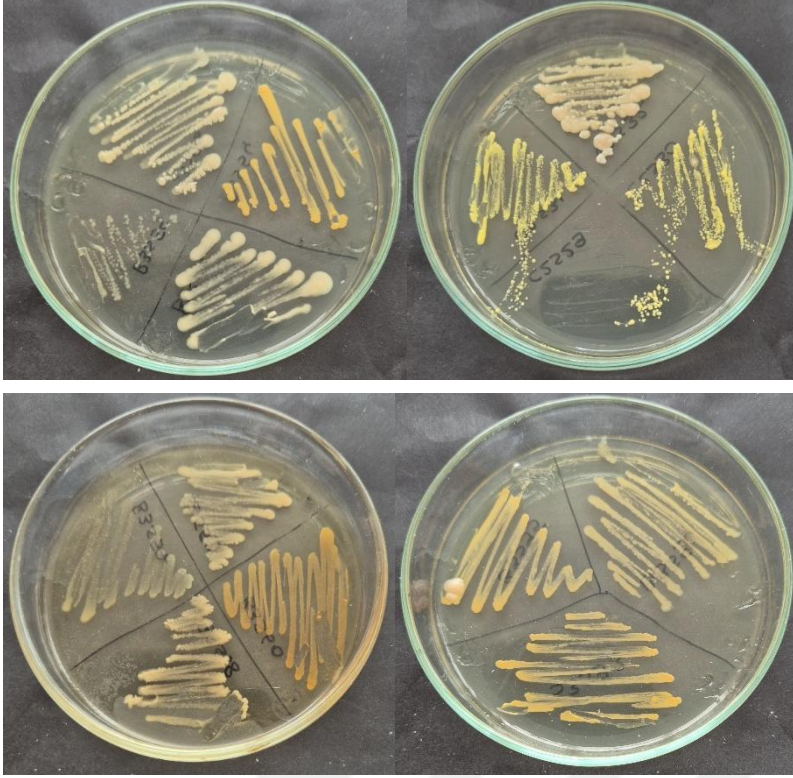
4.5.1. Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen Halofil Mikroorganizmaların Biyokimyasal Analiz Sonuçları

İstasyonlardan alınan su ve sediment numunelerinden SW-25 besiyerlerinde gelişim gösterebilen turuncu, sarı, krem ve açık pembe gibi çeşitli pigmentasyon özelliklerine sahip izolatlar elde edilmiştir. Bu izolatlar, saf kültürlerin oluşturulması amacıyla özenle saflaştırılmış ve ileri taksonomik analizler için uygun hale getirilmiştir.

Çalışma kapsamında su numunelerinden toplam 200 bakteri izole edilmiş olup, bunların %79'u (158 izolat) Gram (+), %21'i (42 izolat) Gram (-) olarak belirlenmiştir. Gram (+) bakteriler arasında en yaygın morfolojik form basil (%62,7, 97 izolat) olurken, bunu kok (%23,4, 40 izolat) ve kokobasil (%15,1, 24 izolat) grupları takip etmiştir. Gram (-) bakterilerde ise en yaygın morfolojik form basil (%45,2, 19 izolat) olup, ardından kokobasil (%30,9, 13 izolat) ve kok (%11,9, 5 izolat) grupları gelmiştir (Şekil 11-12).



Şekil 11. Su numunelerine ait izolasyon görselleri.



Şekil 12. Su numunelerinden saflaştırılan izolat görselleri.

Eyl/23-Tem/24'te su numunelerinden izole edilen izolatların mikroskopik incelemesi sonucunda I. istasyondan 32 adet Gram (+) basil, 3 adet Gram (-) basil, 8 adet Gram (+) kok, 8 adet Gram (+) kokobasil ve 3 adet Gram (-) kokobasil; II. istasyondan 22 adet Gram (+) basil, 9 adet Gram (-) basil, 7 adet Gram (+) kok, 9 adet Gram (+) kokobasil ve 6 adet Gram (-) kokobasil; III. istasyondan 21 adet Gram (+) basil, 5 adet Gram (-) basil, 10 adet Gram (+) kok, 6 adet Gram (+) kokobasil ve 1 adet Gram (-) kokobasil; IV: istasyondan ise 20 adet Gram (+) basil, 5 adet Gram (-) basil, 10 adet Gram (+) kok, 2 adet Gram (-) kok, 10 adet Gram (+) kokobasil ve 3 adet Gram (-) kokobasil tespit edilmiştir. İzolatların 4 tanesinde endospor yapısı gözlenirken, oksidaz pozitif 109, katalaz pozitif 169, indol pozitif 93, nitrat pozitif 86, nitrit pozitif 60 ve gaz pozitif 56 izolat tespit edilmiştir (Tablo 14-17).

Tablo 14

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A1S1	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	A1S2	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1S3	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	A1S4	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	A1S5	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1S6	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1S7	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	A1S8	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1S9	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A1S10	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1S11	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A1S12	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
Ara/23	B1S1	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B1S2	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B1S3	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B1S4	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B1S5	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B1S6	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B1S7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	B1S8	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	B1S9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1S10	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B1S11	(+)	Basil	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1S12	(+)	Basil	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1S13	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
	B1S14	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1S15	(+)	Basil	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)

Tablo 14'ün devamı

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Nis/24	C1S1	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C1S2	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	C1S3	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
	C1S4	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C1S5	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C1S6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C1S7	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C1S8	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C1S9	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C1S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
	C1S11	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	C1S12	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C1S13	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C1S14	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	C1S15	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
Tem/24	D1S1	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D1S2	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D1S3	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D1S4	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	D1S5	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D1S6	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D1S7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D1S8	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D1S9	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D1S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D1S11	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D1S12	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)

Tablo 15

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A2S1	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A2S2	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A2S3	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	A2S4	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2S5	(-)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2S6	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2S7	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2S8	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A2S9	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A2S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	A2S11	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2S12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A2S13	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A2S14	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A2S15	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A2S16	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A2S17	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
Ara/23	B2S1	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B2S2	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B2S3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	B2S4	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B2S5	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	B2S6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B2S7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B2S8	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B2S9	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B2S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)

Tablo 15'in devamı

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Nis/24	B2S11	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B2S12	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2S1	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C2S2	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	C2S3	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	C2S4	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
	C2S5	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2S6	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C2S7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C2S8	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C2S9	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C2S10	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Tem/24	C2S11	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	C2S12	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2S1	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	D2S2	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	D2S3	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D2S4	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2S5	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D2S6	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2S7	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D2S8	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2S9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D2S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D2S11	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2S12	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)

Tablo 16

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A3S1	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A3S2	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A3S3	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A3S4	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A3S5	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A3S6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A3S7	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
Ara/23	B3S1	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3S2	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B3S3	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3S4	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B3S5	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	B3S6	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B3S7	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B3S8	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	B3S9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3S10	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
Nis/24	C3S1	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
	C3S2	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	C3S3	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C3S4	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C3S5	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C3S6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C3S7	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C3S8	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	C3S9	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
	C3S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)

Tablo 16'nın devamı

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Tem/24	C3S11	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
	C3S12	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
	D3S1	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D3S2	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D3S3	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D3S4	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D3S5	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D3S6	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D3S7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D3S8	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D3S9	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D3S10	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	D3S11	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D3S12	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D3S13	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D3S14	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)

Tablo 17

IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

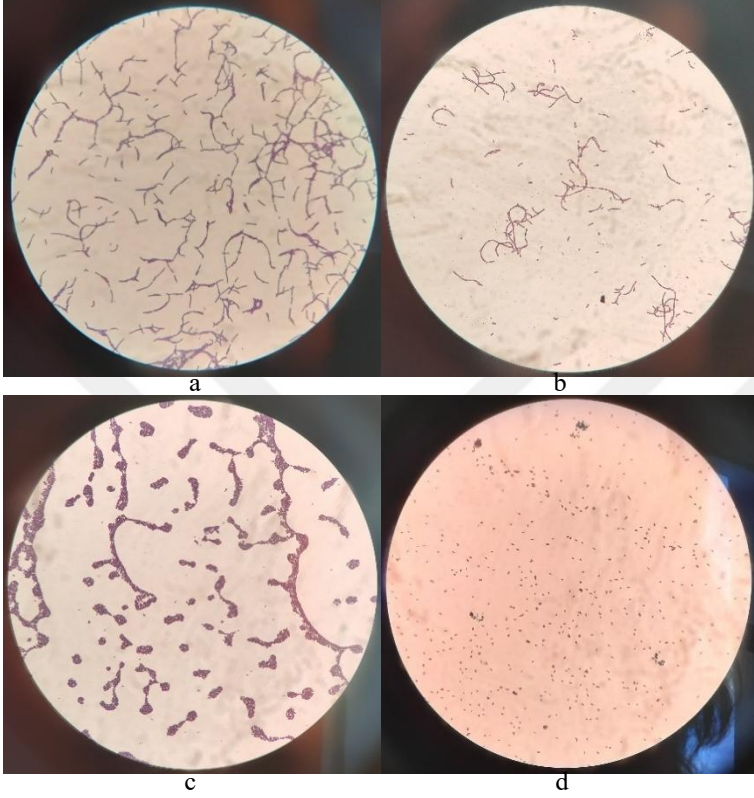
Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A4S1	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A4S2	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A4S3	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A4S4	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A4S5	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A4S6	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A4S7	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A4S8	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A4S9	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	A4S10	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A4S11	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	A4S12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
Ara/23	B4S1	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B4S2	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B4S3	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B4S4	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B4S5	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B4S6	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B4S7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B4S8	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B4S9	(+)	Basil	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	C4S1	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C4S2	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C4S3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
Nis/24	C4S4	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	C4S5	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
	C4S6	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)

Tablo 17'nin devamı

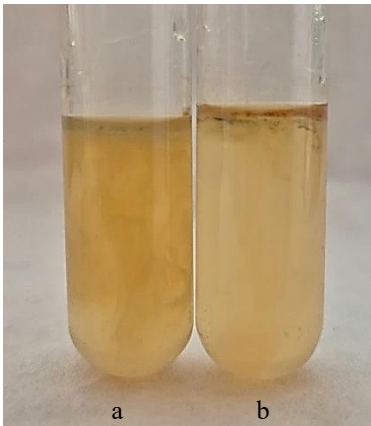
IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

	C4S7	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	C4S8	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C4S9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	C4S10	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
	C4S11	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	C4S12	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	D4S1	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D4S2	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D4S3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4S4	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4S5	(-)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D4S7	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D4S8	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	D4S9	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
Tem/24	D4S10	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	D4S11	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4S12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D4S13	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4S14	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D4S15	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	D4S16	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D4S17	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

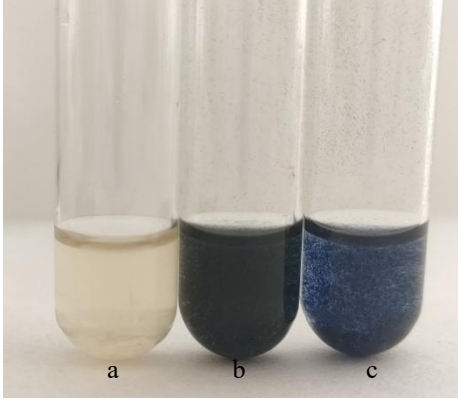
Su numunelerinden izole edilen halofil mikroorganizmalara uygulanan mikroskobik ve biyokimyasal analizlerden elde edilen görseller Şekil 13-16'da ayrıntılı olarak sunulmuştur.



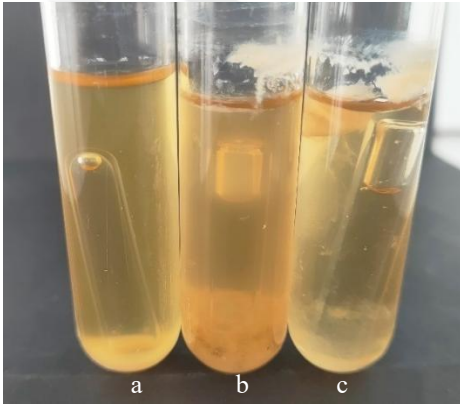
Şekil 13. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gram boyama görselleri, a: B1S13, b: A4S7, c: C1S12, d: D3S1.



Şekil 14. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait indol testi görseli, a: D4S1, b: D3S5.

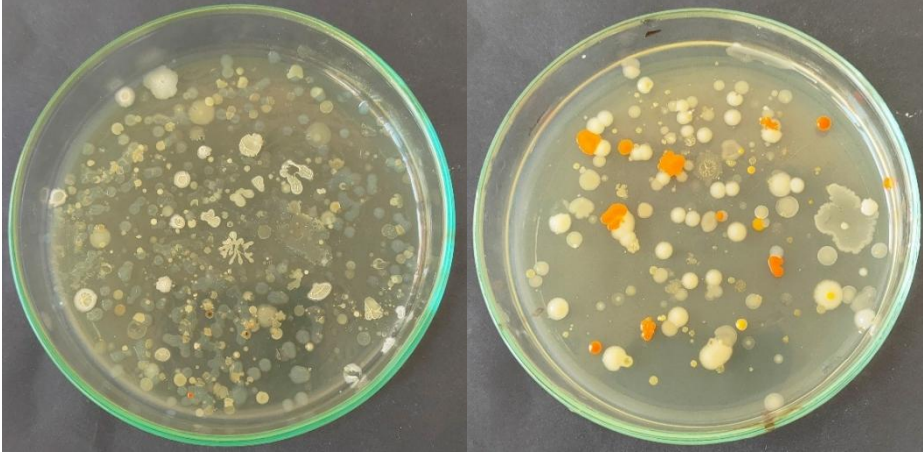


Şekil 15. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait nitrat ve nitrit üretim testi görseli, a: A1S12, b: A2S4, c: A3S6.



Şekil 16. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gaz oluşum testi görseli, a: B1S2, b: C4S1, c: A2S10.

Sediment numunelerinden izole edilen izolatların mikroskopik incelemesi sonucunda I. istasyondan 24 adet Gram (+) basil, 7 adet Gram (-) basil, 15 adet Gram (+) kok, 3 adet Gram (-) kok ve 4 adet Gram (+) kokobasil; II. istasyondan 16 adet Gram (+) basil, 9 adet Gram (-) basil, 14 adet Gram (+) kok, 3 adet Gram (-) kok, 8 adet Gram (+) kokobasil ve 3 adet Gram (-) kokobasil; III. istasyondan 20 adet Gram (+) basil, 6 adet Gram (-) basil, 12 adet Gram (+) kok, 2 adet Gram (-) kok, 6 adet Gram (+) kokobasil ve 4 adet Gram (-) kokobasil; IV. istasyondan ise 18 adet Gram (+) basil, 8 adet Gram (-) basil, 11 adet Gram (+) kok, 1 adet Gram (-) kok, 5 adet Gram (+) kokobasil ve 1 adet Gram (-) kokobasil tespit edilmiştir (Şekil 17-18).



Şekil 17. Sediment numunelerine ait izolasyon görselleri.



Şekil 18. Sediment numunelerinden saflaştırılan izolat görselleri.

Elde edilen bulgular, sediment numunelerinin önemli bir çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymuştur. İzole edilen toplam 200 bakterinin büyük bir çoğunluğunu (%77) Gram (+) bakteriler oluştururken, Gram (-) bakterilerin oranı %23 olarak bulunmuştur. Gram (+) grupta en yaygın morfolojik form basil olup, bunu kok ve kokobasil izolatları takip etmiştir. Gram (-) bakteriler arasında ise basil formları baskın bulunmuştur. Mevsimsel farklılıklar da bakteri izolasyonlarında belirgin bir etki göstermiştir. Eyl/23 (A) ve Ara/23'te (B) alınan

numunelerden diğ er aylara kıyasla daha fazla bakteri izole edilmiştir. Özellikle Gram (+) bakterilerin mevsimsel değişikliklere karşı daha dirençli olduğu gözlemlenmiş, bu durum sporlu türlerin sediment mikrobiyotasındaki baskınlığını destekler nitelikte olmuştur (Jayachandra vd., 2012).

Sediment numunesinden izole edilen halofil bakterilerin 3 tanesinde endospor yapısı gözlenirken, oksidaz pozitif 48, katalaz pozitif 163, indol pozitif 59, nitrat pozitif 97, nitrit pozitif 58 ve gaz pozitif 83 izolat tespit edilmiştir (Tablo 18-21).



Tablo 18

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A1T1	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	A1T2	(+)	Basil	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1T3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1T5	(+)	Basil	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A1T7	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T8	(+)	Basil	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
	A1T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T10	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A1T11	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T12	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T13	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A1T14	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
Ara/23	B1T1	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	B1T2	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1T3	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B1T4	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
	B1T5	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1T6	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B1T7	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B1T8	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	B1T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	B1T10	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B1T11	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	B1T12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
Nis/24	C1T1	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)

Tablo 18'in devamı

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

	C1T3	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	C1T4	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C1T5	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C1T6	(-)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C1T7	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C1T8	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C1T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C1T10	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C1T11	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
	C1T12	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D1T1	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D1T2	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	D1T3	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	D1T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D1T5	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D1T6	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D1T7	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
Tem/24	D1T8	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
	D1T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D1T10	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D1T11	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	D1T12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D1T13	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D1T14	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D1T15	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)

Tablo 19

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A2T1	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A2T2	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A2T3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A2T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	A2T5	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A2T6	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
	A2T7	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2T8	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A2T9	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2T10	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A2T11	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A2T12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	A2T13	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A2T14	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	A2T15	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A2T16	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	A2T17	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
Ara/23	B2T1	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	B2T2	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B2T3	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B2T4	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
	B2T5	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B2T6	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B2T7	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B2T8	(-)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	B2T9	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	B2T10	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)

Tablo 19'un devamı

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

	B2T12	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	B2T13	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B2T14	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B2T15	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
	B2T16	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2T1	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2T2	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C2T3	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	C2T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C2T5	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	C2T6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
Nis/24	C2T7	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	C2T8	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C2T9	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	C2T10	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2T11	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2T12	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C2T13	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D2T1	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D2T2	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
	D2T3	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
Tem/24	D2T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D2T5	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2T6	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D2T7	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)

Tablo 20

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A3T1	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	A3T2	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
	A3T3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A3T4	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A3T5	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A3T6	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A3T7	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	A3T8	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A3T9	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A3T10	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
	A3T11	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A3T12	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
Ara/23	A3T13	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3T1	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3T2	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T3	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3T4	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
	B3T5	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	B3T6	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B3T7	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T8	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	B3T10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T11	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
Nis/24	B3T12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C3T1	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
	C3T2	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)

Tablo 20'nin devamı

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

	C3T4	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
	C3T5	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C3T6	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C3T7	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
	C3T8	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	C3T9	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
	C3T10	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
	C3T11	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C3T12	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	C3T13	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
	D3T1	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D3T2	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D3T3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D3T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D3T5	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D3T6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D3T7	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D3T8	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	D3T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
	D3T10	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D3T11	(+)	Kokobasil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D3T12	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)

Tem/24

Tablo 21

IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

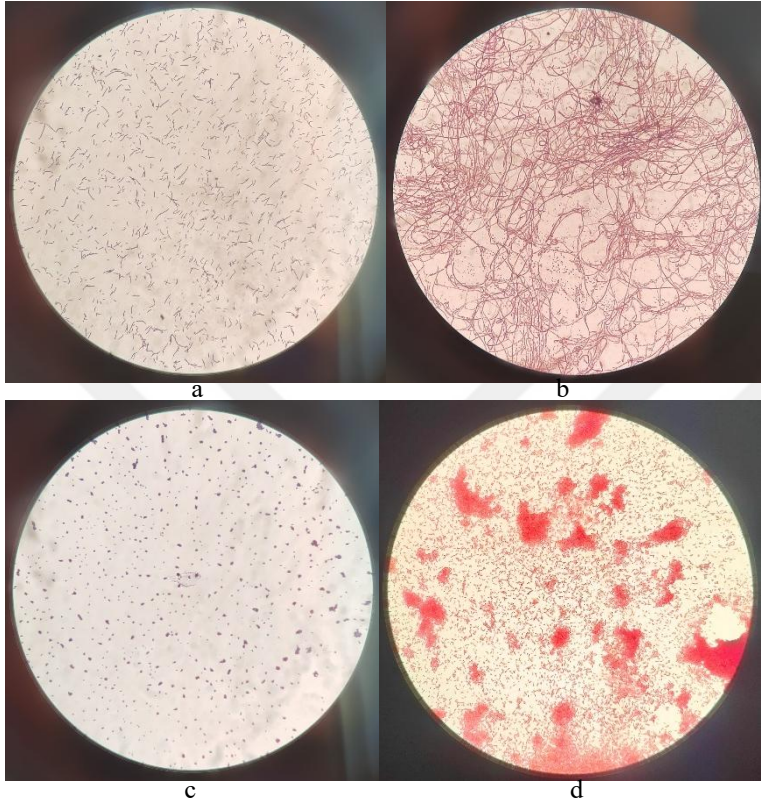
Örnekleme Zamanı	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Morfoloji	Endospor	Biyokimyasal Özellikler					
					İndol	Nitrat	Nitrit	Gaz	Oksidaz	Katalaz
Eyl/23	A4T1	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	A4T2	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A4T3	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A4T4	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	A4T5	(-)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A4T6	(-)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	A4T7	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	A4T8	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A4T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A4T10	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	A4T11	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	A4T12	(+)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
Ara/23	B3T1	(-)	Kokobasil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3T2	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T3	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3T4	(-)	Basil	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
	B3T5	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
	B3T6	(-)	Kokobasil	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	B3T7	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T8	(+)	Kok	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T9	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	B3T10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	B3T11	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	B3T12	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Nis/24	C4T1	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
	C4T2	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)
	C4T3	(-)	Basil	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)

Tablo 21'in devamı

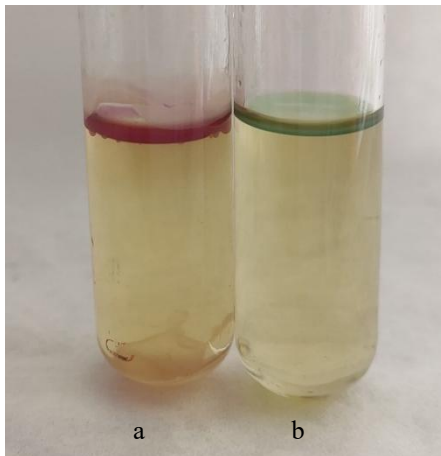
IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin biyokimyasal karakterizasyonu

Tem/24	C4T5	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	C4T6	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	D4T1	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D4T2	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
	D4T3	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T4	(+)	Basil	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T5	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D4T6	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T7	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
	D4T8	(+)	Kok	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T9	(+)	Kokobasil	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
	D4T10	(+)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T11	(+)	Kok	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T12	(+)	Kok	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T13	(-)	Basil	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
	D4T14	(+)	Basil	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)

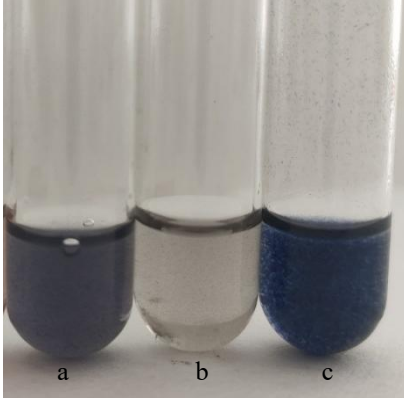
Sediment numunelerinden izole edilen halofil mikroorganizmalara uygulanan mikroskopik ve biyokimyasal analizlerden elde edilen görseller Şekil 19-22'de ayrıntılı olarak sunulmuştur.



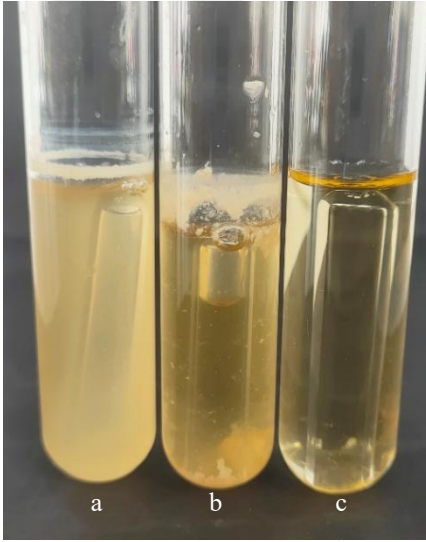
Şekil 19. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gram boyama görselleri, a: B1T4, b: A4T5, c:C1T1, d: B3T1.



Şekil 20. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait indol testi görseli, a: B1T1, b: B2T2.



Şekil 21. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait nitrat ve nitrit üretim testi görseli, a: A1T1, b: A4T2, c: A2T4.



Şekil 22. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait gaz oluşum testi görseli, a: A1T14, b: A3T6, c: A2T17.

Su numunelerinden izole edilen bakterilerin mevsimsel dağılımında belirgin farklılıklar gözlemlenmiş ve özellikle Nis/24 (C) ile Tem/24'te (D) daha fazla izolat elde edilmiştir. Sediment numunelerinde ise izolasyon oranlarının Eyl/23 (A) ve Ara/23 (B) dönemlerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, su ekosisteminde mevsimsel sıcaklık değişimleri, sedimentteki organik madde miktarı ve besin seviyesi gibi çevresel koşulların etkisiyle ilişkilendirilebilir. İlkbahar ve yaz aylarında, artan sıcaklıklar sucul mikroorganizmaların metabolik aktivitesini artırmakta ve bakteriyel çoğalma oranlarını yükseltmektedir. Özellikle mezofilik bakteriler için optimal sıcaklık aralığında (20-35°C) üreme hızlarının arttığı bilinmektedir (Paerl ve Paul, 2012). Nisan ve Temmuz aylarında

gözlemlenen yüksek izolasyon oranları, bu sıcaklık artışının bakteriyel büyümeyi teşvik etmesiyle açıklanabilir. Ayrıca, bu dönemde fitoplankton üretimi artmakta ve bunun sonucunda su ortamına organik madde, çözünmüş karbon kaynakları ve besin maddeleri salınmaktadır (Newton vd., 2011). Bu süreç, heterotrofik bakterilerin besin döngüsündeki rolünü güçlendirmekte ve popülasyon artışını desteklemektedir.

Artan güneş ışınımı da mikrobiyal büyümeyi teşvik eden önemli faktörlerden biridir. İlkbahar ve yaz aylarında güneş ışığı süresinin ve yoğunluğunun artması, fotosentetik bakteriler ve fitoplanktonların üretimini artırarak dolaylı olarak heterotrofik bakterilere daha fazla besin kaynağı sağlamaktadır (Staley ve Konopka, 1985). Bunun yanı sıra, yağış rejimi ve hidrodinamik değişimler de sucul mikroorganizmaların mevsimsel dağılımını etkileyen önemli faktörlerdir. İlkbaharda kar erimesi ve yoğun yağışlarla birlikte suya taşınan organik madde ve besinler, bakteriyel çeşitliliği ve yoğunluğu artırabilmektedir (Zwart vd., 2002). Yaz aylarında ise sığ sularda sıcaklık ve besin miktarının artışı, mikrobiyal biyokütlenin yükselmesine ve daha fazla izolat elde edilmesine katkı sağlayabilir. Oksijen seviyelerindeki değişimler de bakteri dağılımını etkileyen kritik faktörlerden biridir. Yüksek sıcaklıklara bağlı olarak su kolonunda oksijen seviyelerinin azalması, özellikle fakültatif anaerobik ve anaerobik bakterilerin çoğalmasını teşvik edebilir (Khademian ve Imlay, 2021). Nis/24 ve Tem/24'te artan izolasyon oranları, oksijen seviyelerinin mevsimsel değişimi ve suyun tabakalaşmasıyla da ilişkilendirilebilir.

Elde edilen bulgular, sucul bakteriyel toplulukların mevsimsel çevresel değişimlerden önemli ölçüde etkilendiğini ve ilkbahar ile yaz aylarında özellikle su sıcaklıklarının artması ile bakteri popülasyonlarının daha aktif hale geldiğini göstermektedir. Özellikle sıcaklık artışı, organik madde miktarındaki yükselme ve güneş ışınımındaki artış, heterotrofik bakterilerin çoğalmasını destekleyen başlıca faktörler olarak değerlendirilebilmektedir.

Elde edilen bulgular, bakteri izolasyonlarının çevresel faktörlerden, habitat farklılıklarından ve mevsimsel değişimlerden önemli ölçüde etkilendiğini göstermektedir. Özellikle Gram (+) bakterilerin Gram (-) bakterilere kıyasla daha yüksek oranda izole edilmesi, Gram (+) gruba ait bakterilerin kalın peptidoglikan tabakasına sahip hücre duvarları sayesinde dış çevre koşullarına karşı daha dirençli olması ile açıklanabilir.

(Madigan vd., 2021). Gram (+) bakteriler arasında basil formunun baskın olduğu belirlenirken, Gram (-) bakterilerde de benzer şekilde basil formunun yaygın olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, çevresel streslere karşı direnç geliştiren mikroorganizmaların ekosistemlerde avantaj sağladığını göstermektedir.

Son yıllarda özellikle turistik bölgelerde artan çevresel kirliliğin, sucul ve karasal mikrobiyal ekosistemler üzerindeki etkileri giderek daha belirgin hale gelmektedir. Gökçeada Tuz Gölü Lagünü gibi turistik alanlarda artan insan aktiviteleri, organik ve inorganik kirleticilerin su ekosistemine taşınmasına neden olmakta ve bu durum sucul mikrobiyota üzerinde baskı oluşturmaktadır (Baş, 2023). Özellikle yaz aylarında, lagün sistemlerinde yüksek sıcaklık ve buharlaşma oranlarının etkisiyle tuzluluk seviyelerinin değişmesi, mikrobiyal toplulukların bileşimini değiştirmekte ve halotolerant bakterilerin baskın hale gelmesine yol açmaktadır (Paerl ve Paul, 2012).

Bu çalışmada, özellikle sucul bakteriyel izolasyon oranlarının Nis/24 ve Tem/24'te daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, ilkbahar ve yaz aylarında artan sıcaklıkların mikrobiyal metabolizmayı hızlandırmasıyla açıklanabilir. Literatürde, mezofilik bakterilerin optimum sıcaklık aralığında (20-35°C) hızlı bir şekilde çoğaldıkları ve bu sıcaklık aralığında bakteriyel izolasyon oranlarının arttığı bildirilmiştir (Shrestha vd., 2019). Buna karşılık, sediment numunelerinden daha fazla izolatan Eyl/23 ve Ara/23'te elde edilmesi, sediment mikrobiyotasının ekosistem içindeki dinamiklerini anlamak açısından önemli bulgular sunmaktadır. Sonbahar ve kış aylarında organik madde birikiminin artması ve yağış rejiminin değişmesi, sediment mikroorganizmalarının faaliyetlerini doğrudan etkilemektedir. Sediment mikroorganizmalarının büyük bir kısmının heterotrofik olduğu göz önüne alındığında, bu dönemde sediment yüzeyine taşınan organik madde, özellikle Gram (+) bakterilerin çoğalmasını teşvik edebilir (Schimel ve Schaeffer, 2012).

Gram (+) bakterilerin çevresel stres koşullarına karşı direnç mekanizmalarından biri olan sporulasyon yetenekleri, su ve sediment ekosisteminde bu gruptaki bakterilerin baskın olmasını sağlayan önemli bir avantajdır (Oren, 2010). Çalışmamızda, su ve sediment izolatlarının büyük bir kısmının Gram (+) basil formunda olduğu belirlenmiş ve bazı izolatlarda endospor oluşumu gözlemlenmiştir. Endospor yapısı, bakterilerin kuraklık,

sıcaklık değişimleri ve besin kıtlığı gibi olumsuz çevre koşullarına karşı uzun süreli dayanıklılık kazanmasını sağlamaktadır (Nicholson vd., 2000).

Bu çalışmada elde edilen biyokimyasal analiz sonuçları, su ve sediment mikroorganizmalarının metabolik farklılıklarını ortaya koymaktadır. İzolatların önemli bir kısmı oksidaz ve katalaz pozitif olarak belirlenmiş olup, bu enzimlerin bakterilerin oksijenli solunum yeteneğini desteklediği bilinmektedir. Katalaz enziminin varlığı, bakterilerin hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerine karşı koruma mekanizmasına sahip olduğunu göstermektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS), bakteriler için toksik etkilere sahip olup, oksijenli ortamda yaşayan mikroorganizmaların hayatta kalabilmesi için katalaz enziminin varlığı büyük önem taşımaktadır (Khademian ve Imlay, 2021). Nitrat ve nitrit indirgeme testlerinin sonuçları, azot döngüsüne katılan bakterilerin varlığını ortaya koymuştur. Nitrat redüksiyonu, özellikle sediment mikroorganizmaları arasında yaygın bir metabolik mekanizmadır ve bu süreç, azotun biyolojik döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır. Nitrat indirgeme kapasitesine sahip bakterilerin yüksek oranlarda tespit edilmesi, bu mikroorganizmaların sedimentte ve sudaki azot dönüşüm süreçlerine katkı sağladığını göstermektedir (Philippot vd., 2007).

Çalışmamızda belirlenen indol pozitif izolatlar, bazı bakterilerin triptofan metabolizmasına katıldığını ve amino asit türevlerinden enerji elde edebildiğini göstermektedir. İndol üretimi, genellikle enterobakterilerde gözlemlenen bir özellik olmakla birlikte, bazı Gram (+) bakterilerin de bu özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Holt vd., 2000). İndol üretimi, bakteriyel hücrelerin metabolik esnekliğini ve çeşitli karbon ve azot kaynaklarını kullanabilme yeteneklerini ortaya koymaktadır. Ayrıca, fakültatif anaerobik metabolizmaya sahip izolatların tespit edilmesi, oksijen konsantrasyonunun değişkenlik gösterdiği ekosistemlerde mikrobiyal çeşitliliğin nasıl şekillendiğini anlamak açısından önemlidir. Fakültatif anaerobik bakteriler, oksijenin varlığında aerobik solunum gerçekleştirirken, oksijen bulunmadığında nitrat, sülfat veya karbon dioksit gibi alternatif elektron alıcılarını kullanarak enerji üretebilirler (Tiedje, 1994).

Gökçeada'da kıyısal ve sucul ekosistemlerde mikrobiyal çeşitliliği inceleyen çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Türetken ve Altuğ, 2016; Hacıoğlu Doğru, 2020; Çelik, 2021). Ancak bu çalışmaların büyük bir kısmı yalnızca denizel ve lagün sistemlerine odaklanmış

olup, kara ve su ekosistemlerinin bir arada değerlendirilmesine yönelik kapsamlı araştırmalar sınırlıdır. Çalışmamız hem su hem de sediment ekosistemlerinde mikrobiyal toplulukların karşılaştırmalı analizini gerçekleştiren ve bu bölgedeki bakteri çeşitliliğini mevsimsel olarak değerlendiren ilk kapsamlı araştırmalardan biri olma özelliğini taşımaktadır. Elde edilen veriler, kara ve su ortamlarındaki bakteriyel çeşitliliğin çevresel faktörlerden nasıl etkilendiğini ortaya koyarak, ekosistemler arası mikrobiyal dinamiklerin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

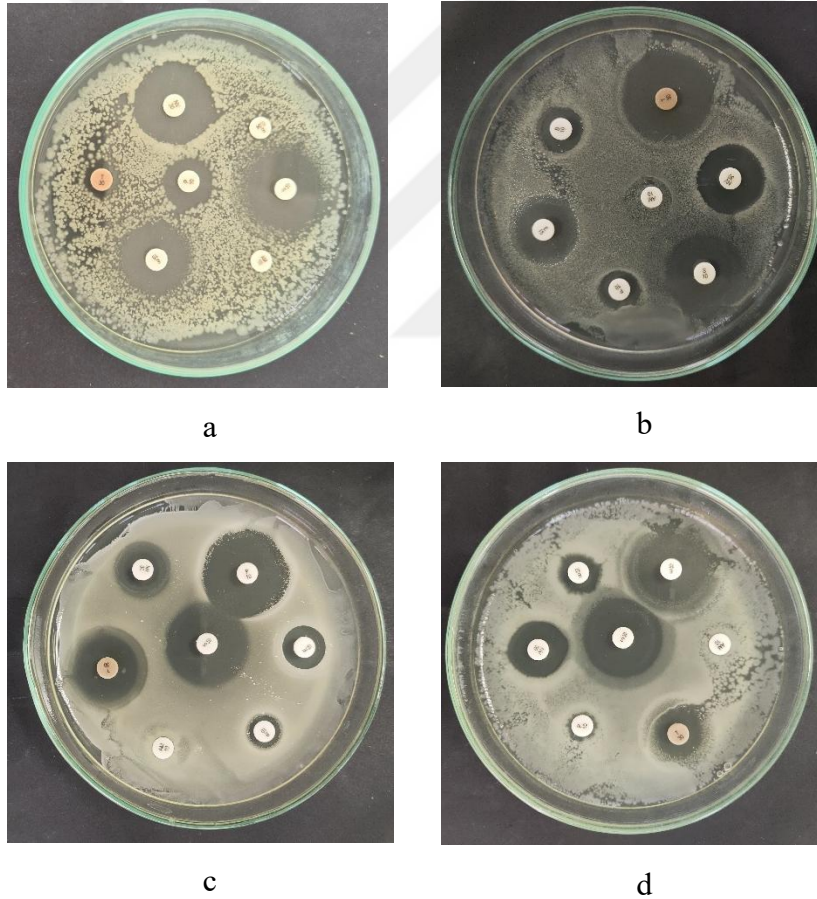
4.5.2 Halofil İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri

Su ve sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin, NV5, E15, S10, B10, P10, AM10 ve TE30 antibiyotiklerine karşı duyarlılık (S), ara duyarlılık (I) ve dirençlilik (R) durumları değerlendirilmiş (CLSI, 2024), sonuçları ve ÇAD değerleri su numunelerinden elde edilen izolatlar için Tablo 22-25'te ve Şekil 23'te, sediment numunelerinden elde edilen izolatlar için ise Tablo 26-30 ve Şekil 24'te verilmiştir.

Su numunelerinden elde edilen izolatların antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde, I. istasyonda, en yüksek direnç oranı AM10 antibiyotiğine karşı gözlemlenmiş olup, toplam 51 izolat dirençli bulunmuştur. Benzer şekilde, P10 ve E15 antibiyotiklerine karşı da direnç oranı oldukça yüksek olup sırasıyla 19 ve 16 izolat direnç göstermiştir. TE30 antibiyotiği için ise direnç gösteren izolat sayısı 12 olarak belirlenmiştir. Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranları nispeten daha düşük seviyelerde kalmıştır. II. istasyonda da AM10 antibiyotiğine karşı 46 izolat dirençli bulunmuştur. E15 ve B10 antibiyotikleri için direnç oranları sırasıyla 20 ve 18 olarak belirlenmiştir. P10 antibiyotiğine dirençli 16, TE30 antibiyotiğine ise dirençli 8 izolat tespit edilmiştir. NV5 antibiyotiğine karşı dirençli izolat sayısı 10 olarak kaydedilmiştir. III. istasyonda AM10 antibiyotiğine dirençli 39 izolat tespit edilmiştir ve önceki istasyonlara kıyasla bir azalma gözlenmiştir. P10 ve E15 antibiyotikleri için direnç oranları sırasıyla 15 ve 10 izolat olarak belirlenmiştir. TE30 antibiyotiğine dirençli 9 izolat tespit edilirken, NV5, S10 ve B10 antibiyotiklerine direnç oranları nispeten düşük seviyelerde kalmıştır. IV. istasyonda, AM10 antibiyotiğine karşı 47 izolat dirençli bulunmuştur, bu da antibiyotiğe karşı dirençliliğin hala yaygın olduğunu göstermektedir. P10 antibiyotiğine karşı 12 izolat dirençli tespit edilmiştir. B10 ve E15 antibiyotikleri için dirençli izolat sayıları sırasıyla 10 ve 6 olarak belirlenmiştir. S10

antibiyotiğine karşı direnç gösteren izolat 2 olarak tespit edilmiştir. NV5 ve TE30 antibiyotiğine karşı sadece 1 izolat direnç göstermiştir. Genel olarak, dört istasyonda da AM10 antibiyotiğine karşı yaygın bir dirençlilik profili sergilendiği gözlemlenmiştir. E15 ve P10 antibiyotiklerine karşı direnç oranları belirli istasyonlarda artış göstermiştir.

Bakteriyel izolatlar arasında en yüksek antibiyotik duyarlılığı S10 antibiyotiğine karşı gözlenmiştir. Tüm istasyonlarda S10'a duyarlı izolat sayısı oldukça yüksek olup NV5 ve B10 antibiyotikleri de genel olarak yüksek duyarlılık göstermiştir. TE30 antibiyotiğine karşı da özellikle I. ve II. istasyonlarda belirgin duyarlılık mevcuttur. Buna karşın, AM10 ve E15 antibiyotiklerine karşı duyarlılık oldukça düşüktür (Şekil 21).



Şekil 23. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin antibiyotik direnç profilleri petri görselleri, a: A4S3, b: B1S10, c: C3S3, d: D3S6.

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin ÇAD indeks değerleri mevsimsel olarak değişiklik göstermiştir. Eyl/23'te ÇAD değerleri 0,14 ile 0,71

arasında değişmiş, çoğunlukla 0,28 seviyesinde yoğunlaşarak düşük veya orta düzeyde direnç sergilenmiştir; ancak A1S6 ve A1S10 yüksek direnç göstermiştir. Ara/23'te ise en yüksek direnç seviyesi gözlenmiş, bazı izolatlar tüm antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur ve genel olarak ÇAD değerleri 0,2'nin üzerinde seyretmiştir. Nis/24'te direnç seviyelerinde azalma görülmüş, birçok izolat 0,2'nin altında değerlere sahipken bazı izolatlar orta düzey direnç (C1S4) göstermeye devam etmiştir. Tem/24'te ise en düşük direnç seviyeleri tespit edilmiştir; ÇAD değerleri genellikle 0,2'nin altında olup, izolatların tamamı en az bir antibiyotiğe duyarlı bulunmuştur (Tablo 22).

Tablo 22

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotikler							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A1S1	S	S	S	R	S	R	S	0,286
A1S2	S	R	S	S	S	R	S	0,286
A1S3	S	R	S	S	S	R	S	0,286
A1S4	S	R	S	S	R	R	S	0,429
A1S5	S	R	S	S	S	R	S	0,286
A1S6	S	R	S	R	R	R	R	0,714
A1S7	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A1S8	S	R	S	S	S	R	S	0,286
A1S9	S	R	S	S	S	R	S	0,286
A1S10	S	R	S	R	R	R	R	0,714
A1S11	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A1S12	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B1S1	S	I	S	S	S	S	S	0,000
B1S2	S	I	S	S	R	R	S	0,286
B1S3	S	I	S	S	S	R	I	0,143
B1S4	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B1S5	S	I	S	R	S	R	S	0,286
B1S6	S	I	S	S	I	R	I	0,143
B1S7	S	I	S	S	S	I	S	0,000
B1S8	S	I	S	R	S	R	S	0,286
B1S9	R	R	R	R	R	R	R	1,000
B1S10	S	I	S	R	R	R	R	0,571
B1S11	S	I	S	S	R	R	R	0,429
B1S12	S	I	S	S	R	R	R	0,429
B1S13	S	I	S	S	R	R	R	0,429
B1S14	S	I	S	R	R	R	R	0,571
B1S15	S	I	S	S	R	R	R	0,429
C1S1	R	R	S	S	I	R	S	0,429
C1S2	S	I	S	S	I	S	S	0,000
C1S3	S	R	S	S	I	R	R	0,429

Tablo 22'nin devamı

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

C1S4	R	R	S	S	R	R	S	0,571
C1S5	I	R	S	S	R	R	S	0,429
C1S6	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C1S7	R	R	S	S	I	R	S	0,429
C1S8	R	R	S	S	I	R	S	0,429
C1S9	S	I	S	S	R	R	R	0,429
C1S10	S	I	S	S	R	R	R	0,429
C1S11	S	S	S	S	R	R	S	0,286
C1S12	S	I	S	S	I	R	S	0,143
C1S13	R	R	S	S	R	R	I	0,571
C1S14	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C1S15	I	S	S	S	I	R	S	0,143
D1S1	S	I	S	S	I	R	S	0,143
D1S2	S	I	S	S	R	R	S	0,286
D1S3	S	S	S	S	R	R	S	0,286
D1S4	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1S5	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1S6	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1S7	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1S8	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1S9	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D1S10	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1S11	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D1S12	S	I	S	S	S	R	S	0,143

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin Eyl/23'te ÇAD değerleri 0,00 ile 0,71 arasında değişmiş, bazı izolatlar tamamen duyarlı ($\text{ÇAD} \leq 0,2$) olurken, belirli suşlar yüksek çoklu antibiyotik direnci ($\text{ÇAD} > 0,2$) sergilemiştir. Ara/23'te direnç seviyelerinde artış gözlenmiş, B2S1 ve B2S4 izolatlarının ÇAD değerleri 0,71'e kadar yükselmiş ve direnç heterojen bir dağılım göstermiştir. Nis/24'te ise yüksek direnç seviyeleri korunmuş, bazı izolatlar 0,71 ÇAD değeriyle dirençli kalırken (C2S8 ve C2S9), diğer izolatlar düşük direnç göstermiştir. Tem/24'te ise genel direnç seviyeleri düşmüş, ÇAD değerleri çoğunlukla 0,2'nin altında bulunmuş ve tüm izolatlar en az bir antibiyotiğe duyarlı olmuştur (Tablo 23).

Tablo 23

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotikler							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A2S1	S	I	S	S	S	S	S	0,000
A2S2	S	I	S	S	S	S	S	0,000
A2S3	S	R	S	R	I	R	S	0,429
A2S4	S	R	S	R	R	R	R	0,714
A2S5	S	R	S	R	R	R	S	0,571
A2S6	I	R	S	S	R	R	R	0,571
A2S7	I	R	R	R	I	R	S	0,571
A2S8	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A2S9	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A2S10	S	S	S	R	S	R	S	0,286
A2S11	I	S	S	S	S	R	S	0,143
A2S12	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A2S13	S	S	R	R	S	S	S	0,286
A2S14	S	I	S	S	S	S	S	0,000
A2S15	R	R	S	S	R	R	I	0,571
A2S16	S	S	S	R	S	S	S	0,143
A2S17	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B2S1	S	R	R	R	I	R	R	0,714
B2S2	S	S	S	S	R	R	S	0,286
B2S3	S	I	I	S	S	R	S	0,143
B2S4	S	R	S	R	R	R	R	0,714
B2S5	S	I	S	S	I	R	S	0,143
B2S6	S	I	S	S	S	S	S	0,000
B2S7	S	S	S	R	R	R	S	0,429
B2S8	S	R	S	R	R	R	S	0,571
B2S9	R	R	S	S	R	R	R	0,714
B2S10	I	R	S	R	R	R	S	0,571
B2S11	S	R	S	R	I	R	S	0,429
B2S12	S	R	S	S	S	R	S	0,286
C2S1	R	R	S	R	I	R	S	0,571
C2S2	S	S	S	S	I	R	S	0,143
C2S3	R	I	S	S	R	R	I	0,429
C2S4	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C2S5	R	I	S	S	I	R	S	0,286
C2S6	R	I	S	S	I	S	S	0,143
C2S7	S	R	S	S	R	R	S	0,429
C2S8	R	R	S	S	R	R	R	0,714
C2S9	R	R	S	R	R	R	S	0,714
C2S10	R	R	S	S	R	R	S	0,571
C2S11	R	I	S	S	I	R	S	0,286
C2S12	S	R	S	S	S	R	S	0,286
D2S1	S	I	S	R	S	R	S	0,286
D2S2	S	I	S	R	S	R	S	0,286
D2S3	S	S	S	S	S	R	R	0,286
D2S4	S	I	S	S	S	R	S	0,143

Tablo 23'ün devamı

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

D2S5	S	I	S	R	I	R	S	0,286
D2S6	S	R	S	S	R	R	S	0,429
D2S7	S	I	S	S	I	R	I	0,143
D2S8	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D2S9	S	S	S	S	I	R	S	0,143
D2S10	S	I	S	S	I	R	S	0,143
D2S11	S	I	S	S	S	R	I	0,143
D2S12	S	S	S	S	I	R	R	0,286

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin Eyl/23'te ÇAD değerleri genellikle 0,2'nin altında olup, çoğunlukla düşük veya orta düzey direnç sergilenmiştir; yalnızca A3S6 izolatu 0,42 ile yüksek direnç göstermiştir. Ara/23'te direnç seviyeleri artmış, bazı izolatların ÇAD değerleri 0,2'nin üzerinde, hatta 0,71'e kadar yükselmiştir; buna karşın tamamen duyarlı izolatlar (B3S8) da bulunmuştur. Nis/24'te ÇAD değerleri 0,2'nin üzerinde olan izolat sayısı azalmış, ancak bazı suşlar 0,57 ile yüksek direnç göstermeye devam etmiştir. Tem/24'te genel direnç seviyeleri düşmüş olsa da, bazı izolatlar hala yüksek direnç (0,57 ve 0,71) göstermiştir (Tablo 24).

Tablo 24

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotikler							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A3S1	S	S	S	S	I	R	S	0,143
A3S2	S	I	S	S	I	R	S	0,143
A3S3	S	I	S	S	R	R	I	0,286
A3S4	S	I	S	S	I	R	S	0,143
A3S5	S	I	S	S	I	R	I	0,143
A3S6	S	I	S	R	S	R	R	0,429
A3S7	S	I	S	S	I	R	I	0,143
B3S1	S	I	S	S	R	R	S	0,286
B3S2	S	S	S	R	I	S	S	0,143

Tablo 24'ün devamı

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

B3S3	I	I	S	R	I	I	S	0,143
B3S4	S	R	S	R	R	R	R	0,714
B3S5	S	I	S	I	I	R	S	0,143
B3S6	I	R	R	S	R	R	R	0,714
B3S7	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B3S8	S	I	S	S	S	I	S	0,000
B3S9	S	S	S	S	S	R	S	0,143
B3S10	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C3S1	R	R	S	S	I	R	S	0,429
C3S2	I	R	S	S	I	I	S	0,143
C3S3	I	R	S	S	S	R	S	0,286
C3S4	R	R	S	R	I	R	S	0,571
C3S5	S	S	S	S	S	R	I	0,143
C3S6	S	I	S	S	R	R	I	0,286
C3S7	S	R	S	S	I	R	S	0,286
C3S8	R	R	S	S	I	R	I	0,429
C3S9	R	I	S	S	I	R	R	0,429
C3S10	R	R	S	S	R	R	I	0,571
C3S11	S	I	S	S	R	R	S	0,286
C3S12	S	I	S	S	S	R	I	0,143
D3S1	S	S	S	S	I	R	I	0,143
D3S2	S	S	S	S	R	R	S	0,286
D3S3	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D3S4	S	I	S	S	R	R	S	0,286
D3S5	S	S	S	S	R	R	R	0,429
D3S6	R	I	S	R	R	R	R	0,714
D3S7	S	R	S	R	I	R	R	0,571
D3S8	S	S	S	S	R	R	I	0,286
D3S9	S	S	S	S	I	R	I	0,143
D3S10	S	S	S	S	R	R	R	0,429
D3S11	R	S	S	S	R	R	R	0,571
D3S12	S	S	S	R	I	R	S	0,286
D3S13	S	S	I	S	R	R	S	0,286
D3S14	S	S	S	S	S	R	S	0,143

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin ÇAD indeks değerleri Eyl/23'te genellikle 0,2'nin altında olup, çoğu izolat düşük direnç göstermiştir; bazı izolatlar (A4S2, A4S10) 0,28 ile orta düzey direnç sergilemiştir. Ara/23'te direnç seviyeleri belirgin şekilde artmış, ÇAD değerleri 0,2'nin üzerine çıkarak 0,71'e kadar

(B4S4) ulaşmıştır. Nis/24'te ise direnç seviyeleri tekrar düşmüş, tüm izolatların ÇAD değerleri 0,28 ve altında kalmış, yüksek direnç gözlenmemiştir. Tem/24'te direnç genel olarak düşük seyretmiş ancak bazı izolatlarda (D4S9) 0,57 gibi nispeten yüksek direnç değerleri tespit edilmiştir (Tablo 25).

