



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



AYVALIK TUZLASI'NDAKİ PROKARYOTİK TOPLULUK PROFİLLERİNİN 16S rRNA AMPLİKON DİZİLEMESİ İLE İNCELENMESİ

ECEM SAYĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL, 2022



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



AYVALIK TUZLASI'NDAKİ PROKARYOTİK TOPLULUK PROFİLLERİNİN 16S rRNA AMPLİKON DİZİLEMESİ İLE İNCELENMESİ

ECEM SAYĞAN

(520118010)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL, 2022

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimime başladığım günden itibaren her konuda maddi ve manevi her zaman yanımda olan, tezimin deneysel aşamalarında bizzat benimle laboratuvarı deney yapan ve tezimi yazmama çok büyük katkısı ve desteği olan, beni en güncel bilimsel bilgiler ışığında yönlendiren, değerli bilgilerini deneyimlerini benimle paylaşan, uzun çalışma saatlerine rağmen sabırla beni destekleyen Yüksek Lisans Tez Danışmanım Prof. Dr. Meral BİRBİR'e,

Tez sürecimde bilgi ve deneyimlerini her zaman içtenlikle paylaşan, uzun saatler boyunca sabırla benimle birlikte çalışan, deneylerimi ve tezimi tamamlarken çok yardımcı olan Doç.Dr. Pınar ÇAĞLAYAN'a,

Deney ve tez yazım aşamasında çok değerli bilgilerini ve desteğini eksik etmeyen Dr. Can AKPOLAT'a,

Tezimde kullanılmak üzere Ayvalık Tuzlası'ndan örneklerin toplanmasında ve laboratuvara getirilmesinde destek olan çok değerli Osman Akan ÇAĞLAYAN'a,

Tuzlu su ve Tuz Örneklerini toplamamıza yardımcı olan Balıkesir Ayvalık Tuzlası işletmeciliğini sürdüren Binbir Gıda Tarım Ürünleri Sanayi ve Ticaret A.Ş.'nden Sayın Engin Demir'e ve Volkan Erken'e

Hiçbir zaman maddi manevi yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Canım Anneme, Anneanneme, Kardeşime ve Babama teşekkür ederim.

İstanbul, 2022

Ecem SAYĞAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SEMBOLLER	vii
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Halofilik Mikroorganizmalar	3
1.2.1. Ilımlı Halofilik Bakteriler	5
1.2.2. Aşırı Halofilik Mikroorganizmalar	6
1.2. Halofilik Mikroorganizmaların Tuzlu Ortam Adaptasyonları	7
1.3. Halofilik Mikroorganizmaların Önemleri	8
1.4. Halofilik Mikroorganizmalar Hakkında Yapılan Çalışmalar	9
1.5. Çalışmamızda Saptanan Prokaryotik Mikroorganizma Cinslerine Ait Bilgiler	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM	22
2.1. Materyal	22
2.1.1. Kullanılan Çözeltiler	22
2.1.1.1. Frazier Ayırıcı	22
2.1.1.2. %0.1'lik Kongo Kırmızısı	22
2.1.1.3. 1M NaCl	22
2.1.1.4. %0.85 NaCl İçeren Tuzlu Su	22
2.1.1.5. %10 NaCl İçeren Tuzlu Su	23
2.1.1.6. %25 NaCl İçeren Tuzlu Su	23

2.1.2. Kullanılan Besiyerleri	23
2.1.2.1. NaCl İçermeyen Nutrient Agar Besiyeri	23
2.1.2.2. %10 NaCl İçeren Kompleks Agar Besiyeri	24
2.1.2.3. %25 NaCl İçeren Brown Agar Besiyeri	24
2.1.2.4. NaCl İçermeyen Jelatin Agar Besiyeri	25
2.1.2.5. %10 NaCl İçeren Jelatin Agar Besiyeri	25
2.1.2.6. %25 NaCl İçeren Jelatin Agar Besiyeri	26
2.1.2.7. NaCl İçermeyen Tween 80 Agar Besiyeri	26
2.1.2.8. %10 Tuz İçeren Tween 80 Agar Besiyeri	27
2.1.2.9. %25 NaCl İçeren Tween 80 Agar Besiyeri	27
2.1.2.10. NaCl İçermeyen Selüloz Agar Besiyeri	28
2.1.2.11. %10 Tuz İçeren Selüloz Agar Besiyeri	28
2.1.2.12. %25 Tuz İçeren Selüloz Agar Besiyeri	29
2.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	29
2.2. Yöntem	30
2.2.1. Ayvalık Tuzlası'ndan Tuzlu Su ve Tuz Örneklerinin Toplanması	30
2.2.2. Örneklerin Fizikokimyasal Parametrelerinin İncelenmesi	31
2.2.3. Örneklerdeki Toplam Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi	32
2.2.4. Örneklerdeki Toplam Proteolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Proteolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Proteolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi	32
2.2.5. Örneklerdeki Toplam Lipolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Lipolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Lipolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi	33
2.2.6. Örneklerdeki Toplam Selülotitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Selülotitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Selülotitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi	34
2.2.7. Tuzlu Sulardan ve Tuz Örneğinden Prokaryotik Hücrelerin Elde Edilmesi	35