Tablo 25

IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotikler							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A4S1	S	S	S	S	S	I	S	0,000
A4S2	S	I	S	S	R	R	S	0,286
A4S3	I	S	S	S	S	R	S	0,143
A4S4	S	S	S	S	I	R	I	0,143
A4S5	S	S	S	S	S	S	S	0,000
A4S6	S	S	S	S	S	R	S	0,143
A4S7	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A4S8	S	I	S	S	I	R	S	0,143
A4S9	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A4S10	S	S	S	R	I	R	S	0,286
A4S11	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A4S12	S	S	S	S	S	R	S	0,143
B4S1	S	I	S	S	R	R	S	0,286
B4S2	S	I	S	R	S	R	S	0,286
B4S3	S	S	S	R	R	R	S	0,429
B4S4	R	R	S	S	R	R	R	0,714
B4S5	S	I	S	R	S	S	S	0,143
B4S6	S	I	R	S	R	R	S	0,429
B4S7	S	R	S	S	R	R	S	0,429
B4S8	S	R	S	R	R	R	S	0,571
B4S9	S	I	S	S	R	R	S	0,286
C4S1	S	S	S	S	S	R	I	0,143
C4S2	S	S	R	S	S	R	S	0,286
C4S3	S	S	S	R	S	R	S	0,286
C4S4	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C4S5	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C4S6	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C4S7	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C4S8	S	I	S	R	S	R	S	0,286
C4S9	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C4S10	S	I	S	R	I	R	S	0,286
C4S11	S	S	S	S	I	R	S	0,143
C4S12	S	S	S	R	S	R	S	0,286
D4S1	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D4S2	S	S	S	S	R	R	S	0,286

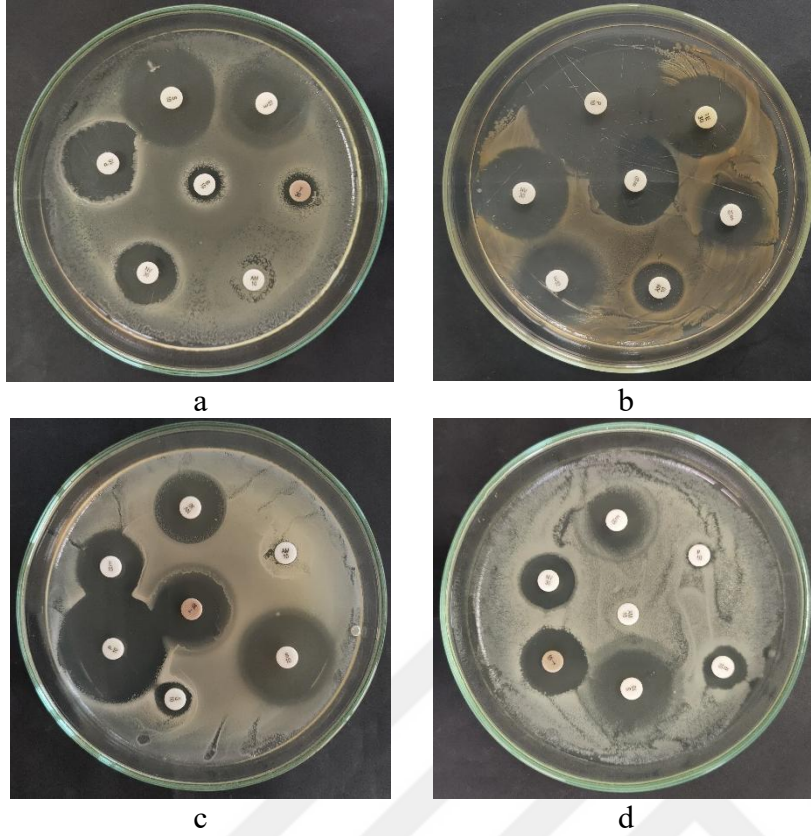
Tablo 25'in devamı

IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

D4S3	S	R	S	S	I	R	S	0,286
D4S4	S	I	S	S	I	R	I	0,143
D4S5	S	I	S	S	I	R	S	0,143
D4S6	S	I	S	S	R	R	I	0,286
D4S7	S	I	S	S	S	R	I	0,143
D4S8	S	R	S	S	R	R	S	0,429
D4S9	S	R	S	R	R	R	I	0,571
D4S10	S	I	S	S	I	R	I	0,143
D4S11	S	S	S	S	I	R	I	0,143
D4S12	S	S	S	S	S	R	I	0,143
D4S13	S	S	S	S	I	R	S	0,143
D4S14	S	S	S	S	I	R	I	0,143
D4S15	S	S	S	S	S	R	I	0,143
D4S16	S	S	S	S	S	R	I	0,143
D4S17	S	S	S	S	S	R	I	0,143

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde, tüm istasyonlarda en yüksek direnç oranının AM10 antibiyotiğine karşı geliştiği tespit edilmiştir. I. istasyonda 44, II. istasyonda 47, III. istasyonda 44 ve IV. istasyonda 37 izolat bu antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Bu durum, AM10'a karşı yaygın bir direnç mekanizmasının varlığına işaret etmektedir. E15 antibiyotiğine karşı dirençlilik oranı da yüksek olup, en fazla dirençli izolat II. istasyonda gözlenmiştir (n=17). P10 antibiyotiğine karşı direnç oranı istasyonlar arasında değişkenlik göstermiş olup, en yüksek dirençli izolat sayısı II. istasyonda (n=18) belirlenmiştir. TE30 antibiyotiğine karşı direnç oranı istasyonlara göre farklılık göstermektedir. Tüm istasyonlarda sırasıyla 12, 11, 8 ve 6 izolat TE30 antibiyotiğine dirençli bulunmuştur. NV5 ve S10 antibiyotiklerine karşı direnç oranları ise oldukça düşük seviyelerde seyretmiştir. Özellikle NV5 için en yüksek direnç oranı ikinci istasyonda (n=5), en düşük direnç oranı ise dördüncü istasyonda (n=0) tespit edilmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin antibiyotik direnç profilleri petri görselleri, a: A1T11, b: B1T6, c: C3T11, d: D2T6.

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin ÇAD indeksleri Eyl/23'te genellikle 0,2'nin üzerinde olup, bazı izolatlarda (A1T1, A1T5, A1T11) 0,42'ye kadar ulaşan direnç seviyeleri gözlemlenmiştir. Ara/23'te ise direnç seviyeleri düşmüş ve çoğu izolatın ÇAD değeri 0,2'nin altında kalmıştır; bazı izolatlar tamamen duyarlı (ÇAD=0) bulunmuştur. Nis/24'te direnç seviyeleri artarak, özellikle C1T4 izolatında 0,71'e varan yüksek dirençler tespit edilmiştir. Tem/24'te ise direnç genel olarak yüksek seyretmiş, bazı izolatlarda (D1T12) 0,71 gibi çoklu antibiyotik direnci saptanırken, bazıları tamamen duyarlı kalmıştır (Tablo 26).

Tablo 26

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotik							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A1T1	S	R	S	S	I	R	R	0,429
A1T2	S	S	S	S	I	R	S	0,143
A1T3	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A1T4	S	I	S	R	S	R	I	0,286
A1T5	S	R	S	R	S	R	S	0,429
A1T6	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A1T7	I	R	R	S	I	I	I	0,286
A1T8	S	I	S	S	R	S	S	0,143
A1T9	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A1T10	S	I	S	S	R	R	S	0,286
A1T11	S	I	S	R	R	R	S	0,429
A1T12	S	I	S	I	S	R	S	0,143
A1T13	S	I	S	R	S	R	S	0,286
A1T14	S	I	S	R	S	R	S	0,286
B1T1	S	S	S	S	S	R	R	0,286
B1T2	R	I	S	S	I	R	S	0,286
B1T3	S	S	S	S	S	R	S	0,143
B1T4	S	S	S	S	I	R	R	0,286
B1T5	S	I	S	I	S	R	I	0,143
B1T6	S	I	S	S	S	I	S	0,000
B1T7	S	I	S	S	I	R	S	0,143
B1T8	S	I	S	S	R	R	I	0,286
B1T9	S	S	S	S	I	R	S	0,143
B1T10	I	I	S	S	S	R	R	0,286
B1T11	S	R	S	S	I	S	S	0,143
B1T12	S	I	S	S	S	R	I	0,143
C1T1	S	I	S	S	I	S	S	0,000
C1T2	S	I	S	S	R	R	S	0,286
C1T3	S	I	R	S	R	R	I	0,429
C1T4	R	R	I	S	R	R	R	0,714
C1T5	S	I	S	S	S	I	S	0,000
C1T6	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C1T7	R	R	S	S	I	R	S	0,429
C1T8	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C1T9	S	R	S	S	S	R	S	0,286
C1T10	S	R	S	S	R	R	R	0,571
C1T11	S	I	S	S	I	R	S	0,143
C1T12	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D1T1	S	I	S	S	I	R	S	0,143
D1T2	S	I	R	S	I	S	S	0,143
D1T3	S	I	S	S	S	I	S	0,000
D1T4	R	R	I	S	I	R	R	0,571
D1T5	S	S	S	S	R	I	S	0,143
D1T6	I	R	I	S	I	R	R	0,429
D1T7	S	R	I	S	I	R	I	0,286

Tablo 26'nın devamı

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

D1T8	S	I	S	S	I	R	R	0,286
D1T9	S	I	S	R	R	R	R	0,571
D1T10	S	I	S	I	I	R	S	0,143
D1T11	S	R	S	S	S	R	I	0,286
D1T12	S	R	R	S	R	R	R	0,714
D1T13	S	S	S	S	I	R	S	0,143
D1T14	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D1T15	S	I	S	R	I	R	R	0,429

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin ÇAD indeksleri Eyl/23'te genellikle 0,2'nin altında olup, çoğunlukla düşük direnç seviyeleri (0,14–0,28) görülürken, A2T10 izolatında 0,57 ile yüksek direnç tespit edilmiştir. Ara/23'te direnç seviyeleri artarak, bazı izolatlar (B2T13, B2T15) 0,71'e ulaşan çoklu antibiyotik direnci göstermiştir. Nis/24'te direnç seviyeleri yine yüksek seyretmiş, özellikle C2T13 izolatı 0,71 ile yüksek direnç gösterirken, bazı izolatlar tamamen duyarlı (ÇAD=0) bulunmuştur. Tem/24'te ise direnç seviyeleri azalmış, en yüksek değer 0,42 (D2T2) olarak tespit edilmiş ve çoğunlukla düşük direnç gözlemlenmiştir (Tablo 27).

Tablo 27

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotik							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A2T1	I	I	S	S	I	R	S	0,143
A2T2	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A2T3	S	I	S	S	I	R	S	0,143
A2T4	S	I	S	S	S	I	S	0,000
A2T5	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A2T6	S	I	S	S	R	R	I	0,286
A2T7	S	I	S	S	S	I	S	0,000
A2T8	S	I	S	S	I	R	S	0,143
A2T9	I	I	S	R	S	R	S	0,286
A2T10	S	I	R	R	I	R	R	0,571
A2T11	S	I	S	S	R	R	S	0,286

Tablo 27'nin devamı

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

A2T12	S	R	S	S	I	R	S	0,286
A2T13	S	I	S	S	I	I	S	0,000
A2T14	S	R	S	I	R	R	S	0,429
A2T15	S	I	S	R	I	R	R	0,429
A2T16	S	I	S	S	R	R	R	0,429
A2T17	S	S	S	S	I	R	R	0,286
B2T1	S	S	S	S	S	R	I	0,143
B2T2	S	R	S	S	I	R	S	0,286
B2T3	I	R	S	S	I	R	S	0,286
B2T4	I	R	S	S	S	R	S	0,286
B2T5	S	S	S	S	S	R	R	0,286
B2T6	R	R	S	S	R	R	I	0,571
B2T7	S	S	S	S	S	R	S	0,143
B2T8	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B2T9	S	I	S	S	S	S	S	0,000
B2T10	S	I	S	S	R	R	I	0,286
B2T11	S	I	S	R	R	R	I	0,429
B2T12	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B2T13	R	I	S	R	R	R	R	0,714
B2T14	S	R	S	I	R	R	R	0,571
B2T15	S	R	R	R	R	R	I	0,714
B2T16	S	I	R	R	I	R	S	0,429
C2T1	S	S	S	S	R	R	S	0,286
C2T2	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C2T3	S	R	S	S	R	R	I	0,429
C2T4	S	R	S	I	I	R	S	0,286
C2T5	S	S	S	R	S	R	S	0,286
C2T6	I	R	I	S	R	R	R	0,571
C2T7	I	R	I	S	R	R	R	0,571
C2T8	S	I	S	S	S	S	S	0,000
C2T9	I	R	I	S	R	R	R	0,571
C2T10	I	R	S	R	R	R	I	0,571
C2T11	I	R	S	S	S	R	S	0,286
C2T12	S	I	S	S	R	R	S	0,286
C2T13	R	R	S	R	R	R	I	0,714
D2T1	R	S	S	S	I	I	I	0,143
D2T2	I	R	S	S	S	R	R	0,429
D2T3	S	I	S	S	I	R	S	0,143
D2T4	S	S	S	S	I	R	S	0,143
D2T5	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D2T6	R	I	S	S	S	R	S	0,286
D2T7	S	S	S	S	S	R	I	0,143

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin çoğunun Eyl/23'te 0,2'nin altında ÇAD değerleri ile düşük dirençlilik sergilediği, yalnızca A3T5 izolatının 0,42 değeriyle çoklu antibiyotik direnci gösterdiği belirlenmiştir. Ara/23'te direnç seviyelerinde artış gözlemlenmiş, B3T5 izolatı 0,57 ile en yüksek ÇAD değerine sahip olmuştur. Nis/24'te direnç seviyelerinde kısmi bir azalma meydana gelmiş, izolatların çoğu düşük dirençlilik göstermiş ve yalnızca C3T12 izolatı 0,42 değeriyle öne çıkmıştır. Tem/24'te ise direnç seviyeleri genel olarak korunmuş olup, D3T2, D3T3, D3T9 ve D3T10 izolatları 0,42 ÇAD değeri ile dirençlilik göstermiş, ancak izolatların büyük bölümü 0,28 ve altında değerlere sahip olmuştur (Tablo 28).

Tablo 28

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotikler							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A3T1	S	S	S	S	S	R	S	0,143
A3T2	S	I	S	S	S	I	S	0,000
A3T3	S	S	S	S	I	R	I	0,143
A3T4	S	R	S	S	S	R	S	0,286
A3T5	S	I	R	R	I	R	I	0,429
A3T6	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A3T7	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A3T8	S	S	S	S	S	S	S	0,000
A3T9	S	I	S	S	S	I	S	0,000
A3T10	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A3T11	S	I	S	S	S	I	I	0,000
A3T12	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A3T13	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B3T1	R	R	S	S	S	R	S	0,429
B3T2	S	I	R	S	S	R	S	0,286
B3T3	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B3T4	S	S	S	S	R	R	R	0,429
B3T5	S	R	S	S	R	R	R	0,571
B3T6	R	R	S	S	S	S	S	0,286
B3T7	S	I	R	S	I	R	S	0,286
B3T8	S	I	S	S	S	R	S	0,143
B3T9	I	I	S	S	R	R	S	0,286
B3T10	S	I	S	S	I	R	S	0,143
B3T11	S	R	S	S	R	R	S	0,429
B3T12	S	I	S	S	S	R	S	0,143
C3T1	S	I	S	S	I	I	S	0,000
C3T2	S	I	S	S	I	R	S	0,143
C3T3	S	I	S	S	I	R	S	0,143
C3T4	S	S	S	S	S	R	I	0,143

Tablo 28'in devamı

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

C3T5	S	S	S	S	S	R	R	0,286
C3T6	S	S	S	S	S	R	S	0,143
C3T7	I	R	S	S	I	R	I	0,286
C3T8	S	S	S	S	I	R	S	0,143
C3T9	S	I	S	I	S	R	S	0,143
C3T10	I	R	S	S	S	R	S	0,286
C3T11	S	S	S	S	I	R	R	0,286
C3T12	R	I	S	S	R	R	S	0,429
C3T13	S	I	S	S	I	R	S	0,143
D3T1	I	R	S	S	S	R	S	0,286
D3T2	S	R	S	S	R	R	S	0,429
D3T3	S	S	S	R	S	R	R	0,429
D3T4	S	S	S	S	S	R	R	0,286
D3T5	S	I	S	S	S	R	R	0,286
D3T6	S	I	S	S	R	R	S	0,286
D3T7	S	S	S	R	S	R	S	0,286
D3T8	S	S	S	S	S	R	S	0,143
D3T9	S	S	S	S	R	R	R	0,429
D3T10	I	I	S	R	R	R	S	0,429
D3T11	S	R	S	S	S	R	S	0,286
D3T12	S	I	S	S	S	R	S	0,143

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin ÇAD indeksleri değerlendirildiğinde, Eyl/23'te izolatların büyük çoğunluğunun 0,2'nin üzerinde ÇAD değerleri ile dirençlilik gösterdiği, özellikle A4T3, A4T5 ve A4T6 izolatlarının 0,42 değeri ile en yüksek direnç sergilediği belirlenmiştir. Ara/23'te ise direnç seviyelerinde düşüş yaşanmış, tüm izolatlar 0,28 ve altında değerler göstermiştir. Nis/24'te de benzer şekilde ÇAD indeksleri 0,28'i geçmemiş, dirençlilik genel olarak düşük kalmış ve sadece C4T1, C4T2 ve C4T5 izolatları 0,28 ile orta düzeyde direnç göstermiştir. Tem/24'te ise direnç seviyelerinde görece bir artış yaşanmış, özellikle D4T4, D4T6, D4T7, D4T12 ve D4T14 izolatlarının 0,42 değeriyle dikkat çektiği görülmüştür (Tablo 29).

Tablo 29

IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

İzolat Kodu	Antibiyotikler							ÇAD İndeksi
	NV5	E15	S10	B10	P10	AM10	TE30	
A4T1	S	S	S	S	S	I	R	0,143
A4T2	S	I	S	S	S	I	S	0,000
A4T3	S	I	S	R	R	R	S	0,429
A4T4	S	I	S	S	R	R	S	0,286
A4T5	S	I	S	S	R	R	R	0,429
A4T6	S	S	S	S	R	R	R	0,429
A4T7	S	I	S	S	R	R	I	0,286
A4T8	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A4T9	S	I	R	S	S	R	S	0,286
A4T10	S	I	S	S	S	R	S	0,143
A4T11	I	I	S	S	R	R	S	0,286
A4T12	I	S	R	S	S	R	S	0,286
B4T1	S	S	S	S	S	R	S	0,143
B4T2	I	R	S	S	I	R	S	0,286
B4T3	I	I	S	S	S	S	S	0,000
B4T4	S	R	S	S	S	S	S	0,143
B4T5	I	R	S	S	I	S	S	0,143
B4T6	I	I	S	S	R	R	I	0,286
B4T7	S	I	S	S	I	R	S	0,143
B4T8	S	S	S	S	I	R	I	0,143
B4T9	S	I	R	S	S	R	S	0,286
B4T10	S	I	R	S	S	R	S	0,286
B4T11	S	I	R	S	S	R	S	0,286
B4T12	S	I	S	I	I	R	S	0,143
C4T1	S	I	S	R	S	R	S	0,286
C4T2	S	S	S	S	I	R	R	0,286
C4T3	S	I	S	S	S	R	I	0,143
C4T4	S	I	S	S	I	R	I	0,143
C4T5	S	I	S	S	S	R	R	0,286
C4T6	S	I	S	S	S	S	I	0,000
D4T1	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D4T2	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D4T3	S	I	S	S	R	R	S	0,286
D4T4	I	R	S	R	I	R	S	0,429
D4T5	S	S	S	S	S	R	I	0,143
D4T6	I	R	S	R	I	R	S	0,429
D4T7	S	S	R	R	S	R	S	0,429
D4T8	S	S	S	S	S	I	I	0,000
D4T9	S	I	S	R	I	R	S	0,286
D4T10	S	S	S	S	S	R	R	0,286
D4T11	S	S	S	S	S	R	S	0,143

Tablo 29'un devamı

IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait antibiyotik direnç profilleri

D4T12	S	I	S	R	R	R	S	0,429
D4T13	S	I	S	S	S	R	S	0,143
D4T14	S	R	S	S	R	R	I	0,429

S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, Novobiyosin (NV5), Eritromisin (E15), Streptomisin (S10), Basitrasin (B10), Penisilin G (P10), Ampisilin (AM10), Tetrasiklin (TE30)

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden elde edilen su ve sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin antibiyotik direnç analizleri, doğal ekosistemlerde bulunan mikrobiyal toplulukların çevresel koşullara bağlı olarak değişen dirençlilik profillerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Su numunelerinde genellikle düşük düzeyde antibiyotik direnci gözlenirken, sediment numunelerinde daha yüksek dirençlilik seviyeleri tespit edilmiştir. Bu durum, sediment ortamının daha durağan yapısı, organik madde birikimi ve kirleticilere maruz kalma potansiyeli nedeniyle antibiyotik direnç genlerinin daha kolay birikmesine ve korunmasına olanak tanıdığı şeklinde yorumlanabilir (Cabello vd., 2016). Öte yandan, her iki ortamda da bazı izolatların antibiyotiklere tamamen duyarlı bulunması, doğal mikrobiyal çeşitliliğin korunmakta olduğunu ve antropojenik baskının belirli dönem veya alanlarla sınırlı kalabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, dirençlilik seviyelerinin mevsimsel olarak değişkenlik göstermesi, sıcaklık, tuzluluk, su aktivitesi ve potansiyel kirlilik gibi çevresel parametrelerin mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirdiği yanıtlar üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, özellikle hipersalin sulak alanlarda antibiyotik direnç takibinin yalnızca sucul alanla sınırlı kalmaması, sediment bölgesinin de direnç analizlerine dâhil edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Bu değerlendirme, doğal ortamlarda antibiyotik direncinin yalnızca klinik bir sorun olmadığı; aynı zamanda çevresel boyutuyla da halk sağlığı açısından izlenmesi gereken önemli bir parametre olduğunu göstermektedir. Benzer bulgular, halofilik ve çevresel mikroorganizmalarla yürütülen çalışmalarda da vurgulanmıştır (Baquero vd., 2008; Cabello vd., 2016; Zhao vd., 2019). Bu bağlamda, dirençli mikroorganizmaların çevresel yayılımını sınırlamak ve direnç genlerinin taşınmasını önlemek amacıyla, doğal habitatlarda dirençlilik profillerinin izlenmesi ve yönetilmesi büyük önem taşımaktadır.

Antibiyotik direnç sonuçları, su ve sediment ortamlarından izole edilen mikroorganizmaların β -laktam ve makrolid antibiyotiklerine karşı direnç geliştirdiğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, farklı çevresel ortamlardan izole edilen halofilik bakteriler üzerinde yapılan çalışmalarda, bu mikroorganizmaların ÇAD indekslerinin yüksek olabileceğini göstermektedir. Literatürde, dünyanın farklı bölgelerinde sediment ve sudan izole edilen halofilik bakterilerin antibiyotik direnç profillerini belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. García vd. (2004), İspanya'daki çeşitli tuz göllerinden izole edilen halofilik bakterilerin antibiyotik direnç profilleri detaylı olarak incelemiştir. Çalışmada hem doğal hem de insan etkisine açık hipersalin ortamlardan toplanan numunelerden izole edilen bakterilerin ÇAD indeksleri değerlendirilmiş ve çevresel mikrobiyotaların dirençlilik düzeyleri ortaya konmuştur. Araştırmada kullanılan halofilik izolatların büyük çoğunluğunun ÇAD indeksinin 0.2'nin üzerinde olduğu belirlenmiş, bu da bu mikroorganizmaların birden fazla antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiş olduklarını göstermiştir. Özellikle β -laktam grubu antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç gözlemlenmiş, AM10, P10 ve cephalotin gibi antibiyotiklerin çoğu izolat üzerinde etkisiz kaldığı rapor edilmiştir. Velmurugan vd. (2013), halofilik mikroorganizmaların yalnızca antibakteriyel ve antifungal etkilerle sınırlı kalmadığı, aynı zamanda farklı biyolojik aktivitelere de sahip olduklarını ortaya koymuştur. Hindistan'daki Marakkanam Tuz Gölü'nden izole edilen halofilik bakterilerin, özellikle *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans* gibi patojen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca bu mikroorganizmaların proteaz, amilaz ve lipaz gibi endüstriyel öneme sahip enzimleri ürettikleri; dolayısıyla biyoteknolojik uygulamalarda kullanım potansiyeline sahip oldukları vurgulanmıştır. Shinde ve Thombre (2016), Hindistan'ın kıyı Maharashtra bölgesinden izole edilen halofillerinin antibiyotik direnç profillerini disk difüzyon yöntemiyle incelemiştir. Haloarke türlerinden *Haloarcula* sp. ve *Halovivax* sp. çoklu ilaç direnci göstermiştir. Çalışmada *Halomonas smyrnensis* ve *Salimicrobium salexigens* en yüksek direnci göstermiştir. Güngör vd. (2021), Doğu Karadeniz Bölgesi'nde farklı sucul sistemlerden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençliliklerini karşılaştırmış ve izolatların AM10 ve enrofloksasin (ENR5) dışındaki tüm antibiyotiklere karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Hacıoğlu Doğru (2020), Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden aldığı su ve sediment numunelerinde 12 bakteri izole etmiş NV5, E15, S10, B10, P10, AM10, TE30, C30 ve VAN30 antibiyotiklerine karşı duyarlılıklarını araştırmıştır. Tüm izolatlar VAN30 antibiyotiğine karşı yüksek dirençli bulunmuştur. Bu

alışmalar, su ve sediment kaynaklı bakterilerde antibiyotik direncinin yaygın olduğunu ve özellikle halofilik bakterilerin yüksek AD indeksine sahip olabileceğini desteklemektedir. Çalışmamızın bulguları, halofilik bakterilerin antibiyotik direnç profillerinin incelenmesinin çevresel mikrobiyal direnç yayılımını anlamada önemli bir katkı sağlayacağını göstermektedir.

4.6. Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen Halofil Mikroorganizmalarının Biyoteknolojik Uygulama Sonuçları

Çalışma kapsamında elde edilen halofilik mikroorganizmaların çeşitli biyoteknolojik potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bu özellikler, söz konusu mikroorganizmaların tarım, evre ve endüstri gibi farklı alanlarda değerlendirilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle ekstrem koşullara dayanıklı olmaları, bu mikroorganizmaları sürdürülebilir biyoteknolojik uygulamalar için değerli hale getirmektedir.

4.6.1. Halofil İzolatların Bitki Büyüme Teşvik Etme (PGP) Yetenekleri

PGP parametreleri, halofilik bakterilerin bitki büyümesi üzerindeki olası destekleyici rollerini belirlemek ve tarımsal biyoteknoloji açısından potansiyel uygulamalarını ortaya koymak amacıyla incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuş olup, halofilik bakterilerin PGP özellikleri açısından farklı düzeylerde aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen 32 izolatta siderofor üretimi pozitif olarak tespit edilmiştir. En yüksek siderofor zon apı, Nis/24 döneminde izole edilen C1S2 adlı izolatta 16 mm olarak ölçülmüştür. Diğer dikkat çeken yüksek değerler, Eyl/23'te A1S1 (14 mm), Ara/23'te B1S2 (12 mm) ve Tem/24'te D1S9 (13 mm) izolatlarında gözlemlenmiştir. Azot fiksasyonu yeteneği, toplamda 41 izolat tarafından pozitif olarak gösterilmiştir. En yüksek pozitiflik oranı, Nis/24'te (13 izolat) tespit edilmiştir. Bu sonuç, halofilik bakterilerin biyolojik azot fiksasyon potansiyelinin, özellikle ilkbahar koşullarında artış gösterebildiğini düşündürmektedir. Fosfor özünürlüğü, toplamda çok sayıda izolatta gözlemlenmiş olup, en yüksek fosfor çözme katsayısı Ara/23'te B1S11 izolatında 3,333 mm olarak kaydedilmiştir. Bunu Nis/24'te C1S6, C1S9 ve C1S10 izolatları 2,000 mm'lik değerle

takip etmiştir. IAA üretimi ise izolatların önemli bir kısmında gözlemlenmiş olup, en yüksek IAA üretimi Ara/23'te B1S13 izolatında 27,17 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bunu Nis/24'te C1S9 (23,18 µg/mL) ve C1S10 (23,17 µg/mL) izolatları izlemiştir (Tablo 30).

Tablo 30

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

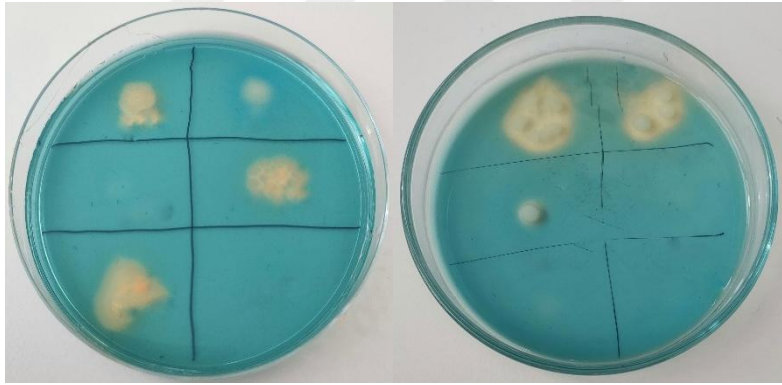
İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A1S1	14,00	(-)	1,300	8,23
A1S2	10,00	(-)	1,429	8,22
A1S3	7,00	(+)	1,833	10,36
A1S4	9,00	(+)	1,167	10,33
A1S5	0,00	(-)	1,200	8,66
A1S6	8,00	(+)	1,167	12,18
A1S7	9,00	(+)	1,200	12,20
A1S8	9,00	(+)	1,143	13,25
A1S9	9,00	(+)	1,200	12,20
A1S10	9,00	(-)	1,143	13,25
A1S11	9,00	(-)	1,200	8,33
A1S12	8,00	(+)	1,111	8,70
B1S1	0,00	(-)	1,063	10,50
B1S2	12,00	(+)	1,500	8,71
B1S3	6,00	(+)	0,100	16,35
B1S4	10,00	(-)	1,100	8,72
B1S5	0,00	(+)	1,143	9,88
B1S6	0,00	(+)	1,100	8,96
B1S7	8,00	(+)	1,125	8,94
B1S8	0,00	(+)	1,067	9,91
B1S9	5,00	(+)	1,100	12,58
B1S10	7,00	(-)	0,833	11,12
B1S11	7,00	(+)	3,333	10,90
B1S12	7,00	(+)	1,200	12,19
B1S13	0,00	(+)	1,250	27,17
B1S14	6,00	(-)	1,200	11,11
B1S15	5,00	(+)	1,143	11,11
C1S1	0,00	(+)	1,750	6,84
C1S2	16,00	(+)	1,143	7,88
C1S3	0,00	(+)	1,250	7,88
C1S4	0,00	(+)	1,333	9,62
C1S5	0,00	(-)	1,125	6,87
C1S6	0,00	(+)	2,000	6,88
C1S7	10,00	(+)	1,250	8,15
C1S8	13,00	(+)	1,400	23,17
C1S9	0,00	(+)	2,000	23,18
C1S10	0,00	(+)	2,000	9,91
C1S11	0,00	(+)	1,067	10,02
C1S12	0,00	(+)	1,100	7,10
C1S13	10,00	(-)	1,077	9,10
C1S14	0,00	(+)	1,167	9,41
C1S15	9,00	(+)	1,200	10,19

Tablo 30'un devamı

I. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D1S1	0,00	(+)	2,000	4,80
D1S2	0,00	(+)	1,500	4,50
D1S3	0,00	(-)	0,500	4,50
D1S4	6,00	(+)	1,333	4,12
D1S5	7,00	(+)	1,750	4,87
D1S6	0,00	(+)	1,100	5,07
D1S7	0,00	(+)	1,125	5,07
D1S8	0,00	(+)	1,222	4,68
D1S9	13,00	(+)	1,667	4,52
D1S10	5,00	(+)	1,333	4,87
D1S11	9,00	(+)	0,125	6,26
D1S12	4,00	(-)	0,125	4,52

II. İstasyon su numunelerinden izole edilen bakterilerin PGP yetenekleri değerlendirildiğinde, siderofor üretimi (Şekil 25) toplamda 26 izolat tarafından gerçekleştirilmiş olup, en yüksek siderofor zon çapı Tem/24'te D2S6 izolatında 18 mm olarak ölçülmüştür. Diğer yüksek değerler arasında Ara/23'te B2S1 (17 mm), Nis/24'te C2S8 ve C2S12 (15 mm) ve Eyl/23'te A2S3 ve A2S7 (10 mm) izolatları yer almaktadır.



Şekil 25. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin siderofor üretimi görselleri.

Azot fiksasyonu pozitif bulunan izolat sayısı dönemlere göre değişmekle birlikte toplamda 45 izolata ulaşmış, özellikle Eyl/23 ve Tem/24'te 14 ve 11 izolatla yüksek pozitiflik oranları dikkat çekmiştir. Fosfor çözme kapasitesi açısından en yüksek çözünme katsayısı Nis/24'te izole edilen C2S4 izolatında 7,000 mm olarak kaydedilmiş, bu izolat genel çalışma kapsamında fosfat çözünürlüğü bakımından en güçlü potansiyele sahip olarak öne çıkmıştır. IAA üretimi en yüksek Eyl/23'te A2S12 (17,31 µg/mL) izolatında ölçülmüştür. Tem/24'te ise D2S12 izolatı hem en yüksek fosfor çözünürlüğüne (1,364 mm) hem de en yüksek IAA üretimine (7,20 µg/mL) sahip olmasıyla dikkat çekmiştir. (Tablo 31).

Tablo 31

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

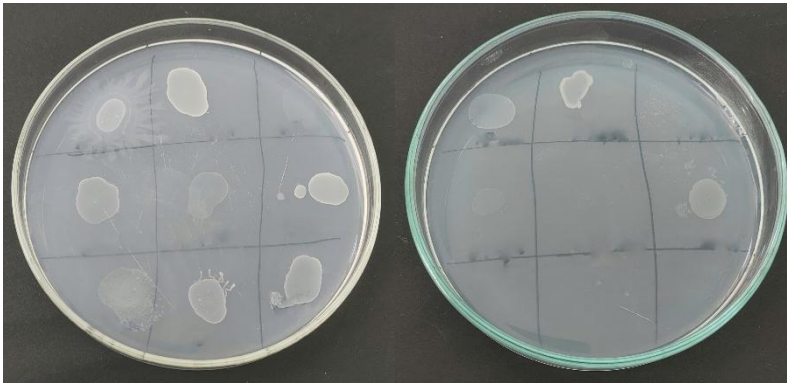
İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A2S1	6,00	(+)	1,167	11,62
A2S2	8,00	(+)	1,167	11,63
A2S3	10,00	(+)	1,143	5,51
A2S4	9,00	(+)	1,250	5,51
A2S5	8,00	(+)	1,250	7,16
A2S6	6,00	(+)	1,200	9,55
A2S7	10,00	(+)	1,400	8,43
A2S8	0,00	(-)	1,050	7,45
A2S9	0,00	(-)	1,125	9,25
A2S10	0,00	(+)	1,200	7,98
A2S11	0,00	(+)	1,100	8,92
A2S12	0,00	(+)	1,250	17,31
A2S13	0,00	(+)	1,111	9,41
A2S14	0,00	(+)	1,100	9,89
A2S15	0,00	(+)	1,200	9,82
A2S16	0,00	(-)	1,100	11,11
A2S17	0,00	(+)	1,091	9,78
B2S1	17,00	(+)	1,308	4,94
B2S2	6,00	(-)	0,111	8,21
B2S3	0,00	(+)	1,333	8,22
B2S4	0,00	(+)	0,125	8,24
B2S5	0,00	(+)	1,500	9,34
B2S6	12,00	(+)	1,600	7,32
B2S7	5,00	(-)	0,125	6,79
B2S8	0,00	(+)	1,333	6,84
B2S9	10,00	(+)	2,833	4,11
B2S10	0,00	(+)	1,250	6,77
B2S11	0,00	(-)	0,125	8,01
B2S12	10,00	(+)	0,100	3,80
C2S1	0,00	(+)	1,500	7,44
C2S2	9,00	(+)	1,200	7,16
C2S3	0,00	(-)	1,250	8,05
C2S4	0,00	(+)	7,000	7,52
C2S5	12,00	(+)	1,200	6,38
C2S6	12,00	(+)	2,143	6,85
C2S7	0,00	(+)	1,167	6,63
C2S8	15,00	(+)	1,250	7,71
C2S9	8,00	(+)	1,250	6,66
C2S10	0,00	(+)	1,167	7,07
C2S11	0,00	(+)	1,143	8,71
C2S12	15,00	(+)	3,000	4,49
D2S1	5,00	(+)	1,143	5,38
D2S2	0,00	(+)	1,100	6,59

Tablo 31'in devamı

II. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D2S3	0,00	(+)	1,143	5,66
D2S4	5,00	(+)	1,143	5,28
D2S5	0,00	(+)	1,167	5,59
D2S6	18,00	(+)	1,125	6,76
D2S7	2,00	(+)	1,067	6,18
D2S8	5,00	(+)	0,200	5,45
D2S9	3,00	(+)	1,111	5,98
D2S10	0,00	(-)	1,125	5,83
D2S11	6,00	(+)	1,250	5,08
D2S12	0,00	(+)	1,364	7,20

III. İstasyon su numunelerinden izole edilen bakterilerin siderofor üretimi, azot fiksasyonu, fosfor çözünürlüğü ve IAA üretimi özellikleri değerlendirilmiştir. Eyl/23'te yalnızca bir izolatta siderofor üretimi gözlemlenmiş ve en yüksek zon çapı A3S4 izolatında 4 mm olarak belirlenmiştir. Bu dönemde 5 izolatta azot fiksasyonu pozitif saptanmış, en yüksek fosfor çözme katsayısı A3S6 (1,857 mm) olarak kaydedilmiş, IAA üretimi açısından ise A3S5 (12,10 µg/mL) ve A3S4 (12,08 µg/mL) izolatları öne çıkmıştır. Ara/23'te 7 izolatta siderofor üretimi gözlemlenmiş olup, en yüksek zon çapı B3S2 (15 mm) izolatında belirlenmiştir. Bu dönemde 8 izolatta azot fiksasyonu pozitif tespit edilmiş, en yüksek fosfor çözme katsayısı B3S4 (3,500 mm) ve en yüksek IAA üretimi B3S7 (21,96 µg/mL) olarak ölçülmüştür. Nis/24'te 8 izolatta siderofor üretimi saptanmış, C3S7 izolatında zon çapı 16 mm ile en yüksek değer olarak kaydedilmiştir. Aynı dönemde 5 izolatta azot fiksasyonu pozitif bulunmuş, en yüksek fosfor çözme katsayıları C3S4 ve C3S8 izolatlarında 1,500 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 26).



Şekil 26. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin azot fiksasyonu görselleri.

IAA üretimi açısından en yüksek değer C3S1 (10,18 µg/mL) izolatında tespit edilmiştir. Tem/24'te 6 izolatta siderofor üretimi gözlemlenmiş, D3S8 ve D3S1 izolatlarında en yüksek zon çapı 10 mm olarak belirlenmiştir. Bu dönemde 10 izolatta azot fiksasyonu pozitif bulunmuş, en yüksek fosfor çözme katsayısı D3S6 (2,000 mm) ve en yüksek IAA üretimi D3S10 (6,68 µg/mL) izolatında ölçülmüştür (Tablo 32).

Tablo 32

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

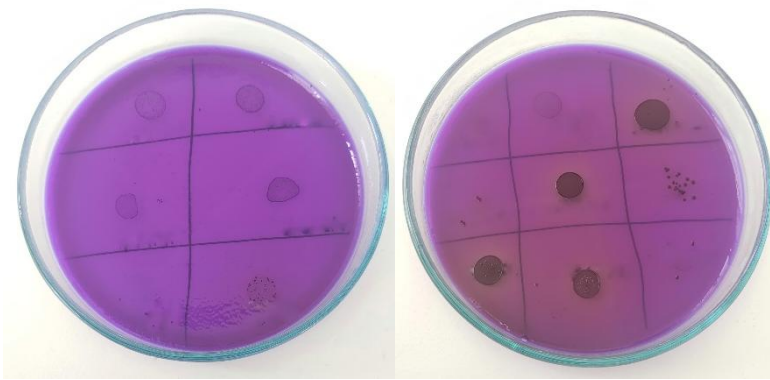
İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A3S1	0,00	(-)	1,100	9,98
A3S2	0,00	(+)	1,083	8,86
A3S3	0,00	(+)	1,364	8,88
A3S4	4,00	(+)	1,125	12,08
A3S5	0,00	(-)	1,143	12,10
A3S6	0,00	(+)	1,857	9,81
A3S7	0,00	(+)	1,600	9,87
B3S1	0,00	(+)	1,250	9,08
B3S2	15,00	(+)	1,200	8,11
B3S3	0,00	(-)	1,200	6,66
B3S4	13,00	(+)	3,500	7,89
B3S5	12,00	(+)	2,000	16,36
B3S6	8,00	(+)	1,600	5,27
B3S7	5,00	(+)	1,286	21,96
B3S8	0,00	(+)	1,143	11,22
B3S9	9,00	(+)	1,100	10,46
B3S10	4,00	(-)	1,143	9,19
C3S1	14,00	(-)	1,143	10,18
C3S2	0,00	(+)	1,200	6,99
C3S3	6,00	(-)	1,333	7,85
C3S4	0,00	(+)	1,500	6,05
C3S5	0,00	(+)	1,200	5,79
C3S6	14,00	(-)	1,111	9,24
C3S7	16,00	(-)	1,250	5,35
C3S8	4,00	(-)	1,500	6,73
C3S9	4,00	(+)	0,066	10,10
C3S10	13,00	(-)	1,200	10,10
C3S11	9,00	(-)	0,800	5,14
C3S12	11,00	(+)	1,167	5,52
D3S1	10,00	(+)	1,200	4,86
D3S2	0,00	(+)	1,167	5,06
D3S3	0,00	(-)	1,111	5,08
D3S4	0,00	(+)	1,167	5,98
D3S5	0,00	(+)	1,333	6,48
D3S6	6,00	(+)	2,200	5,62
D3S7	0,00	(+)	1,500	5,37
D3S8	10,00	(+)	1,333	6,30
D3S9	7,00	(+)	1,444	6,31
D3S10	0,00	(-)	0,143	6,68

Tablo 32'nin devamı

III. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D3S11	0,00	(+)	1,600	6,55
D3S12	4,00	(-)	0,125	5,49
D3S13	0,00	(-)	1,063	9,31
D3S14	5,00	(+)	0,111	6,51

IV. istasyon su numunelerinden izole edilen bakterilerin siderofor üretimi, azot fiksasyonu, fosfor çözünürlüğü ve IAA üretimi gibi özellikleri değerlendirildiğinde, toplamda 33 izolatta siderofor üretimi tespit edilmiştir. En yüksek siderofor zon çapı 22 mm olup, bu değer Eyl/23'te A4S10 izolatında kaydedilmiştir. Azot fiksasyonu 37 izolatta pozitif bulunmuş; bu özellik bakımından özellikle Tem/24'teki izolatların öne çıktığı gözlemlenmiştir. Fosfor çözme katsayısı açısından en yüksek değer 2,500 mm olarak Tem/24'te D4S1 ve D4S4 izolatlarında ölçülmüştür (Şekil 27).



Şekil 27. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin fosfor üretim görselleri.

IAA üretimi ise genel olarak tüm dönemlerde yaygın şekilde gözlemlenmiş olup, en yüksek IAA değeri 13,36 µg/mL ile Eyl/23'te A4S7 izolatında belirlenmiştir (Tablo 33, Şekil 28).

Tablo 33

IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A4S1	6,00	(+)	2,000	9,80
A4S2	0,00	(-)	1,083	6,14
A4S3	0,00	(-)	1,125	6,17
A4S4	8,00	(+)	1,875	5,91
A4S5	0,00	(-)	1,250	10,68
A4S6	0,00	(+)	1,167	10,27
A4S7	5,00	(+)	1,143	13,36
A4S8	7,00	(+)	1,083	11,91
A4S9	4,00	(-)	1,250	11,93
A4S10	22,00	(+)	1,250	8,94
A4S11	0,00	(+)	1,125	12,22
A4S12	4,00	(+)	1,250	8,46
B4S1	0,00	(+)	1,667	7,54
B4S2	10,00	(-)	1,143	7,52
B4S3	10,00	(-)	1,200	4,61
B4S4	0,00	(+)	1,200	4,68
B4S5	0,00	(+)	1,667	3,80
B4S6	0,00	(+)	1,111	3,82
B4S7	0,00	(+)	1,143	3,80
B4S8	6,00	(-)	1,333	7,45
B4S9	6,00	(-)	1,200	8,02
C4S1	7,00	(+)	1,333	7,08
C4S2	8,00	(-)	1,100	4,87
C4S3	6,00	(+)	1,333	5,37
C4S4	10,00	(+)	1,125	6,37
C4S5	12,00	(+)	1,750	4,40
C4S6	0,00	(+)	1,100	4,85
C4S7	0,00	(+)	1,556	5,23
C4S8	0,00	(+)	1,417	5,23
C4S9	9,00	(+)	1,333	5,04
C4S10	15,00	(-)	1,455	4,67
C4S11	9,00	(+)	1,714	5,30
C4S12	8,00	(-)	1,167	9,09
D4S1	3,00	(+)	2,500	5,06
D4S2	0,00	(+)	1,167	6,25
D4S3	12,00	(+)	1,667	5,12
D4S4	0,00	(+)	2,500	6,44
D4S5	6,00	(+)	1,167	6,74
D4S6	7,00	(+)	1,333	5,41
D4S7	0,00	(+)	1,400	6,89
D4S8	0,00	(+)	1,308	6,50
D4S9	3,00	(-)	1,071	6,64
D4S10	3,00	(+)	1,200	6,64
D4S11	5,00	(+)	1,200	6,48
D4S12	10,00	(+)	1,667	5,95
D4S13	15,00	(+)	1,667	6,17
D4S14	5,00	(-)	1,083	6,17
D4S15	3,00	(+)	1,500	5,36

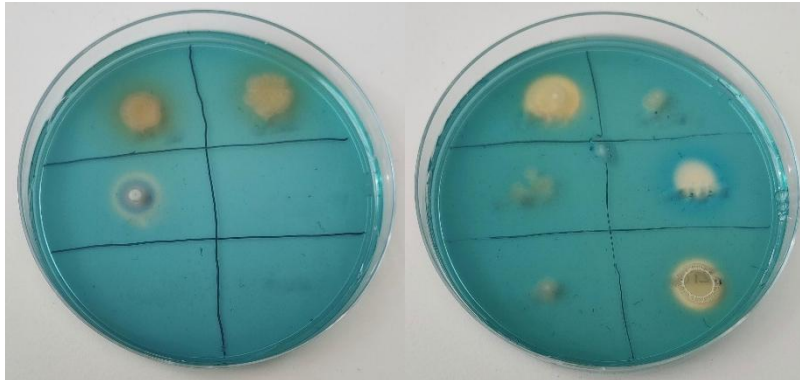
IV. istasyonun su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D4S16	4,00	(+)	1,200	5,95
D4S17	3,00	(+)	1,750	9,33



Şekil 28. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin IAA üretimindeki renk değişim görseli.

I. istasyon sediment numunelerinden izole edilen bakterilerin PGP özellikleri incelendiğinde; bazı izolatlarda belirgin biyoteknolojik potansiyele rastlanmıştır. Siderofor üretimi açısından farklı dönemlerde pozitif sonuçlar elde edilmiş olup, en yüksek zon çapı C1T6 (14 mm) ve D1T12 (13 mm) ve izolatlarında gözlemlenmiştir (Şekil 29).



Şekil 29. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin siderofor üretimi görselleri.

Azot fiksasyonu toplamda yüksek sayıda izolat tarafından gerçekleştirilmiş, özellikle A1T6 (1,750 mm), B1T6 (1,909 mm), C1T11 (1,923 mm) ve D1T2 (1,909 mm) izolatları fosfor çözme kabiliyetleri ile öne çıkmıştır. IAA üretimi bakımından ise B1T1 izolatu 34,37

$\mu\text{g/mL}$ ile en yüksek değeri gösterirken, A1T7 (14,88 $\mu\text{g/mL}$) ve C1T1 (8,89 $\mu\text{g/mL}$) izolatları da dikkat çekici düzeyde üretim sergilemiştir (Tablo 34).

Tablo 34

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

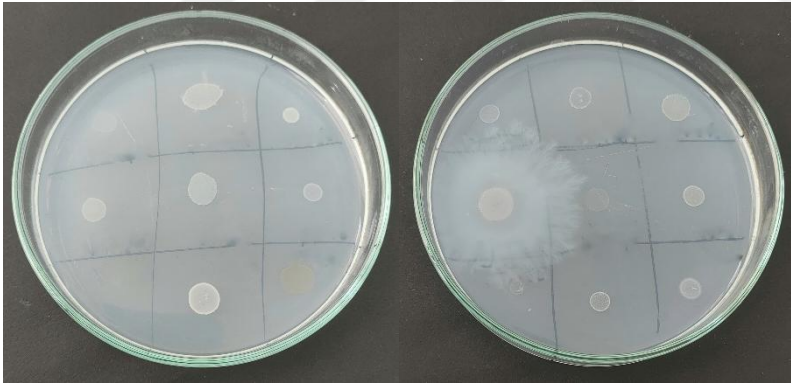
İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA ($\mu\text{g/mL}$)
A1T1	0,00	(+)	1,071	5,75
A1T2	0,00	(+)	1,083	3,70
A1T3	7,00	(+)	1,111	3,91
A1T4	8,00	(+)	1,100	9,26
A1T5	0,00	(+)	1,125	12,84
A1T6	8,00	(+)	1,750	6,07
A1T7	0,00	(-)	1,077	14,88
A1T8	10,00	(+)	1,238	12,76
A1T9	9,00	(+)	1,571	1,71
A1T10	5,00	(+)	1,350	1,71
A1T11	0,00	(+)	1,125	3,80
A1T12	6,00	(+)	1,100	4,43
A1T13	0,00	(+)	1,364	4,45
A1T14	0,00	(+)	1,222	4,47
B1T1	0,00	(-)	1,900	34,37
B1T2	0,00	(+)	1,625	10,97
B1T3	0,00	(+)	1,143	9,78
B1T4	0,00	(+)	1,842	1,43
B1T5	0,00	(-)	1,471	7,70
B1T6	0,00	(-)	1,909	14,21
B1T7	0,00	(+)	1,889	14,20
B1T8	5,00	(+)	0,000	1,47
B1T9	0,00	(+)	0,000	12,38
B1T10	0,00	(+)	1,667	12,41
B1T11	0,00	(+)	1,800	5,93
B1T12	0,00	(+)	1,800	21,31
C1T1	0,00	(-)	1,667	8,89
C1T2	11,00	(+)	1,556	4,51
C1T3	0,00	(+)	1,857	0,30
C1T4	0,00	(-)	0,000	0,71
C1T5	0,00	(+)	1,800	0,11
C1T6	14,00	(+)	1,833	0,12
C1T7	0,00	(+)	1,909	0,95
C1T8	0,00	(+)	1,727	3,40
C1T9	0,00	(-)	1,667	0,99
C1T10	0,00	(+)	1,862	0,72
C1T11	0,00	(+)	1,923	1,30
C1T12	0,00	(+)	1,769	1,30
D1T1	0,00	(-)	1,833	3,98
D1T2	0,00	(-)	1,909	1,25
D1T3	11,00	(+)	1,083	7,33
D1T4	0,00	(-)	1,688	5,48
D1T5	0,00	(+)	1,818	6,26

Tablo 34'ün devamı

I. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D1T6	11,00	(-)	1,125	5,50
D1T7	0,00	(+)	1,400	2,27
D1T8	0,00	(+)	1,647	2,64
D1T9	0,00	(+)	1,400	2,25
D1T10	0,00	(+)	1,500	0,63
D1T11	0,00	(+)	1,200	4,24
D1T12	13,00	(+)	1,647	2,68
D1T13	0,00	(+)	1,875	1,27
D1T14	0,00	(+)	1,280	0,67
D1T15	0,00	(+)	1,526	0,66

II. istasyon sediment numunelerinden izole edilen bakterilerin siderofor üretimi farklı dönemlerde birçok izolat tarafından gerçekleştirilmiş olup, en yüksek zon çapları C2T3 (35 mm), C2T10 (18 mm), A2T11 (16 mm) ve B2T3/B2T4 (15 mm) izolatlarında ölçülmüştür. Azot fiksasyonu açısından pozitif sonuç veren izolat sayısı görece yüksek olup, A2T1 (1,800 mm), B2T11/B2T12, C2T7 (1,909 mm) ve D2T7 (1,875 mm) izolatları en yüksek fosfor çözme katsayıları ile öne çıkmıştır (Şekil 30).



Şekil 302. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin azot fiksasyonu görselleri.

IAA üretimi bakımından en yüksek değer A2T15 (46,28 µg/mL) ve A2T16 (40,32 µg/mL) izolatlarında tespit edilmiş; ayrıca B2T11 (35,11 µg/mL) ve D2T6 (10,85 µg/mL) izolatları da dikkat çeken seviyelerde üretim göstermiştir. (Tablo 35).

Tablo 35

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

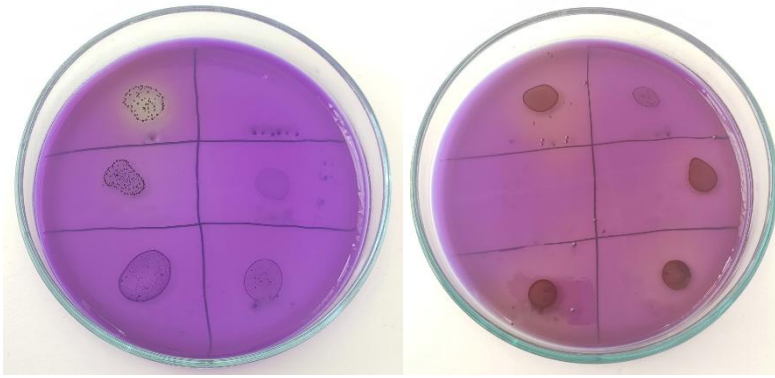
İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A2T1	0,00	(+)	1,800	7,50
A2T2	0,00	(+)	1,100	7,09
A2T3	7,00	(-)	1,100	23,91
A2T4	0,00	(+)	1,111	2,57
A2T5	0,00	(+)	1,067	7,47
A2T6	0,00	(-)	1,167	7,23
A2T7	0,00	(+)	1,300	14,76
A2T8	6,00	(+)	1,296	34,20
A2T9	14,00	(+)	1,448	11,23
A2T10	9,00	(+)	1,360	13,58
A2T11	16,00	(+)	1,043	16,54
A2T12	12,00	(+)	1,091	2,85
A2T13	0,00	(+)	1,750	8,08
A2T14	10,00	(+)	1,143	15,90
A2T15	0,00	(-)	1,714	46,28
A2T16	9,00	(+)	0,000	40,32
A2T17	9,00	(+)	1,529	15,79
B2T1	8,00	(+)	1,875	22,40
B2T2	0,00	(-)	1,636	23,90
B2T3	15,00	(+)	1,636	23,64
B2T4	15,00	(+)	0,000	1,69
B2T5	12,00	(+)	1,750	33,56
B2T6	15,00	(+)	1,545	33,56
B2T7	0,00	(-)	1,636	11,80
B2T8	0,00	(+)	1,625	14,28
B2T9	0,00	(+)	1,500	14,37
B2T10	13,00	(+)	1,870	9,33
B2T11	7,00	(+)	1,909	35,11
B2T12	0,00	(+)	1,909	20,78
B2T13	0,00	(-)	1,667	16,98
B2T14	14,00	(+)	1,625	13,51
B2T15	10,00	(+)	1,636	2,92
B2T16	0,00	(-)	1,667	16,10
C2T1	0,00	(-)	1,789	0,71
C2T2	0,00	(-)	1,684	3,21
C2T3	35,00	(+)	0,000	3,39
C2T4	0,00	(+)	1,875	7,04
C2T5	0,00	(-)	1,526	0,83
C2T6	15,00	(+)	0,000	0,70
C2T7	0,00	(+)	1,909	0,80
C2T8	0,00	(+)	1,588	0,59
C2T9	0,00	(-)	0,000	3,64
C2T10	18,00	(+)	1,875	3,64
C2T11	0,00	(-)	1,833	2,30
C2T12	0,00	(+)	1,083	0,06
C2T13	0,00	(-)	0,000	0,40
D2T1	7,00	(+)	1,333	0,69
D2T2	8,00	(+)	1,500	0,89

Tablo 35'in devamı

II. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D2T3	0,00	(-)	1,476	9,80
D2T4	0,00	(+)	1,636	9,80
D2T5	0,00	(-)	1,789	10,65
D2T6	0,00	(+)	1,778	10,85
D2T7	16,00	(+)	1,875	10,84

III. istasyon sediment numunelerinden izole edilen bakterilerin siderofor üretimi, bakımından en yüksek zon çapları A3T5/A3T7 (13 mm), B3T1 (11 mm), C3T3 (18 mm) ve D3T6 (11 mm) izolatlarında gözlemlenmiştir. Azot fiksasyonu, farklı dönemlerde birçok izolat tarafından gerçekleştirilmiş olup, A3T8 (1,583 mm), B3T9 (1,923 mm), C3T9 (2,000 mm) ve D3T1 (1,636 mm) izolatları en yüksek fosfor çözme katsayısıyla öne çıkmıştır (Şekil 31).



Şekil 31. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin fosfor üretim görselleri.

IAA üretimi bakımından en yüksek değer B3T8 (28,40 µg/mL) izolatında tespit edilmiş; bunu A3T6 (22,42 µg/mL) ve A3T7 (21,78 µg/mL) izolatları takip etmiştir (Tablo 36).

Tablo 36

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A3T1	0,00	(+)	1,091	5,82
A3T2	0,00	(-)	1,360	8,82
A3T3	0,00	(-)	1,125	6,64
A3T4	0,00	(+)	1,300	11,26
A3T5	13,00	(+)	1,143	11,14
A3T6	0,00	(+)	1,375	22,42
A3T7	13,00	(+)	1,167	21,78
A3T8	0,00	(+)	1,583	16,61
A3T9	0,00	(+)	1,067	12,77
A3T10	0,00	(-)	0,000	1,92
A3T11	0,00	(+)	1,100	14,80
A3T12	0,00	(+)	1,125	8,51
A3T13	0,00	(+)	1,167	9,79
B3T1	11,00	(+)	1,833	15,61
B3T2	0,00	(+)	1,846	2,06
B3T3	5,00	(+)	1,875	20,76
B3T4	4,00	(+)	1,833	0,33
B3T5	0,00	(+)	1,375	0,33
B3T6	10,00	(+)	1,438	6,43
B3T7	0,00	(+)	1,882	6,73
B3T8	0,00	(+)	1,533	28,40
B3T9	0,00	(-)	1,923	2,24
B3T10	0,00	(-)	1,700	3,49
B3T11	10,00	(+)	1,714	2,63
B3T12	10,00	(+)	1,737	2,19
C3T1	15,00	(+)	1,909	4,83
C3T2	6,00	(+)	1,722	3,26
C3T3	18,00	(+)	1,870	4,37
C3T4	0,00	(-)	1,600	0,59
C3T5	15,00	(+)	1,667	4,08
C3T6	0,00	(+)	0,000	1,80
C3T7	16,00	(-)	0,000	2,26
C3T8	0,00	(+)	0,000	3,33
C3T9	0,00	(+)	2,000	11,03
C3T10	17,00	(-)	0,000	6,44
C3T11	7,00	(-)	0,000	0,23
C3T12	0,00	(-)	1,714	8,86
C3T13	17,00	(+)	1,923	8,85
D3T1	0,00	(-)	1,636	0,55
D3T2	0,00	(+)	1,545	0,54
D3T3	10,00	(+)	1,100	1,44
D3T4	0,00	(-)	0,000	1,14
D3T5	0,00	(+)	0,000	0,96
D3T6	11,00	(+)	1,429	0,97
D3T7	0,00	(+)	1,467	0,60
D3T8	0,00	(-)	0,000	3,90
D3T9	0,00	(-)	0,000	3,88
D3T10	0,00	(+)	1,615	2,42

Tablo 36'nın devamı

III. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

D3T11	0,00	(+)	1,571	2,51
D3T12	0,00	(+)	1,385	2,50

IV. istasyon sediment izolatlarının siderofor üretimi açısından en yüksek zon çapları A4T10 (16 mm), B4T3 (13 mm), C4T6 (10 mm) ve D4T10 (9 mm) izolatlarında tespit edilmiştir. Azot fiksasyonu farklı izolatlarda pozitif sonuçlar vermiş olup, A4T10 (1,923 mm), B4T12 (1,938 mm), C4T3/C4T5 (1,857 mm) ve D4T6 (1,875 mm) izolatları en yüksek fosfor çözme katsayısı göstermiştir. IAA üretimi açısından ise A4T7 (29,71 µg/mL), B4T4 (32,34 µg/mL), C4T6 (4,65 µg/mL), D4T11 (11,37 µg/mL) ve D4T12 (11,35 µg/mL) izolatları en yüksek değerleri sunulmuştur (Şekil 32, Tablo 37).



Şekil 32. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin IAA üretimindeki renk değişim görseli.

Tablo 37

IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

İzolat Kodu	Siderofor Zon Çapı (mm)	Azot Fiksasyonu	Fosfor Çözme Katsayısı (mm)	IAA (µg/mL)
A4T1	0,00	(+)	1,143	27,26
A4T2	5,00	(+)	1,833	12,47
A4T3	9,00	(+)	1,083	2,48
A4T4	0,00	(-)	1,250	7,26
A4T5	0,00	(+)	1,333	2,48
A4T6	0,00	(-)	1,083	19,99
A4T7	0,00	(+)	1,111	29,71
A4T8	7,00	(-)	1,083	19,68
A4T9	0,00	(+)	1,200	9,98
A4T10	16,00	(+)	1,923	23,82

Tablo 37'nin devamı

IV. istasyonun sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait PGP yetenekleri

A4T11	0,00	(+)	0,000	23,76
A4T12	0,00	(+)	1,067	27,27
B4T1	0,00	(-)	1,739	8,35
B4T2	5,00	(+)	1,917	8,34
B4T3	13,00	(+)	1,750	25,73
B4T4	7,00	(-)	0,000	32,34
B4T5	10,00	(+)	1,833	6,92
B4T6	4,00	(+)	1,706	5,32
B4T7	5,00	(+)	0,000	9,19
B4T8	5,00	(-)	1,909	3,23
B4T9	0,00	(+)	1,909	6,44
B4T10	0,00	(+)	1,588	5,88
B4T11	4,00	(+)	1,615	1,56
B4T12	12,00	(+)	1,938	6,12
C4T1	0,00	(+)	1,600	1,27
C4T2	8,00	(+)	0,000	5,34
C4T3	5,00	(+)	1,857	4,17
C4T4	0,00	(-)	0,000	2,69
C4T5	5,00	(-)	1,857	4,64
C4T6	10,00	(+)	1,267	4,65
D4T1	0,00	(+)	1,636	0,17
D4T2	0,00	(-)	1,533	0,17
D4T3	0,00	(-)	1,667	0,90
D4T4	0,00	(-)	1,727	0,90
D4T5	0,00	(-)	0,000	0,98
D4T6	0,00	(-)	1,875	0,34
D4T7	0,00	(-)	1,563	3,14
D4T8	0,00	(+)	0,000	8,94
D4T9	0,00	(-)	1,300	3,76
D4T10	9,00	(-)	1,385	2,21
D4T11	0,00	(-)	1,545	11,37
D4T12	0,00	(+)	1,786	11,35
D4T13	0,00	(-)	1,600	8,49
D4T14	0,00	(+)	0,000	1,49

Halofilik ve halotolerant bakteriler, yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanabilme yetenekleri sayesinde, PGP olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Bu bakteriler, tuz stresine maruz kalan bitkilerle etkileşime girerek büyüme parametrelerini iyileştirebilir, besin alımını artırabilir ve abiyotik stres toleransını güçlendirebilir. Mevcut literatürde, çeşitli bakteri türlerinin bitkiler üzerindeki olumlu etkileri ortaya konmuş olup, bu mikroorganizmaların biyoteknolojik uygulamalardaki potansiyeli giderek daha fazla araştırılmaktadır (Ahmad vd., 2008; Chookietwattana ve Maneewan, 2012).

Ahmad vd. (2008), siderofor üretiminin *Azotobacter* türlerinde %12,77, *Pseudomonas* türlerinde %11,11 ve *Bacillus* türlerinde %10 oranında gerçekleştiğini belirlemiştir. Silini-Chérif vd. (2012), *Pantoea agglomerans*'ın IAA üretimi, siderofor sentezi ve fosfat çözme yeteneğine sahip olduğunu ve bu özellikleri sayesinde tuzlu koşullarda bitki büyümesini desteklediğini belirlemiştir. Mesa vd. (2015), ağır metal kirliliğine bağlı tuz stresinin etkisi altında gelişen bitkilerden endofitik bakteriler izole etmiş ve bu bakterilerin, stres altındaki bitkilerin gelişimini çeşitli mekanizmalarla destekleyebileceğini göstermiştir. Shen vd. (2016), ise *Actinidia chinensis* bitkisinin yapraklarından elde edilen 17 farklı izolattan, en yüksek azot fiksasyon potansiyeline sahip olan türün *B. amyloliquefaciens* olduğunu ortaya koymuştur. Özdal vd. (2017), inceledikleri 8 bakteri izolatu arasında en yüksek IAA üretim seviyesinin 75 µg/mL olduğunu rapor etmiştir. Szymańska vd. (2018), halofitik bitkilerle ilişkili endofitik bakterilerin bitki gelişimini teşvik edebileceğini öne sürmüştür. Navarro-Torre vd. (2017), ise aşırı tuzluluğa karşı bitkilerin dayanıklılığında bakterilerin kritik bir rol oynayabileceğini ifade etmiştir. Kaya Özdoğan (2020), bitki rizosferlerinden izole edilen 56 farklı bakteriyel izolattan yalnızca *Paenibacillus polymyxa*'nın azot fiksasyon yeteneğine sahip olduğunu bildirmiştir. Yıldız (2023), Çanakkale'de denizel habitattan (Gökçeada ve Lapseki) izole edilen *Bacillus nealsonii* ve *Micrococcus luteus* bakteri suşlarının, artan tuz konsantrasyonları altında deniz arpası (*Hordeum marinum*) ve iki kültür arpası çeşidine (*Hordeum vulgare* cv. Ocak ve cv. İnce-04) etkilerini incelemiştir. Araştırmada, PGP inokülasyonunun tuz stresine bağlı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki olumlu etkileri ortaya konmuştur. Bulgulara göre, glikofit olan kültür arpasında PGP uygulaması kök ve gövde uzunluğu, biyokütle, yaş ve kuru ağırlık ile klorofil içeriğini artırırken, lipit peroksidasyon (TBARS) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi stres belirteçlerini azaltmıştır. Ayrıca, *M. luteus* inokülasyonu peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde çeşide özgü artışlar göstermiştir. Bu sonuçlar, halofil suşlarının reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltarak tuz stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini ve deniz arpası ile kültür arpasında biyogübre olarak kullanılma potansiyelini desteklemektedir.

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, mevcut literatürde bildirilen bulgularla büyük ölçüde uyum göstermektedir. Özellikle, mikrobiyal popülasyonların bazı türlerinin belirli dönemlerde artış göstermesi ve bu mikroorganizmaların bitki gelişimini teşvik edici

özellikler sergilemesi, önceki çalışmalarla paralellik arz etmektedir (Saccò vd., 2021). Bununla birlikte, bazı farklılıklar da gözlemlenmiştir.

Kültüre dayalı analizlerin devamında mikrobiyal izolatların seçimi ve ileri analizlere yönelik planlama aşağıda sunulmuştur:

Kültüre dayalı analizlerde, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan su ve sediment numunelerinden toplam 400 bakteri izole edilmiştir (su: 200, sediment: 200). İzolatların temel morfolojik ve biyokimyasal testleri yapılmış, antibiyotik direnç profilleri ile bitki büyümesini teşvik edici (PGP) özellikleri değerlendirilmiştir. Bu ilk aşamadaki analizler, bölgedeki mikrobiyal çeşitliliğin genel bir ön değerlendirmesini sağlamıştır.

Çalışmada bu kısma kadar elde edilen veriler doğrultusunda, yüksek antibiyotik direnci sergileyen ve belirgin PGP özelliklerine sahip 54 izolat, su (n=29) ve sediment (n=25) numunelerinden seçilerek detaylı analizlere tabi tutulmuştur. Bu izolatlara yönelik biyoremediasyon potansiyelini değerlendirmek amacıyla ağır metal tolerans testleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, izolatların morfolojik çeşitliliğini temsil edecek şekilde sudan (n=6) ve sedimentten (n=5) toplam 11 izolat seçilmiştir. Su numunelerinden seçilenler; B1S9 (+) basil, C2S9 (-) basil, C2S8 (+) kok, B3S6 (+) kokobasil, A2S5 (-) kokobasil ve D2S1 (-) kokobasil; sediment numunelerinden seçilenler ise A1T4 (+) basil, B2T15 (-) basil, A3T5 (+) kok, B2T10 (+) kokobasil ve B3T6 (-) kokobasil olarak belirlenmiştir. Bu izolatlarda rodopsin sentez potansiyeli ve hücre dışı polimerik madde (EPS) üretim kapasiteleri araştırılmıştır. Rodopsin ve EPS sentezi, bakterilerin çevresel stres koşullarına adaptasyonu ve biyoteknolojik uygulamalardaki potansiyelleri açısından kritik biyokimyasal özellikler olarak kabul edilmektedir.

Elde edilen sonuçlar, izolatların hem bitki büyümesini destekleyici etkileri hem de zorlu çevresel koşullara dayanıklılıkları göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir. Bu bütüncül yaklaşım, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü mikrobiyal topluluğunun biyoteknolojik potansiyelinin daha güvenilir ve kapsamlı bir şekilde ortaya konmasına olanak sağlamıştır. Benzer çevresel mikrobiyoloji çalışmalarında da yaygın olarak kullanılan bu strateji, geniş bir izolat havuzu oluşturulmasını ve ardından temsil niteliği taşıyan seçilmiş izolatlar üzerinde odaklanmış, derinlemesine analizlerin yapılmasını içermektedir (Saccò vd., 2021;

Şahin Doğan, 2022). Böylece kaynak kullanımı optimize edilmekte, verilerin kalitesi artırılmakta ve sonuçların değerlendirilmesi daha yönetilebilir hale getirilmektedir. Sonuç olarak, seçilen 54 izolat üzerinde gerçekleştirilen biyoremediasyon ve 16S moleküler dizileme analizleri (Kültüre dayalı olmayan yöntemler başlığı altında) ile 11 izolat üzerinde yapılan EPS ve rodopsin sentez analizlerinin, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün mikrobiyal çeşitliliği ve biyoteknolojik potansiyelini temsil etmede yeterli ve güvenilir olduğu düşünülmektedir.

4.7. Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen ve Temsili Olarak Seçilen Halofil Mikroorganizmaların Biyoremediasyon Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, su ve sedimentten izole edilen 54 halofil izolatın biyoremediasyon potansiyelleri, çeşitli ağır metallere karşı tolerans düzeyleri belirlenmiş ve yüzdesel olarak ifade edilmiştir (Tablo 38 ve Tablo 39).

Su izolatları içinde en yüksek ağır metal toleransı, B3S6 izolatında gözlemlenmiştir. Bu izolat, %50 Mn, %100 Zn, %100 S, %100 Fe ve %100 Cu toleransı sergileyerek maksimum direnç göstermiştir. Bunun yanı sıra, B1S9 (%50 Mn, %100 Zn, %100 S, %100 Fe, %50 Cu), C2S9 (%0,39 Mn, %100 Zn, %100 S, %100 Fe, %100 Cu) ve D2S1 (%25 Mn, %100 Zn, %100 S, %100 Fe, %50 Cu) izolatları da yüksek metal toleransı sergileyerek önemli biyoremediasyon adayları arasında yer almıştır. Düşük metal toleransına sahip izolatlar arasında A4S10 ve C1S7 izolatları yer almaktadır. Su izolatlarının ağır metal tolerans seviyeleri %0,05 ile %100 arasında değişmektedir (Tablo 38).

Tablo 38

Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait biyoremediasyon yüzdeleri

İzolat Kodu	Ağır Metaller (%)				
	MnSO ₄	ZnCl ₂	SCl ₂	FeSO ₄	CuSO ₄
A1S6	50	100	100	100	25
A1S10	50	50	50	100	25
A2S3	25	50	-	-	25
A2S4	25	50	100	100	25
A2S5	50	100	100	50	25
A2S6	25	100	100	100	25
A2S7	25	100	100	100	50
A4S10	25	-	-	-	-
B1S6	25	25	100	100	-
B1S9	50	100	100	100	50
B1S11	-	25	100	50	-
B1S12	100	100	-	-	-
B1S15	-	-	-	25	-
B2S1	25	100	100	100	25
B2S15	-	100	100	100	25
B3S6	50	100	100	100	100
B4S9	-	25	100	100	-
C1S7	-	-	50	100	-
C1S8	25	25	100	100	-
C2S8	100	25	-	-	-
C2S9	-	100	100	100	100
C2S12	50	100	-	-	25
C4S3	50	-	50	-	25
D2S1	25	100	100	100	50
D2S6	50	-	-	-	25
D3S6	50	25	100	100	25
D3S8	50	50	100	100	-
D4S3	25	-	50	100	25
D4S6	25	-	-	-	-

Sediment izolatları arasında en yüksek ağır metal toleransı, C2T10 izolatında gözlemlenmiştir. Bu izolat, %100 Zn, %100 S, %100 Fe ve %50 Cu toleransına sahiptir. B2T15 izolatı da Zn, S ve Fe metallerine karşı %100 direnç göstererek en yüksek biyoremediasyon potansiyeline sahip izolatlar arasında yer almıştır. Ayrıca, B2T14 ve B2T11 izolatları da %100 S, %50 Zn, %50 Fe ve %6,25-%12,5 Cu toleransı sergileyerek yüksek dirençli izolatlar arasında değerlendirilmiştir. B2T10 izolatı ise %100 S, %25 Zn, %50 Fe ve %12,50 Cu toleransına sahip olup güçlü remediasyon ajanlarından biridir. En düşük metal toleransına sahip izolatlar ise A2T10 ve B3T4 olarak belirlenmiştir (Tablo 39).

Tablo 39

Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilere ait biyoremediasyon yüzdeleri

İzolat Kodu	Ağır Metaller (%)				
	MnSO ₄	ZnCl ₂	SCl ₂	FeSO ₄	CuSO ₄
A1T4	50	50	100	50	25
A2T9	25	50	100	100	50
A2T10	-	-	-	-	-
A2T11	-	25	-	-	-
A2T12	25	-	100	50	-
A2T14	25	-	100	100	-
A2T17	-	50	-	-	25
A3T5	50	50	100	50	25
A4T3	25	-	-	-	-
B2T3	-	-	100	-	25
B2T5	-	-	50	-	-
B2T6	-	-	100	25	-
B2T10	-	25	100	50	-
B2T11	-	25	100	50	-
B2T14	25	50	100	50	-
B2T15	-	100	100	100	50
B3T1	-	-	25	25	-
B3T4	-	-	-	-	-
B3T6	-	-	100	50	-
B3T11	-	-	25	50	100
C1T2	-	-	-	-	-
C2T10	100	-	100	100	-
C3T5	-	-	50	-	-
D1T12	-	-	100	-	-
D3T3	-	25	100	-	-

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü’ndeki sediment bakterilerinin ağır metallere karşı direnç seviyelerini doğrudan inceleyen çalışmalar sınırlı olsada bölgedeki ağır metal kirliliği ve çevresel etkiler üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Yılmaz ve Tuncer (2021), Gökçeada’da denizkestanesi türlerinde Fe, Zn, Cu, Pb ve Cd seviyelerinin yüksek olduğunu ortaya koyarak bu türlerin biyolojik izleyici olarak kullanılabileceğini önermiştir. Aslan vd. (2021), Gökçeada Adası’ndaki Tuz Gölü lagününde yapılan analizlerde Zn, Pb ve Cu seviyelerinin yüksek olduğunu belirlemiş ve bu kirliliğin artan nüfus, insan kaynaklı atıklar ve kanalizasyon sistemleriyle ilişkili olabileceğini öne sürmüştür. Türetken vd. (2025), Gökçeada’dan alınan deniz sedimanlarında bulunan bakterilerin ağır metaller ve antibiyotiklere karşı direnç durumları incelemiştir. Araştırma kapsamında, 2015 yılında dört mevsim boyunca 10 farklı örnekleme noktasından toplanan sediment numunelerinden izole edilen 90 bakteri suşu, VITEK 2 sistemi ile tanımlanmıştır. Bu izolatlar, disk difüzyon yöntemiyle yedi farklı antibiyotiğe karşı test edilmiş ve ayrıca minimum inhibitör

konsantrasyon (MIC) değerleri dört ağır metal tuzuna karşı ölçülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre, antibiyotik direnç oranları en yüksekten en düşüğe doğru şu şekilde sıralanmıştır: sülfonamid bileşikler (%93,3), sefotaksim (%78,9), AM10 (%77,8), oksasilin (%67,8), rifampisin (%57,8), imipenem (%1,1) ve oksitetrasiklin (%0). Ağır metallere karşı direnç oranları ise $ZnCl_2$ ve $CuSO_4$ için %100, $Pb(CH_3COO)_2$ için %96,7 ve $HgCl_2$ için %73,3 olarak belirlenmiştir.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden izole edilen su ve sediment kökenli halofil bakterilerin ağır metal tolerans düzeyleri, önceki literatür bulgularıyla büyük ölçüde örtüşmektedir. Bu çalışmada su izolatları arasında B3S6, Zn, S, Fe ve Cu gibi metallere karşı %100'e varan tolerans göstererek öne çıkarken; sediment izolatları arasında C2T10 ve B2T15 izolatları benzer şekilde yüksek tolerans sergilemiştir. Özellikle Zn, S ve Fe gibi metallerde gözlenen %100'e yakın direnç oranları, Türetken vd. (2025) tarafından bildirilen %100 $ZnCl_2$ ve $CuSO_4$ toleransı ile %96,7 $Pb(CH_3COO)_2$ ve %73,3 $HgCl_2$ toleransı gibi önceki verilerle paralellik göstermektedir. Ayrıca, Aslan vd. (2021) ve Yılmaz ve Tuncer (2021) tarafından bölgedeki Zn, Cu ve Fe düzeylerinin çevresel olarak yüksek bulunduğu bildirilmiş olup, bu durum bölgedeki bakterilerin söz konusu metallere karşı doğal seçim yoluyla direnç geliştirmiş olabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, Gökçeada ekosistemindeki bakterilerin ağır metallerle kontamine ortamlara uyum sağladığını ve biyoremediasyon açısından önemli adaylar oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, Türetken vd. (2025) tarafından antibiyotik dirençlerinin de yüksek bulunmuş olması, bu izolatların hem çevresel kirliliğe hem de mikrobiyal stres faktörlerine karşı adaptasyon geliştirmiş dirençli türler olabileceğine işaret etmektedir.

4.8. 16S rRNA Moleküler Tanımlama

Çalışmada izole edilen toplam 54 bakteri izolatının moleküler tanımlaması, 16S rRNA gen bölgesine ait dizi analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler, NCBI GenBank veritabanındaki referans türlerle karşılaştırılmış ve izolatların en yakın akrabaları ile benzerlik oranları belirlenmiştir. Bu benzerlik oranları %93,03 ile %100 arasında değişiklik göstermiştir. Elde edilen veriler sırasıyla, su numunelerinden izole edilen bakteriler için Tablo 40'ta, sediment numunelerinden izole edilen bakteriler için ise Tablo 41'de verilmiştir.

Cytobacillus oceanisediminis ve *Bacillus arachidis* ile %100 benzerlik gösteren A1S10 ve D4S3 kodlu suşlar, ilgili türlerin biyoteknolojik potansiyellerini taşımaktadır. Özellikle *Cytobacillus* ve *Bacillus* cinsleri, enzim üretimi, biyoremediasyon ve biyokontrol ajanları olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir (Kang vd., 2016).

Diğer yüksek benzerlik oranlarına sahip (%98 ve üzeri) suşlar arasında *Bacillus halotolerans* (A4S10), *Bacillus thuringiensis* suşları (B1S11, B1S15, B1S9), *Bacillus cereus* (B1S2), *Metabacillus indicus* (B2S1), *Bacillus pumilus* (B2S9), *Pseudoalteromonas haloplanktis* (B3S4), *Exiguobacterium oxidotolerans* (B3S6), *Exiguobacterium profundum* (C1S8), *Blautia coccoides* (C2S8), *Halomonas alkaliphila* (C2S9), *Bacillus subtilis* (C4S3), *Rhodobacter sphaeroides* (D2S1), *Salinivibrio costicola* (D2S6), *Escherichia coli* (D3S6) ve *Halomonas halophila* (D3S8) bulunmaktadır (Tablo 40).

Tablo 40

Su numunelerinden izole edilen halofil suşların 16S rRNA analiz sonuçları

Bakteri Kodu	Benzerlik Gösterdiği Tür	Benzerlik Oranı (%)	Erişim No
A1S6	<i>Marinococcus halophilus</i> strain HB54	96.59	KR054096.1
A1S10	<i>Cytobacillus oceanisediminis</i> strain VZ	100	KY510944.1
A2S3	<i>Enterococcus faecalis</i> strain DZ-14	96.50	KY069051.1
A2S4	<i>Nesterenkonia halobia</i> strain YJG819	97.69	MN918357.1
A2S5	<i>Rhodobacter capsulatus</i> strain JA232	97.00	AM690347.1
A2S6	<i>Halovibrio variabilis</i> strain MLA3	97.27	MK156419.1
A2S7	<i>Sporosarcina pasteurii</i> strain SL2	96.92	MG674286.1
A4S10	<i>Bacillus halotolerans</i> strain APBSWPTB140	98.23	MG733613.1
B1S11	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain P19	99.03	JQ834217.1
B1S12	<i>Bacillus persicus</i> strain NPS-2	97.16	KJ743245.1
B1S15	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain HM9	99.42	MN013405.1
B1S2	<i>Bacillus cereus</i> strain PF006	98.92	PQ866435.1
B1S9	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain MV51	99.40	MG208031.1
B2S1	<i>Metabacillus indicus</i> strain DK1-6	98.73	OP781908.1
B2S9	<i>Bacillus pumilus</i> strain GM36	99.12	OR225652.1
B3S4	<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i> strain OS-9	98.78	ON088651.1
B3S6	<i>Exiguobacterium oxidotolerans</i> strain SW-147	99.09	KY382828.1
C1S7	<i>Halomonas alkaliphila</i> strain IRP	97.78	OR402835.1
C1S8	<i>Exiguobacterium profundum</i> strain TA9	98.42	OK287399.1
C2S12	<i>Marinococcus luteus</i> strain CG88	96.52	MF506806.1
C2S8	<i>Blautia coccoides</i> strain C2BN1549	99.08	PQ225857.1
C2S9	<i>Halomonas alkaliphila</i> strain X3	98.78	CP024811.1
C4S3	<i>Bacillus subtilis</i> strain B1	99.10	OQ875247.1
D2S1	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> strain ADZ101	99.71	KP776627.1
D2S6	<i>Salinivibrio costicola</i> strain Pb-WC11132	98.25	JX913852.1
D3S6	<i>Escherichia coli</i> strain AH-13	99.12	ON873254.1
D3S8	<i>Halomonas halophila</i> strain DSM 4770	98.92	NR_116945.1

Tablo 40'ın devamı

Su numunelerinden izole edilen halofil suşların 16S rRNA analiz sonuçları

D4S3	<i>Bacillus arachidis</i> strain DK TSAH2-3	100	PP927972.1
D4S6	<i>Lutibacter litoralis</i> strain 1KQ10	97.96	MH929593.1

Sediment numunelerinden seçilen 25 bakteri türü arasında *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Stutzerimonas*, *Enterobacter*, *Exiguobacterium* ve *Halomonas* gibi cinsler ön plana çıkmıştır. *Bacillus anthracis* (%96,25), *Bacillus halotolerans* (%97,17) ve *Bacillus pseudomycoides* (%99,12) gibi *Bacillus* türleride tespit edilmiştir. Sediment numunelerinde ayrıca *Halanaerobacter lacunarum* (%97,88) gibi anaerobik mikroorganizmaların da tespit edilmesi, suşların fakültatif anaerobik ya da oksijensiz bölgeler içeren mikroortamlara sahip olabileceğini göstermektedir. Bunun yanı sıra, *S. aureus* (%100) gibi türlerin belirlenmesi, bazı sediment habitatlarında insan ve hayvan kaynaklı kontaminasyonun varlığına işaret edebilmektedir. Sediment numunelerinde ayrıca, biyoteknolojik açıdan önemli metabolitler üretebilen *Nocardiopsis alba* (%97,75), *Lysinibacillus fusiformis* (%96,09) ve *Kocuria varians* (%97,44) gibi türler de tespit edilmiştir. Bu türler, özellikle antibiyotik üretimi, biyopolimer sentezi ve ağır metal toleransı gibi endüstriyel uygulamalarda değerlendirilebilecek potansiyele sahiptir (Mater ve Taşdan, 2018). Ayrıca, *Enterobacter aerogenes* (%98,39) gibi fakültatif anaerobik bakterilerin varlığı, sediment ekosistemlerinin biyolojik dinamiklerini anlamada önemli ipuçları sunmaktadır (Tablo 41).

Tablo 41

Sediment numunelerinden izole edilen halofil suşların 16S rRNA analiz sonuçları

Bakteri Kodu	Benzerlik Gösterdiği Tür	Benzerlik Oranı (%)	Erişim No
A1T4	<i>Nocardiopsis alba</i> strain RD 3	97.75	MF780985.1
A2T9	<i>Planococcus maritimus</i> strain LR54	98.45	AM931280.1
A2T10	<i>Pseudomonas halophila</i> strain F1	98.87	KF055856.1
A2T11	<i>Bacillus anthracis</i> strain BF1	96.25	CP076187.1
A2T12	<i>Halanaerobacter lacunarum</i> strain Z-7888	97.88	NR_118680.1
A2T14	<i>Enterococcus faecalis</i> strain Y2-J-1	98.04	OK326594.1
A2T17	<i>Staphylococcus aureus</i> strain HD5	100	LC798346.1
A3T5	<i>Salinicoccus salitudinis</i> strain YIM C678	98.00	NR_116062.1
A4T3	<i>Bacillus halotolerans</i> strain ZSBA12138	97.17	ON630238.1
B2T3	<i>Stutzerimonas kunmingensis</i> strain BM04	98.39	MF928151.1
B2T5	<i>Acinetobacter oryzae</i> strain AO 0114	98.36	KM220012.1
B2T6	<i>Halomonas alkaliphila</i> strain X3	98.26	CP024811.1

Tablo 41'in devamı

Sediment numunelerinden izole edilen halofil suşların 16S rRNA analiz sonuçları

B2T10	<i>Exiguobacterium acetylicum</i> strain B14	98.04	MN922501.1
B2T11	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> strain G5.M11b	96.09	PP828585.1
B2T14	<i>Acinetobacter schindleri</i> strain C58	98.24	HF585199.1
B2T15	<i>Stutzerimonas stutzeri</i> strain 9a	98.53	MF662812.1
B3T1	<i>Arhodomonas aquaeolei</i> strain HA-1	100	NR_044676.2
B3T4	<i>Enterobacter aerogenes</i> strain KNUC5001	98.39	LN885093.1
B3T6	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain RE2	95.53	PQ098581.1
B3T11	<i>Bacillus pseudomycoides</i> strain LT430	99.12	PQ782573.1
C1T2	<i>Rosellomorea marisflavi</i> strain GG1	97.67	ON965338.1
C2T10	<i>Kocuria varians</i> strain S40	97.44	OP514646.1
C3T5	<i>Shewanella halifaxensis</i> strain HAW-EB4	98.00	CP000931.1
D1T12	<i>Virgibacillus marismortui</i> strain LYB4	94.13	JQ246862.1
D3T3	<i>Bacillus pumilus</i> strain 13	97.68	MN945356.1

Bu türlerin büyük bir kısmı, özellikle *Bacillus* türleri, antibiyotik üretimi, biyolojik gübre ve biyoaktif bileşiklerin sentezi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Mater ve Taşdan, 2018). *Rhodobacter sphaeroides* gibi fototrofik bakteriler, biyohidrojen üretimi ve atık su arıtımında önemli potansiyel taşıırken, *Halomonas* türleri ise tuzlu ortam toleransları sayesinde tuzlu su biyoteknolojisi ve enzim üretiminde öne çıkmaktadır. *Enterococcus faecalis* gibi türler probiyotik özelliklere sahip olabilirken, *Nesterenkonia halobia* gibi halofilik bakteriler ekstrem koşullara dayanıklı enzimlerin kaynağını oluşturabilmektedir (Mutlu vd., 2008; Morozkina vd., 2010).

Tuz gölü ekosistemlerinde yapılan çalışmalar, bu ortamlarda tuz toleransına sahip spesifik bakteri gruplarının baskın olduğunu göstermektedir. Ventosa vd. (1998), İspanya'daki tuzlu lagün ekosistemlerinde yaptıkları araştırmada, *Halomonas*, *Salinivibrio* ve *Virgibacillus* türlerinin yüksek tuzluluk koşullarında gelişim gösterdiğini belirlemiştir. Benzer şekilde, Güven vd. (2018), tuzcul ekosistemler ve kaplıcalar (Diyarbakır) gibi ekstrem ekosistemlerde Halobacteriaceae familyasına ait türlerin yaygın olduğu ve bu bakterilerin ekstrem koşullara adaptasyon sağladıklarını rapor etmişlerdir. Hofacker vd. (2015), endüstriyel kirliliğe maruz kalan sedimentlerde özellikle *Acinetobacter* ve *Clostridium* türlerinin arttığını ve bu bakterilerin anaerobik solunum yaparak ağır metallerin mobilizasyonuna katkıda bulunduğunu belirlemiştir. *Clostridium* türlerinin ayrıca toksik bileşiklerin biyotransformasyon süreçlerinde rol aldığı bilinmektedir (Hofacker vd., 2015).

Türetken ve Altuğ (2016), Gökçeada'daki deniz ekosistemlerinde Caulobacteraceae, Sphingomonadaceae, Bacillaceae, Enterococcaceae, Streptococcaceae, Staphylococcaceae, Paenibacillaceae, Alcaligenaceae, Burkholderiaceae, Comamonadaceae, Ralstoniaceae, Aeromonadaceae, Enterobacteriaceae ve Pseudomonadaceae gibi çeşitli bakteriyel familyalara ait türleri tespit etmiş ve bu mikroorganizmaların bölgedeki mikrobiyal çeşitliliğe önemli katkılar sağladığını ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında, bu bakterilerin bölgeye özgü çevresel koşullara adaptasyon gösterdiği ve bazı türlerin kıyısularda ilk kez belirlendiği vurgulanmıştır.

Türetken (2021), Gökçeada Adası kıyı sedimanlarında bulunan heterotrofik bakterilerin kompozisyonu ve metabolik özellikleri, değişken çevresel parametreler ile ilişkili olarak incelemiştir. Çalışma süresince altı farklı sınıfa ait toplam on altı bakteri türü tespit edilmiştir. Bu sınıflar arasında Gammaproteobacteria (%71,1) en baskın grup olarak belirlenirken, bunu sırasıyla Alphaproteobacteria (%16,9), Bacilli (%6,0), Betaproteobacteria (%3,6), Actinobacteria (%1,2) ve Cocci (%1,2) takip etmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar mevcut literatür verileriyle karşılaştırıldığında, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü gibi hipersalin ortamların hem taksonomik açıdan zengin hem de biyoteknolojik açıdan potansiyel taşıyan mikroorganizmalar açısından önemli bir kaynak olduğu görülmektedir. Bu çalışmada izole edilen *Cytobacillus*, *Bacillus*, *Halomonas*, *Exiguobacterium*, *Enterococcus*, *Pseudoalteromonas*, *Rhodobacter*, *Salinivibrio*, *Acinetobacter*, *Stutzerimonas* gibi cinslerin daha önce de tuzlu, alkali ya da ekstrem çevre koşullarında izole edildiği ve bu mikroorganizmaların enzim üretimi, biyoremediasyon, antibiyotik sentezi ve ağır metal toleransı gibi biyoteknolojik uygulamalarda değerlendirildiği bilinmektedir (Ventosa vd., 2008; Safarpour vd., 2018; Türetken, 2021). Benzer şekilde, literatürde *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. pumilus* gibi türlerin antimikrobiyal madde üretimi ve tarımsal biyokontrol ajanı olarak geniş kullanım alanı bulunduğu, *Halomonas* türlerinin ise tuz toleranslı enzimler ve biyoplastik üretimi açısından umut verici olduğu bildirilmektedir (Sheng vd., 2005; Pal ve Paul, 2008). Ayrıca *Exiguobacterium profundum* ve *Pseudoalteromonas haloplanktis* gibi türlerin düşük sıcaklıklarda metabolik aktifliklerini sürdürebilme özellikleri nedeniyle, endüstriyel enzim üretimi için dikkat çekici olduğu rapor edilmiştir (Kasana ve Pandey, 2018).

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden kültüre dayalı yöntemle izole edilen su ve sediment kökenli bakteriler, ekolojik koşulların mikrobiyal çeşitlilik üzerindeki belirleyici rolünü açıkça ortaya koymaktadır. Her iki ortamda da tuzluluk toleransı yüksek bakterilerin baskın olduğu gözlemlenmiş olmakla birlikte, tür çeşitliliği, metabolik özellikler ve ekolojik adaptasyon açısından anlamlı farklılıklar saptanmıştır. Sediment örneklerinden izole edilen bakteriler, genellikle spor oluşturma yeteneği bulunan, fakültatif veya zorunlu anaerob metabolizma özelliklerine sahip ve zorlu çevresel koşullara adaptasyon göstermiş türlerden oluşmaktadır. Bu durum, sedimentin durağan, oksijen geçirgenliği sınırlı ve mikrobiyal etkileşimlerin yoğun olduğu bir habitat olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca sediment ortamı, besin maddelerinin daha uzun süre tutulduğu ve mikrobiyal biyofilm oluşumunun desteklendiği bir ortam sunarak, sporulatif ve endüstriyel öneme sahip türlerin gelişimini teşvik etmektedir. Buna karşılık, su örneklerinden izole edilen bakteriler, daha çok aerobik, hareketli ve serbest yaşayan planktonik mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Su kolonunun oksijenle daha iyi doygun olması, güneş ışığına maruz kalması ve çevresel değişimlere daha hızlı yanıt verebilen türlerin seçilimini desteklemesi, bu farklılaşmanın temel nedenleri arasında yer almaktadır. Bu nedenle su kökenli bakteriler arasında fotosentetik, halofilik ve denitrifikasyon yeteneğine sahip türlerin daha fazla temsil edildiği gözlemlenmiştir.

Her iki ortamda da ortak olarak izole edilen bazı cinsler, *Halomonas* ve *Exiguobacterium*, yüksek tuzluluk koşullarına adaptasyon sağlamış, geniş çevresel tolerans aralığına sahip bakterilerdir (Naziri vd., 2014; Oren, 2020). Bu durum, bu türlerin hem planktonik hem de bentik ekolojik nişlerde varlık gösterebildiğini, dolayısıyla Gökçeada Tuz Gölü gibi ekstrem ortamlarda yaygın ve başarılı kolonizatörler olduklarını düşündürmektedir.

Bu doktora tez çalışmasının izolat bazlı 16S rRNA gen dizileme aşamasında, hipersalin ortamlarda yaygın olarak bulunması beklenen arke domainine ait hiçbir izolata rastlanmamış olması dikkat çekmektedir. Bu bulgu, lagünün kültürleme bağımsız bir yaklaşımla gerçekleştirilen metabarkodlama analizinde Nanoarchaeota gibi arke gruplarının tespit edilmiş olmasıyla belirgin bir çelişki oluşturmaktadır. Bu ayrımın altında yatan nedenler hem metodolojik hem de ekolojik faktörlerle açıklanabilmektedir. Öncelikle, bu çalışmada kullanılan 16S rRNA gen dizileme yöntemi, yalnızca kültürlenebilen mikroorganizmaları kapsayan kültüre dayalı bir yaklaşımdır. Çevresel mikrobiyal

toplulukların büyük bir kısmı, laboratuvar koşullarında kültürlenmesi oldukça güç olan ve kültürlenemeyen çoğunluk olarak tanımlanan organizmalardan oluşmaktadır (Stewart, 2012). Özellikle halofilik ve ekstremofilik arke türleri, oldukça özgül ve zorlu besiyeri, sıcaklık, pH ve tuzluluk gereksinimleri nedeniyle standart kültürleme protokollerinde sıklıkla gözden kaçmaktadır. Bu da arkelerin izolasyonunu ciddi şekilde kısıtlayabilmektedir. İkinci olarak, kullanılan 16S rRNA primer setlerinin ve PCR koşullarının bakterilere yönelik optimize edilmiş olması, arke domaininin amplifikasyonunu engellemiş olabilir. Kültüre dayalı bu çalışmada tercih edilen primerlerin, arke dizilerinin yeterli şekilde çoğaltılmasına uygun olmaması, arkelerin tespiti açısından önemli bir metodolojik sınırlılıktır. Oysa metabarkodlama gibi çevresel DNA'yı doğrudan hedefleyen kültürleme bağımsız yaklaşımlar hem bakterileri hem de arkeleri kapsayacak şekilde geniş spektrumlu primerler veya domain-özel primerler kullanarak daha kapsamlı bir mikrobiyal çeşitlilik profili ortaya koyabilmektedir. Bu nedenle, metabarkodlama analizinde arke tespit edilmiş olması, izolat bazlı dizileme analizinde ise gözlenmemesi, büyük olasılıkla kültürleme kısıtları ve primer seçiciliği gibi teknik sınırlamalardan kaynaklanmaktadır. Ayrıca, lagündeki arke türlerinin düşük bollukta bulunması ya da yalnızca belirli ekstrem koşullarda üreyebilmeleri, bu grupların kültür ortamlarında başarıyla yakalanamamasına yol açmış olabilir.

4.9. Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen ve Temsili Olarak Seçilen Halofil Mikroorganizmaların Rodopsin Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

Halofil suşların rodopsin üretme kapasitelerini değerlendirmek amacıyla, rodopsin sentez basamakları ise Şekil 33-35'te, belirli zaman aralıklarında (0, 24, 48, 72, 96, 120 ve 144. saatlerde) 568 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri su numunelerinden izole edilen bakteriler için Şekil 36'da sediment numunelerinden izole edilen bakteriler için Şekil 37'de gösterilmektedir.



Şekil 333. Halofil izolatların rodopsin üretimi a: Sucul izolatlar, b: Sediment izolatları.



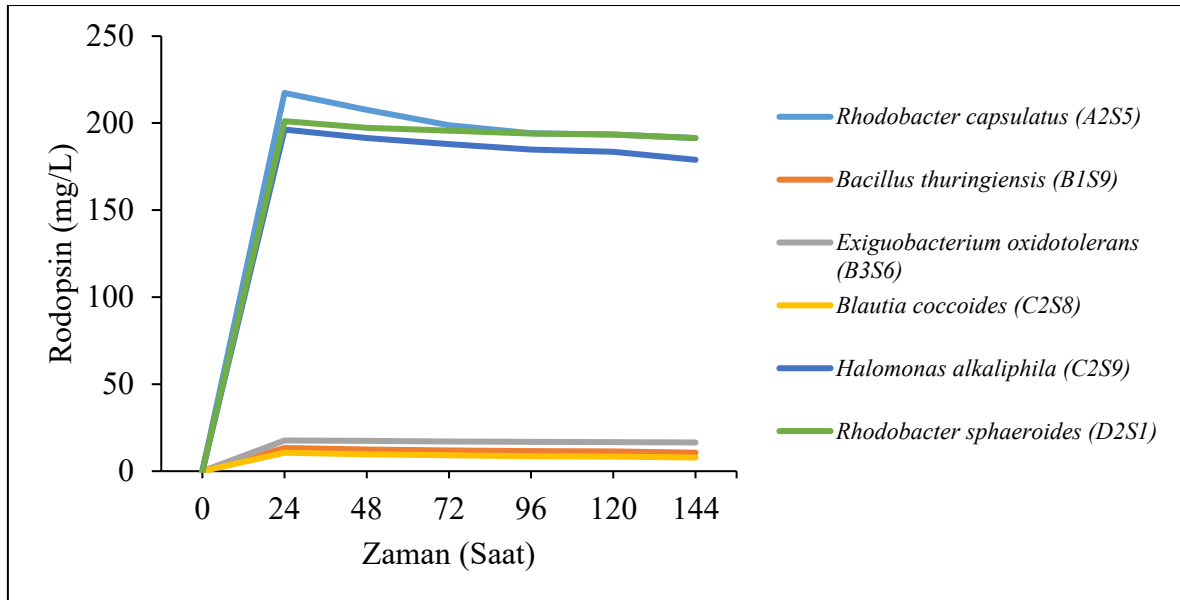
Şekil 34. Halofil izolatlardan rodopsin sentez görseli.



Şekil 35. Halofil izolatların rodopsin üretim miktarlarındaki renk değişim görseli.

En yüksek absorbans değeri, *Rhodobacter capsulatus* (A2S5) suşunda 24. saatte 217,35 mg/L olarak kaydedilmiş olup, bu suş çalışmada en yüksek rodopsin üretim kapasitesine sahip mikroorganizma olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde, *Rhodobacter sphaeroides* (D2S1) (201,12 mg/L) ve *Halomonas alkaliphila* (C2S9) (196,31 mg/L) suşları da 24. saatte yüksek absorbans değerleri sergileyerek güçlü rodopsin üreticileri olarak öne çıkmıştır. Zaman ilerledikçe, bazı suşlarda absorbans değerlerinde kademeli bir azalma

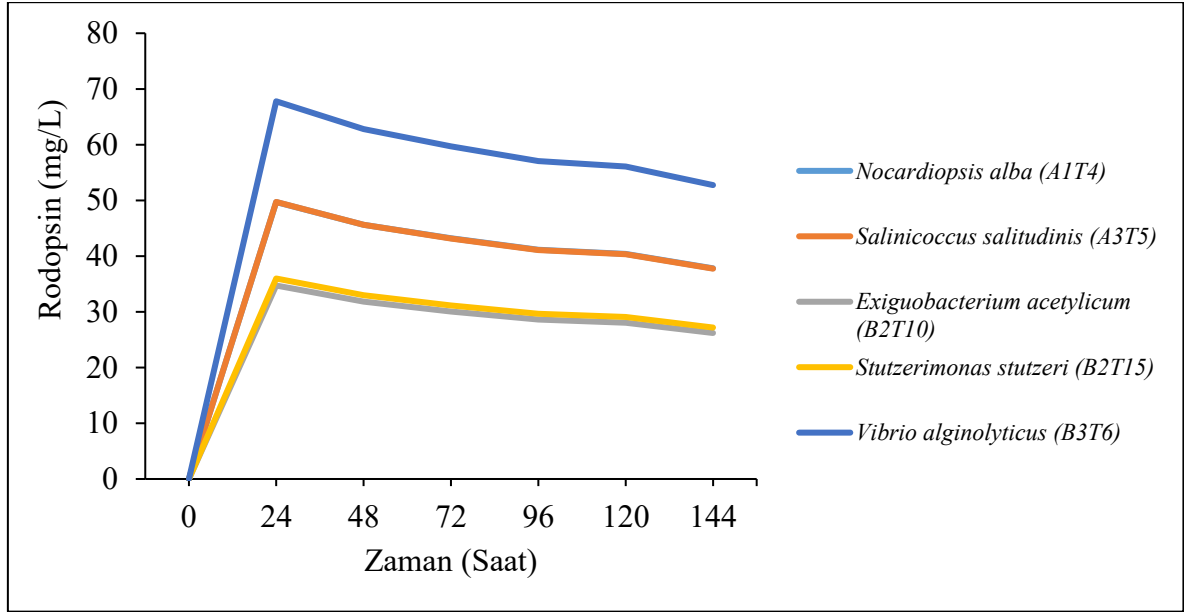
gözlemlenmiş, özellikle 144. saatte *R. capsulatus* (A2S5) (191,4 mg/L), *R. sphaeroides* (D2S1) (191,37 mg/L) ve *H. alkaliphila* (C2S9) (178,98 mg/L) suşlarında düşüş eğilimi dikkat çekmiştir. Bu durum, rodopsin üretim seviyelerinin belirli bir süre sonra dengeye ulaşabileceğini ya da pigment stabilitesinde azalma meydana gelebileceğini düşündürmektedir. Öte yandan, en düşük rodopsin üretim seviyeleri, *Bacillus thuringiensis* (B1S9) (maksimum 13,32 mg/L) ve *Blautia coccoides* (C2S8) (maksimum 10,59 mg/L) suşlarında gözlemlenmiştir. Tüm suşlar dikkate alındığında, rodopsin sentezinin 7,8 mg/L (C2S8, 144. saat) ile 217,35 mg/L (A2S5, 24. saat) absorbans değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 36).



Şekil 36. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin rodopsin üretim miktarları.

Sediment izolatlarından elde edilen verilere göre, en yüksek rodopsin üretimi 67,79 mg/L absorbans değeri ile *Vibrio alginolyticus* (B3T6) suşunda (24. saat) gözlemlenmiştir. *Vibrio alginolyticus* (B3T6) suşu, tüm zaman noktalarında diğer suşlara kıyasla en yüksek absorbans değerlerine sahip olup, 144. saatte bile 52,73 mg/L absorbans ile rodopsin sentezlemeye devam etmiştir. En düşük rodopsin üretimi ise 26,19 mg/L absorbans değeri ile *Exiguobacterium acetylicum* (B2T10) suşunda (144. saat) tespit edilmiştir. Genel olarak, çalışmada incelenen suşların rodopsin üretim seviyeleri 26,19 ile 67,79 mg/L absorbans birimi arasında değişmektedir. *Nocardiopsis alba* (A1T4) ve *Salinicoccus salitudinis* (A3T5) suşları, benzer üretim profiline sahip olup, 24. saatte yaklaşık 49,7–49,73 mg/L absorbans seviyelerine ulaşmış ve zamanla kademeli olarak azalma göstermiştir. *E.*

acetylicum (B2T10) ve *Stutzerimonas stutzeri* (B2T15) suşları ise daha düşük seviyelerde rodopsin üretmiş, maksimum değerleri sırasıyla 34,72 mg/L ve 35,98 mg/L absorbands olarak ölçülmüştür. Rodopsin üretimi açısından en yüksek kapasiteye sahip suş *Vibrio alginolyticus* (B3T6), en düşük üretim seviyesine sahip suş ise *E. acetylicum* (B2T10) olarak belirlenmiştir (Şekil 37).



Şekil 374. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin rodopsin üretim miktarları.

Bu bulgular, farklı halofil izolatlarının rodopsin üretim potansiyelini ortaya koymakta olup, biyoteknolojik uygulamalarda fotopigment üretimi açısından yüksek potansiyel taşıyan izolatların belirlenmesine katkı sağlamaktadır. Özellikle *Rhodobacter capsulatus*, *Rhodobacter sphaeroides*, *Halomonas alkaliphila* (A2S5, D2S1 ve C2S9) suşları, yüksek rodopsin üretim kapasitesine sahip olmaları nedeniyle ileri genetik ve metabolik analizler için önemli adaylar olarak değerlendirilmektedir.

Kalenov vd. (2016), *Halobacterium salinarum* türünden bakteriyorodopsin üretimi derin fermantasyon yöntemi ile sağlanmış ve 1,750 mg/L düzeyinde bakteriyorodopsin varlığı tespit edilmiştir. Lee vd. (1998), halofilik mikroorganizmaların doğal metabolik süreçleri kapsamında bakteriyorodopsin üretim potansiyelleri araştırmıştır. Araştırma sonucunda, özellikle ekstrem halofilik bir tür olan *H. salinarum*'un kültür ortamında 64,5

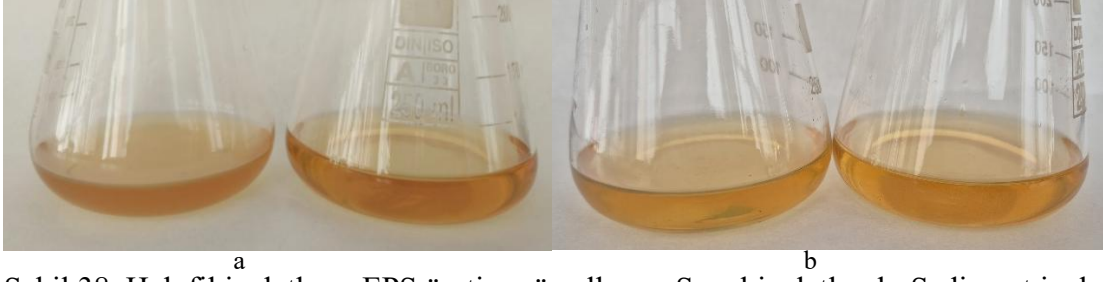
mg/L düzeyinde bakteriyorodopsin sentezlediği belirlenmiştir. Bu miktar, doğal koşullarda elde edilen en yüksek bakteriyorodopsin üretim seviyelerinden biri olarak kaydedilmiş ve halofilik mikroorganizmaların biyoteknolojik açıdan önemli bir kaynak olabileceğini göstermiştir. Bratanov vd. (2015), çalışmalarında bakteriyorodopsin geni *E. coli* suşlarına aktararak rekombinant üretim gerçekleştirilmiş ve $2,4 \pm 1,3$ mg/L seviyesinde bakteriyorodopsin ekspresyonu sağlanmıştır.

Bu çalışmada elde edilen rodopsin üretim sonuçları, literatürde bildirilen verilerle karşılaştırıldığında, farklı tür ve üretim yöntemlerine bağlı olarak rodopsin sentez kapasitesinde önemli farklılıklar gözlemlendiği görülmektedir. Özellikle Kalenov vd. (2016), tarafından bildirilen 1,750 mg/L düzeyindeki bakteriyorodopsin üretimi, derin fermantasyon yöntemiyle optimize edilmiş bir süreç sonucunda elde edilmiştir. Benzer şekilde, Lee vd. (1998), tarafından bildirilen 64,5 mg/L bakteriyorodopsin miktarı, bu çalışmadaki en yüksek rodopsin sentezi ile kıyaslandığında farklı mikroorganizmalara ve üretim koşullarına bağlı değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

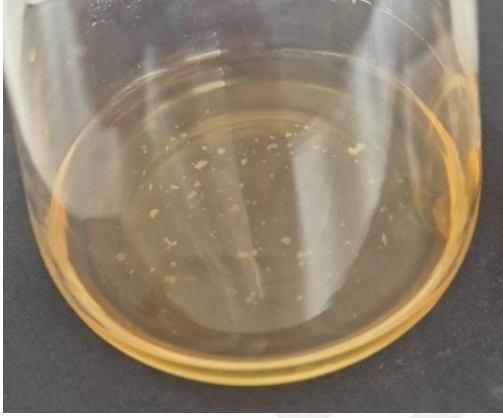
Bu çalışmada belirlenen rodopsin sentez miktarları, özellikle doğal halofil suşların rodopsin üretim kapasitesini değerlendirmek açısından önemlidir. Literatürde bildirilen bazı çalışmalar, genetik mühendislik yaklaşımları veya optimize fermantasyon koşulları ile rodopsin üretimini artırmayı hedeflerken, bu araştırmada doğal izolatlardan elde edilen rodopsin miktarları değerlendirilmiştir.

4.10. Su ve Sediment Numunelerinden İzole Edilen ve Temsili Olarak Seçilen Halofil Mikroorganizmaların EPS Üretim Yeteneklerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, farklı halofil suşlarının EPS üretme kapasiteleri, 490 nm dalga boyunda gerçekleştirilen spektrofotometrik absorbans ölçümleri ile belirlenmiştir. EPS sentez basamakları ise Şekil 38-40'ta gösterilmiştir.



Şekil 38. Halofil izolatların EPS üretim görselleri, a: Sucul izolatlar, b: Sediment izolatları.



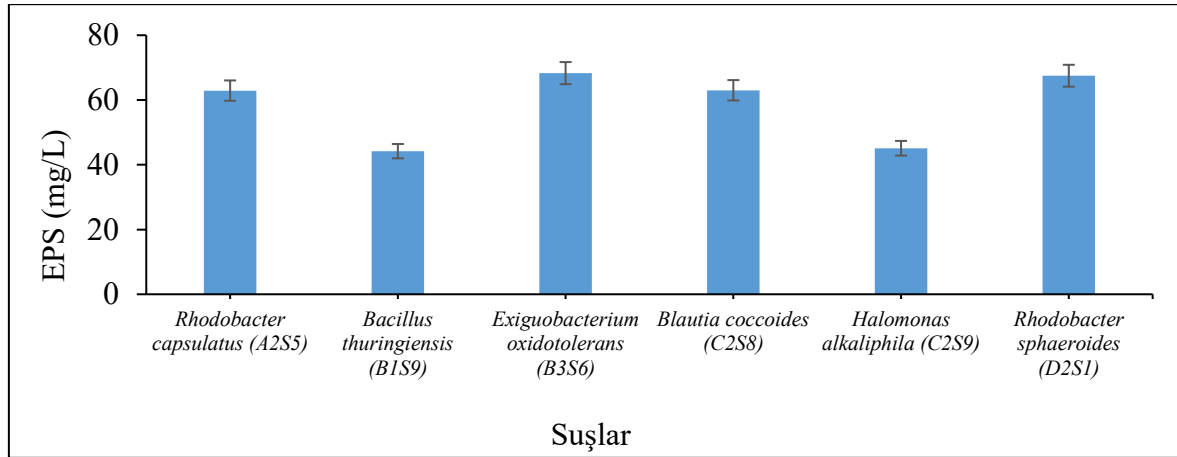
Şekil 39. Halofil izolatlardan EPS sentez görseli.



Şekil 40. Halofil izolatların EPS üretim miktarlarındaki renk değişim görseli.

Üretilen EPS miktarları su numunelerinden izole edilen halofil bakteriler için Şekil 41’de, sediment numunelerinden izole edilen halofil bakteriler için Şekil 42’de gösterilmektedir. EPS üretim seviyeleri mg L^{-1} cinsinden belirlenmiş ve suşların sentezleme potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular, EPS üretiminin suşa bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ve en yüksek EPS üretiminin seminet suşundan üretildiğini ortaya koymuştur.

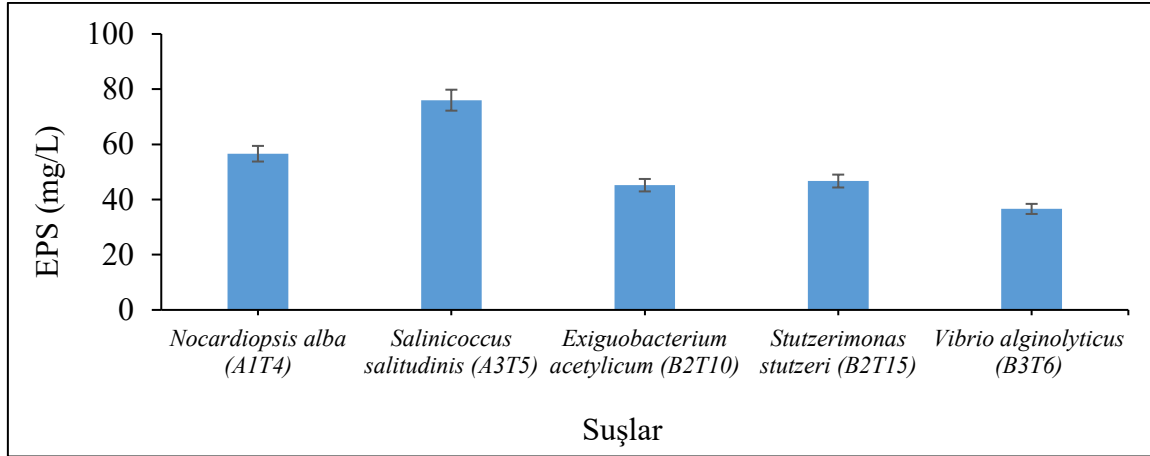
Su numunelerinden izole edilen halofil bakteriler yüksek EPS üretim kapasitesine sahip mikroorganizmalar içermektedir. Bu grupta *Exiguobacterium oxidotolerans* (B3S6) (68,3 mg/L), *Rhodobacter sphaeroides* (D2S1) (67,5 mg/L) ve *Blautia coccoides* (C2S8) (63,0 mg/L) suşları, önemli miktarda EPS üretebilme yeteneklerini sergilemişlerdir (Şekil 41).



Şekil 41. Su numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin EPS üretim miktarları.

Bu sonuçlar, suşların potansiyel biyopolimer kaynakları olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Genel olarak, halofil suşlarının EPS üretim seviyeleri 36,6 mg/L ile 76,0 mg/L arasında değişmektedir. Bu geniş aralık, halofilik bakterilerin biyopolimer üretim kabiliyetleri açısından dikkate değer bir çeşitliliğe sahip olduğunu vurgulamaktadır.

Sediment izolatlarının EPS üretim miktarı 36,6 mg/L ile 76,0 mg/L arasında belirlenmiş ve *S. salitudinis* (A3T5) suşu, 76,0 mg/L ile en yüksek EPS üretimini sergilemiştir. Bu bulgu, mevcut suşun çalışmada incelenen mikroorganizmalar arasında en üst düzeyde biyopolimer sentezleme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, *V. alginolyticus* (B3T6) suşunda ölçülen 36,6 mg/L'lik EPS üretimi, en düşük sentezleme potansiyelini temsil etmektedir (Şekil 42).



Şekil 42. Sediment numunelerinden izole edilen halofil bakterilerin EPS üretim miktarları.

EPS üretimi, bakteri türü, kültürlerin yetiştirme koşulları, yaşları ve fermantasyon sürecinin tasarımına bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir (Allard ve Tazi, 1993). Bunun yanı sıra, EPS üretimi türe özgü olmayıp, aynı tür içindeki farklı suşlar bile biyoteknolojik özellikleri açısından farklılık gösteren EPS bileşiklerini sentezleyebilmektedir (Manivasagam vd., 2013). Literatürde farklı halofilik bakteri türlerinin EPS üretim seviyelerine ilişkin çeşitli çalışmalar mevcuttur. Radchenkova vd. (2018), *Chromohalobacter canadensis* 28 suşunun optimum %10 tuz konsantrasyonunda 58 µg/mL EPS ürettiğini belirlemiştir. Benzer şekilde, Chikkanna vd. (2018), *Halomonas nitroreducens* WB1 suşunun %5 tuz konsantrasyonunda 125 mg/mL EPS sentezlediği rapor etmiştir. Mata vd. (2006), *Halomonas ventosae* ve *Halomonas anticariensis* türlerine ait suşların 28–49 g/L EPS ürettiğini, Llamas vd. (2012), ise *Halomonas almeriensis* suşunun 1,7 g/L EPS sentezlediğini bildirmiştir.

Bu çalışmada elde edilen EPS üretim seviyeleri, literatürde bildirilen verilerle karşılaştırıldığında, halofil suşlarının EPS sentezleme kapasitesinin önemli farklılıklar gösterebileceği ortaya konmuştur. Çalışmada, en yüksek EPS üretimi *S. salitudinis* (A3T5) suşunda 76 mg/L, en düşük ise *V. alginolyticus* (B3T6) suşunda 36,6 mg/L olarak belirlenmiştir. Genel olarak, incelenen halofil suşlarda EPS üretimi 36,6 mg/L ile 76 mg/L arasında değişmektedir. Bu sonuçlar, özellikle *H. nitroreducens* WB1 suşunun sentezlediği 125 mg/mL EPS miktarı ile kıyaslandığında daha düşük bir üretim seviyesine işaret etmektedir. Ancak, farklı türlerin ve suşların biyosentetik kapasiteleri ile birlikte yetiştirme

koşulları ve tuz konsantrasyonları gibi çevresel faktörlerin EPS sentezi üzerinde belirleyici olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

4.11. Kültüre Dayalı Olmayan Yöntemler Kullanılarak Su ve Sediment Numunelerinde Mikrobiyal Çeşitliliğin Belirlenmesi

Bu çalışmada, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden toplanan su ve sediment numuneleri üzerinde, mikroorganizmaların çeşitliliğini belirlemek amacıyla kültüre dayalı olmayan modern analiz yöntemleri kullanılmıştır. Numunelerde bulunan bakterilerin tanımlanabilmesi için, sediment numuneleri ile metabarkodlama çalışmaları yürütülmüş, su ve sediment numunelerinden izole edilip temsili olarak seçilen 54 halofil bakteri için ise 16S moleküler tanımlama yapılmıştır.

4.12. Sediment Numunelerinin Metabarkodlama Analiz Sonuçları

Ham .fastq verilerinin kalite kontrolü, FastQC aracı (sürüm 0.11.7) (Andrews, 2010) ile yapılmıştır. 16S örneklerinin kalite kırpma işlemi, QIIME 2 (Bolyen vd., 2019) eklentisi 'dada2' (Callahan vd., 2016) (sürüm 2024.10.0) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem (i) primerlerin kaldırılması ve kalite skoru 20'nin altında olan düşük kaliteli uçların kırılması, ayrıca 2'den fazla beklenen hataya sahip okumaların elenmesi, (ii) en az 12 bazlık bir örtüşme ile çift uçlu okumaların birleştirilmesi, (iii) PCR amplifikasyon sürecinde iki veya daha fazla biyolojik dizisinin hatalı bir şekilde birleşmesi sonucu oluşan artefaktlar olan kimerik okumaların temizlenmesi adımlarını içermektedir. Örnekler için kalite kontrol metriklerinin değerleri Tablo 42'de göstermektedir.

Tablo 42

16S ve 18S dizilerin kalite kontrol sonuçları

Dizileme Türü	Örnek Adı	Toplam Okuma Sayısı	Kırpılmış Okuma Sayısı	Birleştirilmiş Okuma Sayısı	Kimerik Olmayan Okuma Sayısı
16S V3-V4	Eyl/23-16S	44,118	35,524	33,501	30,358
	Ara/23-16S	42,547	34,617	30,818	24,769
	Nis/24-16S	58,867	42,951	33,667	32,602
	Tem/24-16S	98,965	69,359	53,206	50,126
18S V4F-V4R	Eyl/23-18S V4	40,116	32,301	31,924	30,966
	Ara/23-18S V4	40,596	34,344	33,372	32,274
	Nis/24-18S V4	46,249	39,265	36,048	32,198
	Tem/24-18S V4	108,804	99,322	94,558	74,609
18S V9F-V9R	Eyl/23-18S V9	23,901	22,566	22,064	12,007
	Ara/23-18S V9	111,990	107,795	106,854	93,319
	Nis/24-18S V9	159,295	148,143	138,466	80,386
	Tem/24-18S V9	95,955	85,643	37,020	22,826

Eyl: Eylül, Ara: Aralık, Nis: Nisan, Tem: Temmuz

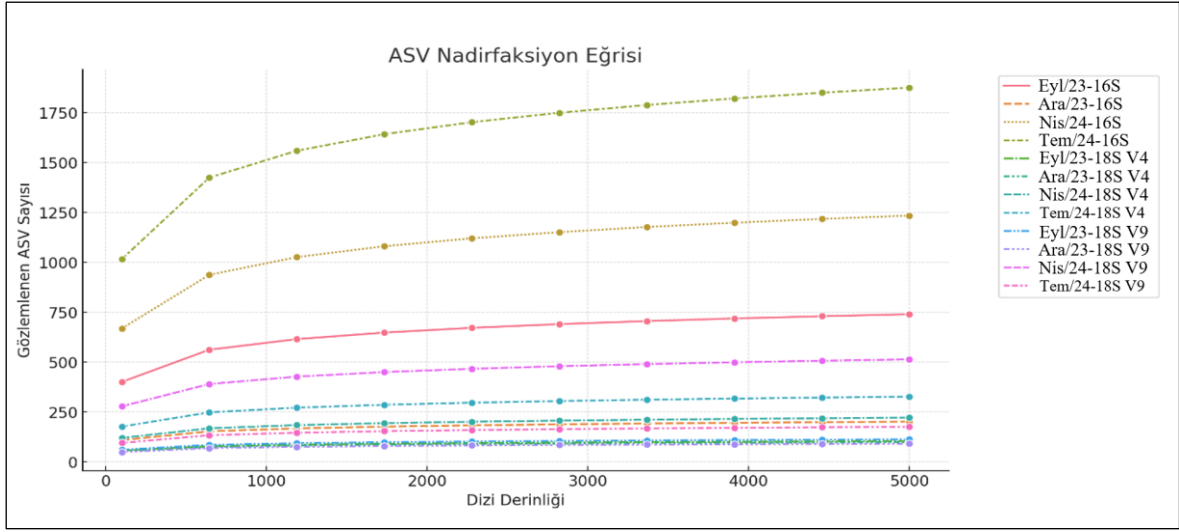
4.12.1. Sediment Numunelerinin Taksonomik Profillemeye Analizi

Her bir örnekte gözlemlenen ASV sayısı ve yoğunluğu (Tablo 40, Şekil 43), ayrıca 16S ve 18S dizilerinin FastQC analiz sonuçları (Tablo 43) sunulmuştur.

Tablo 43

Gözlemlenen ASV sayıları

Dizileme Türü	Örnek Adı	Gözlemlenen ASV Sayısı
16S V3-V4	Eyl/23-16S	740
	Ara/23-16S	202
	Nis/24-16S	1234
	Tem/24-16S	1875
18S V4F-V4R	Eyl/23-18S V4	104
	Ara/23-18S V4	99
	Nis/24-18S V4	222
	Tem/24-18S V4	327
18S V9F-V9R	Eyl/23-18S V9	113
	Ara/23-18S V9	91
	Nis/24-18S V9	514
	Tem/24-18S V9	176



Şekil 43. Örneklerin 16S ve 18S okumalarının ASV yoğunluk grafiği.

ASV sayıları incelendiğinde hem 16S hem de 18S dizileri için zamansal değişimler gözlemlenmiştir. 16S V3-V4 bölgesinde ASV sayısı Eyl/23'te 740 iken, Ara/23'te 202'ye düşmüş, ancak Nis/24'te 1234'e ve Tem/24'te 1875'e yükselmiştir. Bu durum, mikrobiyal çeşitliliğin dönemsel olarak arttığını ve özellikle yaz aylarında yüksek sıcaklık ve tuzluluğun halofilik mikroorganizmaların çoğalmasını desteklediğini göstermektedir. Halofilik bakterilerin adaptasyon yetenekleri göz önünde bulundurulduğunda, bu artışın çevresel stres faktörlerine ve antropojenik baskıya karşı gelişen popülasyon dinamiklerini yansıttığı söylenebilmektedir. Benzer şekilde, 18S rRNA V4 ve V9 bölgeleri için de ASV değişimleri gözlemlenmiştir. 18S V4 bölgesinde ASV sayısı Eyl/23'te 104 iken, Nis/24'te 222'ye ve Tem/24'te 327'ye yükselmiştir. 18S V9 bölgesinde ise en yüksek ASV sayısı Nis/24'te 514 olarak kaydedilmiştir. Halofilik ökaryotların özellikle yaz döneminde ve artan tuzluluk koşullarında daha baskın hale geldiği görülmektedir. Bu sonuçlar, hipersalin ortamların mikrobiyal ekosistemi üzerindeki seçim baskısını ve halofilik mikroorganizmaların çeşitliliğini destekler niteliktedir.

Nadirfaksiyon eğrileri, dizi derinliğine bağlı olarak mikrobiyal çeşitliliğin değişimini göstermektedir. 16S ve 18S ASV yoğunluk dağılımı incelendiğinde, en yüksek mikrobiyal çeşitlilik belirli dönemlerde gözlemlenirken, bazı dönemlerde çeşitlilik önemli ölçüde azalmaktadır. Çeşitliliğin en yüksek olduğu dönemlerde, çevresel faktörlerin (örneğin, sıcaklık ve tuzluluk seviyeleri) mikroorganizmaların çoğalması ve topluluk yapısı üzerindeki etkisinin belirgin olduğu görülmektedir. Özellikle daha ılıman sıcaklıklarda ve

uygun çevresel koşullarda, halofilik mikroorganizmaların daha çeşitli olduğu gözlenmiştir. Buna karşın, düşük sıcaklıkların ve artan tuz konsantrasyonunun mikrobiyal çeşitliliği sınırlandırdığı söylenebilir. Ayrıca, yağış miktarındaki değişiklikler ve buna bağlı olarak tuzluluk seviyelerindeki dalgalanmalar da mikrobiyal çeşitliliğin şekillenmesinde etkili olmuştur. Artan yağışlar, göl su seviyesini yükseltip tuzluluğu düşürerek, farklı ekolojik nişlerin oluşmasına yol açmış olabilir.

16S ve 18S dizi verilerinin kalite parametreleri incelendiğinde, Q30 değerlerinin büyük oranda %80'in üzerinde olduğu ve yüksek kaliteli dizileme sonuçlarının elde edildiği görülmektedir. 16S rRNA genine ait dizilerin GC içeriği, analiz edilen dönemler boyunca %50 ile %55,5 arasında değişmektedir. Özellikle Tem/24'te GC içeriğinin %55,5 ile en yüksek değere ulaştığı gözlemlenmiştir (Tablo 44). Bu durum, ortamda yüksek GC içeriğine sahip mikroorganizmaların, özellikle de haloarkelerin baskın olabileceğine işaret etmektedir. Hipersalin ortamlarda, haloarkeler genellikle yüksek GC içeriği ile karakterize edilirken, daha düşük tuzluluk seviyelerine sahip ortamlarda bakterilerin baskın olduğu ve daha düşük GC içeriği sergilediği bilinmektedir (Qvrees vd., 2003).

Tablo 44

16S ve 18S dizilerinin FastQC analiz sonuçları

	Toplam Dizi (bp)	GC (%)	AT (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
16S					
Eyl/23-16S	26,559,036	54,8	45,2	88,4	80,3
Ara/23-16S	25,613,294	50,0	50,0	89,6	81,6
Nis/24-16S	35,437,934	52,7	47,3	88,2	80,0
Tem/24-16S	59,576,930	55,5	44,5	91,1	82,4
18S					
Eyl/23-18S V4	24,149,832	44,4	55,6	89,4	80,5
Ara/23-18S V4	24,438,792	44,4	55,6	91,6	83,0
Nis/24-18S V4	27,841,898	44,0	56,0	91,1	83,0
Tem/24-18S V4	65,500,008	45,1	54,9	94,9	88,3
Eyl/23-18S V9	14,388,402	48,3	51,7	81,7	77,0
Ara/23-18S V9	67,417,980	46,0	54,0	80,5	75,1
Nis/24-18S V9	95,895,590	45,8	54,2	78,9	73,4
Tem/24-18S V9	57,764,910	51,8	48,2	87,8	80,0

18S rRNA genine ait dizileme sonuçları ise ökaryotik mikroorganizmaların dağılımı hakkında bilgi vermektedir. 18S V4 bölgesine ait GC içerikleri %44 ile %45,1 arasında değişirken, V9 bölgesi için bu oran %45,8 ile %51,8 arasında gözlemlenmiştir. V9

bölgesindeki GC oranının daha yüksek olması, bu bölgede sekanslanan mikroorganizmaların filogenetik yapılarının farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle Tem/24'te 18S V9 bölgesi için GC içeriğinin %51,8'e yükselmesi, yüksek GC içeriğine sahip halofilik protist veya alg gibi ökaryotların baskın hale geldiğini göstermektedir.

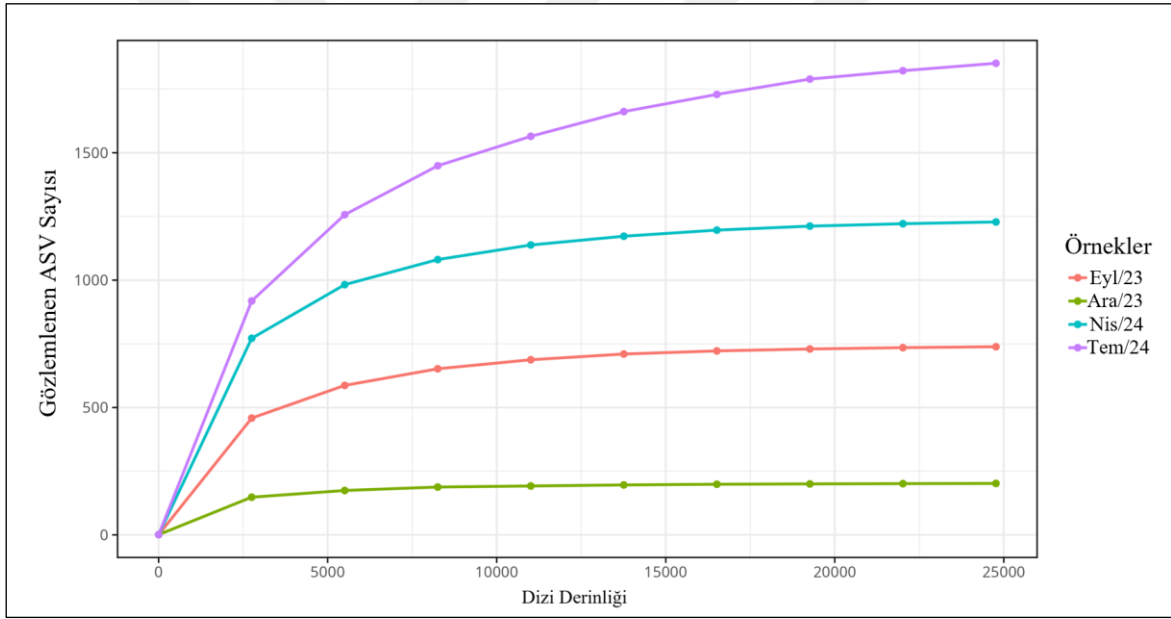
Dizileme verilerinin baz uzunlukları incelendiğinde, 16S ve 18S verilerinin her dönemde yüksek miktarda dizilendiği görülmektedir. Özellikle Tem/24'te 16S için 59,6 Mbp, 18S V4 için 65,5 Mbp ve 18S V9 için 57,7 Mbp uzunluğuna ulaşılmıştır. Bu artış, mikrobiyal çeşitliliğin ve dizileme derinliğinin en yüksek olduğu döneme işaret etmektedir. Metabarkodlama analizindeki 16S okumalarının GC içeriklerinin yüksek olması, haloarkelerin baskın olduğu hipersalin ortamların yüksek GC içeriği, bakterilerin baskın olduğu az tuzlu ortamların ise düşük GC içeriği ile karakterize olduğu bilgisiyle uyumlu görünmektedir (Qvrees vd., 2003). Yüksek GC içeriğinin yanı sıra, asidik amino asitlerce zengin proteomların mikroorganizmaların hipersalin ortamlara adaptasyonunun bir yolu olarak kabul edildiği belirtilmektedir (Paul vd., 2008). Bu bağlamda, çalışma sahasında elde edilen yüksek GC içeriği, halofilik mikroorganizmaların varlığını destekleyen önemli bir genetik adaptasyon göstergesi olarak değerlendirilebilir.

4.12.2. 16S Okumalarının Biyoinformatik Analiz Sonuçları

Kalite kontrol ve kesme işlemlerinden sonra çalışmanın bu aşamasında, elde edilen veriler kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuş; ardından bu ağaca dayalı alfa ve beta çeşitlilik analizleri gerçekleştirilmiştir. Alfa çeşitliliğine ilişkin değerlendirmede, özellikle alpha-rarefaction eğrileri örneklerin dizileme derinliğinin mevcut mikrobiyal çeşitliliği büyük ölçüde temsil ettiğini, dolayısıyla analizlerin güvenilirliği açısından yeterli kalitede veri sağlandığını ortaya koymuştur. Beta çeşitliliği analizleri ise örnekler arasındaki taksonomik benzerlik ve farklılıkları ortaya çıkararak, zaman içinde meydana gelen olası değişimlerin ekolojik bağlamda yorumlanmasına imkan tanımıştır. Buna ek olarak, cins düzeyinde çeşitlilik ve bolluğun zaman serisi boyunca nasıl değiştiğini görselleştirmek amacıyla ısı haritası (heatmap) analizi uygulanmıştır. Bu analizdeki renk gradyanı, her ayda gözlenen her bir taksonun nispi bolluğunu ifade etmekte ve topluluk kompozisyonundaki farklılıkları daha net bir şekilde yansıtmaktadır. Böylelikle, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde

farklı aylarda gerçekleşen mikrobiyal popülasyon değişimleri açıkça takip edilebilmiş; olası çevresel faktörlere bağlı topluluk dinamikleri hakkında kapsamlı veriler elde edilmiştir.

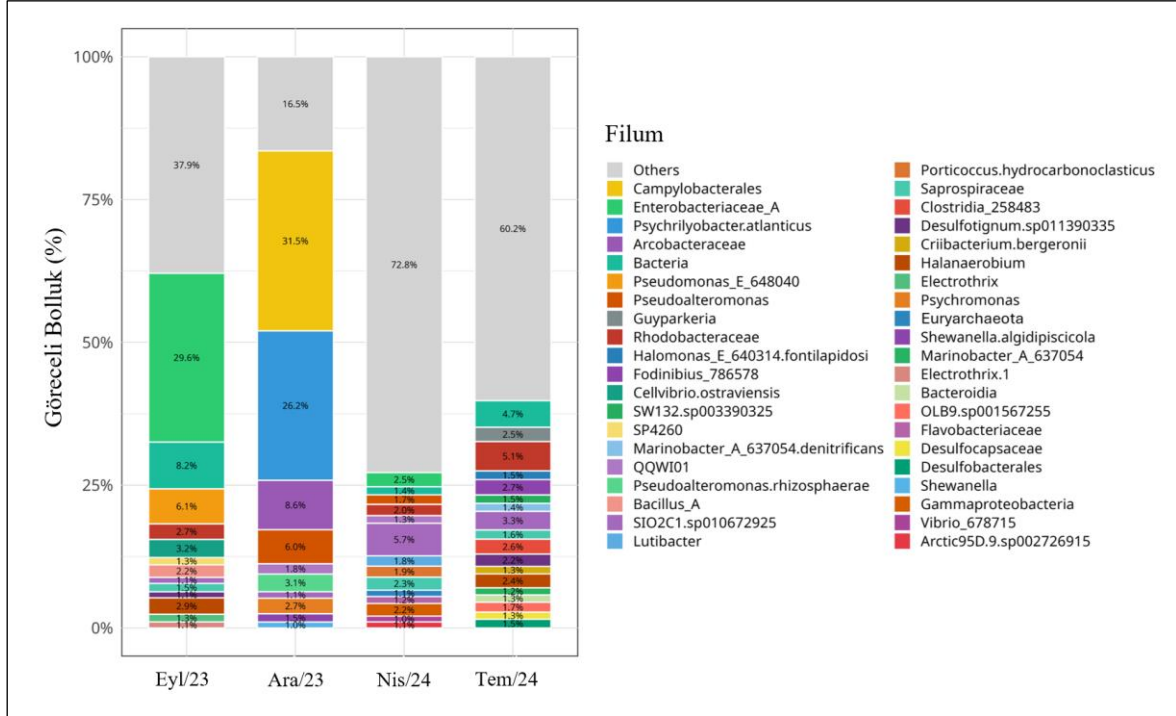
Dizi derinliğine bağlı olarak oluşturulan 16S ASV yoğunluk dağılımına göre en fazla ASV çeşitliliği Tem/24, en düşük ASV çeşitliliği ise Ara/23 aylarında gözlenmiştir (Şekil 44). Meteorolojik veriler, Aralık ayında sıcaklığın 11°C'ye kadar gerilediğini, Temmuz ayında 29°C'ye ulaştığını göstermektedir. Bulgular, sıcaklığın ekosistemdeki mikrobiyal çeşitlilik ve bolluk düzeyleri üzerinde kritik bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, artan yağışların tuzluluk oranını düşürmesi ve göl hacminin genişlemesiyle birlikte substrat miktarının artması, mikroorganizmalar arasındaki rekabeti sınırlayarak topluluk çeşitliliğinin yükselmesinde önemli bir rol oynamış olabilir.



Şekil 44. Örneklerin 16S okumalarının ASV yoğunluk grafiği.

GreenGenes veritabanı kullanılarak 16S örneklerinde tespit edilen mikroorganizmaların göreceli bolluklarını gösteren taksonomik çubuk grafiğini Şekil 45-47 arasında gösterilmektedir. Bağlı bolluğu %1'in altında olan taksonlar "Others" kategorisi altında toplanmıştır. Belirli bir taksonomik düzeyde ataması yapılamayan organizmalar "Not available" olarak etiketlenmiştir.

Dört farklı mevsimi temsilen alınan sediment örneklerindeki mikrobiyal toplulukların filum düzeyindeki dağılımı Şekil 45'te gösterilmiştir.

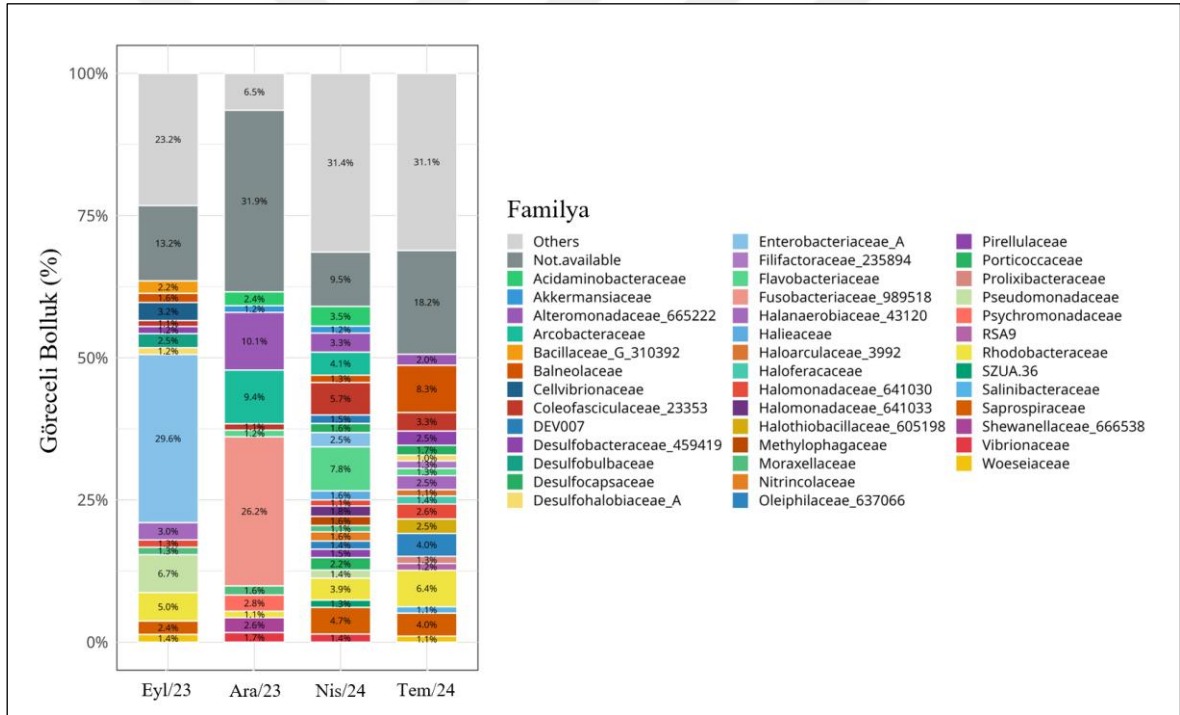


Şekil 45. 16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun filum seviyesinde dağılımı.

Örneklerde farklı bakteriyel filumların baskın olduğu ve çeşitliliğin dönemsel olarak değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Genel olarak arke popülasyonunun düşük oranlarda kaldığı ve mikrobiyal topluluğun büyük oranda bakteriyel filumlar tarafından domine edildiği belirlenmiştir. Eyl/23'te en yüksek oranda bulunan filum Proteobacteria (Familya; Enterobacteriaceae) olup, bu filum toplam popülasyonun %29,6'sını oluşturmuştur. Bu oran, bakteriyel topluluğun bu dönemde ekosistemde baskın olduğunu göstermektedir. Bacteria %8,2 oranıyla ikinci en yaygın domain olarak tespit edilmiştir. Bunun ardından Pseudomonadaceae familyasına ait (%6,1) ve Rhodobacteraceae (%2,7) Proteobacteria filumu gelmiştir. Bu veriler, Eyl/23'te arke popülasyonunun çok düşük seviyede olduğunu, popülasyonun tamamının bakteriyel topluluklardan oluştuğunu göstermektedir. Ara/23'te mikrobiyal çeşitlilikte belirgin değişiklikler gözlenmiştir. Proteobacteria (Familya;Campylobacteriales) %31,5 oranıyla en baskın filum olarak belirlenmiştir. *Psychrilyobacter atlanticus*, *Fusobacteria* filumuna ait olup, toplam popülasyonun %26,2'sini oluşturarak ikinci sırada yer almıştır ve bu sırayı Proteobacteria filumuna ait olan Arcobacteraceae (%8,6) ve *Pseudoalteromonas* (%6) takip etmiştir. Nis/24'te Others

kategorisi en yüksek oranla öne çıkmış olup (%72,8), belirgin filumların oranlarının düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum, mikrobiyal topluluğun henüz sınıflandırılmamış çok sayıda tür içerdiğini göstermektedir. Proteobacteria (Familya; Arcobacteraceae) %5,7 ve (Familya; Enterobacteriaceae) %2,5 oranında bulunarak en belirgin filumlar olmuştur. Arke filumu olarak %1,1 Euryarchaeota filumu tespit edilmiştir. Tem/24'te ise Rhodobacteraceae familyasını kapsayan Proteobacteria %5,1 oranında en baskın filum olarak kaydedilmiş olup ikinci yaygın domain Bacteria (%4,7) olmuştur. Bu dönemdeki arke popülasyonunun %1,5'ini ise Euryarchaeota filumunun oluşturduğu belirlenmiştir.

16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun familya seviyesinde dağılımı Şekil 46'da sunulmuştur.

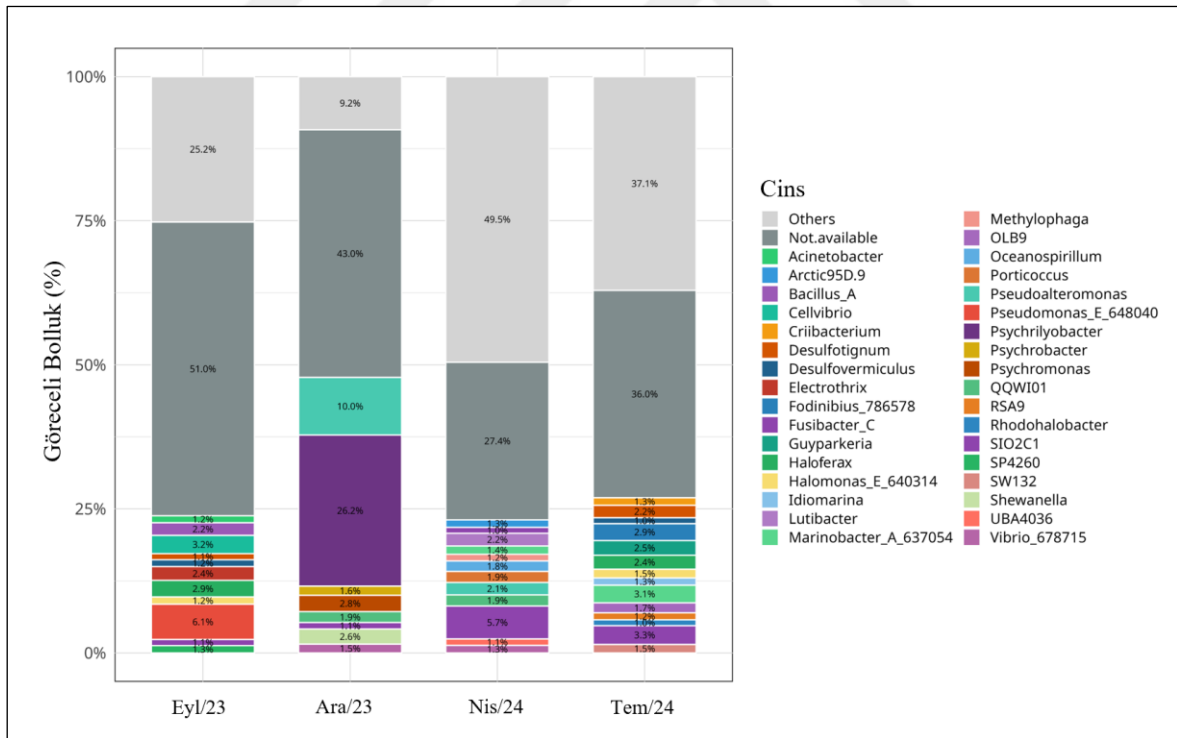


Şekil 46. 16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun familya seviyesinde dağılımı.

Familya düzeyinde Eyl/23'te en yüksek oranda bulunan familya Enterobacteriaceae olup, toplam popülasyonun %29,6'sını oluşturmuştur. Bu oran, bakteriyel topluluğun bu dönemde ekosistemde baskın olduğunu göstermektedir. Pseudomonadaceae %6,7 oranıyla ikinci sırada yer almıştır. Bunun ardından Rhodobacteraceae (%5,0), Cellvibrionaceae (%3,2) ve Alteromonadaceae (%3,0) gelmiştir. Ara/23'te Fusobacteriaceae %26,2 oranıyla en baskın familya olarak tespit edilmiştir. Bu oran, Ara/23 örneğinde bakteriyel topluluğun

hâkim olduğunu göstermektedir. Alteromonadaceae %10,1 oranında ikinci sırada tespit edilmiştir. Bunun ardından Arcobacteraceae (%9,4), Psychoromonadaceae (%2,8) ve Shewanellaceae (%2,6) gelmiştir. Nis/24'te Flavobacteriaceae %7,8 oranında tespit edilerek en baskın familya olmuştur. Coleofasciculaceae %5,7 oranında bulunarak ikinci sırada yer almıştır. Bunun ardından Saprospiraceae (%4,7), Rhodobacteraceae (%3,9) ve Halorculaceae (%1,3) gibi familyalar belirlenmiştir. Tem/24'te Saprospiraceae %8,3 oranında en baskın familya olarak belirlenmiştir. Rhodobacteraceae %6,4 oranında ikinci sırayı almıştır. Halorculaceae %4,0 oranında yer alarak arke topluluğunun önemli bir bileşeni olmuştur. Bunun dışında Coleofasciculaceae (%3,3), Vibrionaceae (%2,6) ve Halothiobacillaceae (%2,5) bakteriyel familyaları ve Haloferacaceae (%1,4) arke familyaları da tespit edilmiştir (Şekil 46).

16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı Şekil 47'de sunulmuştur.

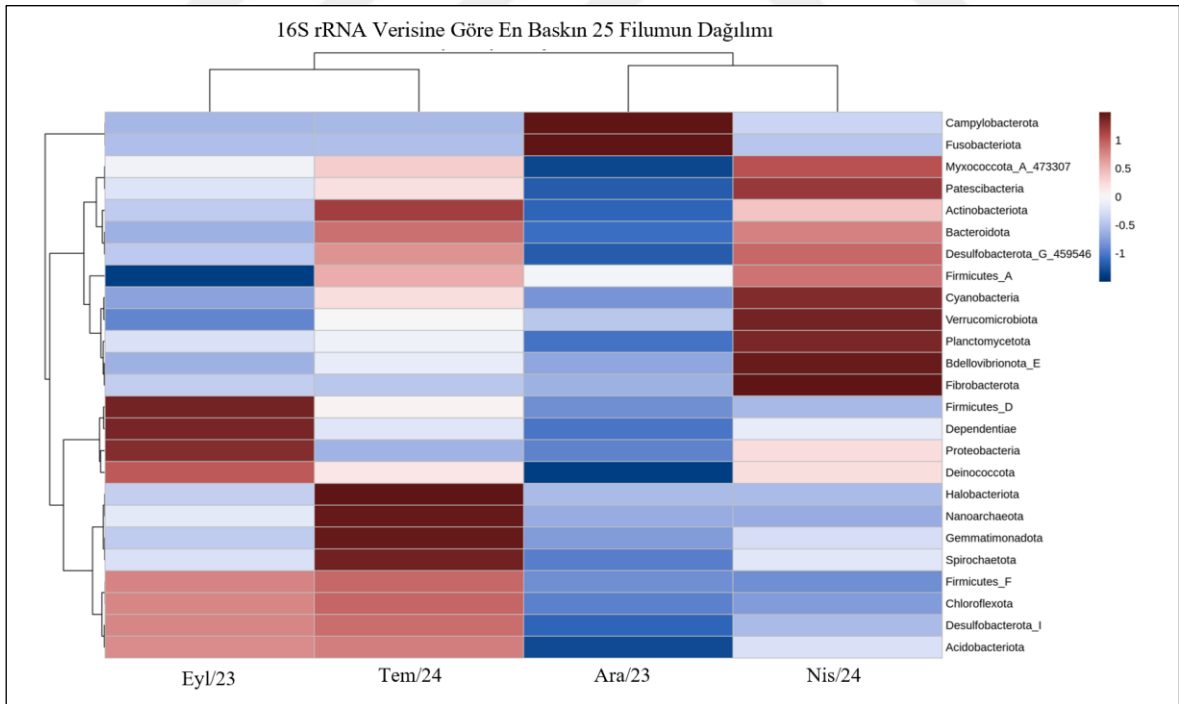


Şekil 47. 16S okumalarındaki bakteri ve arke popülasyonunun cins seviyesinde dağılımı.

Eyl/23'te en yaygın bulunan bakteri cinslerinin *Pseudomonas*, *Halanaerobium*, *Cellvibrio* ve *Electrothrix*, arke cinslerinin ise *Haloferax* olduğu belirlenmiştir. Ara/23'te

%26,2'lik oranla baskın bakteri cinsinin *Psycrilyobacter* olduğu tespit edilmiş ve ikinci baskın cinsin ise *Pseudoalteromonas* olduğu bulunmuştur. Nis/24'te baskın olan bakteri *Bacillus* olarak belirlenmiştir. Bu sırayı *Lutibacter*, *Pseudoalteromonas*, *Porticoccus* ve *Marinobacter* takip etmiştir. Son arazi dönemi olan Tem/24'te ise *Fusibacter* cinsi bakteriler baskın bulunurken diğer baskın olan cinsler *Marinobacter*, *Fodinibius* ve *Guyparkeria* olarak belirlenmiştir. Ek olarak %2,4 oranla Temmuz arazi döneminde arke cinsi olan *Haloferax* varlığı da tespit edilmiştir. Nanoarchaeota arke cinsleri de düşük bollukta saptanmıştır (Şekil 47).

Filum düzeyinde 16S metagenomik analiz ısı haritası görselleri Şekil 48'de sunulmuştur. Örnekler farklı zaman dilimlerinde toplanmış olup, filum düzeyinde mikrobiyal toplulukların zamansal değişimini analiz etmek amacıyla hiyerarşik kümeleme yöntemiyle görselleştirilmiştir. Isı haritasındaki renk kodlaması, belirli filumların görece bolluğunu temsil etmekte olup, kırmızı tonlar yüksek bolluğu, mavi tonlar ise düşük bolluğu veya yokluğu ifade etmektedir.



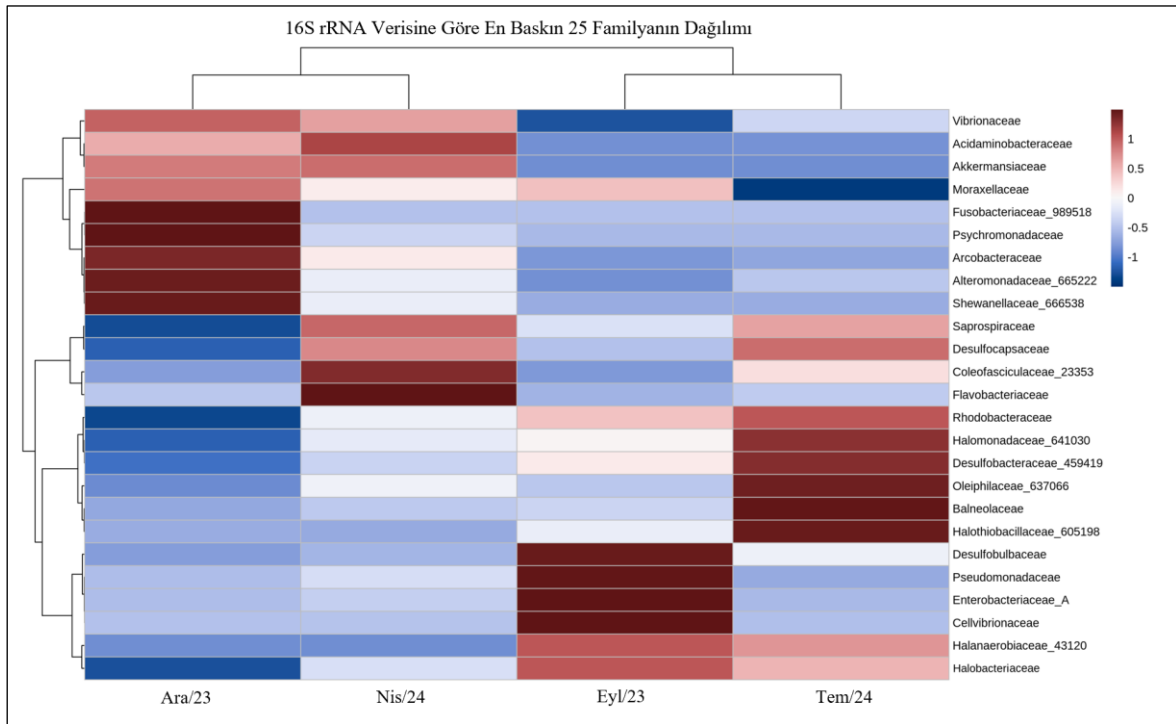
Şekil 48. 16S metagenomik analiz ısı haritası görseli (Filum).

Çevresel mikrobiyal toplulukların taksonomik bileşimini analiz etmek amacıyla 16S rRNA dizileme verilerine dayalı olarak en bol bulunan ilk 25 filum (Şekil 49), familia (Şekil 50) ve cins (Şekil 51) örnekler arasındaki dağılımı ısı haritası ile görselleştirilmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidota ve Cyanobacteria gibi yaygın filumların tüm örneklerde değişen oranlarda bulunduğu gözlemlenmiştir. Halofilik mikroorganizmalar açısından kritik öneme sahip olan Halobacteriota ve Nanoarchaeota filumları, özellikle Tem/24'te yüksek bolluk göstermektedir. Halobacteriota, aşırı tuzlu ortamlarla ilişkilendirilen ekstrem halofilik arkeleri içermekte olup, hipersalin koşullara uyum sağlamış mikroorganizmaların çevresel değişimlere karşı gösterdiği yanıtları anlamak açısından önemli bir belirteçtir (Ünal ve Küçükyıldırım, 2020). Nanoarchaeota ise ekstrem ortamlarda simbiyotik ilişkiler içinde bulunan ve adaptif özellikler sergileyen arke türlerini içermesi bakımından bakteriyel türler ile de simbiyotik ilişki içerisinde olduğunu göstermektedir (Küçükyıldırım, 2021). Veriler zamansal olarak değerlendirildiğinde, Eyl/23, Ara/23 ve Nis/24'te Halobacteriota ve Nanoarchaeota filumlarının görece daha düşük bolluk gösterdiği, ancak Tem/24 örneklerinde bu filumların artış eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum, çevresel tuzluluk seviyelerinin ve mevsimsel değişimlerin halofilik mikrobiyal topluluklar üzerindeki etkisini ortaya koymaktadır. Özellikle Eyl/23 ve Tem/24'te Firmicutes ve Halobacteriota filumlarının yüksek seviyelerde bulunması, artan sıcaklık ve buharlaşma nedeniyle tuzluluk oranlarının yükselmesine bağlı olarak halofilik mikroorganizmaların daha avantajlı hale gelmesiyle açıklanabilmektedir.

Desulfobacterota, özellikle Ara/23 döneminde belirgin şekilde azalmış, ancak diğer arazi dönemlerinde daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Sülfat indirgeme kapasitesine sahip bu mikroorganizmaların değişkenliği, muhtemelen ortamın redoks potansiyeli ve sülfat konsantrasyonu ile ilişkili olabilmektedir (Doğan ve Kocabaş, 2021). Sediment analizleri sonucunda Ara/23 hariç diğer tüm arazi örneklerinde kükürt elementinin yüksek seviyede çıkması bu durumu destekler niteliktedir. Benzer şekilde, özellikle halofilik mikroorganizmaların belirli dönemlerde yüksek bolluk göstermesi, çalışma alanındaki tuzluluk seviyelerinin mevsimsel veya çevresel değişimlerden etkilendiğini düşündürmektedir (Küçükyıldırım, 2021). Halobacteriota filumunun baskın olduğu dönemler, yüksek tuzluluk koşulları ile uyumlu olup, bu arke grubunun ekstrem halofilik özellikler sergilediğini desteklemektedir. Benzer şekilde, Firmicutes filumunun belirli türleri

de halotolerant özelliklere sahip olup, bu mikroorganizmaların hipersalin ortamlara adapte olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Familiya düzeyinde yapılan analiz sonuçlarına göre (Şekil 49), Halobacteriaceae, Halanaerobiaceae, Halothiobacillaceae ve Desulfobacteraceae gibi hipersalin ortamlarla ilişkili olduğu bilinen mikrobiyal familyaların belirli dönemlerde yüksek oranlarda bulunduğunu göstermektedir.



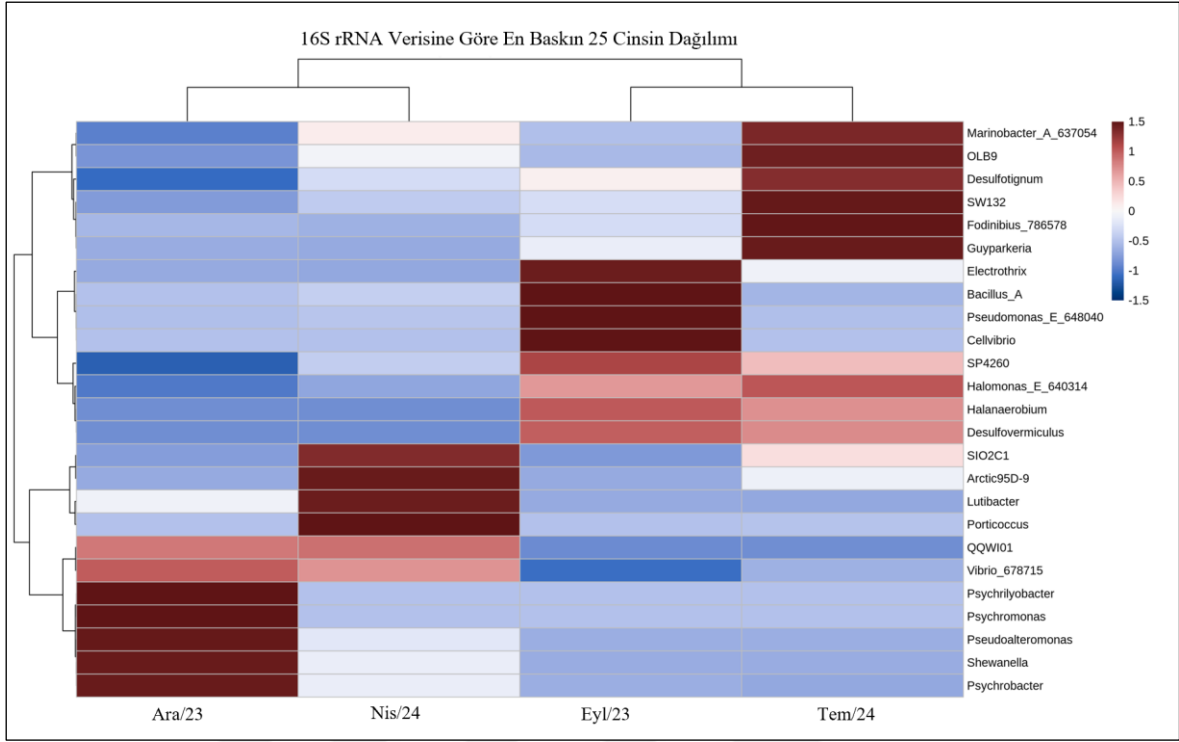
Şekil 49. 16S metagenomik analiz ısı haritası görseli (Familiya).

Halobacteriaceae, aşırı tuzlu ortamlara adapte olmuş ekstrem halofilik arkeleri içermekte olup, özellikle Eyl/23 ve Tem/24'te yüksek bolluk göstermiştir. Halanaerobiaceae, anaerobik metabolizmaya sahip olan ve hipersalin sularda yaygın olarak bulunan bir bakteri familyası olup, özellikle Ara/23 ve Nis/24'te diğer örneklem dönemlerine göre nispeten daha düşük bulunmuştur. Bu bulgu, bu familyaya ait türlerin tuzluluk dışında anaerobik koşullara da bağımlı olduğunu düşündürmektedir (Doğan, 2022). Bununla birlikte, Halothiobacillaceae, kemosentetik özelliklere sahip olup kükürt oksidasyonu yoluyla enerji üretmektedir. Bu familyanın belirli örneklerde yüksek oranlarda bulunması, sülfür içeren bileşiklerin varlığını ve mikrobiyal kemosentetik aktivitenin hipersalin ortamlarda rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır (Doğan, 2022). Ek olarak,

Vibrionaceae ve Pseudomonadaceae gibi halotolerant bakteriler belirli zaman noktalarında yüksek oranlarda tespit edilmiştir. Bu familyalar, özellikle deniz ortamlarında ve orta seviyede tuzluluk içeren ekosistemlerde yaygın olarak bulunan opportunistik mikroorganizmaları içermektedir. Pseudomonadaceae familyasının özellikle Eyl/23'te artış göstermesi, bu bakterilerin ılıman koşullara ve değişken tuzluluk seviyelerine karşı yüksek adaptasyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir (Abdelfattah vd., 2017).

Proteobacteria filumuna ait olan Moraxellaceae familyası, özellikle halotolerant özellik gösteren türler içermesine rağmen, aşırı hipersalin koşullara adapte olmuş ekstrem halofilik mikroorganizmalar arasında baskın bir yer edinmemektedir. Isı haritası verilerine göre, bu familya Eyl/23 ve Ara/23'te yüksek bolluk gösterirken, Nis/24'te orta seviyeye düşmüş ve Tem/24'te baskın familyalar arasında yer almamıştır. Bu değişim, tuzluluk, sıcaklık ve besin varlığı gibi çevresel faktörlerin bu mikroorganizmaların ekolojik dinamikleri üzerinde etkili olduğunu göstermektedir (Taberlet vd., 2012). Temmuz ayında hipersalin koşulların artmasıyla birlikte aşırı halofilik arkelerin baskın hale geldiği ve Moraxellaceae familyasının rekabet gücünü kaybettiği öngörülmektedir. Bu sonuçlar, Moraxellaceae familyasının orta seviyede tuzluluk toleransına sahip olduğunu, ancak ekstrem halofilik mikroorganizmalarla rekabet edemediğini ortaya koymaktadır (Bassler-Veit vd., 2013).

Analiz verilere göre, *Marinobacter*, *Halomonas*, *Halanaerobium*, *Shewanella* ve *Vibrio* gibi halofilik veya halotolerant mikroorganizmalar belirli dönemlerde baskın hale gelmiştir. *Marinobacter* ve *Halomonas*, özellikle Tem/24'te yüksek bolluk göstermiştir. *Halomonas*, orta ile yüksek tuzluluk seviyelerine adapte olmuş bir bakteri cinsi olup, elde edilen ısı haritası verileri ile korelasyon halinde bulunmuştur. Benzer şekilde, *Halanaerobium*, anaerobik koşullara adapte olmuş halofilik bir bakteri olup, Eyl/23 ve Tem/24'te daha yüksek oranlarda tespit edilmiştir. *Vibrio* cinsi, özellikle Eyl/23'te daha düşük seviyelerde bulunmuş, bu durum aşırı tuzluluk artışıyla rekabet gücünün azalmış olabileceğini düşündürmektedir. *Shewanella* ise Ara/23'te yüksek bolluk göstermiştir (Şekil 50).



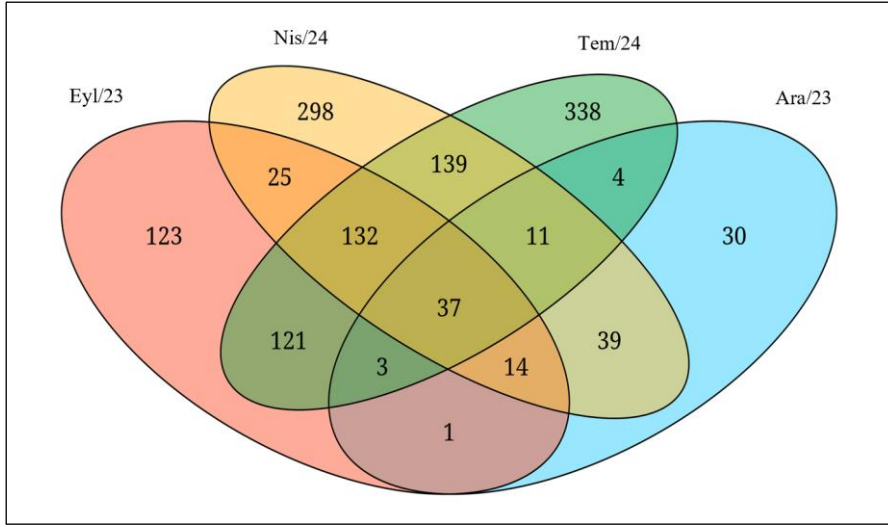
Şekil 50. 16S metagenomik analiz ısı haritası görseli (Cins).

Halofilik ve halotolerant türlerin belirli zaman aralıklarında baskın hale gelmesi, bu mikroorganizmaların ekstrem koşullara yüksek derecede adapte olduğunu ve ekosistem dinamiklerinde kritik roller üstlendiğini desteklemektedir (Leoni vd., 2020). Paul vd. (2016), Hindistan'daki hipersalin bir soda gölünde gerçekleştirdikleri çalışmada, mikrobiyal toplulukların baskın üyelerinin Proteobacteria ve Actinobacteria olduğunu rapor etmiştir. Vavourakis vd. (2018), Rusya'nın Altay bölgesinde yer alan dört soda gölünde, tuzluluk seviyesinin 170 g/L ile 400 g/L arasında değiştiği ortamlarda mikrobiyal çeşitliliğin tuzlulukla korelasyonunu araştırmışlardır. Çalışmada, 250 g/L'nin altındaki tuzluluk seviyelerinde Bacteroidetes, Alphaproteobacteria ve Gammaproteobacteria üyelerinin baskın olduğu, tuzluluk arttıkça ise Euryarchaeota üyelerinin daha yaygın hale geldiği belirlenmiştir. Ayrıca, yüksek bolluk gösteren taksonlar arasında *Halorubrum*, *Natrinema*, *Rhodobacter*, *Rhodobaca* ve kemolitotrofik kükürt oksitleyici bakterilerden *Thioalkalivibrio* cinsleri tespit edilmiştir. En yüksek bolluğa sahip arke takımı Halobacteriales olarak bulunmuştur. Zorz vd. (2019), Kanada'da bulunan dört alkali soda gölünde yaptıkları araştırmada, bu göllerin Asya'daki alkali soda gölleriyle benzer prokaryotik çeşitlilik gösterdiğini ortaya koymuştur.

Gawas ve Kerkar (2023) çalışmalarında, farklı tuz sahalarındaki bakteriyel topluluk yapısını detaylı olarak incelemiş ve filum, sınıf, takım, aile ve cins düzeyindeki dağılımı değerlendirmişlerdir. Genel analizlerde, Pseudomonadota (%33), Bacillota (%22) ve Candidatus Patescibacteria (%9,4) en baskın filumlar olarak belirlenmiştir. Sınıf seviyesinde, Gammaproteobacteria (%30,7) ve Bacilli (%20,7) en yüksek oranda gözlemlenmiştir. Takım seviyesinde ise Pseudomonadales (%26,8) ve Bacillales (%19,4) en bol bulunan gruplar olarak tespit edilmiştir. Familya seviyesinde, Moraxellaceae (%26,5) ve Planococcaceae (%18,9) baskın olup, en yaygın cinsler arasında *Psychrobacter* (%26), *Halanaerobium* (%3,4) ve *Antarcticibacterium* (%1,5) öne çıkmıştır. Curca bölgesinden alınan sediment örneğinde, 50 filum ve 143 cins tespit edilmiş olup, Pseudomonadota (%20,8), Desulfobacterota (%11,2) ve Bacteroidota (%9,8) baskın filumlar olarak belirlenmiştir. Sınıf düzeyinde, Gammaproteobacteria (%17) ve Bacteroidia (%8,4) en bol bulunan gruplar olup, takım seviyesinde Desulfobulbales (%5) ve Desulfobacterales (%2,8) ön plana çıkmıştır. Familya düzeyinde, Desulfobulbaceae (%3,9) en yaygın aile olarak belirlenmiş, cins düzeyinde ise *Sulfurivermis* (%1,3) ve *Desulfatiglans* (%1,1) öne çıkmıştır. Nerul bölgesinden alınan sediment örneğinde, 53 filum ve 250 cins tespit edilmiştir. En baskın filumlar Pseudomonadota (%14,7), Planctomycetota (%13) ve Chloroflexota (%11,7) olarak belirlenmiştir. Sınıf seviyesinde, Anaerolineae (%10,7) ve Gammaproteobacteria (%9) en yaygın gruplar olup, takım seviyesinde Pirellulales (%6,5) ve Desulfobacterales (%3,8) en bol bulunan bakteriyel gruplar olarak tespit edilmiştir. Pirellulaceae (%6,5) en yaygın familya olup, en baskın cins *Rhodopirellula* (%1,2) olarak belirlenmiştir.

Bu bulgular, tuz sahalarında bakteriyel çeşitliliğin habitat koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ve her bir örnekleme alanında belirgin farklılıklar bulunduğunu ortaya koymaktadır.

Venn diyagramında, farklı dönemlerde gözlemlenen takson çeşitliliği ve ortak taksonların dağılımı incelenmiş, elde edilen veriler 16S rRNA (V3-V4) bölgesi okumalarına dayanarak analiz edilmiştir. Örneklerde gözlemlenen ASV türlerine atanan taksonlar, her bir dönem için ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Venn diyagramı, ASV'lerin örnekler arasında ortak olmasını veya her bir örnek için benzersiz olup olmadığını ortaya koymaktadır (Şekil 51).



Şekil 51. 16S örnekleri arasında ortak veya benzersiz ASV sayısını gösteren Venn diyagramı.

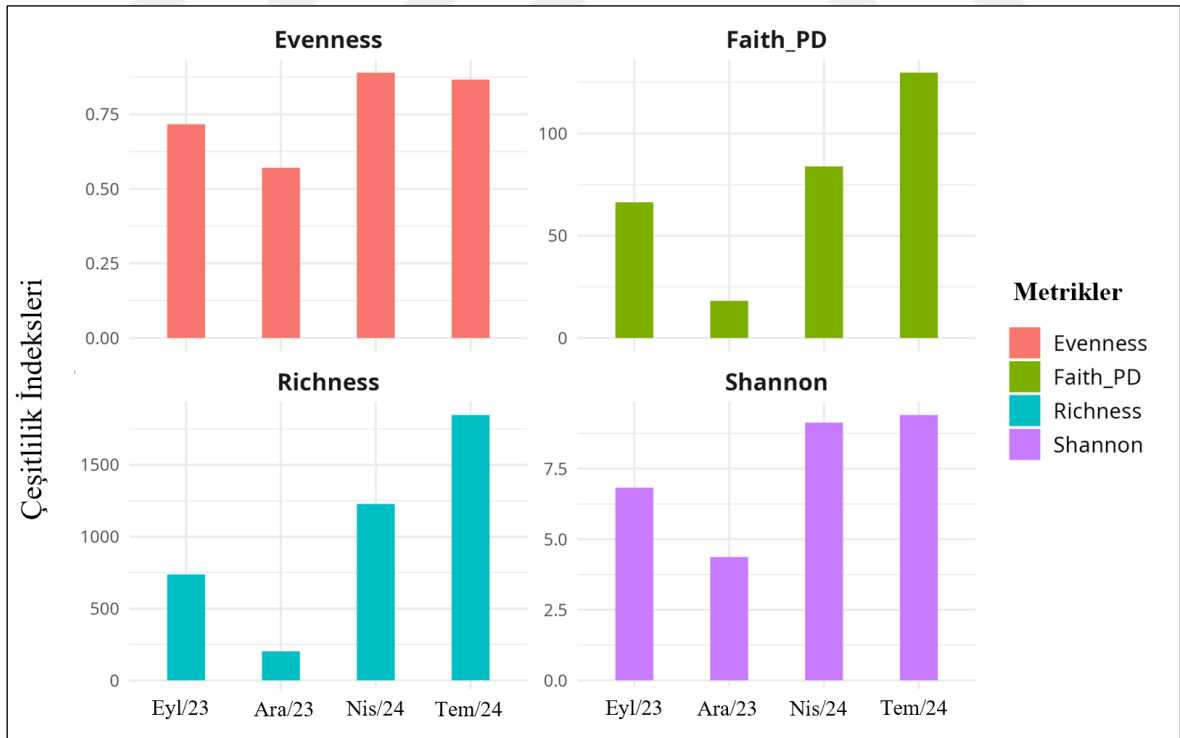
Her dönemde yalnızca o periyoda özgü takson sayıları dikkate alındığında, Eyl/23'te 123, Ara/23'te 30, Nis/24'te 298 ve Tem/24'te 338 taksonun yalnızca ilgili dönemde gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu durum, özellikle Nis/24 ve Tem/24'te takson çeşitliliğinde önemli bir artış yaşandığını göstermektedir. Buna karşılık, Eyl/23 ve Ara/23'te daha düşük seviyede yeni takson tespit edilmiştir. Dönemler arasındaki takson paylaşımı incelendiğinde, en fazla ortak takson Nis/24 ve Tem/24 arasında olup 139 ASV'nin bu iki dönemde de gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu durum, bu iki dönemin benzer ekolojik koşullara sahip olabileceğini veya benzer çevresel baskılar altında şekillendiğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Eyl/23 ve Nis/24 arasında 25 ortak ASV, Eyl/23 ve Tem/24 arasında ise 121 ortak ASV belirlenmiştir. Ara/23 ile diğer dönemler arasındaki ortak ASV sayıları daha düşük olup, Ara/23 ve Tem/24 arasında yalnızca 4 ortak ASV bulunmuştur. Bu durum, Ara/23'te takson çeşitliliği açısından diğer periyotlardan daha izole bir yapıya sahip olduğunu ve belirli ASV'lerin yalnızca bu dönemde gözlemlendiğini göstermektedir (Haferburg vd., 2019).

Üç dönemde ortak bulunan ASV'ler incelendiğinde, Eyl/23, Nis/24 ve Tem/24'te 132 ASV'nin ortak olduğu, Nis/24, Tem/24 ve Ara/24'te ise 11 ASV'nin kesişim gösterdiği belirlenmiştir. En dikkat çekici bulgu ise, tüm dört dönemde ortak olarak 37 ASV'nin gözlemlenmiş olmasıdır.

Bu sonuç, çalışmada incelenen ASV'lerin büyük çoğunluğunun belirli dönemlere özgü olduğunu ve uzun vadeli olarak ekosistemde sürekli varlığını sürdüren mikroorganizma türlerinin oldukça sınırlı olduğunu ortaya koymaktadır (Haferburg vd., 2019).

Elde edilen bulgular, incelenen dönemler boyunca mikrobiyal takson çeşitliliğinde önemli dalgalanmalar yaşandığını ve belirli periyotlarda çeşitlilik artışının belirgin hale geldiğini göstermektedir. Özellikle Nis/24 ve Tem/24'te belirgin bir çeşitlilik artışı gözlemlenmiştir. Buna karşın, Ara/23'te ASV çeşitliliği daha düşük seviyede olup, diğer dönemlerle ortaklık gösteren ASV sayısı oldukça sınırlıdır.

Alfa çeşitlilik analiz sonuçları incelendiğinde, Eyl/23'te orta seviyede (750) bir çeşitlilik gözlenirken, Ara/23'te belirgin bir düşüş yaşandığı görülmektedir. Bu azalma, muhtemelen çevresel faktörlerin veya mevsimsel değişimlerin mikrobiyal çeşitlilik üzerindeki etkisini göstermektedir. Nis/24 ve Tem/24'te ise mikrobiyal zenginliğin önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir; özellikle Tem/24'te en yüksek zenginlik değeri kaydedilmiştir (Şekil 52).



Şekil 52. 16S alfa çeşitlilik analizi.

Faith'in Filogenetik Çeşitliliği (Faith_PD) metriği, yalnızca tür sayısını değil, aynı zamanda filogenetik uzaklıkları da dikkate alarak topluluğun evrimsel çeşitliliğini değerlendirmektedir. Bulgular, Eyl/23'te orta seviyede bir filogenetik çeşitlilik gözlemlendiğini, Ara/23'te bu değerin önemli ölçüde azaldığını, ancak Nis/24 ve Tem/24'te belirgin bir artış yaşandığını göstermektedir. Özellikle Tem/24'te en yüksek filogenetik çeşitlilik kaydedilmiş olup, bu dönemde filogenetik olarak daha uzak ve çeşitli taksonların ekosistemde bulunduğu görülmektedir. Eyl/23'te Shannoon indeksi orta seviyede olup, Ara/23'te belirgin bir düşüş göstermektedir. Bu durum, Ara/23'te hem düşük tür zenginliği hem de belirli taksonların baskın hale gelmesiyle açıklanabilmektedir. Nis/24 ve Tem/24'te ise Shannon indeksinin arttığı ve mikrobiyal toplulukların daha dengeli ve çeşitli hale geldiği belirlenmiştir. Özellikle Tem/24, en yüksek Shannon indeksi değerine sahip olup, mikrobiyal çeşitliliğin en dengeli olduğu dönemi temsil etmektedir. Evenness metriği sonuçları, Eyl/23'te orta seviyede bir eşitlik gözlemlenirken, Ara/23'te önemli bir düşüş yaşandığını göstermektedir. Bu durum, Ara/23'te belirli taksonların baskın hale gelerek topluluktaki dengenin bozulduğunu düşündürmektedir. Nis/24 ve Tem/24'te ise eşitlik değerinin yüksek olduğu görülmektedir; bu da toplulukta taksonların daha dengeli dağıldığını ve belirli türlerin aşırı baskın hale gelmediğini göstermektedir.

Bu bulgular, mevsimsel değişimlerin, çevresel faktörlerin ve habitat dinamiklerinin mikrobiyal topluluk çeşitliliği üzerinde doğrudan etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle Nis/24 ve Tem/24 dönemlerinde gözlemlenen çeşitlilik artışının nedenleri daha ayrıntılı şekilde incelenmeli; bu artışların, çevresel değişkenler ile mikrobiyal adaptasyon mekanizmaları arasındaki ilişkiler bağlamında değerlendirilmesi gerekmektedir. Öte yandan, Ara/23'te kaydedilen düşük çeşitlilik ve düşük eşitlik değerleri, belirli ekolojik baskılar veya mevsimsel faktörler nedeniyle mikrobiyal topluluk yapısında bir daralmayı ve dengenin bozulduğunu düşündürmektedir (Akpolat, 2022).

Elde edilen veriler, mikrobiyal çeşitlilik ve filogenetik yapı açısından dönemler arasında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır. Ara/23'te hem zenginlik hem de filogenetik çeşitlilik düşük olup, topluluk dengesiz bir yapı sergilemektedir. Buna karşılık, Nis/24 ve özellikle Tem/24'te takson çeşitliliği ve filogenetik çeşitlilik en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

Bu çalışmada, mikrobiyal bolluk dinamikleri ile çevresel parametreler arasındaki ilişki incelenmiş ve özellikle sıcaklık değişimlerinin mikrobiyal topluluk yapısı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Temmuz ayında ortalama sıcaklık 29°C olarak ölçülürken, Aralık ayında bu değer 11,9°C'ye kadar düşmüştür. Mevsimsel sıcaklık farklılıklarının mikrobiyal çeşitlilik ve bolluk üzerindeki belirleyici rolü, elde edilen veriler doğrultusunda açıkça gözlemlenmiştir. Analizler, örneklerde en baskın arke grubunun *Halobacteria* olduğunu ve bu grubun nispi frekansının özellikle Nis/24 ve Tem/24'te diğer dönemlere kıyasla belirgin şekilde arttığını göstermektedir. Bu durum, yüksek sıcaklıkların halofilik arke popülasyonlarını destekleyici bir faktör olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle *Haloferax*, tüm örnekler arasında en yaygın arke cinslerinden biri olarak belirlenmiş olup, Nis/24 ve Tem/24'te anlamlı bir artış sergilemiştir. Gomariz vd. (2015), çevresel faktörlerin özellikle sıcaklık ve fotoperiyotun arke popülasyonlarının yapısı üzerindeki etkisi incelemiştir. Araştırmada, farklı çevresel koşullara sahip alanlardan toplanan örnekler üzerinden yapılan analizlerle, sıcaklık ve ışık süresi gibi faktörlerin arke topluluklarının çeşitliliği ve bileşimi üzerinde belirleyici olduğu ortaya konmuştur. Çalışma sonuçları, belirli sıcaklık ve fotoperiyot koşullarında bazı arke gruplarının baskın hale geldiğini göstermiştir. Bu bulgular, arke popülasyonlarının çevresel değişkenlere duyarlı olduğunu ve bu değişkenlerin mikrobiyal ekosistemlerin şekillenmesinde önemli bir rol oynadığını ortaya koyarak, söz konusu çevresel faktörlerle arke toplulukları arasında güçlü korelasyonlar olduğunu ileri süren önceki araştırmaları desteklemektedir.

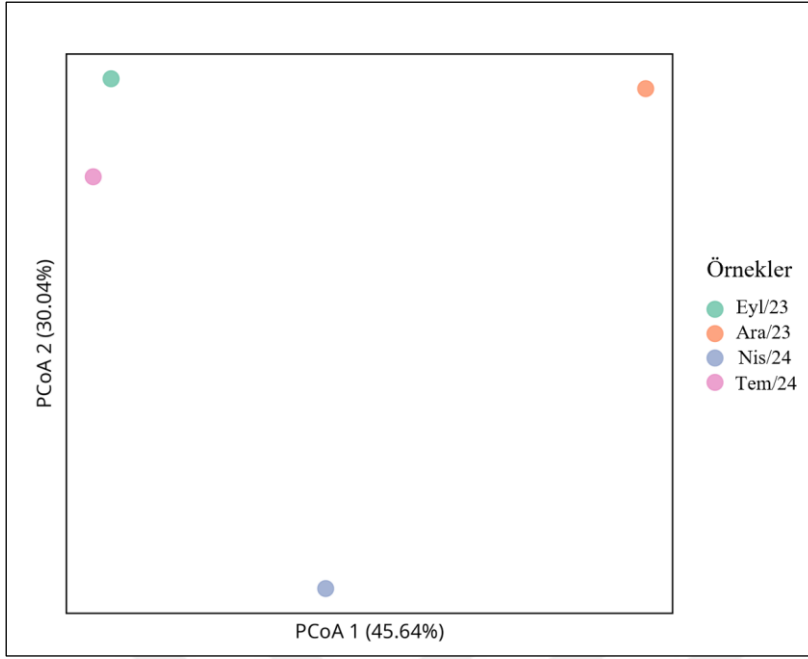
Mevsimsel yağış miktarındaki değişimler de mikrobiyal topluluk yapısını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Kasım ve Nisan aylarında yağış miktarının artmasıyla birlikte, Tuz Gölü'ndeki tuzluluk oranının azaldığı rapor edilmiştir (Kırkağaç vd., 2017). Bu değişim, özellikle bahar aylarında sıcaklık artışı ile birlikte ele alındığında, mikrobiyal toplulukların ekolojik yapısı üzerindeki etkileri daha iyi anlaşılabilir. Çalışmada sunulan meteorolojik veriler, sıcaklık ve yağıştaki dönemsel değişimlerin, mikrobiyal taksonomik bileşim ve bolluk üzerinde belirleyici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Sıcaklık farklılıklarının doğrudan etkisi, prokaryotik mikrobiyal zenginlik ve çeşitlilik açısından Ara/23'te belirgin bir düşüş olarak gözlemlenmiştir (Şekil 49). Düşük sıcaklık koşullarında, özellikle arke topluluklarının zenginliği azalmış ve bu dönemde arke filumlarının büyük ölçüde Euryarchaeota'dan oluştuğu tespit edilmiştir. Öte yandan,

bakteriyel topluluk yapısında Proteobacteria'nın baskın hale geldiği belirlenmiştir. Proteobacteria, hem doğal ortamlarda hem de kirlilik içeren bölgelerde yaygın olarak bulunan geniş bir bakteri grubudur (Doğan, 2022). Bu şube içerisinde yer alan *Escherichia*, *Klebsiella* ve *Enterobacter* gibi türler, insan ve hayvan bağırsak florasında doğal olarak bulunur ve bu nedenle fekal kökenli kirlenmenin biyolojik göstergeleri olarak kabul edilmektedir (Küçükyıldırım Çelik, 2021). Fekal kirlilikle birlikte ortama taşınan organik madde ve besin elementleri, Proteobacteria üyelerinin çoğalmasını destekleyerek bu grubun topluluk içinde baskın hale gelmesine yol açmaktadır (Sogin vd., 2006). Dolayısıyla, Proteobacteria'nın yüksek oranlarda tespit edilmesi, fekal kirlenmeye işaret eden önemli bir mikrobiyolojik bulgu olarak değerlendirilmektedir. Bu sonuçlar, düşük sıcaklık koşullarında bakteri topluluklarının daha dirençli olabileceğini ve belirli filumların çevresel baskılara daha iyi adapte olduğunu düşündürmektedir. Genel olarak, bu bulgular sıcaklık değişimlerinin ve yağış rejimindeki farklılıkların mikrobiyal çeşitlilik üzerindeki kritik rolünü vurgulamaktadır. Özellikle sıcaklığın yüksek olduğu Nis/24 ve Tem/24'te halofilik arke popülasyonlarının artış göstermesi, bu mikroorganizmaların sıcaklık toleransı ve çevresel adaptasyon mekanizmalarının önemini ortaya koymaktadır.

Mutlu (2006), Tuz Gölü'nde (Konya) gerçekleştirdiği ve Mayıs, Temmuz ile Ekim aylarını kapsayan mevsimsel bir araştırmada, denatüre gradyan jel elektroforezi kullanılarak mikrobiyal çeşitlilik incelemiştir. Çalışma bulgularına göre, arke çeşitliliği Temmuz ayında en yüksek seviyeye ulaşırken, bakteriyel çeşitliliğin mevsimsel değişimlere karşı daha stabil bir yapı sergilediği belirlenmiştir. Bu durum, arke popülasyonlarının çevresel faktörlere, özellikle sıcaklık değişimlerine daha duyarlı olduğunu ve yüksek sıcaklıklarda daha büyük bir çeşitlilik sergilediğini göstermektedir. Bu kapsamda çalışma verileri, bulgularımızla örtüşmektedir.

Sunulan PCoA grafiği, Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24'te örneklerinin, mikrobiyal bileşim açısından belirgin bir şekilde ayrıştığını göstermektedir. PCoA 1 (45,64%) ve PCoA 2 (30,04%) eksenleri birlikte toplam varyansın %75,68'ini açıklamakta olup, bu iki eksen mikrobiyal kompozisyondaki temel farklılıkları temsil etmektedir (Şekil 53).



Şekil 53. 16S örneklerinde gözlenen taksonlar arasındaki Bray-Curtis mesafelerinin PCoA çizimi.

Diyagramda, her bir örneğin farklı bir konumda yer alması, dönemler arasında mikrobiyal topluluk yapısında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır. Örneklerin birbirinden uzak konumlanması, mikrobiyal bileşim açısından yüksek derecede ayrışma olduğunu gösterirken, daha yakın konumlanan noktalar daha benzer mikrobiyal profillere işaret etmektedir. Özellikle Ara/23 örneği, diğer tüm dönemlerden belirgin şekilde farklılaşmış olup, bu dönemde mikrobiyal topluluk yapısında önemli bir değişim yaşandığını göstermektedir. Eyl/23 ve Tem/24'te ise birbirine nispeten daha yakın konumlanmış olup, bu iki dönemde mikrobiyal topluluk bileşiminin daha benzer olduğu görülmektedir. Buna karşın, Nis/24 örneği, PCoA 1 ekseninde diğer dönemlerden daha uzak bir konumda yer almakta ve farklı bir mikrobiyal kompozisyona sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, mevsimsel ve çevresel değişimlerin mikrobiyal topluluk yapılarını doğrudan etkilediğini ve her dönemde baskın mikrobiyal grupların değiştiğini göstermektedir.

Genel olarak, PCoA analizinden elde edilen bulgular, mikrobiyal toplulukların mevsimsel dinamikler doğrultusunda belirgin bir şekilde farklılaştığını ve özellikle sıcaklık, tuzluluk ve diğer çevresel parametrelerin bu değişimde etkili olduğunu göstermektedir.

Gibtan vd. (2017), çalışmalarında, Asya ve Avrupa deniz sularından aldıkları örneklerdeki halofil çeşitliliğini PCoA analizi kullanarak karşılaştırmış ve farklı kümelenmelerin oluştuğunu belirlemişlerdir. Çalışmada analiz edilen tüm tuz örnekleri ile Asya ve Avrupa deniz suları arasında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu metagenomik benzerliğin, bakteriyel topluluklarda Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Actinobacteria ve Betaproteobacteria sınıflarının benzer oranlarda bulunmasından kaynaklandığı öne sürülmüştür. Ayrıca, arke toplulukları açısından da benzer bir yapı gözlemlenmiş olup, *Halorubrum*, *Halobacterium*, *Haloarcula*, *Halonotius*, *Natromonas*, *Halarchaeum*, *Halomicrobium* ve *Salarchaeum* cinslerinin tüm tuz örneklerinde tespit edildiği rapor edilmiştir. Beta çeşitlilik endeksleri, iki coğrafi bölgenin yüksek mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, büyük olasılıkla bu ekosistemlerin, benzersiz mikrobiyal toplulukların evrimini destekleyen özel nişler sunmasından kaynaklanmaktadır (Smith vd., 2012).

Gawas ve Kerkar (2023) çalışmalarında, Goa'daki geleneksel tuz üretim alanlarında bulunan halofilik mikroorganizmaların çeşitliliğini ve ekolojik rollerini incelemişlerdir. Araştırmada, Agarwado, Curca ve Nerul olmak üzere üç farklı tuz sahası, benzersiz coğrafi konumları nedeniyle seçilmiş ve bu alanlardaki bakteriyel topluluk yapısı ile işlevleri 16S rRNA ampikon dizileme yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada, bu tuz sahalarının hipersalin ve alkali özellikte olduğu belirlenmiş, NO₂ (0,036–0,081 mg/L), NO₃ (0,0031–0,016 mg/L), sülfat (6,66–15,81 mg/L) ve sülfür (20,8–25,6 mg/L) konsantrasyonları ölçülmüştür. Nispi bolluk analizlerine göre, Pseudomonadota bakterileri Nerul (%13,9), Curca (%19,6) ve Agarwado (%32,4) tuz sahalarında baskın grup olarak belirlenmiştir. Tür düzeyinde ise, Nerul'da *Rhodopirellula* (%1,12), Curca'da *Sulfurivermis* (%1,28) ve Agarwado'da *Psychrobacter* (%25,5) en baskın bakteriyel cinsler olarak tespit edilmiştir. Alfa çeşitlilik analizi, Shannon çeşitlilik indeksi kullanılarak değerlendirilmiş olup, en yüksek çeşitlilik Nerul tuz sahasında (4.8) gözlemlenirken, bunu Curca (4.3) ve Agarwado (2.03) takip etmiştir. Beta çeşitlilik analizi, tuz sahaları arasındaki mikrobiyal kompozisyon farklılıklarını ortaya koymuş; en yüksek farklılık 0.73 ile Agarwado ile diğer iki saha (Nerul ve Curca) arasında, en düşük farklılık ise 0.48 ile Nerul ile Curca arasında bulunmuştur. Ayrıca, Agarwado'da 125, Nerul'de 119 ve Curca'da 28 benzersiz bakteri cinsi tespit edilmiştir.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde yapılan çalışmamızda, prokaryotik çeşitliliğin Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota, Cyanobacteria, Halobacteriota ve Nanoarchaeota gibi filumlara ait mikroorganizmalardan oluştuğu belirlenmiştir. Filum düzeyindeki analizler, özellikle Proteobacteria ve Firmicutes'in çoğu örnekleme döneminde baskın gruplar olduğunu, hipersalin koşullara uyum sağlamış Halobacteriota ve Nanoarchaeota gibi arke gruplarının ise özellikle sıcaklık ve tuzluluk seviyelerinin arttığı dönemlerde yüksek bolluk gösterdiğini ortaya koymuştur.

Cins düzeyinde yapılan analizlerde, *Marinobacter*, *Halomonas*, *Halanaerobium*, *Shewanella*, *Vibrio*, *Haloferax* ve *Natronomonas* gibi halofilik veya halotolerant mikroorganizmaların belirli dönemlerde baskın hale geldiği gözlemlenmiştir. *Marinobacter* ve *Halomonas*, özellikle Tem/24'te yüksek bolluk göstermiş olup, bu durum hipersalin koşulların bu mikroorganizmalar için uygun bir ekolojik niş oluşturduğunu düşündürmektedir. *Haloferax* ve *Natronomonas* gibi arke cinslerinin ise özellikle Nis/24 ve Tem/24'te belirgin artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu bulgular, hipersalin ortamlarda mevsimsel değişimlerin ve çevresel parametrelerin mikrobiyal çeşitlilik üzerindeki etkisini vurgulamakta olup, tuzluluk, sıcaklık ve besin varlığındaki dalgalanmaların mikrobiyal topluluk yapısını doğrudan şekillendirdiğini göstermektedir. Özellikle sıcaklık ve tuzluluğun arttığı dönemlerde halofilik arke popülasyonlarının yükseliş göstermesi, bu mikroorganizmaların çevresel adaptasyon mekanizmalarının önemini ortaya koymaktadır.

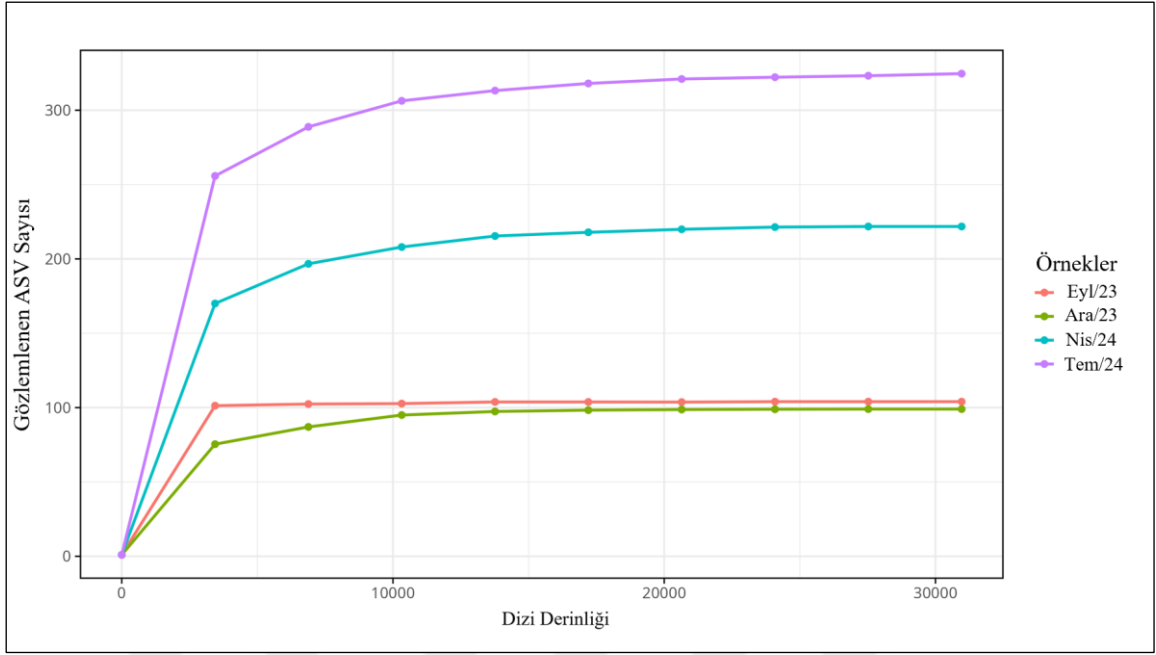
Bu çalışmada sediment örneklerinden izole edilen mikrobiyal topluluklar, hem kültüre dayalı yöntemle (16S rRNA gen dizileme) hem de kültürden bağımsız yüksek çözünürlüklü bir yaklaşım olan metabarkodlama analizi ile değerlendirilmiştir. Her iki yöntemin ortaya koyduğu sonuçlar, mikrobiyal çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılan tekniklerin kapsayıcılığı ve sınırlılıkları açısından dikkate değer farklılıklar göstermektedir. Kültürden bağımsız yaklaşımla, özellikle zor yetiştirilebilir veya ekstrem koşullara adapte olmuş mikroorganizmaların tespiti mümkün olmuştur. *Halanaerobium*, *Electrothrix*, *Lutibacter*, *Porticoccus*, *Fodinibius* ve *Guyparkeria* gibi cinsler yalnızca metabarkodlama yöntemiyle saptanmıştır. Ayrıca arkeal gruplardan *Haloferax* ve düşük bollukta Nanoarchaeota üyeleri de sadece bu yöntemle tespit edilmiştir. Bu durum, kültürden

bağımsız tekniklerin, özellikle çevresel örneklerde nadir, zor üretilen ya da henüz kültüre alınamamış taksonları tanımlamada üstün olduğunu göstermektedir.

Diğer yandan, kültüre dayalı yöntemle 16S rRNA gen dizilemesine tabi tutulan izolatlar arasında *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Halanaerobacter*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Shewanella*, *Vibrio*, *Stutzerimonas*, *Lysinibacillus*, *Exiguobacterium*, *Planococcus*, *Kocuria* gibi çevresel ve potansiyel olarak klinik öneme sahip türler belirlenmiştir. Bu türler, laboratuvar koşullarında üreme yeteneğine sahip olmaları nedeniyle kültür temelli yöntemlerle daha kolay tespit edilmiştir. Ayrıca, *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi bazı cinslerin her iki yöntemle de saptanmış olması, bu grupların hem çevrede yaygın bulunduğunu hem de kültürlenebilir olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak, kültüre dayalı yöntemde metabolik olarak aktif ancak kültürlenmesi zor olan bazı türlerin gözden kaçtığı; buna karşın metabarkodlama analizinde DNA temelli saptamaların canlılık ya da metabolik aktivite ayrımı yapmaksızın topluluğun genel görünümünü sunduğu unutulmamalıdır. , *Electrothrix* ve *Guyaparkeria* gibi elektrotrofik ya da kemosentetik özellik taşıyan taksonlar kültüre dayalı yöntemle izole edilememiştir.

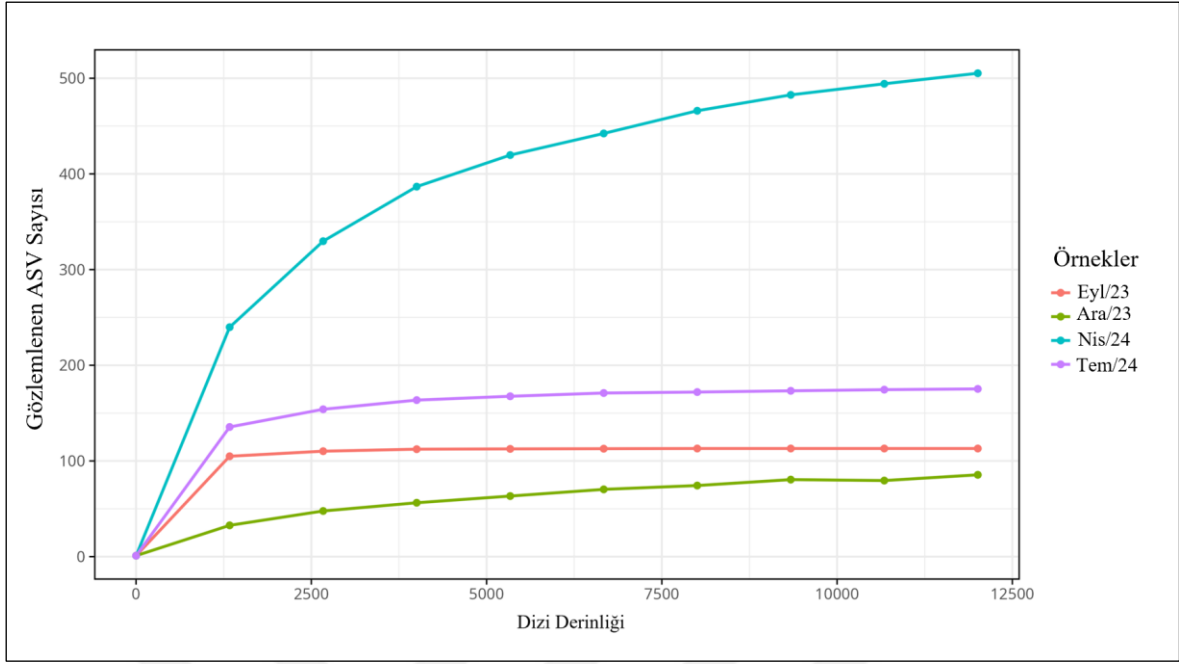
4.12.3. 18S Okumalarının Biyoinformatik Analiz Sonuçları

18S rRNA dizileme verilerinin biyoinformatik analizi, 16S rRNA okumalarında uygulanan iş akışı takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Analiz kapsamında, filogenetik ağaç oluşturulmuş, alfa ve beta çeşitlilik analizleri yapılmış ve taksonomik dağılım değerlendirilmiştir. Çeşitlilik analizlerinin güvenilirliğini değerlendirmek amacıyla oluşturulan alpha-rarefaction grafiği, her bir örneğin biyoinformatik analiz için yeterli dizi derinliğine sahip olduğunu göstermiştir. 18S-V4 bölgesine ait ASV dağılımı, dizi derinliği doğrultusunda incelendiğinde, Tem/24'te yaklaşık 310 farklı ASV ile en yüksek çeşitliliğin gözlemlendiği tespit edilmiştir (Şekil 54).



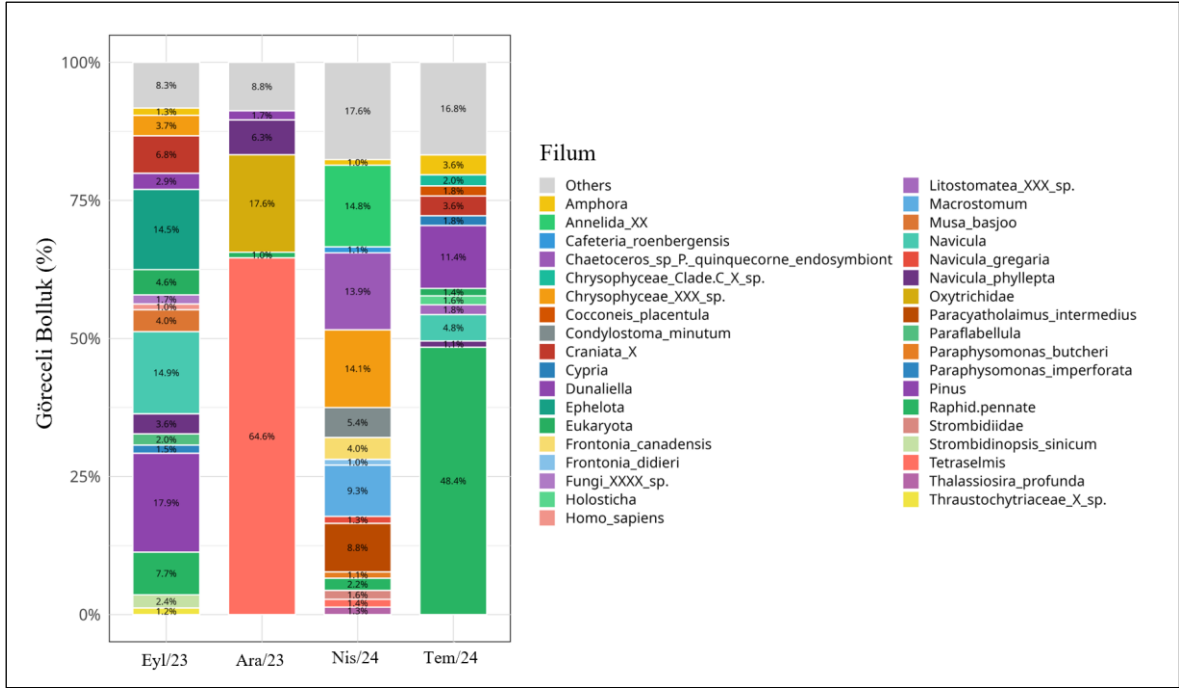
Şekil 54. Örneklerin 18S-V4 okumalarının ASV yoğunluk grafiği.

Buna ek olarak, 18S-V9 bölgesine ait ASV dağılımı değerlendirildiğinde, Nis/24 ayında yaklaşık 500 ASV ile en yüksek çeşitliliğin kaydedildiği belirlenirken, Ara/23 ayında bu değerin önemli ölçüde azalarak yaklaşık 40 ASV seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir. Bu bulgular, 18S rRNA temelli analizlerde mevsimsel değişimlerin mikrobiyal ökaryot topluluk çeşitliliği üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır (Şekil 55). Özellikle Nis/24 ve Tem/24 aylarında yüksek ASV çeşitliliğinin kaydedilmesi, bu dönemlerde çevresel koşulların ökaryotik mikroorganizmalar için daha elverişli hale geldiğini düşündürmektedir.



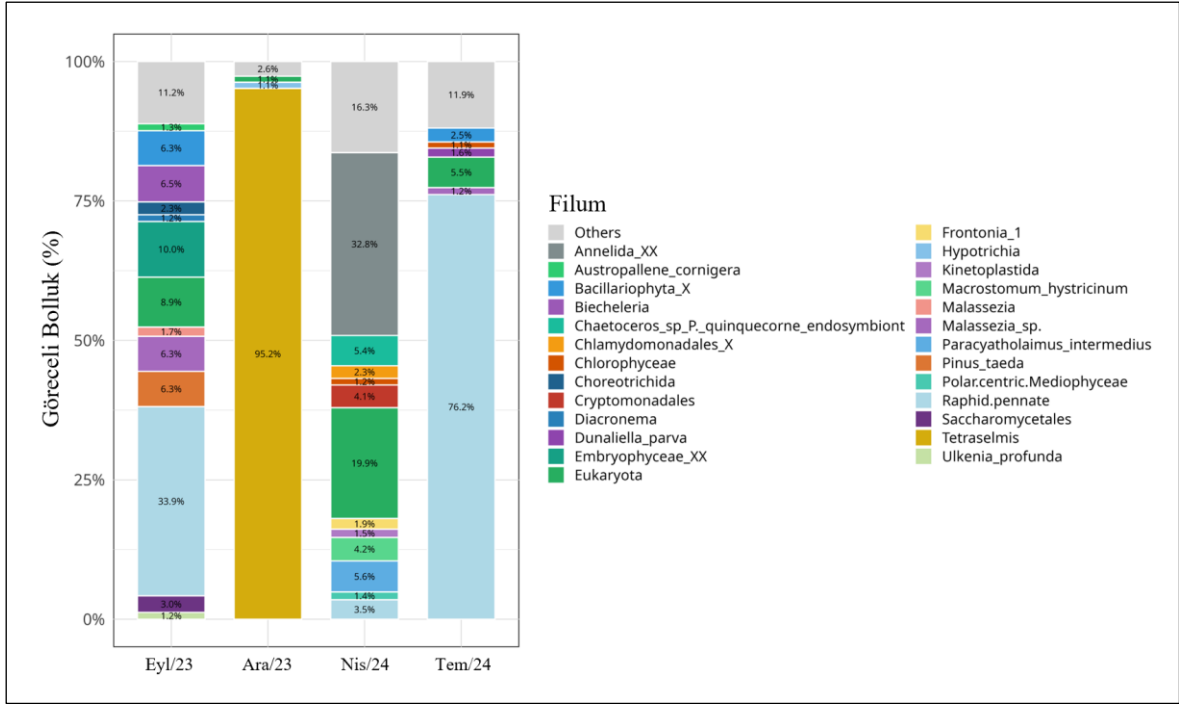
Şekil 55. Örneklerin 18S-V9 okumalarının ASV yoğunluk grafiği.

18S-V4 ve 18S-V9’te, farklı dönemlerde gözlemlenen filumların göreceli bollukları ve taksonomik dağılımları sunulmaktadır. Analiz edilen örneklerin kompozisyonları, zaman içinde belirgin değişimler göstermektedir. Eyl/23’te mikrobiyal topluluk görece dengeli bir dağılıma sahip olup, Chlorophyta (*Dunaliella* %17,9), Bacillariophyta (*Navicula* %14,9) ve Ciliophora (*Ephelota* %14,5) gruplarının baskın olduğu belirlenmiştir. Ara/23’te ise biyoindikatör görevi gören Chlorophyta (*Tetraselmis* %64,6) taksonunun anormal derecede yüksek oranlarda bulunması, olası bir çevresel bulaşı işaret etmektedir. Bunun yanı sıra, Ciliophora (*Oxytrichidae* %17,6) ve Bacillariophyta (*Raphid pennate* %1,0) gibi gruplar da toplulukta yer almıştır. Nis/24’te topluluk yapısında belirgin değişiklikler gözlemlenmiş, Annelida (%14,8) ve Ochrophyta (Crysophyceae %13,9) grupları baskın hale gelmiştir. Ayrıca, Bacillariophyta (*Chaetoceros* %14,9), Platyhelminthes (*Macrostomum* %9,3) ve Nematoda (*Paracyatholaimus* %8,8) taksonları topluluğun önemli bir bölümünü oluşturmuştur. Tem/24’te ise Eukaryota %48,4 ile en büyük paya sahip olurken, Chlorophyta (*Dunaliella* %11,4) ve Bacillariophyta (*Navicula* %4,8) gibi filumlar da belirgin oranlarda tespit edilmiştir (Şekil 56).



Şekil 56. 18S-V4 okumalarının filum seviyesinde dağılımı.

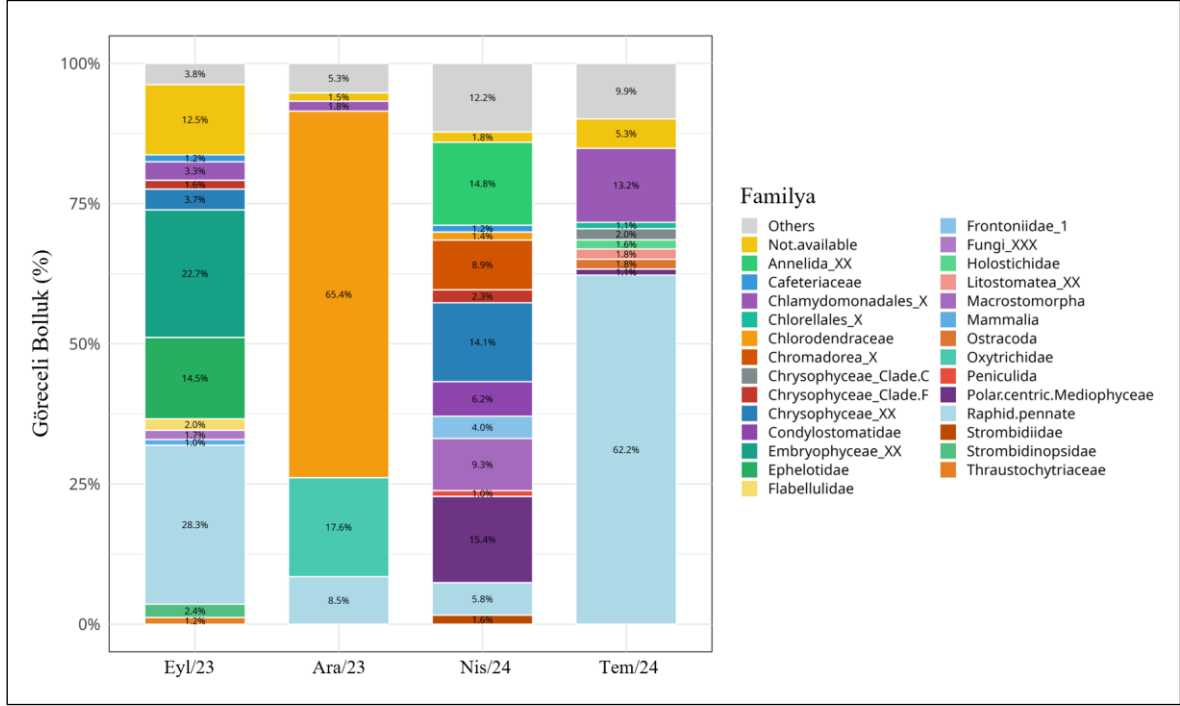
18S-V9 bölgesine ait verilerde, Eyl/23'te topluluğun görece dengeli bir dağılıma sahip olduğu, Bacillariophyta (*Raphid pennate* %33,9), Embryophyta (Embryophyceae %10,0) ve Eukaryota (%8,9) gruplarının baskın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, Pinophyta (*Pinus* %6,3) filumu da toplulukta belirli bir oranda yer almıştır. Ara/23'te ise Chlorophyta (*Tetraselmis* %95,2) taksonunun anormal derecede yüksek oranlarda bulunması, dışsal kontaminasyonu göstermektedir. Toplulukta ayrıca Eukaryota (%1,1) ve Ciliophora (*Hypotrichia* %1,1) gibi organizmalar da tespit edilmiştir. Nis/24'te topluluk yapısında önemli bir değişiklik gözlemlenmiş olup, Annelida (%32,8) ve Eukaryota (%19,9) grupları baskın konumdadır. Ayrıca Nematoda (*Paracyatholaimus* %5,6) ve Bacillariophyta (*Diacronema* %4,2) gibi gruplar da topluluğun önemli bileşenleri arasında yer almaktadır. Tem/24'te ise Bacillariophyta (*Raphid pennate* %76,2) en büyük paya sahip olurken, Eukaryota (%5,5) ve Cryptomonadales (%1,2) filumları da belirgin oranlarda tespit edilmiştir (Şekil 57).



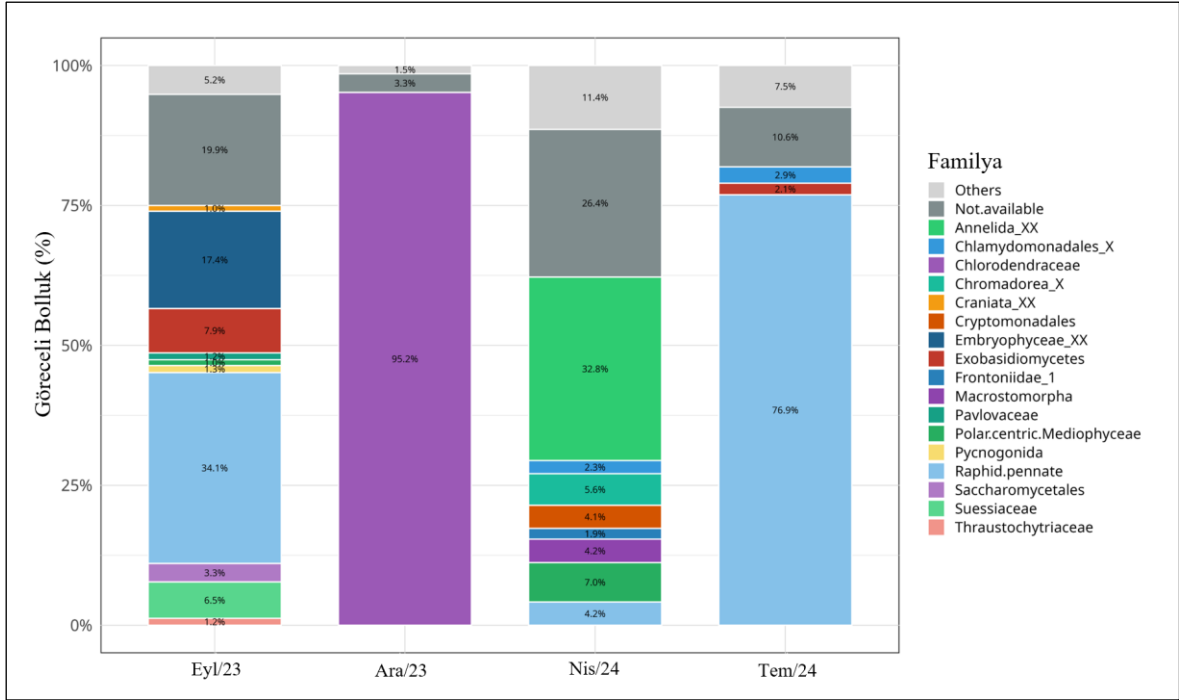
Şekil 57. 18S-V9 okumalarının filum seviyesinde dağılımı

Familiya bazında 18S-V4 verileri incelendiğinde, Eyl/23'te mikrobiyal topluluğun görece dengeli olduğu ve Bacillariophyceae (*Raphid pennate* %28,3), Embryophyceae (%22,7) ve Ephelotidae (%14,5) familyalarının baskın olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, 18S-V9 verileri de Bacillariophyceae (*Raphid pennate* %34,1) ve Embryophyceae (%17,4) gruplarının baskınlığını doğrulamaktadır. Bununla birlikte, V9 verilerinde Exobasidiomycetes (%7,9) familyası öne çıkarken, V4 verilerinde bu familya düşük oranlarda tespit edilmiştir. Ara/23'te, her iki veri setinde de Chlorodendraceae familyasının baskın hale geldiği görülmektedir. Ancak V4 verilerinde bu familya %65,4, V9 verilerinde ise %95,2 oranında tespit edilmiştir. Bu büyük farklılık, V9 bölgesinin belirli ökaryotik grupları tespit etme kapasitesinin daha yüksek olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, V4 verilerinde Oxytrichidae (%17,6) familyasının belirgin şekilde var olduğu görülmüştür. Nis/24'te, her iki veri setinde de topluluk yapısında büyük değişiklikler meydana geldiği gözlemlenmiştir. V4 verilerinde Polar Centric Mediophyceae (%15,4), Annelida (%14,8) ve Chrysophyceae (%14,1) familyalarının baskın olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, V9 verilerinde de Annelida (%32,8) baskın hale gelmiş, ancak Polar Centric Mediophyceae (%7,0) ve Chromadorea (%5,6) familyaları öne çıkmıştır. V4 verilerinde Strombidiidae (%1,6) gibi bazı familyaların düşük oranlarda tespit edilmesi, V9 bölgesinin bu familyaları yeterince kapsamadığını düşündürmektedir. Tem/24'te, V4 ve V9 verileri arasında yine

büyük benzerlikler gözlemlenmiştir. Her iki veri setinde de Bacillariophyceae (*Raphid pennate* %62,2 - %76,9) familyası en baskın grup olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, V4 verilerinde Chlamydomonadales (%13,2) ve Litostomatea (%1,8) familyaları belirgin oranlarda bulunurken, V9 verilerinde Chlamydomonadales (%2,9) ve Exobasidiomycetes (%2,1) familyalarının varlığı tespit edilmiştir (Şekil 58 ve Şekil 59).



Şekil 58. 18S-V4 okumalarının familya seviyesinde dağılımı.



Şekil 59. 18S-V9 okumalarının familya seviyesinde dağılımı.

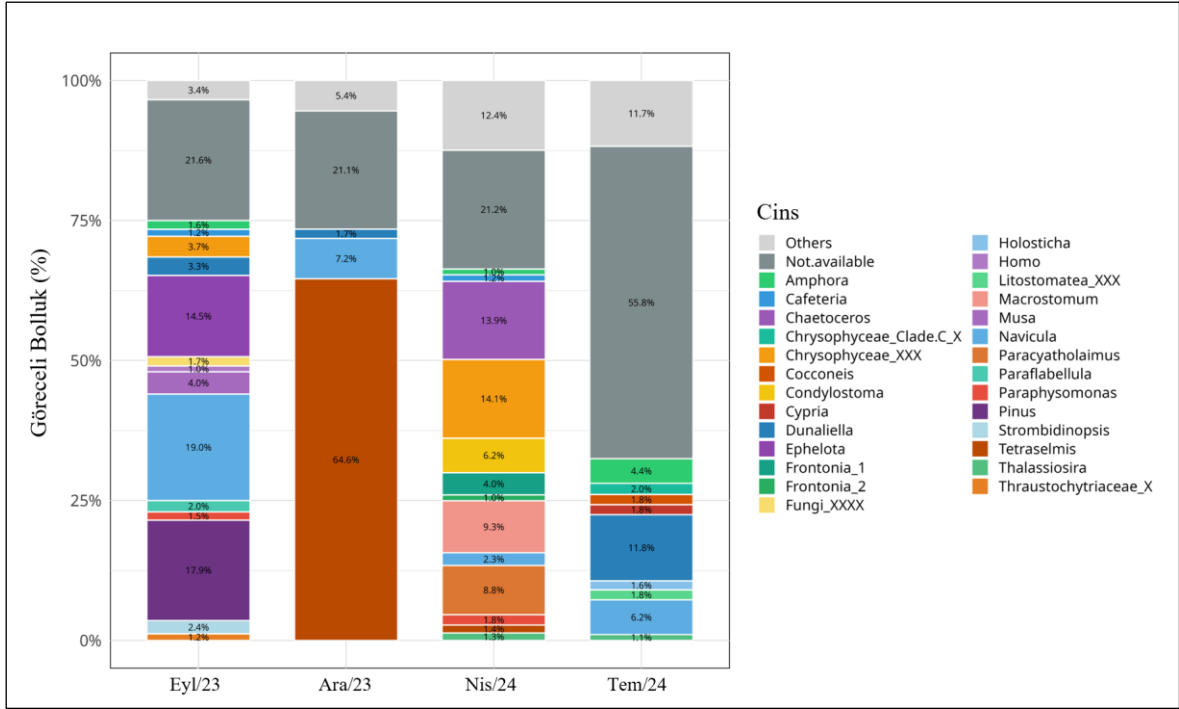
Bu farklılıklar, 18S rRNA'nın farklı bölgelerinin çeşitli ökaryotik organizmaları tespit etme kapasitesindeki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. 18S-V9 bölgesi, özellikle kloroplast içeren ökaryotları tespit etmede daha etkin olabilirken (Cochrane vd., 2016), 18S-V4 bölgesi daha geniş bir ökaryotik çeşitliliği kapsamaktadır (Stoeck vd., 2010).

Stoeck vd. (2010), Norveç'teki Framvaren Fiyordu'ndan alınan oksijensiz (anoksik) su örneklerinde ökaryotik mikrobiyal çeşitliliği incelemek amacıyla yüksek verimli 454 DNA dizileme yöntemini kullanmıştır. Çalışmada, V4 ve V9 rDNA bölgeleri hedef alınarak, ökaryotik toplulukların genetik çeşitliliği belirlenmiştir. Araştırmacılar, 10 litrelik su örneğinden elde edilen çevresel DNA'yı dizileyerek 38,116 benzersiz V4 ve 15,156 benzersiz V9 sekansı tespit etmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarına göre, anoksik su kolonundaki ökaryotik çeşitliliğin büyük bir kısmı Dinoflagellata ve bunlarla yakın akraba olan organizmalar tarafından domine edilmektedir. Ayrıca, analiz edilen genetik dizilerin çoğunun GenBank'ta daha önce tanımlanmamış olduğu belirlenmiş, bu da lagün mikrobiyal ökaryot çeşitliliğinin büyük ölçüde keşfedilmemiş olduğunu göstermiştir.

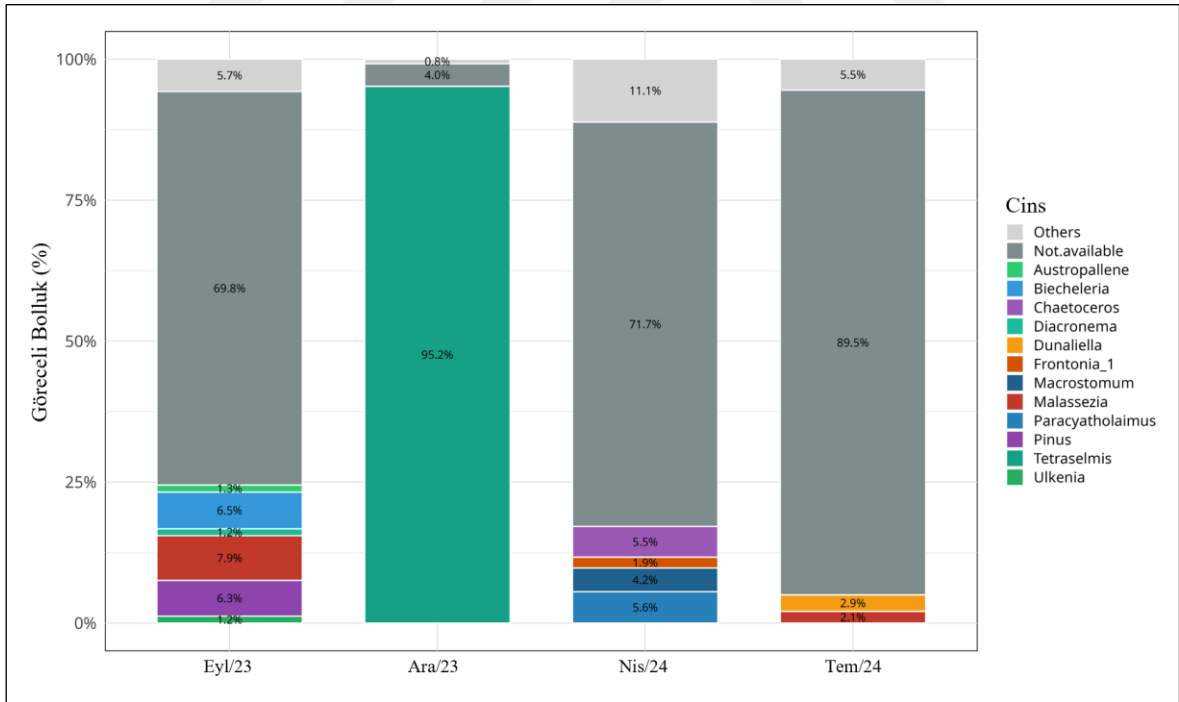
18S rRNA geninin V4 ve V9 bölgelerinden elde edilen veriler kullanılarak mikrobiyal toplulukların cins düzeyinde dağılımları karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular,

topluluk kompozisyonunun zaman içinde değiştiğini ve belirli cinslerin belirli dönemlerde baskın hale geldiğini göstermektedir. 18S-V4 ve 18S-V9 bölgeleri karşılaştırıldığında, belirli taksonların tespit edilmesinde farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir.

Eyl/23'te, 18S-V4 verileri incelendiğinde, *Navicula* (%19,0), *Pinus* (%17,9) ve *Ephelota* (%14,5) cinslerinin baskın olduğu görülmektedir. 18S-V9 verilerinde ise *Malassezia* (%7,9), *Biecheleria* (%6,5) ve *Pinus* (%6,3) cinsleri öne çıkmaktadır. V4 ve V9 verileri karşılaştırıldığında, *Navicula* ve *Ephelota* gibi organizmaların yalnızca V4 verilerinde belirgin olduğu, *Biecheleria* ve *Malassezia* gibi grupların ise V9 bölgesinde daha fazla temsil edildiği gözlemlenmiştir. Ara/23'te, her iki veri setinde de *Tetraselmis* baskın hale gelmiştir. 18S-V4 verilerinde *Tetraselmis* (%64,6) ve *Navicula* (%7,2) öne çıkarken, 18S-V9 verilerinde *Tetraselmis* (%95,2) oranında tespit edilmiştir. Bu veri sebebiyle V9 bölgesinin *Tetraselmis* tespiti konusunda daha hassas olabileceği düşünülmektedir. Nis/24'te, topluluk kompozisyonunda belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir. 18S-V4 verilerinde Chrysophyceae (%14,1), *Chaetoceros* (%13,9) ve *Macrostromum* (%9,3) cinsleri baskın hale gelirken, 18S-V9 verilerinde *Paracyatholaimus* (%5,6), *Chaetoceros* (%5,5) ve *Macrostromum* (%4,2) cinslerinin baskın olduğu tespit edilmiştir. Her iki veri setinde de *Chaetoceros* ve *Macrostromum* cinslerinin önemli oranlarda bulunduğu gözlemlenmiştir. Ancak Chrysophyceae yalnızca V4 verilerinde belirgin hale gelmiştir. Tem/24'te, 18S-V4 verilerine göre *Dunaliella* (%11,8), *Navicula* (%6,2), *Cypria* (%1,8) ve *Cocconeis* (%1,8) cinsleri toplulukta önemli oranlarda bulunmuştur. 18S-V9 verilerinde ise *Dunaliella* (%2,9) ve *Malassezia* (%2,1) cinslerinin tespit edildiği görülmektedir. *Navicula*, *Cypria* ve *Cocconeis* gibi organizmaların yalnızca V4 verilerinde tespit edilmesi, V9 bölgesinin bu cinsleri kapsama yetisinin sınırlı olabileceğini göstermektedir (Şekil 60 ve Şekil 61).



Şekil 60. 18S-V4 okumalarının cins seviyesinde dağılımı.



Şekil 61. 18S-V9 okumalarının cins seviyesinde dağılımı.

Hugoni vd. (2018), sucul ekosistemlerde gözlemlenen mevsimsel *Ciliates* ve *Flagellates* değişimlerinin, predatör topluluklarındaki dalgalanmalar veya organizmaların tuzluluk toleranslarındaki farklılıklarla ilişkili olabileceğini öne sürmüştür.

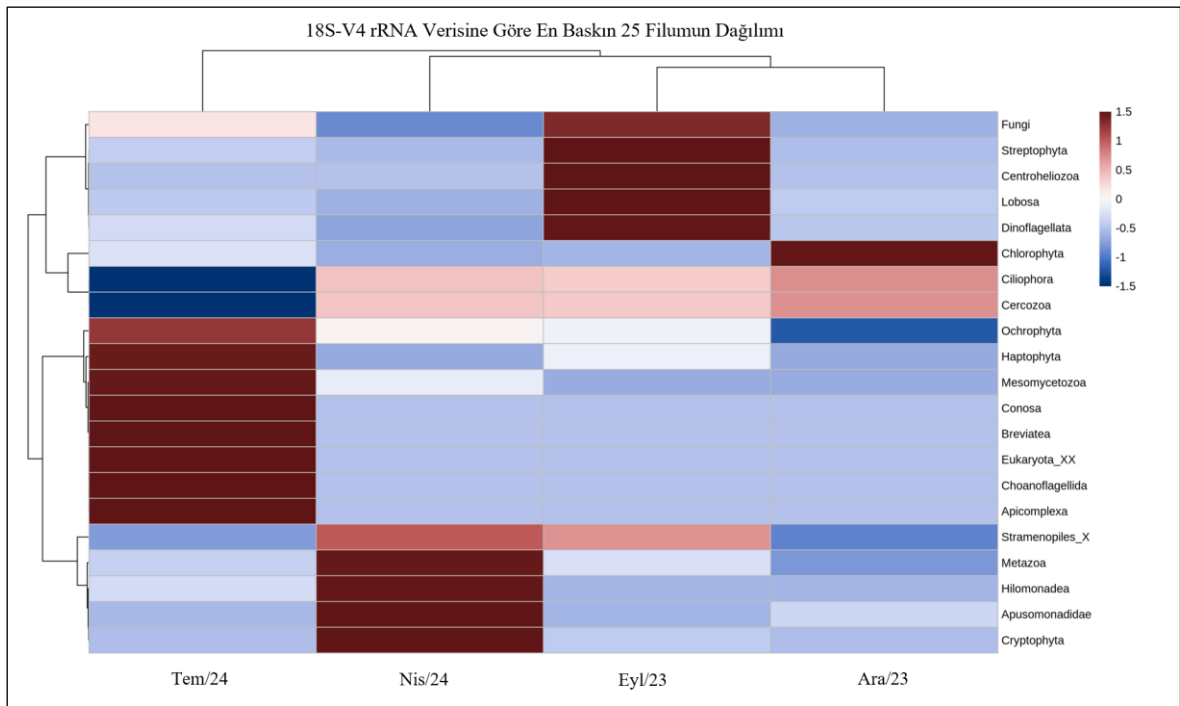
Borowitzka ve Siva (2007), *Dunaliella*'nın yüksek seviyede karotenoid üreterek klorofil ve DNA'sını zararlı ışınlar karşs koruduğunu bildirmiştir. Bunun yanı sıra, *Dunaliella* türleri tarafından ozmotik dengeyi sağlamak amacıyla sentezlenen gliserolün, heterotrofik halofilik topluluklar için temel karbon ve enerji kaynağı olduğı belirtilmiştir (Elevi Bardavid vd., 2008). Gliserol biyosentezinin hücre içi osmotik basıncın korunmasında kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (Fernández vd., 2014). Arke topluluklarında bulunan belirli enzimlerin, *Dunaliella* türlerinin dağılımıyla ilişkilendirilebileceğı ve arkelerin gliserolü substrat olarak kullanarak metabolize edebildiğı görülmektedir. Özellikle Temmuz 2024'te gözlemlenen Halobacteriaceae ve *Dunaliella* seviyelerindeki artış, bu iki organizma arasındaki etkileşimleri destekleyebileceğini düşündürmektedir. Bu durum, yüksek tuzluluk koşullarında belirli mikroorganizmalar arasında değişen adaptasyon stratejilerine işaret etmekte ve özellikle gliserol metabolizmasının *Dunaliella* ile halofilik arkeler arasındaki potansiyel simbiyotik ilişkisinde belirleyici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bununla birlikte, Bacillariophyceae ailesinden bir diatom olan *Navicula*'nın tuzluluk seviyeleriyle pozitif bir korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Potter vd., 2006). Hipersalin ortamlarda yaygın olarak rastlanmasına rağmen, genellikle düşük bollukta bulunduğı rapor edilmiştir (Jarecki vd., 2006). Häusler vd. (2014), yaptığı çalışmada Ölü Deniz'deki araştırmalarında, *Navicula* cinsinin doğal ortamında fotosentetik olarak aktif olduğunu belirlemiş ve laboratuvar koşullarında kültüre edildiğinde %40 tuzluluğa kadar büyüebildiğini göstermiştir.

Chlorophyta, tek veya çok hücreli türleri içeren ve koloni oluşturabilen yeşil algleri kapsayan önemli bir taksonomik gruptur (Henley vd., 2018). Bu organizmalar, tuzcul ekosistemlerde besin zincirinin temel basamağını oluşturarak birincil üretici rolü üstlenmektedir. Ökaryotik alglerin büyük bir kısmı, abiyotik stres koşullarına karşı yüksek adaptasyon yeteneğine sahiptir. Aynı cinse ait bazı türler hem tatlı hem de tuzlu ortamlarda hayatta kalabilirken, tatlı suya özgü çoğı tür yüksek tuzluluk seviyelerine tolerans gösteremez. Bununla birlikte, *Dunaliella salina* ve *Chlamydomonas* sp. gibi halofilik

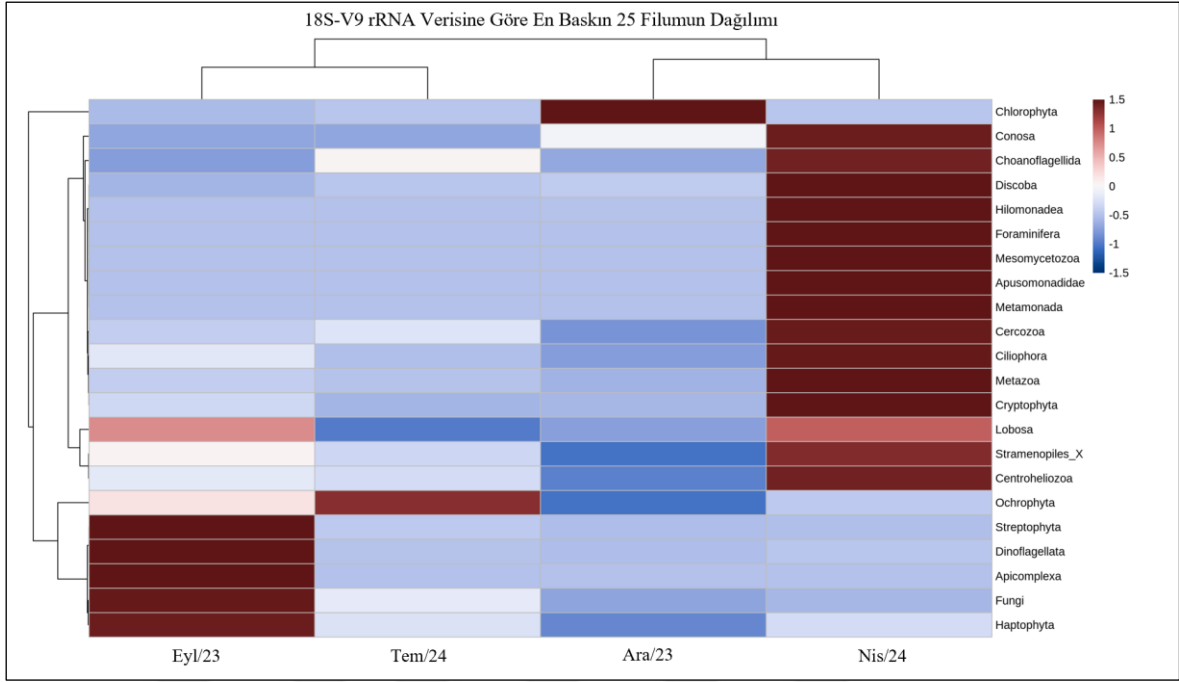
ökaryotik algler, ekstrem tuzlu habitatlarda yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir (Krienitz vd., 2012; Shetty vd., 2019). *Dunaliella* popülasyonu Tuz Gölü Lagünü'nde kuraklığın arttığı Eyl/23 ve Tem/24'te diğer aylara kıyasla daha yüksek oranda saptanmıştır.

Isı haritalarında, 18S-V4 ve 18S-V9 bölgelerine ait sekans verileri kullanılarak yapılan filum düzeyindeki taksonomik gruplandırmalar karşılaştırılmıştır. Şekil 62 ve Şekil 63'te sırasıyla 18S-V4 ve 18S-V9 bölgelerine dayalı olarak en bol bulunan 25 filumun zaman içerisindeki dağılımlarını gösteren ısı haritası görselleri sunulmuştur.



Şekil 62. 18S-V4 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Filum).

Her iki veri kümesi incelendiğinde, filum seviyesinde belirgin farklılıkların olduğu görülmektedir. 18S-V4 verisinde Ciliophora, Cercozoa ve Stramenopiles gibi filumlarının yoğun olarak temsil edildiği gözlemlenmiştir. Buna karşın, 18S-V9 analizinde Lobosa ve Ochrophyta gibi filumların daha baskın olduğu dikkati çekmektedir (Şekil 63).

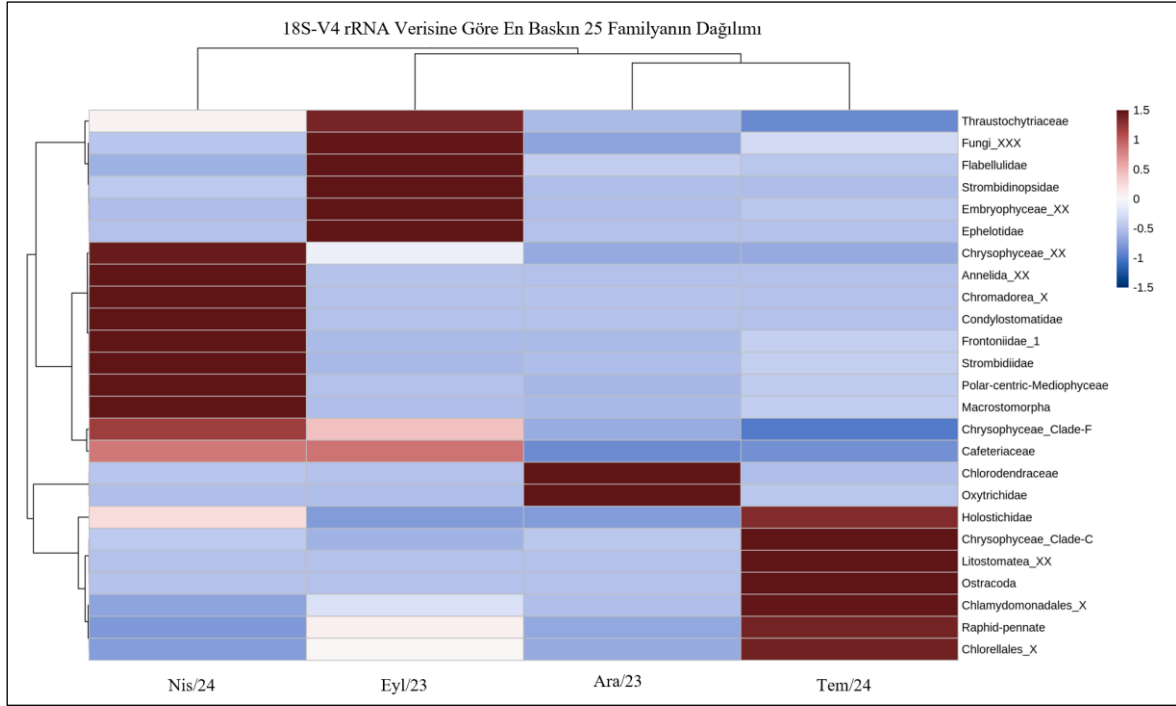


Şekil 63. 18S-V9 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Filum).

Özellikle Stramenopiles, Ciliophora ve Cercozoa 18S-V4 verisinde yüksek baskınlığa sahipken, 18S-V9’da bu filumların görece daha düşük seviyelerde bulunduğu görülmektedir. Ayrıca, 18S-V9 verisinde Foraminifera, Metamonada ve Discoba gibi bazı protist gruplarının da temsil edildiği anlaşılmaktadır. Bunun aksine, 18S-V4 verisinde Fungi gibi ökaryotik gruplara ait filumların daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir.

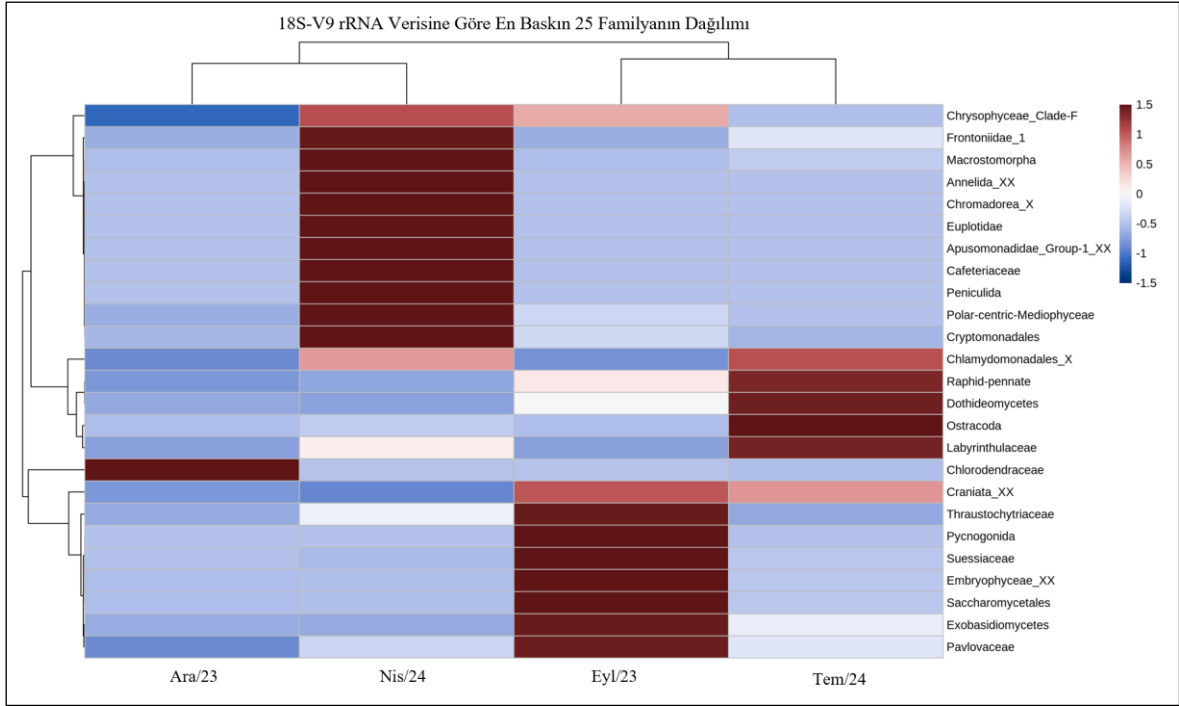
Zamansal değişimler bakımından, 18S-V4’te özellikle Ara/23’te filum seviyesinde büyük bir azalma olduğu görülmektedir. Bununla birlikte Tem/24’te bazı filumların (Ciliophora ve Cercozoa) görece azaldığı anlaşılmaktadır. 18S-V9 verisinde ise Nis/24’te belirgin bir çeşitlilik gözlemlenmiştir. Özellikle Hilomonadea, Conosa, Apusomonadidae ve Metazoa gibi filumlar bu dönemde yüksek temsil oranlarına sahiptir. 18S rRNA’nın farklı bölgelerinin kullanılması, belirli organizma gruplarının tespit edilme hassasiyetini değiştirebilmektedir. Bu farklılık, ısı haritası analizinde de açıkça gözlenmektedir. 18S-V4 ile yapılan analizde, mantarlar ve bitkiler gibi büyük ökaryotik organizmaların daha baskın olduğu; 18S-V9 analizinde ise protist gruplarının (Foraminifera, Metamonada, Choanoflagellida) daha yüksek oranlarda bulunduğu görülmektedir. Bu durum, her iki bölgenin farklı ökaryotik grupları tespit etme konusundaki farklı duyarlılıklarından kaynaklanabilir.

Familya düzeyinde ısı haritası analizleri incelendiğinde, her iki veri setinin belirli organizma gruplarına karşı farklı duyarlılıklara sahip olduğu görülmektedir (Şekil 64 ve Şekil 65).



Şekil 64. 18S-V4 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Familya).

18S-V4 verisinde Fungi, Chrysophyceae, Chlamydomonadales, Cafeteriaceae, Holostichidae ve Strombididae gibi ökaryotik grupların baskın olduğu, buna karşın 18S-V9 verisinde Dothideomycetes, Exobasidiomycetes, Saccharomycetales, Cryptomonadales, Pycnogonida, Labyrinthulaceae ve Pavlovaceae gibi farklı familyaların daha belirgin olduğu görülmüştür. Özellikle mantar grupları açısından 18S-V4'ün daha genel bir tanımlama sağladığı, ancak 18S-V9'un Dothideomycetes, Saccharomycetales ve Exobasidiomycetes gibi spesifik fungal sınıfları tespit edebildiği anlaşılmaktadır (Şekil 65).



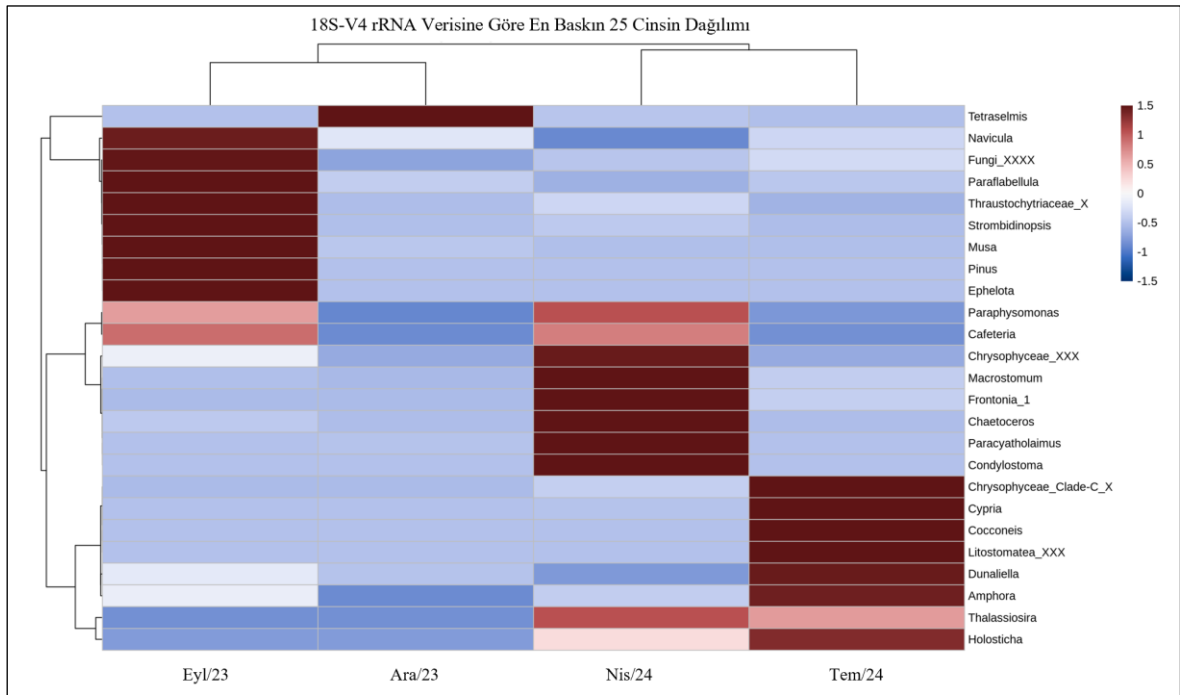
Şekil 65. 18S-V9 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Familya).

Fotosentetik ökaryotlar açısından ise Chrysophyceae her iki veri setinde de tespit edilirken, Cryptomonadales yalnızca 18S-V9’da yüksek hakimiyete sahip olmuş, Chlorophyta ile ilişkili Chlamydomonadales ise her iki veri setinde belirli zaman noktalarında baskın olarak bulunmuştur. Zamansal değişimler bakımından, her iki okumada da Eyl/23 ve Nis/24’te birçok familyanın yüksek bolluk gösterdiği görülmektedir. 18S-V4’te Fungi, Chrysophyceae, Cafeteriaceae ve Chlamydomonadales bu dönemlerde artış gösterirken, 18S-V9’da Dothideomycetes, Saccharomycetales ve Cryptomonadales gibi gruplar yüksek hakimiyete sahiptir. Bu durum, farklı 18S bölgelerinin ekosistem içindeki farklı organizma gruplarına karşı değişen duyarlılıklarından kaynaklanabilir.

Filum düzeyinde incelendiğinde ise, Thraustochytriaceae ve Labyrinthulaceae gibi Stramenopiles üyeleri her iki veri setinde de yer alırken, Fungi yalnızca 18S-V4’te genel bir grup olarak tanımlanmış, 18S-V9 ise bu grubu Dothideomycetes, Saccharomycetales ve Exobasidiomycetes gibi spesifik mantar sınıflarına ayırtmıştır. Ayrıca, Ciliophora filumuna ait Strombidiidae, Frontoniidae ve Oxytrichidae gibi familyalar her iki veri setinde de tespit edilmiştir. Ochrophyta filumu altında yer alan Chrysophyceae Clade-F, Clade-C ve Polar-centric-Mediophyceae familyaları da her iki bölgede yüksek temsiliyete sahiptir. Chlorophyta üyelerinden Chlamydomonadales ve Chlorodendraceae ise her iki veri setinde

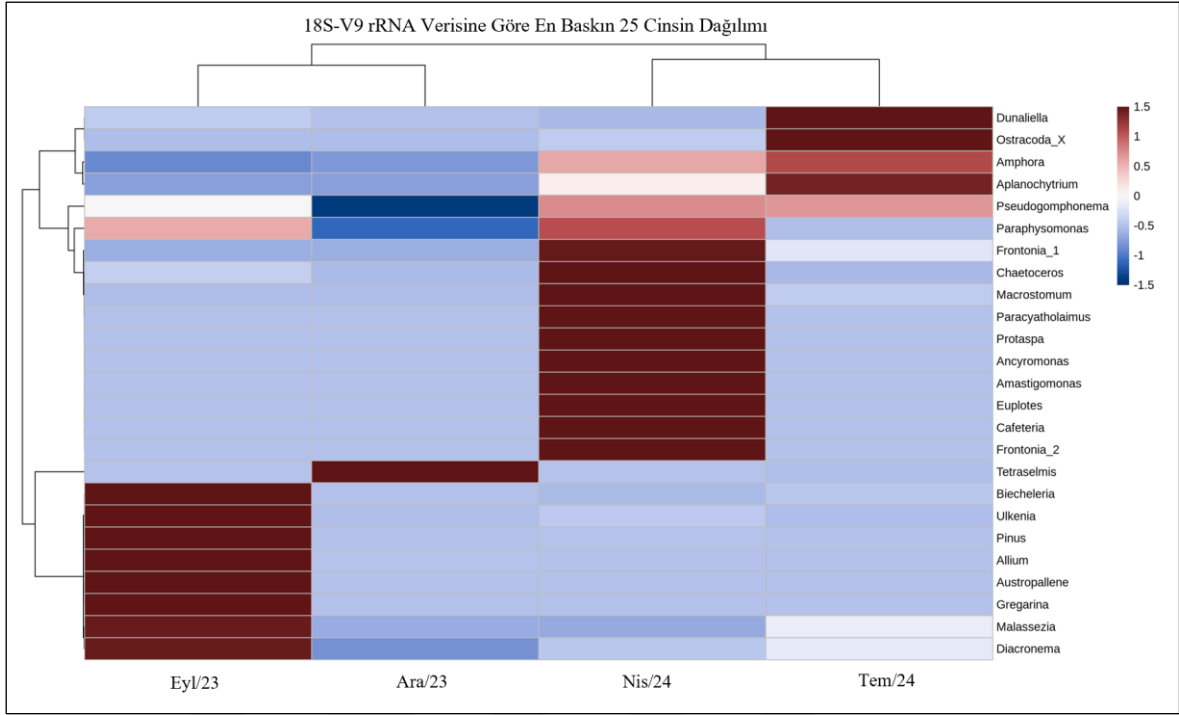
tespit edilmiştir. 18S-V4 ve 18S-V9 bölgelerine dayalı olarak en bol bulunan 25 cinsin zaman içerisindeki dağılımlarını gösteren ısı haritası analizleri Şekil 66 ve Şekil 67’de sunulmuştur.

18S-V4 verisinde *Tetraselmis*, *Navicula*, *Paraflabellula*, *Strombidiopsis*, *Cafeteria*, *Chaetoceros*, *Condylostoma*, *Dunaliella*, *Amphora* ve *Thalassiosira* gibi ökaryotik cinsler baskın olarak tespit edilmiştir (Şekil 66).



Şekil 66. 18S-V4 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Cins).

18S-V9 verisinde *Dunaliella*, *Ostracoda*, *Amphora*, *Aplanochytrium*, *Pseudogomphonema*, *Paraphysomonas*, *Frontonia*, *Chaetoceros*, *Paracatholaimus*, *Protasp*, *Ancyromonas*, *Malassezia* ve *Gregarina* gibi farklı cinslerin öne çıktığı gözlemlenmiştir (Şekil 67).



Şekil 67. 18S-V9 metagenomik analiz ısı haritası görseli (Cins).

Özellikle *Dunaliella* ve *Amphora* cinsleri her iki veri setinde yaygın olarak tespit edilirken, *Chaetoceros* ve *Frontonia* da her iki bölgede ortak bulunan diğer taksonlar olmuştur. Ancak, *Aplanochytrium* ve *Pseudogomphonema* yalnızca 18S-V9'da belirlenirken, *Navicula* ve *Paraflabellula* gibi cinsler yalnızca 18S-V4'te gözlenmiştir. Bu durum, 18S-V9'un özellikle belirli protist gruplarını tespit etmede daha yüksek duyarlılığa sahip olduğunu düşündürmektedir. Fungal cinsler açısından 18S-V4 verisinde *Fungi* adıyla genel bir grup tespit edilirken, 18S-V9 verisinde spesifik olarak *Malassezia* mantar cinsi tanımlanmıştır. Bu bulgu, 18S-V9'un mantar çeşitliliğini daha ayrıntılı tespit etme yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Bitkisel organizmalar açısından ise *Musa*, yalnızca 18S-V4 verisinde gözlenmiştir. Zamansal değişimler incelendiğinde, 18S-V4 verisinde özellikle Eyl/23 ve Tem/24'te farklı cinslerin baskın hale geldiği gözlenmiştir. *Tetraselmis*, *Navicula* ve *Paraflabellula* gibi cinsler Eyl/23'te yüksek baskınlığa sahipken, *Cypria*, *Coconeis* ve *Holosticha* gibi cinsler Tem/24'te baskın hale gelmiştir. 18S-V9 verisinde ise Nis/24 ve Tem/24'te belirgin değişimler görülmektedir. *Pseudogomphonema* cinsi hemen hemen tüm zaman dilimlerinde yüksek temsiliyete sahipken, *Tetraselmis* gibi cinsler yalnızca Ara/23'te baskın olarak tespit edilmiştir. Bu farklılıklar, belirli cinslerin farklı dönemlerde baskın hale gelerek ekosistemde mevsimsel değişimlere bağlı olarak dalgalanmalar gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Isı haritalarında familya, filum veya tür seviyesinde verilen taksonlardan bazıları cins düzeyine indirgenerek belirlenmiştir. Örneğin, Thraustochytriaceae (18S-V4) familyası Thraustochytrium cinsini, Cafeteriaceae (18S-V4) familyası Cafeteria cinsini temsil etmektedir. Ayrıca, Ochrophyta filumuna ait Chaetocerotaceae (18S-V4 ve 18S-V9) familyası Chaetoceros cinsini, Chlorophyta filumuna ait Chlorodendraceae (18S-V4 ve 18S-V9) familyası ise Tetraselmis cinsini kapsamaktadır.

Amaral-Zettler vd. (2009), 18S rRNA geninin V4 ve V9 bölgelerinin deniz mikrobiyal ekosistemlerinde ökaryotik mikroorganizma çeşitliliğini belirlemede nasıl farklılık gösterdiğini araştırmıştır. Çalışmada, her iki bölge kullanılarak yapılan sekans analizleri karşılaştırılmış ve V4 bölgesinin ökaryotlar ve fitoplanktonları (diatomlar ve dinoflagellatlar) daha iyi tespit ettiği, buna karşın V9 bölgesinin küçük hücreli protistleri ve heterotrofik organizmaları daha geniş bir çeşitlilikle kapsadığı bulunmuştur. Araştırmacılar, V9'un özellikle serbest yaşayan küçük protistleri daha iyi karakterize ettiğini, V4'ün ise mevcut referans veritabanlarıyla daha iyi eşleştiğini belirlemiştir. Bu bulgular, metabarkodlama çalışmalarında her iki bölgenin birlikte kullanılmasının ekosistemlerdeki biyoçeşitliliğin daha doğru bir şekilde değerlendirilmesine katkı sağlayacağını ortaya koymuştur.

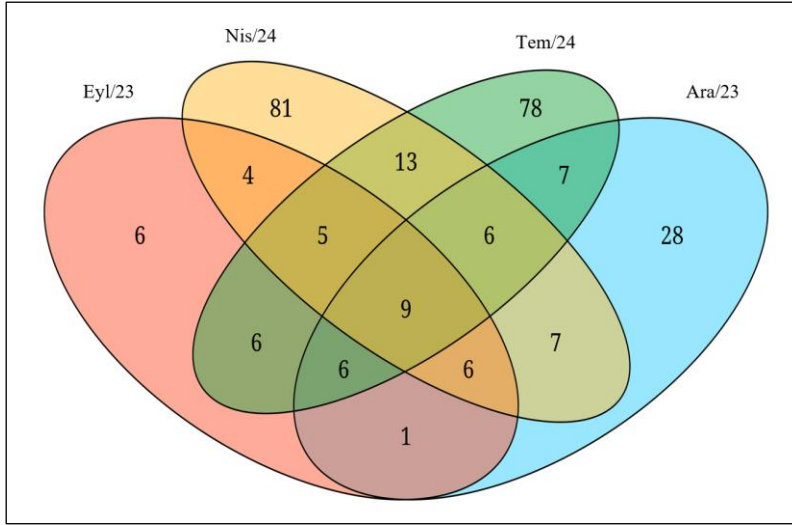
Choi ve Park (2020), Doğu Denizi'nde (Kore) bulunan Dokdo Adası'ndaki düşük tuzluluk seviyesine sahip bir gölette ökaryotik mikrobiyal topluluk çeşitliliğini araştırmıştır. Araştırmacılar, 2016-2018 yılları arasında 18S rDNA'nın V4 ve V9 bölgeleri için primer setleri kullanarak Illumina sekanslama yöntemiyle ökaryotik çeşitliliği analiz etmiş ve bu kapsamda ilk kez detaylı bir inceleme gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, V9 primer seti ile 1,413 OTU, V4 primer seti ile ise 915 OTU tespit edilmiştir. Taksonomik analizler, V4 primer setinin bazı büyük alt grup çeşitliliğini tanımlamada yetersiz kaldığını, ancak V9 primer setinin bu grupların çeşitliliğini başarılı bir şekilde temsil ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, toplam okumaların %1'inden daha azına sahip olan nadir taksonların yalnızca V9 primer seti ile tespit edilebildiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, ökaryotik topluluk çeşitliliğinin seçilen primerlere bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir.

Zhang vd. (2024), 18S rRNA geninin V4 ve V9 hiper değişken bölgelerinin, boyut-fraksiyonlanmış ökaryotik mikrobiyal toplulukları tanımlamadaki performansını

değerlendirmiştir. Çalışma, doğal ve insan etkisi altındaki geçiş bölgelerine sahip üç nehir ekosisteminde gerçekleştirilmiş ve farklı mikrobiyal boyut fraksiyonları ($>180\ \mu\text{m}$, $20-180\ \mu\text{m}$, $5-20\ \mu\text{m}$, $3-5\ \mu\text{m}$, $0.8-3\ \mu\text{m}$) dikkate alınarak karşılaştırmalı bir analiz yapılmıştır. Araştırmacılar, amplikon sekanslama sonuçlarının tespit edilen türlere ve mikroorganizma boyutuna bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini bulmuştur. V9 bölgesi, geniş bir taksonomik yelpazedeki türleri tespit etmede en etkili bölge olarak öne çıkarken, V9 bölgesinin özellikle küçük boyutlu ($3\ \mu\text{m}$) mikroorganizmaların ve belirli mikrobiyal grupların tespitinde daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, V4 bölgesi Archamoebae, Heterolobosea, Microsporidia gibi ökaryotik grupların yanı sıra, Haptophyta, Florideophycidae ve Bangiales gibi çeşitli alg gruplarının tespitinde daha etkili olmuştur. Sonuçlar, V4 ve V9 bölgelerinin birlikte kullanılmasının, bazı organizmaların yanlış sınıflandırılma riskini azaltarak daha güvenilir ekolojik analizler yapılmasına katkı sağlayacağını ortaya koymuştur. Araştırmacılar, çevresel çalışmalar için en uygun amplifikasyon bölgelerinin seçilmesinin, amplikon sekanslama yöntemlerinin ekolojik araştırmalardaki kullanımını daha verimli hale getireceğini vurgulamıştır.

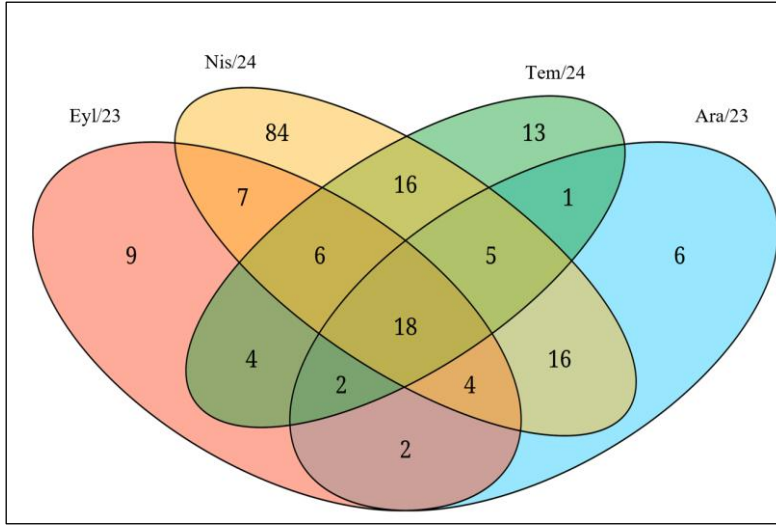
18S-V4 ve 18S-V9 verilerine dayalı olarak elde edilen örnekler arasındaki ASV paylaşımı Venn diyagramları aracılığıyla görselleştirilmiştir. Her bir diyagram, dört farklı zaman diliminde elde edilen ASV'lerin zamansal olarak nasıl değiştiğini ve farklı periyotlarda hangi ASV'lerin ortak veya benzersiz olduğunu göstermektedir.

18S-V4 örneklerinde, her zaman diliminde tespit edilen benzersiz ASV sayıları incelendiğinde, Nis/24'te 81, Tem/24'te 78, Ara/23'te 28 ve Eyl/23'te 6 ASV'nin yalnızca ilgili döneme özgü olduğu görülmektedir. Bu durum, özellikle Nis/24 ve Tem/24 aylarında ekosistemde belirgin bir ASV artışı olduğunu ve bu dönemde daha fazla türün veya genetik varyantın ortaya çıktığını göstermektedir. Tüm zaman dilimlerinde ortak olarak tespit edilen ASV sayısı 9 olup, bu ASV'lerin ekosistem içerisinde yıl boyunca stabil kaldığı anlaşılmaktadır. Farklı zaman dilimleri arasında paylaşılan ASV'ler değerlendirildiğinde, Nis/24 ve Tem/24'te ortak olarak bulunan 13 ASV, bu iki dönemin benzer çevresel koşullara sahip olabileceğini düşündürmektedir. Eyl/23 ve Ara/23'te ortak olan ASV sayısı 1, Ara/23 ve Tem/24'te ortak olan ASV sayısı 7, Nis/24 ve Ara/23'te ortak olan ASV sayısı ise 7'dir. Bu veriler, bazı ASV'lerin belirli dönemlerde baskın hale geldiğini, ancak diğer zaman dilimlerinde tespit edilmediğini ortaya koymaktadır (Şekil 68).



Şekil 68. 18S-V4 örnekleri arasında ortak veya benzersiz ASV sayısını gösteren Venn diyagramı.

18S-V9 örneklerinde, benzersiz ASV sayıları incelendiğinde, Nis/24'te 84, Tem/24'te 13, Ara/23'te 6 ve Eyl/23'te 9 ASV'nin yalnızca ilgili dönemde tespit edildiği görülmektedir. 18S-V4 sonuçlarına kıyasla, 18S-V9 verisinde Nis/24'te daha fazla benzersiz ASV tespit edilmiştir. Bu durum dönemde artan ekolojik çeşitliliğe işaret etmektedir. Tüm zaman dilimlerinde ortak olarak tespit edilen ASV sayısı 18 olup, bu değer 18S-V4 verisinde tespit edilen 9 ASV'ye kıyasla daha yüksektir. Bu durum, 18S-V9'un belirli ökaryotik grupların yıl boyunca daha stabil şekilde tespit edilmesini sağladığını düşündürmektedir. Farklı zaman dilimleri arasındaki ortak ASV'ler değerlendirildiğinde, Nis/24 ve Tem/24'te ortak olarak 16 ASV tespit edilmiştir, bu da bu iki dönemin benzer ekolojik süreçlere sahip olabileceğini göstermektedir. Eyl/23 ve Ara/23'te ortak ASV sayısı 2, Ara/23 ve Tem/24'te ortak ASV sayısı 1, Nis/24 ve Ara/23'te ortak ASV sayısı ise 16'dır (Şekil 69).



Şekil 69. 18S-V9 örnekleri arasında ortak veya benzersiz ASV sayısını gösteren Venn diyagramı.

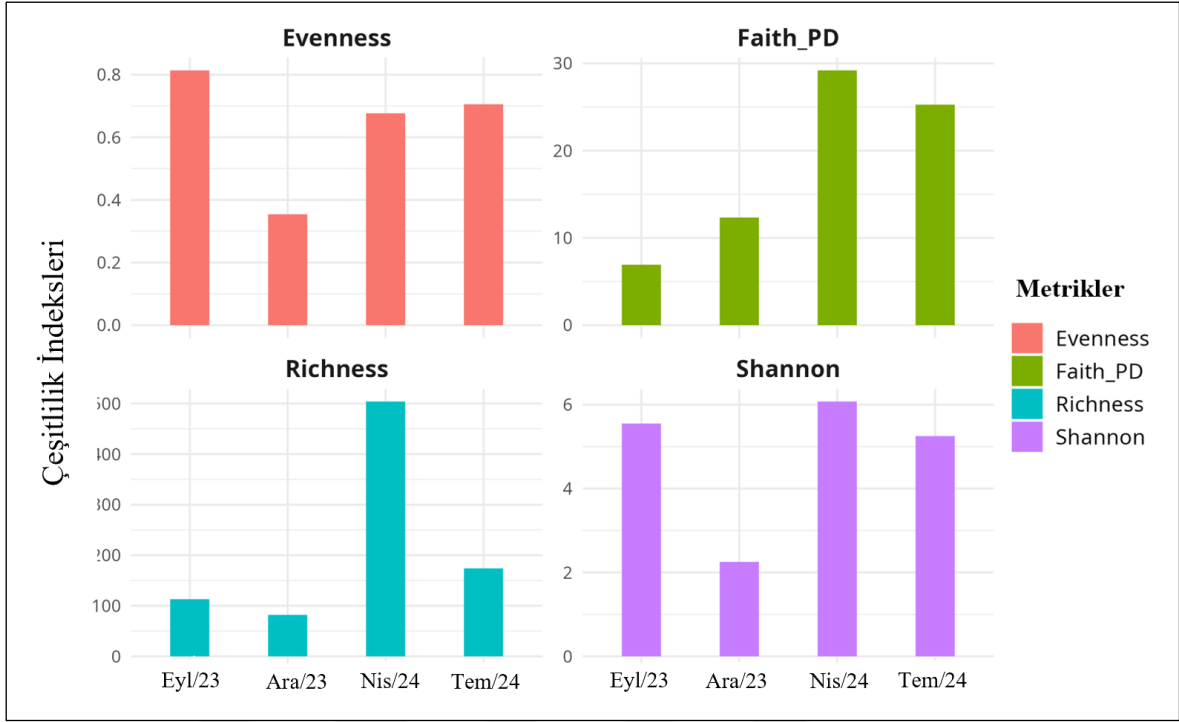
Sonuçlar genel olarak, 18S-V4 ve 18S-V9 verileri arasında belirgin farklılıklar olduğunu göstermektedir. 18S-V4'te, özellikle Nis/24 ve Tem/24'te yüksek benzersiz ASV sayıları tespit edilirken, 18S-V9'da bu artış daha çok Nis/24'te gözlemlenmiştir. Ayrıca, 18S-V9 verisinde yıl boyunca ortak olan ASV sayısı (18), 18S-V4'e (9) kıyasla daha fazladır; bu da 18S-V9'un belirli taksonların zamansal sürekliliğini daha iyi yakalayabildiğini düşündürmektedir. Öte yandan, 18S-V4'te tespit edilen benzersiz ASV sayılarının daha yüksek olması, bu bölgenin kısa süreli ekolojik değişimleri yakalamada daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Böylece, 18S-V9 daha fazla ortak ASV içermesi nedeniyle yıl boyunca ekosistemde kalıcı olan ökaryotik mikroorganizmaların tespiti için daha avantajlı iken, 18S-V4 belirli organizmaların geçici ekolojik varyasyonlarını daha iyi ortaya koymaktadır.

18S-V4 ve 18S-V9 verilerine dayalı alfa çeşitlilik analizleri sunulmuştur. Her iki veri setinde de Evenness, Faith's Phylogenetic Diversity (Faith_PD), Richness ve Shannon çeşitlilik indeksi olmak üzere dört farklı alfa çeşitlilik metriği hesaplanmıştır. Evenness değerleri açısından, her iki analizde de Eyl/23'te en yüksek dengeli dağılım görülürken, Ara/23'te belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum, Ara/23'te bazı taksonların baskın hale gelerek topluluk içerisindeki homojenliği azalttığını göstermektedir (Şekil 70).



Şekil 70. 18S-V4 alfa çeşitlilik analizi.

Faith's PD değerleri karşılaştırıldığında, 18S-V4 analizinde filogenetik çeşitliliğin genel olarak daha yüksek olduğu, özellikle Tem/24'te en büyük artışın yaşandığı görülmektedir. Bu durum, 18S-V4'ün filogenetik açıdan daha geniş bir taksonomik kapsama sahip olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, 18S-V9 için en büyük artış Nis/24'te gerçekleşmiştir (Şekil 71).



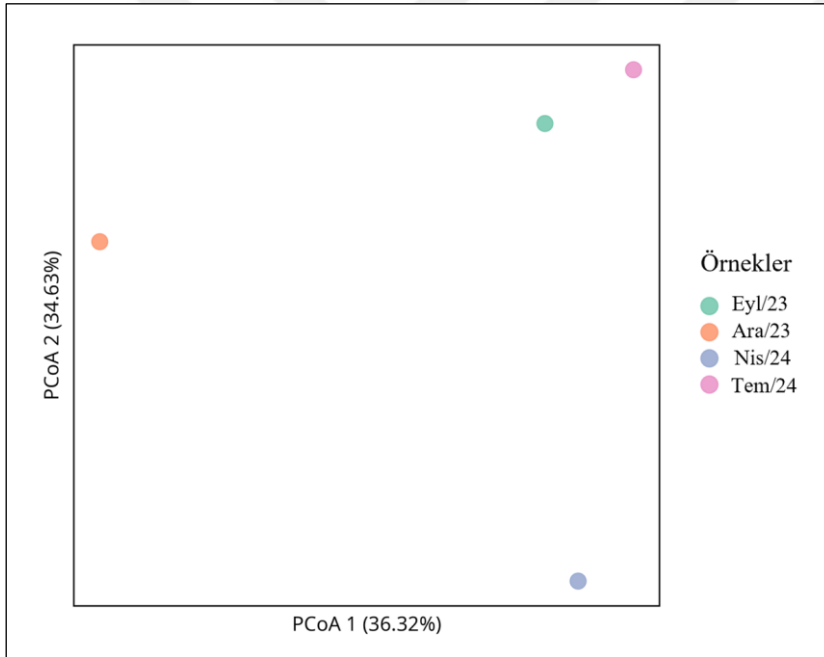
Şekil 71. 18S-V9 alfa çeşitlilik analizi.

Richness açısından bakıldığında, 18S-V9 verileri özellikle Nis/24'te, 18S-V4'e kıyasla daha yüksek ASV sayıları göstermiştir; bu da 18S-V9'un belirli dönemlerde daha fazla takson tespit edebildiğini ortaya koymaktadır. Shannon çeşitlilik indeksine göre ise her iki veri setinde de Ara/23'te çeşitlilikte belirgin bir düşüş yaşandığı gözlemlenmekte, ancak 18S-V9 verileri genel olarak daha yüksek Shannon değerleriyle daha dengeli bir çeşitlilik yapısı sergilemektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, 18S-V9 analizleri filogenetik çeşitliliği ve tür zenginliğini daha geniş kapsamda yansıtırken, 18S-V4 daha dengeli bir dağılım sunmuş ve dönemsel olarak farklı çeşitlilik eğilimlerini daha belirgin şekilde ortaya koymuştur.

Zhao vd. (2024), tarım arazileri, doğal sulak alanlar ve restore edilmiş sulak alanlardaki sediment ökaryotlarının alfa ve beta çeşitliliğini karşılaştırarak, sulak alan restorasyonu sırasında sediment ökaryotik çeşitliliğinin toparlanma potansiyelini ve bu süreci yönlendiren abiyotik ve biyotik faktörleri araştırmıştır. Sonuçlar, sediment ökaryot topluluklarının bileşiminin tarım arazilerinde daha az çeşitli olduğunu, ancak restorasyonla birlikte bu çeşitliliğin arttığını göstermiştir. Ayrıca, sediment ökaryotlarının topluluk ağı özellikleri (pozitif:negatif etkileşim oranı), tarım arazilerinden restore edilmiş sulak alanlara ve doğal sulak alanlara doğru giderek artmıştır. Bu durum, restorasyon sürecinin ökaryotik

türler arasındaki pozitif etkileşimleri güçlendirdiğini göstermektedir. Yapısal eşitlik modellemesi sonuçlarına göre, türler arası pozitif:negatif etkileşimlerin ve sediment besin maddelerinin doğrudan sediment ökaryotlarının beta çeşitliliğini etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca, sediment pH'ı ve su içeriğinin türler arası etkileşimleri dolaylı olarak etkileyerek beta çeşitliliği üzerinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur.

18S-V4 ve 18S-V9 verilerine dayalı olarak hesaplanan Bray-Curtis mesafelerine göre Principal Coordinates Analysis (PCoA) ile gerçekleştirilen beta çeşitlilik analizlerini göstermektedir. PCoA 1 eksenini toplam varyansın %36,32'sini, PCoA 2 eksenini ise %34,63'ünü açıklamakta olup, toplamda %70,95'lik bir varyans açıklama oranına sahiptir (Şekil 72).

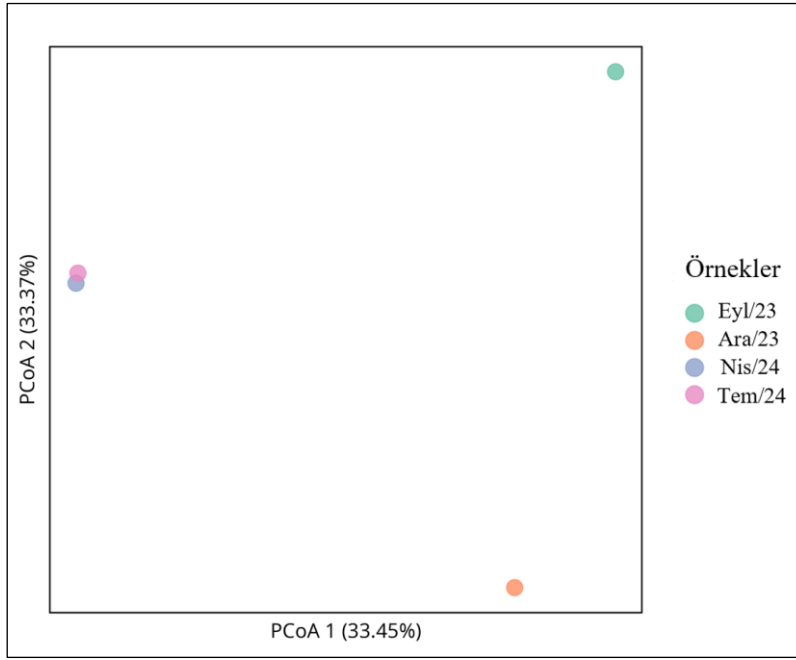


Şekil 72. 18S-V4 örneklerinde gözlenen taksonlar arasındaki Bray-Curtis mesafelerinin PCoA çizimi.

Örneklerin dağılımı incelendiğinde, farklı zaman dilimlerindeki toplulukların belirgin şekilde ayrıştığı görülmektedir. Eyl/23 ve Ara/23 örnekleri birbirinden uzak konumlanırken, Nis/24 ve Tem/24 örnekleri farklı bir bölgede yer almakta olup, bu dönemlerdeki topluluk bileşimlerinin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir. Eyl/23 ve Ara/23'teki örnekler, Nis/24 ve Tem/24'e kıyasla daha büyük ayrışmalar sergileyerek

mikrobiyal toplulukların zamana bağılı olarak belirgin değişiklikler gösterdiğini ortaya koymaktadır.

PCoA 1 eksenini toplam varyansın %33,45'ini, PCoA 2 eksenini ise %33,37'sini açıklamakta olup, toplamda %66,82'lik bir varyans açıklama oranına sahiptir (Şekil 73).



Şekil 73. 18S-V9 örneklerinde gözlenen taksonlar arasındaki Bray-Curtis mesafelerinin PCoA çizimi.

18S-V9 verileri incelendiğinde, Eyl/23 ve Ara/23 örneklerinin birbirinden uzak konumlandığı, buna karşılık Nis/24 ve Tem/24 örneklerinin birbirine oldukça yakın olduğu gözlemlenmektedir. Bu durum, bu iki zaman dilimi arasında topluluk kompozisyonunun daha fazla benzerlik gösterdiğini ve ekolojik süreçlerin sürekliliğini yansıttığını düşündürmektedir. Genel olarak, 18S-V9 verileri, 18S-V4'e kıyasla daha sıkı kümelenmeler sergilemekte ve zamansal farklılıkları daha düşük hassasiyetle yansıtmaktadır.

Karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde, 18S-V4 verilerinde farklı zaman dilimleri arasındaki ayrışmanın daha belirgin olduğu, 18S-V9 verilerinde ise belirli dönemlerde daha fazla kümelenme gözlemlendiği görülmektedir. Bu durum, 18S-V4'ün kısa vadeli ekolojik değişimlere karşı daha duyarlı olduğunu ve belirli mevsimlerde mikrobiyal topluluk bileşimindeki değişimleri daha iyi yansıttığını göstermektedir. Öte yandan, 18S-

V9'un belirli zaman dilimlerinde kümelenmesi, bu bölgenin topluluk istikrarını daha fazla yansıttığını ve uzun vadeli ekolojik süreçleri daha iyi temsil edebileceğini düşündürmektedir.

Boutaiba vd. (2011), Bou Saâda bölgesindeki tuz göllerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, ökaryotik topluluk içinde *Dunaliella* sp. türlerine ait organizmaların oldukça düşük bir oranda bulunduğu belirlenmiştir. Heidelberg vd. (2013), Tyrrell Gölü'nde yaz ve kış aylarında yapılan sekans analizlerinde, elde edilen dizilerin yaklaşık %96'sının Alveolata grubuna ait olduğunu rapor etmiştir. Aynı çalışmada, Chlorophyta üyesi *Dunaliella spp.*'nin yaz mevsiminde dizilerin yaklaşık %3'ünü, kış aylarında ise %2'sini oluşturduğu tespit edilmiştir. Ek olarak gerçekleştirilen 18S rRNA metagenomik analizlerinde, ökaryotik topluluğun büyük ölçüde Chromalveolata, Chlorophyta, Excavata ve Stramenopiles filumlarından oluştuğu belirlenmiştir. Bu bulgular, aşırı tuzluluk koşullarına sahip ekosistemlerde geniş bir filogenetik çeşitliliğin mevcut olduğunu göstermektedir. Edgcomb ve Bernhard (2013), Doğu Akdeniz'deki Discovery havzasında en baskın ökaryotik taksonların Dinoflagellata ve Ciliata olduğu belirlenmiştir. Thetis havzasında ise ökaryotik çeşitliliğin büyük ölçüde Fungi tarafından temsil edildiği, ayrıca Ciliata grubunun da önemli taksonomik çeşitlilik gösterdiği saptanmıştır. Liu vd, (2016), Qinghai-Tibet Platosu'nda yürüttükleri çalışmada, ökaryotik alg topluluklarının Chlorophyta (*Chlorella*, *Dunaliella*), Bacillariophyta (*Fistulifera*), Streptophyta (*Chara*) ve Dinophyceae (*Kryptoperidinium foliaceum*) gruplarının baskın olduğu tespit edilmiştir. Zaikova vd. (2018), Avustralya'daki Lake Magic ekosisteminde yapılan mikrobiyal çeşitlilik analizlerinde, ökaryotik topluluğun büyük oranda (%98,5) Ascomycota tarafından temsil edildiğini bildirmiştir.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde yapılan bu çalışmada, ökaryotik çeşitliliğin Chlorophyta, Bacillariophyta, Ciliophora, Ochrophyta, Nematoda, Platyhelminthes, Annelida ve Eukaryota gibi filumlara ait organizmalardan oluştuğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, lagündeki mikrobiyal topluluğun mevsimsel ve çevresel değişimlere duyarlı olduğunu ve belirli dönemlerde bazı taksonların baskın hale geldiğini göstermektedir. Özellikle *Dunaliella* ve *Navicula* gibi halofilik mikroorganizmaların yüksek tuzluluk koşullarına adaptasyon sağladığı, bu nedenle kuraklık dönemlerinde popülasyon yoğunluklarının arttığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, Ciliophora ve Annelida gibi

heterotrofik grupların dönemsel değişimlerinin, organik madde birikimi ve besin zincirindeki trofik etkileşimlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.



BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden alınan su ve sediment numuneleri fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve biyoteknolojik parametreler açısından kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Arazi çalışmaları dört farklı mevsimde (Eyl/23, Ara/23, Nis/24 ve Tem/24) istasyon bazlı gerçekleştirilmiş, kültüre dayalı ve kültürden bağımsız yöntemler kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Elde edilen bulgular, su ve sediment ekosistemlerinin mevsimsel değişimlerden önemli ölçüde etkilendiğini, fizikokimyasal parametrelerin su kalitesini belirleyen temel faktörler olduğunu ve mikrobiyal yük ile çevresel değişkenler arasında anlamlı ilişkiler bulunduğunu ortaya koymuştur.

Çalışma kapsamında, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nden toplanan su (n=200) ve sediment (n=200) numunelerinden toplam 400 bakteri izolatu elde edilmiştir. Su ve sediment numunelerinin sırasıyla %79'u ve %76,5'i Gram pozitif bulunmuş olup, izolatlar arasında en yaygın morfolojik özellik basil formda gözlemlenmiştir. Mevsimsel farklılıklar dikkate alındığında, Eyl/23 ve Tem/24'te daha fazla izolat elde edilmiştir. Bu durum, sıcaklık, nem ve sediment yapısındaki değişimlerle ilişkili olabileceği gibi, Gram pozitif sporlu türlerin mevsimsel değişimlere karşı daha dirençli olduğunu destekleyen bulgularla da örtüşmektedir.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün mevcut durumu, mevsimsel döngülerle şekillenen dinamik bir ekosistem olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Eyl/23 ve Tem/24'te artan sıcaklıklar ve buharlaşma, lagünü hipersalin ve organik madde açısından yoğun bir ortama dönüştürmekte, bu da su kalitesinde belirgin bir bozulmaya yol açmaktadır. Özellikle fekal kirlilik göstergelerinin yüksek seviyelerde bulunması, lagünün halk sağlığı açısından riskli olduğunu ve antropojenik faaliyetlerden (tarım, hayvancılık, belki de insan yerleşiminden kaynaklı atıklar) yoğun bir şekilde etkilendiğini düşündürmektedir. Ara/23 ve Nis/24'te yağışların etkisiyle seyreltme gözlense de, karasal kaynaklı kirlilik taşınımı devam etmektedir. Sediment tabakası, kirlilik yükünün birikim alanı ve rezervuarı olarak işlev görmektedir, hem ağır metal toleranslı hem de antibiyotik dirençli mikroorganizmalar için uygun bir ortam sağlamaktadır.

Çalışmada belirlenen antibiyotik direnç profilleri, bölgedeki insan kaynaklı faaliyetlerin mikrobiyal topluluklar üzerinde baskın bir seçim oluşturduğunu göstermektedir. AM10, E15 ve B10 antibiyotiklerine karşı yüksek direnç oranları tespit edilmiştir. Dirençli izolatlar arasında *E. faecalis* ve *E. coli* gibi fekal kontaminasyon göstergesi türlerin yer alması, bölgedeki tarımsal işletmelerin (mandıra ve kaz çiftliği) doğrudan veya dolaylı yollarla göl sistemine atık taşıdığını düşündürmektedir. III. istasyona yakın konumlanan mandıradan gelen hayvansal atıklar ve IV. istasyon bölgesindeki kaz çiftliğinden kaynaklanan organik yük, özellikle enterik bakterilerin yayılımını ve antibiyotik direncinin yayılmasını artıran bir çevresel baskı oluşturmaktadır. Ağır metal toleransı analizleri, izolatların Mn, Zn, S, Fe ve Cu gibi metaller karşısında farklı direnç seviyeleri gösterdiğini ortaya koymuştur. B3S6 ve C2T10 gibi izolatların hem antibiyotiklere hem de ağır metaller yüksek tolerans göstermesi, bölgede çoklu stres faktörlerinin mikrobiyal toplulukları şekillendirdiğini göstermektedir. Antibiyotik ve ağır metal kirliliğinin birlikte bulunması, bu stres faktörlerine dirençli suşların seçimini artırarak potansiyel halk sağlığı riskleri doğurabilmektedir.

Çalışmada belirlenen biyoteknolojik potansiyel, özellikle çevresel baskılarla şekillenen mikroorganizmaların üretim kapasiteleri üzerinden değerlendirilmiştir. A3T5 izolatının 76,0 mg/L düzeyindeki EPS üretimi, çevresel stres altında biyopolimer sentez kapasitesinin arttığını göstermektedir. Benzer şekilde A2S5, D2S1 ve C2S9 izolatlarının yüksek rodopsin üretimi, fototrofik metabolizmaların varlığını ve ışıkla ilişkili enerji dönüşüm süreçlerinin işlediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca siderofor üretimi, fosfat çözünürlüğü ve azot fiksasyonu gibi PGP gösteren izolatlar da elde edilmiştir. Bu özellikler, söz konusu bakterilerin tarımsal biyoteknoloji, çevresel ve endüstriyel uygulamalarda değerlendirilme potansiyelini güçlendirmektedir.

Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nde gerçekleştirilen metabarkodlama analizleri, lagünün filum, familya ve cins düzeyinde zengin bir mikrobiyal topluluğa ev sahipliği yaptığını ve bu taksonomik çeşitliliğin lagünün karmaşık ekolojik yapısını yansıttığını göstermektedir. Özellikle Eyl/23 ve Tem/24'te artan sıcaklık ve buharlaşmaya bağlı olarak ASV sayılarındaki belirgin artış, lagünün yüksek tuzluluk koşullarında bile aktif bir mikrobiyal metabolizmaya sahip olduğunu ortaya koymuştur. 16S rRNA analizlerinde Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidota, Cyanobacteria, Halobacteriota ve Nanoarchaeota gibi filumların

baskınlığı, lagünün çevresel stres faktörlerine adapte olmuş geniş bir bakteri ve arke yelpazesi barındırdığını göstermektedir. Özellikle Halobacteriota ve Nanoarchaeota gibi arke gruplarının bulunması, lagünün ekstrem hipersalin bir ekosistem olduğu tezini güçlendirmektedir. Familya düzeyinde Halobacteriaceae, Halanaerobiaceae gibi tuzcu grupların tespiti de bu adaptasyonu desteklemektedir. Ökaryotik toplulukta ise Chlorophyta (*Dunaliella*), Bacillariophyta (*Navicula*, *Chaetoceros*) ve Ciliophora (*Ephelota*) gibi fotosentetik alg ve protistlerin varlığı, lagünde birincil üretimin aktif olduğunu ve farklı trofik seviyelerden canlıların bulunduğunu göstermektedir. *Dunaliella* gibi yüksek tuzluluğa dayanıklı alglerin varlığı, lagünün bu zorlu koşullara adapte olmuş özel ekolojik nişler içerdiğinin önemli bir kanıtıdır.

Metabarkodlama verilerinden elde edilen tür ve cins bilgileri, lagünün mevcut kirlilik durumu hakkında önemli göstergeler sunmaktadır. *Tetraselmis* cinsi alglerin anormal derecede yüksek oranlarda bulunması, lagünde dışsal bir kirlilik veya bozulma olduğunu düşündüren bir biyoindikatör olarak değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra, lagünde tespit edilen fekal indikatör bakterilerin varlığı, antropojenik kaynaklı kirliliğin devam ettiğini teyit etmektedir. Bu bulgular, lagünün genel olarak kirli ve yer yer çok kirli bir yapıya sahip olduğunu, ancak mevsimsel seyreltme ve doğal döngülerle kısmen toparlanma eğilimleri de gösterebildiğini düşündürmektedir. Öte yandan, tuzluluk ve organik madde içeriği gibi parametrelerle ilişkili olarak bulunan dirençli ve adapte olmuş türler, lagünün doğal dinamiklerinin bir parçası olarak bu koşullara karşı dayanıklılığını da göstermektedir.

Tespit edilen halofilik ve halotolerant mikroorganizmaların birçoğu, ekstrem koşullara dayanıklı olmaları nedeniyle endüstriyel uygulamalarda büyük önem taşımaktadır. *Marinobacter*, *Halomonas*, *Halanaerobium* gibi cinsler, biyoremediasyon, enzim üretimi ve biyoyakıt gibi alanlarda potansiyel barındırabilir. Moleküler analizlerde hem halofilik hem de halotolerant türlerin saptanması, Gökçeada Tuz Gölü Lagünü'nün zengin bir mikrobiyal çeşitliliğe sahip olduğunu ortaya koymaktadır. *Bacillus*, *Marinococcus*, *Sporosarcina*, *Halomonas*, *Pseudoalteromonas* ve *Enterococcus* gibi cinslere ait izolatlar, yüksek sıcaklık, tuzluluk ve ozmotik stres gibi ekstrem çevresel koşullarda yaşamlarını sürdürebilme yetenekleri ile dikkat çekmektedir. *Dunaliella* gibi algler, yüksek değerli karotenoidler ve gliserol üretimiyle kozmetik, gıda takviyesi ve biyoyakıt sektörleri için ticari açıdan değerli

olabilmektedir. Ayrıca, protozoa sekanslarının sediment numunelerinde tespit edilmesi, lagün sisteminin yarı akuatik ve geçişli bir ekolojik karakter taşıdığını göstermektedir.

Lagünün mevcut durumu ve biyoteknolojik potansiyeli göz önüne alındığında, aşağıdaki öneriler geliştirilmiştir:

- Lagünü etkileyen tarımsal ve hayvansal atıkların (özellikle mandıra ve kaz çiftlikleri) kaynağında arıtılması ve deşarj standartlarına uygun hale getirilmesi için eylem planları geliştirilmelidir.
- Periyodik kirlilik yükü analizleri yapılarak, lagüne giren kirletici akışların (besin maddeleri, organik madde, ağır metaller) nicel olarak belirlenmesi ve zaman içindeki değişimleri takip edilmelidir.
- Lagünün mikrobiyal ekosistem sağlığını değerlendirmek için sürekli analiz sistemleri kurulmalıdır. Özellikle *Tetraselmis* ve *Proteobacteria* gibi potansiyel kirlilik indikatörü türlerin bolluk değişimleri, erken uyarı sistemi olarak kullanılmalıdır.
- Antibiyotik direnç genlerinin yayılım dinamiklerini izlemek için kantitatif PCR gibi moleküler yöntemler düzenli izleme programlarına dahil edilmelidir. Sediment, birincil rezervuar olarak öncelikli örnekleme alanı olmalıdır.
- Fekal kirlilik kaynaklarının ayrımı için mikrobiyal kaynak takibi yöntemleri uygulanarak, kirliliğin ana kaynakları kesin olarak belirlenmelidir.
- Lagündeki organik madde birikimini azaltmaya yönelik biyoremediasyon stratejileri değerlendirilmelidir.
- Çalışmada belirlenen ağır metal toleranslı bakteri izolatları, pilot ölçekte biyoremediasyon uygulamalarında test edilerek lagündeki metal kirliliğini azaltma potansiyelleri araştırılmalıdır.

- EPS üreten suşların biyofilm oluşturma ve kirleticileri bağlama kapasiteleri, biyoremediasyon stratejileri için değerlendirilmelidir.

- Lagünden izole edilen PGP özellikteki halofilik bakteri suşları, tuz stresine toleranslı bitki türleri için biyogübre veya biyostimülan olarak geliştirme potansiyeli taşımaktadır. Bu suşların ticarileşme potansiyeli, tarımsal araştırmalarla desteklenmelidir.

- Yüksek rodopsin veya diğer biyoaktif bileşikler üreten halofilik mikroorganizmaların biyoteknolojik potansiyeli, endüstriyel mikrobiyoloji ve biyoenerji alanında ileri araştırmalarla derinleştirilmelidir.

- Lagünün mikrobiyal gen bankası, ekstrem ortamlara adapte olmuş yeni enzimler, biyopolimerler ve antibiyotiklerin keşfi için stratejik bir kaynak olarak kabul edilmeli ve korunmalıdır.

- Yerel paydaşlar, çiftçiler ve halk arasında lagünün ekolojik değeri, kirlilik kaynakları ve sağlık riskleri hakkında bilimsel temelli bilinçlendirme programları yürütülmelidir.

KAYNAKÇA

- Abed, R. M. M., Kohls, K., Leloup, J. ve De'Beer, D. (2018). "Abundance and diversity of aerobic heterotrophic microorganisms and their interaction with *Cyanobacteria* in the oxic layer of an intertidal hypersaline cyanobacterial mat". *FEMS Microbiology Ecology*, 94(2). <https://doi.org/10.1093/femsec/fix183>.
- Ahmad, F., Ahmad, I. ve Khan, M. (2008). "Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities". *Microbiological Research*, 163, 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>.
- Ahmed, E. ve Holmström, S. J. (2014). "Siderophores in environmental research: roles and applications". *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196-208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>.
- Akpolat, C. (2022). Tuz Gölü ve tuzlalarının Kimyasal Analizleri, Bakteri ve Arke Çeşitlilikleri. Yayınlanmış Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- Allard, B. ve Tazi, A. (1993). "Influence of growth status on composition of extracellular polysaccharides from two *Chlamydomonas* species". *Phytochemistry*, 32, 41-47. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80103-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80103-L).
- Al-Mailem, D. M., Eliyas, M. ve Radwan, S. S. (2013). "Oil-bioremediation potential of two hydrocarbonoclastic, diazotrophic *Marinobacter* strains from hypersaline areas along the Arabian Gulf coasts". *Extremophiles*, 17, 463-470. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0530-z>.
- Almeida-Dalmet, S. ve Baxter, B. K. (2020). "Unexpected complexity at salinity saturation: microbial diversity of the north arm of Great Salt Lake". *Great Salt Lake Biology: A Terminal Lake in a Time of Change*, 119-144. https://doi.org/10.1007/978-3-030-40352-2_5.
- Amaral-Zettler, L. A., McCliment, E. A., Ducklow, H. W. ve Huse, S. M. (2009). "A method for studying protistan diversity using massively parallel sequencing of V9 hypervariable regions of small-subunit ribosomal RNA genes". *PloS One*, 4(7), e6372. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006372>.

- Andrews, S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.
- Anonim, (2023). Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği- I. Bölüm. *Resmi Gazete*, Sayı: 25687, 31 Aralık 2024, 7-29.
- Anonim, (2025). Meteoroloji Verileri. Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Çanakkale Meteoroloji İstasyonu, 31 Aralık 2024.
- Arias, S., Del Moral, A., Ferrer, M. R., Tallon, R., Quesada, E. ve Bejar, V. (2003). “Mauran, an exopolysaccharide produced by the halophilic bacterium *Halomonas maura*, with a novel composition and interesting properties for biotechnology”. *Extremophiles*, 7, 319-326. <https://doi.org/10.1007/s00792-003-0325-8>.
- Ashbolt, N. J. (2004). “Risk analysis of drinking water microbial contamination versus disinfection by-products (DBPs)”. *Toxicology*, 198(1-3), 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.01.034>.
- Aslan, H., Elipek, B., Gönülal, O., Baytut, Ö., Kurt, Y. ve İnanmaz, Ö.E. (2021). “Gökçeada Salt Lake: A case study of seasonal dynamics of wetland ecological communities in the context of anthropogenic pressure and nature conservation”. *Wetlands*, 41(2), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13157-021-01401-0>.
- Aslan, H., Gonulal, O., Can-Yilmaz, E., Elipek, B., Baytut, O. ve Tosunoglu, M. (2018). “Species diversity in lentic, lotic, marine and terrestrial biotopes of Gökçeada Salt Lake Wetland (Canakkale, Turkey)”. *Fresenius Environmental Bulletin*, 5, 2853-2866.
- Balcı, R. S. (2007). Seyhan Baraj Gölünün Bakteriyolojik Kirlilik Düzeyinin Belirlenmesi ve Enterobacteriaceae Üyelerinde Antibiyotik Dirençliliği. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Baş, E. (2023). Büyük Melen Çayı’nın Farklı Kıyı Zonlarının Bazı Vegetasyon ve Toprak Özelliklerinin Değişimine Etkilerinin Araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı, Bartın.

- Başer, H. ve Yüksekdağ, Z. (2019). “Exopolysaccharide (EPS) production of halophilic bacteria”. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2(2), 84-89. <https://doi.org/10.48291/597078>.
- Baquero, F., Martínez, J. L. ve Cantón, R. (2008). “Antibiotics and antibiotic resistance in water environments”. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>.
- Berger, B., Brock, A. K. ve Ruppel, S. (2013). “Nitrogen supply influences plant growth and transcriptional responses induced by *Enterobacter radicincitans* in *Solanum lycopersicum*”. *Plant and Soil*, 370, 641-652. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1633-0>.
- Bilgi, S. T. (2012). Ham Derilerden İzole Edilen Halofilik Arkelerin Hidrolitik Enzim Kapasitelerinin Belirlenmesi, Fenotipik ve Filogenetik Olarak Tanımlanması. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale.
- Biswas, J., Jana, S. K. ve Mandal, S. (2023). “Biotechnological impacts of *Halomonas*: a promising cell factory for industrially relevant biomolecules”. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 39(2), 348-377. <https://doi.org/10.1080/02648725.2022.2131961>.
- Blaxter, M., Mann, J., Chapman, T., Thomas, F., Whitton, C., Floyd, R. ve Abebe, E. (2005). “Defining operational taxonomic units using DNA barcode data”. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1462), 1935-1943. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1725>.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A. ve Caporaso, J. G. (2019). “Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2”. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852-857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0190-3>.
- Bonete, M. J., Bautista, V., Esclapez, J., García-Bonete, M. J., Pire, C., Camacho, M. ve Martínez-Espinosa, R. (2015). “New uses of haloarchaeal species in bioremediation processes”. *Advances in Bioremediation of Wastewater and Polluted Soil*, 23-49. <https://doi.org/10.5772/60667>.

- Borowitzka, M. A. ve Siva, C. J. (2007). "The taxonomy of the genus *Dunaliella* (Chlorophyta, *Dunaliellales*) with emphasis on the marine and halophilic species". *Journal of Applied Phycology*, 19(5), 567–590. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9171-x>.
- Boutaiba, S., Hacene, H., Bidle, K. A. ve Maupin-Furlow, J. A. (2011). "Microbial diversity of the hypersaline Sidi Ameur and Himalatt Salt Lakes of the Algerian Sahara". *Journal of Arid Environments*, 75(10), 909–916. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2011.04.010>.
- Boyd, C. E. (2000). *Water Quality: An Introduction*. Springer Science ve Business Media.
- Boyd, C. E. ve Tucker, C. S. (2012). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Springer Science ve Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5407-3>.
- Boyd, R. S., Krell, N. T. ve Rajakaruna, N. (2016). "Extreme environments". *Oxford Bibliography Online Datasets*, 60(152), 9780199830060-0152. <https://doi.org/10.1093/OBO/9780199830060-0152>.
- Bratanov, D., Balandin, T., Round, E., Shevchenko, V., Gushchin, I., Polovinkin, V. ve Gordeliy, V. (2015). "An approach to heterologous expression of membrane proteins. The case of bacteriorhodopsin". *PLoS One*, 10(6), e0128390. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128390>.
- Byappanahalli, M. N., Nevers, M. B., Korajkic, A., Staley, Z. R. ve Harwood, V. J. (2012). "Enterococci in the environment". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), 685-706. <https://doi.org/10.1128/membr.00023-12>.
- Cabello, F. C., Godfrey, H. P., Buschmann, A. H. ve Dölz, H. J. (2013). "Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance". *The Lancet Infectious Diseases*, 13(10), e127–e133.
- Cabral, J. P. (2010). "Water microbiology. Bacterial pathogens and water". *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(10), 3657-3703. <https://doi.org/10.3390/ijerph7103657>.

- Callahan, B. J., McMurdie, P. J. ve Holmes, S. P. (2017). "Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis". *The ISME Journal*, 11(12), 2639-2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A. ve Holmes, S. P. (2016). "DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data". *Nature Methods*, 13(7), 581-583. <http://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Chakraborty, J., Mangwani, N., Dash, H. R., Kumari, S., Kumar, H. ve Das, S. (2016). "Marine bacterial exopolysaccharides: Functional diversity and prospects in environmental restoration". *Marine Glycobiology*, 255-274. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315371399-31>.
- Chakraborty, S., Khopade, A., Biao, R., Jian, W., Liu, X.Y., Mahadik, K. ve Kokare, C. (2011). "Characterization and stability studies on surfactant, detergent and oxidant stable α -amylase from marine haloalkaliphilic *Saccharopolyspora* sp. A9". *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 68(1), 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2010.09.009>.
- Chikkanna, A., Ghosh, D. ve Kishore, A. (2018). "Expression and characterization of a potential exopolysaccharide from a newly isolated halophilic thermotolerant bacteria *Halomonas nitroreducens* strain WB1". *PeerJ*, 1-18. <https://doi.org/10.7717/peerj.4684>.
- Choi, J. ve Park, J. S. (2020). "Comparative analyses of the V4 and V9 regions of 18S rDNA for the extant eukaryotic community using the Illumina platform". *Scientific Reports*, 10(1), 6519. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63561-z>.
- Chookietwattana, K. ve Maneewan, K. (2012). "Selection of efficient salt-tolerant bacteria containing ACC deaminase for promotion of tomato growth under salinity stress". *Soil ve Environment*, 31(1).
- Cochrane, G., Karsch-Mizrachi, I., Takagi, T. ve Sequence Database Collaboration, I. N. (2016). "The international nucleotide sequence database collaboration". *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D48-D50. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1323>.
- CLSI (2024). "Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests". 14th Ed. CLSI Standard M02. Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Çelik, S. K. (2021). "A Preliminary Metabarcoding study of prokaryotes in Gökçeada Salt Lake Lagoon, Turkey". *European Journal of Biology*, 80(1), 69-74. <https://doi.org/10.26650/EurJBiol.2021.0088>.
- Çınar, S. ve Mutlu, M. B. (2016). "Comparative analysis of prokaryotic diversity in Solar Salterns in Eastern Anatolia (Turkey)". *Extremophiles*, 20(5), 589-601. <https://doi.org/10.1007/s00792-016-0845-7>.
- D'Amico, S., Collins, T., Marx, J. C., Feller, G. ve Gerday, C. (2006). "Psychrophilic microorganisms: challenges for life". *EMBO Reports*, 7(4), 385-389. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400662>.
- Dang, H., Zhu, H., Wang, J. ve Li, T. (2009). "Extracellular hydrolytic enzyme screening of culturable heterotrophic bacteria from deep-sea sediments of the Southern Okinawa Trough". *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 71-79. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9865-5>.
- Delgado-García, M., Valdivia-Urdiales, B., Aguilar-González, C. N., Contreras-Esquivel, J. C. ve Rodríguez-Herrera, R. (2012). "Halophilic hydrolases as a new tool for the biotechnological industries". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(13), 2575–2580. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5860>.
- Doğan, S. Ş. (2022). Metagenomik Yaklaşım ile Tuz Gölündeki Alg, Bakteri ve Arke Çeşitliliğinin Araştırılması. Yayınlanmış Doktora Tezi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Karaman.
- Doğan, S. Ş. ve Kocabaş, A. (2021). "Metagenomic assessment of prokaryotic diversity within hypersaline Tuz Lake, Turkey". *Microbiology*, 90, 647-655. <https://doi.org/10.1134/S0026261721050118>.
- Dutta, B. ve Bandopadhyay, R. (2022). "Biotechnological potentials of halophilic microorganisms and their impact on mankind". *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 75. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00252-w>.
- Edbeib, M. F., Wahab, R. A. ve Huyop, F. (2016). "Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments". *World Journal of*

- Microbiology and Biotechnology*, 32, 1-23. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2081-9>.
- Edberg, S. C. L., Rice, E. W., Karlin, R. J. ve Allen, M. J. (2000). “*Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection”. *Journal of Applied Microbiology*, 88(S1), 106S-116S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x>.
- Edgar, R. C. (2013). “UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads”. *Nature Methods*, 10(10), 996-998. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>.
- Edgcomb, V. ve Bernhard, J. (2013). “Heterotrophic protists in hypersaline microbial mats and deep hypersaline basin water columns”. *Life*, 3(2), 346–362. <https://doi.org/10.3390/life3020346>.
- Edgcomb, V. P., Bernhard, J. M., Summons, R. E., Orsi, W., Beaudoin, D. ve Visscher, P. T. (2014). “Active eukaryotes in microbialites from Highborne Cay, Bahamas, and Hamelin Pool (Shark Bay), Australia”. *The ISME Journal*, 8(2), 418–429. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.130>.
- Egamberdieva, D., Davranov, K., Wirth, S., Hashem, A. ve Abd_Allah, E. F. (2017). “Impact of soil salinity on the plant-growth-promoting and biological control abilities of root associated bacteria”. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(7), 1601-1608. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.07.004>.
- Elevi Bardavid, R., Khristo, P. ve Oren, A. (2008). “Interrelationships between *Dunaliella* and halophilic prokaryotes in saltern crystallizer ponds”. *Extremophiles*, 12(1), 5–14. <https://doi.org/10.1007/s00792-006-0053-y>.
- Elleuche, S., Schäfers, C., Blank, S., Schröder, C. ve Antranikian, G. (2015). “Exploration of extremophiles for high temperature biotechnological processes”. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.05.011>.
- Etesami, H. ve Beattie, G. A. (2018). “Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops”. *Frontiers in Microbiology*, 9, 148. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00148>.

- Falb, M., Müller, K., Königsmaier, L., Oberwinkler, T., Horn, P., von Gronau, S. ve Oesterheld, D. (2008). "Metabolism of halophilic archaea". *Extremophiles*, 12(2), 177–196. <https://doi.org/10.1007/s00792-008-0138-x>.
- Falkowski, P. G., Fenchel, T. ve Delong, E. F. (2008). "The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles". *Science*, 320(5879), 1034-1039. <https://doi.org/10.1126/science.1153213>.
- Fasolo, A., Deb, S., Stevanato, P., Concheri, G. ve Squartini, A. (2024). "ASV vs OTUs clustering: Effects on alpha, beta, and gamma diversities in microbiome metabarcoding studies". *PLoS One*, 19(10), e0309065. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0309065>.
- Fathepure, B. Z. (2014). "Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments". *Frontiers in Microbiology*, 5, 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00173>.
- Fernández, A. B., Ghai, R., Martin-Cuadrado, A.-B., Sánchez-Porro, C., Rodriguez-Valera, F. ve Ventosa, A. (2014). "Prokaryotic taxonomic and metabolic diversity of an intermediate salinity hypersaline habitat assessed by metagenomics". *FEMS Microbiology Ecology*, 88(3), 623–635. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12329>.
- Ferrer, M., Golyshina, O. V., Chernikova, T. N., Khachane, A. N., Martins dos Santos, V. A. P., Yakimov, M. M. ve Golyshin, P. N. (2005). "Microbial enzymes mined from the Urania Deep-Sea hypersaline anoxic basin". *Chemistry ve Biology*, 12(8), 895–904. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2005.05.020>.
- Field, A. (2024). "Discovering statistics using IBM SPSS statistics". Sage publications limited.
- Finstein, M. S. (1972). *Pollution Microbiology a Laboratory Manual*. Marcel Dekker Inc., New York. 213 s. Erişim adresi: <https://eric.ed.gov/?id=ED069480>.
- Fowler, J., Cohen, L. ve Jarvis, P. (2013). *Practical Statistics for Field Biology*. John Wiley ve Sons.
- Gadd, G. M. (2009). "Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment". *Journal of Chemical*

Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology, 84(1), 13-28. <https://doi.org/10.1002/jctb.1999>.

Galinski, E. A. (1993). "Compatible solutes of halophilic eubacteria: molecular principles, water-solute interaction, stress protection". *Experientia*, 49(6–7), 487–496. <https://doi.org/10.1007/bf01955150>.

García, M. T., Mellado, E., Ostos, J. C. ve Ventosa, A. (2004). "*Halomonas organivorans* sp. nov., a moderate halophile able to degrade aromatic compounds". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(5), 1723-1728. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63114-0>.

Gawas, P. ve Kerkar, S. (2023). "Bacterial diversity and community structure of salt pans from Goa, India". *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1230929>.

Geldreich, E. E. (1978). "Bacterial populations and indicator concepts in feces, sewage, stormwater and solid wastes". <https://doi.org/10.1969.1/1581938>.

Ghai, R., Pašić, L., Fernández, A. B., Martin-Cuadrado, A.-B., Mizuno, C. M., McMahon, K. D. ve Rodríguez-Valera, F. (2011). "New abundant microbial groups in aquatic hypersaline environments". *Scientific Reports*, 1(1), 135. <https://doi.org/10.1038/srep00135>.

Ghosh, S., Kumar, S. ve Khare, S. K. (2019). "Microbial diversity of saline habitats: an overview of biotechnological applications". *Microorganisms in Saline Environments: Strategies and Functions*, 65-92. https://doi.org/10.1007/978-3-030-18975-4_4.

Gibtan, A., Park, K., Woo, M., Shin, J. K., Lee, D. W., Sohn, J. H. ve Lee, H. S. (2017). "Diversity of extremely halophilic archaeal and bacterial communities from commercial salts". *Frontiers in Microbiology*, 8, 799. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00799>.

Gomariz, M., Martínez-García, M., Santos, F., Rodriguez, F., Capella-Gutiérrez, S., Gabaldon, T. ve Anton, J. (2015). "From community approaches to single-cell genomics: the discovery of ubiquitous hyperhalophilic Bacteroidetes generalists". *The ISME Journal*, 9(1), 16-31. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.95>.

- Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P. ve Thakker, J.N. (2014). "Screening of PGPR from saline desert of Kutch: growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2". *Microbiological Research*, 169(1), 66-75. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.004>.
- Govorunova, E. G., Sineshchekov, O. A., Li, H. ve Spudich, J. L. (2017). "Microbial rhodopsins: diversity, mechanisms, and optogenetic applications". *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), 845-872. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-101910-144233>.
- Gönülal, O., Kurt, Y., Elipek, B., Baytut, Ö., Inanmaz, Ö. E. ve Aslan, H. (2021). "Gökçeada Salt Lake: a case study of seasonal dynamics of wetland ecological communities in the context of anthropogenic pressure and nature conservation". *Wetlands*, 41(23), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13157-021-01401-0>.
- Grant, W. D. ve Sorokin, D. Y. (2011). "Distribution and diversity of soda lake alkaliphiles". *Extremophiles Handbook*, 27-54. Springer.
- Graves, A. K. ve Hagedorn, C. (2011). "Identifying sources of fecal pollution in water with antibiotic resistance patterns". *Environmental Research Journal*, 5(6), 749-774.
- Guillou, L., Bachar, D., Audic, S., Bass, D., Berney, C., Bittner, L. ve Boutte, C. (2013). "The protist ribosomal reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy". *Nucleic Acids Research*, 41, D597–604. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1160>.
- Gunde-Cimerman, N., Plemenitaš, A. ve Oren, A. (2018). "Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations". *FEMS Microbiology Reviews*, 42(3), 353-375. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy009>.
- Gutierrez, T., Morris, G. ve Green, D. H. (2009). "Yield and physicochemical properties of EPS from *Halomonas* sp. strain TG39 identifies a role for protein and anionic residues (sulfate and phosphate) in emulsification of n-hexadecane". *Biotechnology and Bioengineering*, 103(1), 207-216. <https://doi.org/10.1002/bit.22218>.
- Güngör, N., İpek, Z. Z., Er, A. ve Kayış, Ş. (2021). "Farklı sucul sistemlerden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençliliklerinin karşılaştırılması". *Journal of Anatolian*

Environmental and Animal Sciences, 6(1), 25-30.
<https://doi.org/10.35229/jaes.804414>.

Gürğün, V. ve Halkman, A.K. (1990). Mikrobiyolojide sayım yöntemleri. Gıda Teknoloji Derneği, Yayın no. 7: (2. Baskı), Ankara. 2-98.

Güven, K., Matpan Bekler, F. ve Gul Guven, R. (2018). “Thermophilic and halophilic microorganisms isolated from extreme environments of Turkey, with potential biotechnological applications”. *Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications*, 8, 219-264. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0329-6_8.

Hacıoğlu Doğru, N. (2020). “Gökçeada Tuz Gölü halofilik mikroorganizma varlığı ve endüstriyel enzim üretimlerinin araştırılması”. *Fen ve Matematik Bilimlerinde Güncel Araştırmalar*, 11-28. Cetinje: IVPE.

Haferburg, G., Gröning, J., Schmidt, N., Erquicia, J. C. ve Schlömann, M. (2019). “Exploration of the prokaryotic diversity in the hypersaline and lithium-rich Salar de Uyuni, Bolivia by DNA metabarcoding”. *Studia Universitatis Babes-Bolyai, Biologia*, 64(1), 98.

Häusler, S., Weber, M., de Beer, D. ve Ionescu, D. (2014). “Spatial distribution of diatom and cyanobacterial mats in the Dead Sea is determined by response to rapid salinity fluctuations”. *Extremophiles*, 18(6), 1085–1094. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0686-1>.

Heidelberg, K. B., Nelson, W. C., Holm, J. B., Eisenkolb, N., Andrade, K. ve Emerson, J. B. (2013). “Characterization of eukaryotic microbial diversity in hypersaline Lake Tyrrell, Australia”. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00115>.

Henley, W. J., Cobbs, M., Novoveská, L. ve Buchheim, M. A. (2018). “Phylogenetic analysis of *Dunaliella* (Chlorophyta) emphasizing new benthic and supralittoral isolates from Great Salt Lake”. *Journal of Phycology*, 54(4), 483–493. <https://doi.org/10.1111/jpy.12747>.

Hofacker, A. F., Behrens, S., Voegelin, A., Kaegi, R., Lösekann-Behrens, T., Kappler, A. ve Kretzschmar, R. (2015). “*Clostridium* species as metallic copper-forming bacteria in

- soil under reducing conditions”. *Geomicrobiology Journal*, 32(2), 130-139. <https://doi.org/10.1080/01490451.2014.933287>.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. ve Williams, S. T. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* vol. 9. Baltimore, MD: Lippincott Williams ve Wilkins.
- Hugoni, M., Escalas, A., Bernard, C., Nicolas, S., Jézéquel, D., Vazzoler, F. and Agogu  , H. (2018). “Spatiotemporal variations in microbial diversity across the three domains of life in a tropical thalassohaline lake (Dziani Dzaha, Mayotte Island)”. *Molecular Ecology*, 27(23), 4775–4786. <https://doi.org/10.1111/mec.14901>.
- Ihara, K., Narusawa, A., Maruyama, K., Takeguchi, M. ve Kouyama, T. (2008). “A halorhodopsin-overproducing mutant isolated from an extremely haloalkaliphilic archaeon *Natronomonas pharaonis*”. *FEBS Letters*, 582(19), 2931-2936. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.07.030>.
- Ishii, S. ve Sadowsky, M. J. (2008). “*Escherichia coli* in the environment: implications for water quality and human health”. *Microbes and Environments*, 23(2), 101-108. <https://doi.org/10.1264/jsme2.23.101>.
-   brahim, I. M., Konnova, S. A., Sigida, E. N., Lyubun, E. V., Muratova, A. Y., Fedonenko, Y. P. ve Elbanna, K. (2020). “Bioremediation potential of a halophilic *Halobacillus* sp. strain, EG1HP4QL: Exopolysaccharide production, crude oil degradation, and heavy metal tolerance”. *Extremophiles*, 24, 157-166. <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01143-2>.
- Jacob, J. H., Hussein, E. I., Shakhathreh, M. A. K. ve Cornelison, C. T. (2017). “Microbial community analysis of the hypersaline water of the Dead Sea using high-throughput amplicon sequencing”. *Microbiology Open*, 6(5), e00500. <https://doi.org/10.1002/mbo3.500>.
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T. ve Ishii, S. (2017). “Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review”. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570-581. <https://doi.org/10.1264/jsme2.23.101>.

- Jarecki, L., Burton-MacLeod, S. M. ve Garbary, D. J. (2006). "Ecology of algal mats from hypersaline ponds in the British Virgin Islands". *Algae*, 21(2), 235–243. <https://doi.org/10.4490/ALGAE.2006.21.2.235>.
- Jones, B. E. ve Grant, W. D. (2000). "Microbial diversity and ecology of alkaline environments". *Journey to Diverse Microbial Worlds*, 177–190. Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4269-4_13.
- Kalenov, S. V., Baurina, M. M., Skladnev, D. A. ve Kuznetsov, A. Y. (2016). "High-effective cultivation of *Halobacterium salinarum* providing with bacteriorhodopsin production under controlled stress". *Journal of Biotechnology*, 233, 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.014>.
- Kanekar, P. P., Kanekar, S. P., Kelkar, A. S. ve Dhakephalkar, P. K. (2012). "Halophiles—taxonomy, diversity, physiology and applications". *Microorganisms in Environmental Management: Microbes and Environment*, 1-34. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2229-3_1.
- Kang, C. H., Kwon, Y. J. ve So, J. S. (2016). "Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures". *Ecological Engineering*, 89, 64-69. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.023>.
- Kasana, R. C. ve Pandey, C. B. (2018). "*Exiguobacterium*: An overview of a versatile genus with potential in biotechnology". *Indian Journal of Microbiology*, 58(4), 419–426. <https://doi.org/10.1007/s12088-018-0768-4>.
- Kaya Özdoğan, D. (2020). Ankara İli Topraklarından Bitki Büyümesini Teşvik Edici Bakterilerin İzolasyonu, Tanımlanması ve Genetik Çeşitliliklerinin Belirlenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Keloğlu, B. (2017). Atık Sulardan İzole Edilen *Pseudomonas* spp. ile Kurşun (II) ve Nikel (II) Ağır Metallerinin Giderimi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Nevşehir.
- Khademian, M. ve Imlay, J. A. (2021). "How microbes evolved to tolerate oxygen". *Trends in Microbiology*, 29(5), 428-440. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.10.001>.

- Kırkağaç, M., Gümüş, E. ve Yokuş, G. (2017). “Tuz Gölü’nde çevresel faktörlerin *Artemia* popülasyonuna etkisi”. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 303–312.
- Kim, Y. J. (2010). Characterization of the Sensory Rhodopsin II, Transducer II Complexes from *Halobacterium salinarum*. Yayınlanmış Doktora Tezi, Dortmund Technology University, Dortmund.
- Kirchman, D. L. (2018). Processes in Microbial Ecology. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198789406.001.0001>.
- Kjeldsen, K. U., Loy, A., Jakobsen, T. F., Thomsen, T. R., Wagner, M. ve Ingvorsen, K. (2007). “Diversity of sulfate-reducing bacteria from an extreme hypersaline sediment, Great Salt Lake (Utah)”. *FEMS Microbiology Ecology*, 60(2), 287–298. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00288.x>.
- Kolde, R. (2019). P-heatmap: Pretty Heatmaps. R package version 1.0.12. <https://CRAN.R-project.org/package=pheatmap>.
- Krienitz, L., Bock, C., Kotut, K. ve Luo, W. (2012). “*Picocystis salinarum* (Chlorophyta) in saline lakes and hot springs of East Africa”. *Phycologia*, 51(1), 22–32. <https://doi.org/10.2216/11-28.1>.
- Kumar, R., Merugu, R., Mohapatra, S. ve Sharma, S. (2022). “Extremophiles life of microorganisms in extreme environments”. *Extremophiles*, 43-66. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003014188-3>.
- Kumar, S., Rajagopalan, H. ve Khare, S. (2016). “Halophiles as a source of polyextremophilic α amylase for industrial applications”. *AIMS Microbiology*, 2(1), 1-26. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2016.1.1>.
- Küçükıyıldırım Celik, S. ve Ünal, H. (2021). “Metabarkodlama yaklaşımıyla Tuz Gölü, Türkiye mikroorganizmalarının belirlenmesi için bir pilot çalışma”. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (19), 366-374. <https://doi.org/10.31590/ejosat.682557>.
- Leclerc, H. D. A. A., Mossel, D. A. A., Edberg, S. C. ve Struijk, C. B. (2001). “Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water

- safety”. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 201-234. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.201>.
- Lee, S. Y., Chang, H. N., Um, Y. S. ve Hong, S. H. (1998). “Bacteriorhodopsin production by cell recycle culture of *Halobacterium halobium*”. *Biotechnology Letters*, 20, 763-765. <https://doi.org/10.1023/A:1005394905409>.
- Lentendu, G., Bruni, E. P., Ah-Peng, C., Fujinuma, J., Kubota, Y., Lorite, J. ve Mitchell, E. A. (2023). “Soil filtration-sedimentation improves shelled protist recovery in eukaryotic eDNA surveys”. *Molecular Ecology Resources*, 23(6), 1361-1371. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13808>.
- León, M. J., Fernández, A. B., Ghai, R., Sánchez-Porro, C., Rodríguez-Valera, F. ve Ventosa, A. (2014). “From metagenomics to pure culture: isolation and characterization of the moderately halophilic bacterium *Spiribacter salinus* gen. nov. sp. nov”. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(13), 3850-3857. <https://doi.org/10.1128/AEM.00430-14>.
- Leoni, C., Volpicella, M., Fosso, B., Manzari, C., Piancone, E., Dileo, M. C. ve Ceci, L. R. (2020). “A differential metabarcoding approach to describe taxonomy profiles of bacteria and archaea in the saltern of Margherita di Savoia (Italy)”. *Microorganisms*, 8(6), 936. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060936>.
- Liu, X., Hou, W., Dong, H., Wang, S., Jiang, H., Wu, G. ve Li, G. (2016). “Distribution and diversity of *Cyanobacteria* and Eukaryotic Algae in Qinghai–Tibetan Lakes”. *Geomicrobiology Journal*, 33(10), 860–869. <https://doi.org/10.1080/01490451.2015.1120368>.
- Llamas, I., Amjres, H., Mata, J. A., Quesada, E. ve Béjar, V. (2012). “The potential biotechnological applications of the exopolysaccharide produced by the halophilic bacterium *Halomonas almeriensis*”. *Molecules*, 17(6), 7103-7120. <https://doi.org/10.3390/molecules17067103>.
- Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J. P., Hector, A. ve Wardle, D. A. (2001). “Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges”. *Science*, 294(5543), 804-808. <https://doi.org/10.1126/science.1064088>.

- Manivasagam, P., Sivasankar, P., Venkatesan, J., Senthilkumar, K., Sivakumar, K. ve Kim, S. (2013). "Production and characterization of an extracellular polysaccharide from *Streptomyces violaceus* MM72". *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.012>.
- Mata, J. A., Bejar, V., Llamas, I., Arias, S., Bressollier, P., Tallon, R., Urdaci, M. C. ve Quesada, E. (2006). "Exopolysaccharides produced by the recently described halophilic bacteria *Halomonas ventosae* and *Halomonas anticariensis*". *Research in Microbiology*, 157, 827-835. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2006.06.004>.
- McDonald, D., Jiang, Y. ve Balaban, M. (2024). "Greengenes2 unifies microbial data in a single reference tree". *Nature Biotechnology*, 42, 715–718. <https://doi.org/10.1038/s41587-023-01845-1>.
- McGenity, T. J. ve Oren, A. (2012). "Hypersaline environments". *Life at Extremes: Environments, Organisms and Strategies for Survival*, 402–437. Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845938147.0402>.
- Mesa J., Mateos-Naranjo E., Caviedes M. A., RedondoGómez S., Pajuelo E. ve Rodríguez-Llorente I. D. (2015) "Endophytic cultivable bacteria of the metal bioaccumulator *Spartina maritima* improve plant growth but not metal up take in polluted marshes soils". *Frontiers in Microbiology*, 6: 1450. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01450>.
- Montgomery, D. C. (2017). "Design and analysis of experiments". John Wiley & sons.
- Morozkina, E. V., Slutskaya, E. S., Fedorova, T. V., Tugay, T. I., Golubeva, L. I. ve Koroleva, O. V. (2010). "Extremophilic microorganisms: biochemical adaptation and biotechnological application". *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(1), 1-14. <https://doi.org/10.1134/S0003683810010011>.
- Murthy, P. S., Vedashree, M., Sneha, H. P. ve Prakash, I. (2024). "Extremophiles as a source of biotechnological products". *Research Anthology on Bioinformatics, Genomics, and Computational Biology*, 606-632. IGI Global. <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-3026-5.ch029>.
- Mutlu, M. B. (2006). Tuz Gölü Bakterilerinin Karakterizasyonu ve Mevsimsel Dağılımı. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

- Muyzer, G. ve Stams, A. J. M. (2008). "The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria". *Nature Reviews Microbiology*, 6(6), 441–454. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1892>.
- Narasimarao, P., Podell, S., Ugalde, J. A., Brochier-Armanet, C., Emerson, J. B., Brocks, J. J. ve Allen, E. E. (2012). "De novo metagenomic assembly reveals abundant novel major lineage of Archaea in hypersaline microbial communities". *The ISME Journal*, 6(1), 81–93. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.78>.
- Nanchaiah, Y. V. ve Lens, P. N. L. (2015). "Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), 61-80. <https://doi.org/10.1128/mmb.00037-14>.
- Navarro-Torre, S., Barcia-Piedras, J. M., Mateos-Naranjo, E., Redondo-Gómez, S., Camacho, M., Caviedes, M. A. ve Rodríguez-Llorente, I. D. (2017) "Assessing the role of endophytic bacteria in the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* salt tolerance". *Plant Biology*, 19(2): 249-256. <https://doi.org/10.1111/plb.12521>.
- Nazari, D., Hamidi, M., Hassanzadeh, S., Tarhriz, V., Zanjani, B. M., Nazemyieh, H. ve Hejazi, M. S. (2014). "Analysis of carotenoid production by *Halorubrum* sp. TBZ126; an extremely halophilic archaeon from Urmia Lake". *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(1), 61. <https://doi.org/10.5681/apb.2014.010>.
- Newton, R. J., Jones, S. E., Eiler, A., McMahon, K. D. Ve Bertilsson, S. (2011). "A guide to the natural history of freshwater lake bacteria". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(1), 14-49. <https://doi.org/10.1128/mmb.00028-10>.
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J. ve Setlow, P. (2000). "Resistance of *Bacillus endospores* to extreme terrestrial and extraterrestrial environments". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3), 548-572. <https://doi.org/10.1128/mmb.64.3.548-572.2000>.
- Nicolaus, B., Kambourova, M. ve Oner, E. T. (2010). "Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology". *Environmental Technology*, 31(10), 1145-1158.
- Oesterhelt, D. ve Stoekenius, W. (1971). "Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*". *Nature New Biology*, 233(39), 149-152.

- Oren, A. (2002). "Molecular ecology of extremely halophilic Archaea and Bacteria". *FEMS Microbiology Ecology*, 39(1), 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2002.tb00900.x>.
- Oren, A. (2010). "Industrial and environmental applications of halophilic microorganisms". *Environmental Technology*. <https://doi.org/10.1080/09593330903370026>.
- Oren, A. (2011). "Thermodynamic limits to microbial life at high salt concentrations". *Environmental Microbiology*, 13(8), 1908-1923. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02365.x>.
- Oren, A. (2020). "Ecology of extremely halophilic microorganisms". *The Biology of Halophilic Bacteria*, 25-53. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003069140-2>.
- Oren, A. (2024). "Novel insights into the diversity of halophilic microorganisms and their functioning in hypersaline ecosystems". *NPI Biodiversity*, 3(1), 18. <https://doi.org/10.1038/s44185-024-00050-w>.
- Oren, A., Ginzburg, M., Ginzburg, B. Z., Hochstein, L. I. ve Volcani, B. E. (1990). "Haloarcula marismortui (Volcani) sp. nov. nom. rev. an extremely halophilic bacterium from the Dead Sea". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 40(2), 209-210. <https://doi.org/10.1099/00207713-40-2-209>.
- Oyewusi, H. A., Wahab, R. A. ve Huyop, F. (2020). "Dehalogenase-producing halophiles and their potential role in bioremediation". *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111603. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111603>.
- Ozdal, M., Ozdal, O. G., Sezen, A., Algur, O. F. ve Kurbanoglu, E. B. (2017). "Continuous production of indole-3-acetic acid by immobilized cells of *Arthrobacter agilis*". *3 Biotech*, 7, 1-6. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0605-0>.
- Paerl, H. W. ve Paul, V. J. (2012). "Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria". *Water Research*, 46(5), 1349-1363. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.002>.
- Paul, D., Kumbhare, S. V., Mhatre, S. S., Chowdhury, S. P., Shetty, S. A., Marathe, N. P. ve Shouche, Y. S. (2016). "Exploration of microbial diversity and community structure

- of Lonar Lake: The only hypersaline Meteorite Crater Lake within Basalt Rock”. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01553>.
- Paul, S., Bag, S. K., Das, S., Harvill, E. T. ve Dutta, C. (2008). “Molecular signature of hypersaline adaptation: insights from genome and proteome composition of halophilic prokaryotes”. *Genome Biology*, 9(4), R70. <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-4-r70>.
- Paul, V. G. ve Mormile, M. R. (2017). “A case for the protection of saline and hypersaline environments: a microbiological perspective”. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(8), fix091. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix091>.
- Pecher, W. T., Al Madadha, M. E., DasSarma, P., Ekulona, F., Schott, E. J., Crowe, K. ve DasSarma, S. (2019). “Effects of road salt on microbial communities: Halophiles as biomarkers of road salt pollution”. *PLoS One*, 14(9), e0221355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221355>.
- Philippot, L., Hallin, S. ve Schlöter, M. (2007). “Ecology of denitrifying prokaryotes in agricultural soil”. *Advances in Agronomy*, 96, 249-305. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(07\)96003-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(07)96003-4).
- Poli, A., Nicolaus, B., Denizci, A. A., Yavuzturk, B. ve Kazan, D. (2013). “*Halomonas smyrnensis* sp. nov., a moderately halophilic, exopolysaccharide-producing bacterium”. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt_1), 10-18. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.037036-0>.
- Potter, A. T., Palmer, M. W. ve Henley, W. J. (2006). “Diatom genus diversity and assemblage structure in Relation to salinity at the salt plains National Wildlife Refuge, Alfalfa County, Oklahoma”. *The American Midland Naturalist*, 156(1), 65–74. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(2006\)156\[65:DGDAAS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2006)156[65:DGDAAS]2.0.CO;2).
- Quesada, E., Béjar, V., Ferrer, M. R., Calvo, C., Llamas, I., Martínez-Checa, F. ve del Moral, A. (2004). “Moderately halophilic, exopolysaccharide-producing bacteria”. *Halophilic Microorganisms*, 297-314. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-07656-9>.
- Qvrees, L., Daae, F. L., Torsvik, V. ve Rodriguez-Valera, F. (2003). “Characterization of microbial diversity in hypersaline environments by melting profiles and reassociation

- kinetics in combination with terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP)". *Microbial Ecology*, 46(3), 291–301. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-3006-3>.
- R Core Team, (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org>.
- Radchenkova, N., Boyadzhieva, I., Atanasova, N., Poli, A., Finore, I., Di Donato, P., Nicolaus, B., Panchev, I., Kuncheva, M. ve Kambourova, M. (2018). "Extracellular polymer substance synthesized by a halophilic bacterium *Chromohalobacter canadensis* 28". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 4937-4949. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8901-0>.
- Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M. N. V. ve Freitas, H. (2010). "Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction". *Trends in Biotechnology*, 28(3), 142-149. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.12.002>.
- Rath, K. M. ve Rousk, J. (2015). "Salt effects on the soil microbial decomposer community and their role in organic carbon cycling: a review". *Soil Biology and Biochemistry*, 81, 108-123. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.11.001>.
- Rathakrishnan, D. ve Gopalan, A. K. (2022). "Isolation and characterization of halophilic isolates from Indian salterns and their screening for production of hydrolytic enzymes". *Environmental Challenges*, 6, 100426. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100426>.
- Roohi, A., Ahmed, I., Iqbal, M. ve Jamil, M. (2012). "Preliminary isolation and characterization of halotolerant and halophilic bacteria from salt mines of Karak, Pakistan". *Pak J Bot*, 44(SI 1), 365-370.
- Rothschild, L. J. ve Mancinelli, R. L. (2001). "Life in extreme environments". *Nature*, 409(6823), 1092-1101. <https://doi.org/10.1038/35059215>.
- Saccò, M., White, N. E., Campbell, M., Allard, S., Humphreys, W. F., Pringle, P. ve Allentoft, M. E. (2021). "Metabarcoding under brine: Microbial ecology of five hypersaline lakes at Rottneest Island (WA, Australia)". *Water*, 13(14), 1899. <https://doi.org/10.3390/w13141899>.

- Saccò, M., White, N. E., Harrod, C., Salazar, G., Aguilar, P., Cubillos, C. F. ve Allentoft, M. E. (2021). "Salt to conserve: a review on the ecology and preservation of hypersaline ecosystems". *Biological Reviews*, 96(6), 2828-2850. <https://doi.org/10.1111/brv.12780>.
- Safarpour, A., Amoozegar, M. A. ve Ventosa, A. (2018). "Hypersaline environments of Iran: Prokaryotic biodiversity and their potentials in microbial biotechnology". *Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications*, 265-298. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0329-6_9.
- Schimel, J. P. ve Schaeffer, S. M. (2012). "Microbial control over carbon cycling in soil". *Frontiers in Microbiology*, 3, 348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00348>.
- Seyedkarimi, M. S., Aramvash, A. ve Ramezani, R. (2015). "High production of bacteriorhodopsin from wild type *Halobacterium salinarum*". *Extremophiles*, 19, 1021-1028. <https://doi.org/10.1007/s00792-015-0778-6>.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H. ve Gobi, T. A. (2013). "Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils". *SpringerPlus*, 2, 1-14. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>.
- Shen, H., He, X., Liu, Y., Chen, Y., Tang, J. ve Guo, T. (2016). "A complex inoculant of N₂-fixing, P- and K-solubilizing bacteria from a purple soil improves the growth of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) plantlets". *Frontiers in Microbiology*, 7: 841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00841>.
- Shetty, P., Gitau, M. M. ve Maróti, G. (2019). "Salinity stress responses and adaptation mechanisms in eukaryotic green Microalgae". *Cells*, 8(12), 1657. <https://doi.org/10.3390/cells8121657>.
- Shinde, V. D. ve Thombre, R. S. (2016). "Antibiotic resistance profiling of marine halophilic bacteria and haloarchaea". *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(10), 132-137. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.601018>.
- Shu, W. S. ve Huang, L. N. (2022). "Microbial diversity in extreme environments". *Nature Reviews Microbiology*, 20(4), 219-235. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00648-y>.

- Silini-Chérif H., Silini A., Ghoul M. ve Yadav S. (2012). “Isolation and characterization of plant growth promoting traits of a rhizobacteria: *Pantoea agglomerans* Ima2”. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(6): 267-76. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.267.276>.
- Smith, R. J., Jeffries, T. C., Roudnew, B., Fitch, A. J., Seymour, J. R. ve Delpin, M. W. (2012). “Metagenomic comparison of microbial communities inhabiting confined and unconfined aquifer ecosystems”. *Environmental Microbiology*, 14, 240–253. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02614.x>.
- Sorokin, D. Y., Berben, T., Melton, E. D., Overmars, L., Vavourakis, C. D. ve Muyzer, G. (2014). “Microbial diversity and biogeochemical cycling in soda lakes”. *Extremophiles*, 18(5), 791–809. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0670-9>.
- Sorokin, D. Y., Makarova, K. S., Abbas, B., Ferrer, M., Golyshin, P. N., Galinski, E. A. ve Koonin, E. V. (2017). “Discovery of extremely halophilic, methyl-reducing euryarchaea provides insights into the evolutionary origin of methanogenesis”. *Nature Microbiology*, 2(8), 17081. <http://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.81>.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J. ve Remans, R. (2007). “Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling”. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425-448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>.
- Staley, J. T. ve Konopka, A. (1985). “Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats”. *Annual Review of Microbiology*, 39(1). [https://doi.org/10.0066-4227/85/1001-0321\\$02.00](https://doi.org/10.0066-4227/85/1001-0321$02.00)
- Stewart, E. J. (2012). “Growing unculturable bacteria”. *Journal of Bacteriology*, 194(16), 4151-4160. <https://doi.org/10.1128/jb.00345-12>.
- Stoeck, T., Bass, D., Nebel, M., Christen, R., Jones, M. D., Breiner, H. W. ve Richards, T. A. (2010). “Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water”. *Molecular Ecology*, 19, 21-31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04480.x>.
- Strillinger, E., Grötzinger, S. W., Allers, T., Eppinger, J. ve Weuster-Botz, D. (2016). “Production of halophilic proteins using *Haloferax volcanii* H1895 in a stirred-tank

- bioreactor". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 1183-1195. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7007-1>.
- Sudo, Y. (2019). "Transport and sensory rhodopsins in microorganisms". *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology, Third Edition-Two Volume Set*, 1173-1193. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429100253-49>.
- Szymańska, S., Borruso, L., Brusetti, L., Hulisz, P., Furtado, B. ve Hryniewicz, K. (2018) "Bacterial microbiome of root-associated endophytes of *Salicornia europaea* in correspondence to different levels of salinity". *Environmental Science and Pollution Research International*, 25: 25420-25431. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2530-0>.
- Taberlet, P., Bonin, A., Zinger, L. ve Coissac, E. (2018). "Environmental DNA: For biodiversity research and monitoring". *Oxford University Press*. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198767220.001.0001>.
- Tamer, A. Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, İ., Bursalıoğlu, M. ve Oğultekin, R. (1989). Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu, 3. Baskı. Ege Üniv. Fen Fak. Teksirler Serisi, (55).
- Thamizhmani, R., Vimal Raj, R. ve Sivakumar, T. (2013). "Abundance and diversity of fungi in salt pan and marine ecosystem of the east coast of Tamil Nadu, India". *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 2(2), 67–75.
- Thombre, R. S. ve Mangrola, A. V. (2022). "Microbial diversity and ecology of saline environments from India". *Microbial Diversity in Hotspots*, 45-59. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90148-2.00010-9>.
- Thompson, L. R., Sanders, J. G., McDonald, D., Amir, A., Ladau, J., Locey, K. J. ve Knight, R. (2017). "A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity". *Nature*, 551(7681), 457-463. <http://doi.org/10.1038/nature24621>.
- Tian, F., Yu, Y., Chen, B., Li, H., Yao, Y. F. ve Guo, X. K. (2009). "Bacterial, archaeal and eukaryotic diversity in Arctic sediment as revealed by 16S rRNA and 18S rRNA gene clone libraries analysis". *Polar Biology*, 32, 93-103. <http://doi.org/10.1007/s00300-008-0509-x>.

- Tiedje, J. M. (1994). "Denitrifiers". *Methods of Soil Analysis: Part 2 Microbiological and Biochemical Properties*, 5, 245-267. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.2.c14>.
- Türetken, P. S. Ç. (2021). "Environment variables, composition and metabolic characteristics of culturable sediment bacteria isolated around Gökçeada Island, Aegean Sea, Turkey". *Regional Studies in Marine Science*, 42, 101613. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101613>.
- Türetken, P. S. Ç. ve Altuğ, G. (2016). "Bacterial pollution, activity and heterotrophic diversity of the northern part of the Aegean Sea, Turkey". *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(2): 127. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5109-6>.
- Türetken, P. S. Ç., Kalkan, S. ve Altuğ, G. (2025). "Investigation of multiple resistance frequencies (antibiotic and heavy metal) of bacteria isolated from Gökçeada Island coastal marine sediment". *Aquatic Research*, 8(1), 1-11. <https://doi.org/10.3153/AR25001>.
- Vahed, S. Z., Forouhandeh, H., Hassanzadeh, S., Klenk, H. P., Hejazi, M. A. ve Hejazi, M. S. (2011). "Isolation and characterization of halophilic bacteria from Urmia Lake in Iran". *Microbiology*, 80, 834-841. <https://doi.org/10.1134/S0026261711060191>.
- Vavourakis, C. D., Andrei, A. S., Mehrshad, M., Ghai, R., Sorokin, D. Y. ve Muyzer, G. (2018). "A metagenomics roadmap to the uncultured genome diversity in hypersaline soda lake sediments". *Microbiome*, 6(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0548-7>.
- Velmurugan, S., Raman, K., Thanga Viji, V., Donio, M. B. S., Adlin Jenifer, J., Babu, M. M. ve Citarasu, T. (2013). "Screening and characterization of antimicrobial secondary metabolites from *Halomonas salifodinae* MPM-TC and its in vivo antiviral influence on Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* against WSSV challenge". *Journal of King Saud University Science*, 25(3):181–190. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.03.002>.
- Ventosa, A. (2006). "Unusual micro-organisms from unusual habitats: Hypersaline environments". *Prokaryotic Diversity: Mechanisms and Significance: Published for the Society for General Microbiology*, 223–254. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511754913.015>.

- Ventosa, A., de la Haba, R. R., Sanchez-Porro, C. ve Papke, R. T. (2015). “Microbial diversity of hypersaline environments: a metagenomic approach”. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.05.002>.
- Ventosa, A., Nieto, J. J. ve Oren, A. (1998). “Biology of moderately halophilic aerobic bacteria”. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(2), 504-544. <https://doi.org/10.1128/membr.62.2.504-544.1998>.
- Verhees, C. H., Kengen, S. W. M., Tuininga, J. E., Schut, G. J., Adams, M. W. W., de Vos, W. M. ve Oost, J. van der. (2003). “The unique features of glycolytic pathways in Archaea”. *Biochemical Journal*, 375(2), 231–246. <https://doi.org/10.1042/bj20021472>.
- Wang, J., Liu, Y., Ma, Y., Wang, X., Zhang, B., Zhang, G. ve Zhao, Y. (2023). “Research progress regarding the role of halophilic and halotolerant microorganisms in the eco-environmental sustainability and conservation”. *Journal of Cleaner Production*, 138054. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.138054>.
- Wang, K. ve Zhang, R. (2020). “Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by *Haloferax mediterranei* from food waste derived nutrients for biodegradable plastic applications”. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(2), 338. <https://doi.org/10.4014/jmb.2008.08057>.
- Wang, K., Yan, H., Peng, X., Hu, H., Zhang, H., Hou, D. ve Zhang, D. (2020). “Community assembly of bacteria and archaea in coastal waters governed by contrasting mechanisms: a seasonal perspective”. *Molecular Ecology*, 29(19), 3762-3776. <https://doi.org/10.1111/mec.15600>.
- Wani, A. K., Akhtar, N., Sher, F., Navarrete, A. A. ve Américo-Pinheiro, J. H. P. (2022). “Microbial adaptation to different environmental conditions: molecular perspective of evolved genetic and cellular systems”. *Archives of Microbiology*, 204(2), 144. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02757-5>.
- Wetzel, R. G. (2001). *Limnology: Lake and River Ecosystems*. Gulf Professional Publishing.
- WHO, (2022). *Guidelines for Drinking-Water Quality*. World Health Organization.

- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Yılmaz, M. ve Tunçer, S. (2021). “Gökçeada kıyılarında (Kuzey Ege Denizi) *Paracentrotus lividus* ve *Arbacia lixula* gonadlarında metal konsantrasyonları”. *Çanakkale Onsekiz Mart University Journal of Marine Sciences and Fisheries*, 4(1), 71-78. <https://doi.org/10.46384/jmsf.949586>.
- Zaikova, E., Benison, K. C., Mormile, M. R. ve Johnson, S. S. (2018). “Microbial communities and their predicted metabolic functions in a desiccating acid salt lake”. *Extremophiles*, 22(3), 367–379. <https://doi.org/10.1007/s00792-018-1000-4>.
- Zar, J. H. (1984). *Biostatistical analyses*. Printice-Hall International Inc. Second Edition. 185-309.
- Zare, N., Bonakdarpour, B., Amoozegar, M. A., Shavandi, M., Fallah, N., Darabi, S. ve Taromsary, N. B. (2019). “Using enriched water and soil-based indigenous halophilic consortia of an oilfield for the biological removal of organic pollutants in hypersaline produced water generated in the same oilfield”. *Process Safety and Environmental Protection*, 127, 151-161. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.04.024>.
- Zhang, G., Guo, Z., Ke, Y., Li, H., Xiao, X., Lin, D. ve Yan, C. (2024). “Comparative analysis of size-fractional eukaryotic microbes in subtropical riverine systems inferred from 18S rRNA gene V4 and V9 regions”. *Science of The Total Environment*, 953, 175972. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175972>.
- Zhao, Y., Cocerva, T., Cox, S., Tardif, S., Su, J. Q., Zhu, Y. G. ve Brandt, K. K. (2019). “Evidence for co-selection of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in metal polluted urban soils”. *Science of the Total Environment*, 656, 512-520. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.372>.
- Zhao, M., Jiang, M., Qin, L., Hu, N., Meng, J., Wang, M. ve Wang, G. (2024). “The recovery of soil eukaryotic alpha and beta diversity after wetland restoration”. *Science of the Total Environment*, 925, 171814. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171814>.
- Zhu, D., Han, R., Long, Q., Gao, X., Xing, J., Shen, G. ve Wang, R. (2020). “An evaluation of the core bacterial communities associated with hypersaline environments in the

- Qaidam Basin, China". *Archives of Microbiology*, 202, 2093-2103. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01927-7>.
- Zhuang, X., Han, Z., Bai, Z., Zhuang, G. ve Shim, H. (2010). "Progress in decontamination by halophilic microorganisms in saline wastewater and soil". *Environmental Pollution*, 158(5), 1119-1126. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.01.007>.
- Zorz, J. K., Sharp, C., Kleiner, M., Gordon, P. M. K., Pon, R. T., Dong, X. ve Strous, M. (2019). "A shared core microbiome in soda lakes separated by large distances". *Nature Communications*, 10(1), 4230. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12195-5>.
- Zwart, G., Crump, B. C., Kamst-van Agterveld, M. P., Hagen, F. ve Han, S. K. (2002). "Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers". *Aquatic Microbial Ecology*, 28(2), 141-155. <https://doi.org/10.3354/ame028141>.