2.2.8. Tuzlu Sulardan ve Tuz Örneğinden Toplanan Prokaryotik Hücrelerden DNA Ekstraksiyonunun Yapılması	35
2.2.9. Tuzlu Sulardaki ve Tuz Örneğindeki Prokaryotik Hücrelerden Ekstre Edilen DNA’lardan 16S rRNA Amplikonlarının Çoğaltılması	36
2.2.10. Veri Tabanları Kullanılarak Metagenomik Okumaların Karşılaştırmalı Analizlerinin Yapılması	37
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4. SONUÇLAR	54
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	75



ÖZET

AYVALIK TUZLASI'NDAKİ PROKARYOTİK TOPLULUK PROFİLLERİNİN 16S rRNA AMPLİKON DİZİLEMESİ İLE İNCELENMESİ

Ayvalık Tuzlası (Ayvalık, Türkiye) ekonomik ve endüstriyel açıdan önemli bir deniz tuzlasıdır. Bu nedenle, Ayvalık Tuzlası'ndan toplanan tuzluluk değerleri %3.5 (ATH3.5), %5 (ATH5), %6 (ATH6), %8 (ATH8), %18 (ATH18), %24 (ATH24) ve %28 (ATH28) olan yedi tuzlu su örneğinde ve bir tuz örneğinde (ATT) fiziko-kimyasal parametreler ve prokaryot popülasyonları araştırılmıştır. Ayrıca prokaryotik cinsler ATH3.5, ATH8, ATH24 ve ATT örneklerinde incelenmiştir. Tüm örneklerde sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve klorür bulunurken, aliminyum ATH6, ATH8, ATH18 ve ATH24'de bulunmuştur. Halofilik olmayan bakteri, ılımlı halofilik bakteri, proteolitik halofilik olmayan bakteri, proteolitik ılımlı halofilik bakteri, lipolitik halofilik olmayan bakteri, lipolitik ılımlı halofilik bakteri, selülitik halofilik olmayan bakteri, selülitik ılımlı halofilik bakteri tüm örneklerde saptanmıştır. Aşırı halofilik arke altı tuzlu su ve tuz örneklerinde saptanırken, proteolitik aşırı halofilik arke tüm örneklerde bulunmamıştır. Lipolitik aşırı halofilik arke iki adet tuzlu su ve tuz örneğinde bulunurken, selülitik aşırı halofilik arke üç adet tuzlu su örneklerinde ve tuz örneğinde bulunmuştur. *Idiomarina* (%23.98), *Nafulsella* (%14.64), *Anaerobacillus* (%8.46), *Bacillus* (%3.53), *Salinimicrobium* (%1.52) ve *Salipaludibacillus* (%1.0) gibi bakteriyel cinsler, *Halorubrum* (%3.76) ve *Halonotus* (%1.50) gibi arkeal cinsler ATH3.5 örneğinde bulunmuştur. *Puniceicoccus* (%14.09), *Aquiluna* (%5.24), *Thiohalocapsa* (%4.12), *Truepera* (%2.44), *Alcanivorax* (%1.93), *Lentimonas* (%1.71) ve *Litoricola* (%1.06) ait olan bakteriyel cinsler ATH8 örneğinde saptanmıştır. *Halorubrum* (%67.29), *Halonotus* (%9.82), *Halobellus* (%3.56), *Halomarina* (%2.51), *Halarchaeum* (%2.30), *Natronomonas* (%1.52) ve *Haloarcula* (%1.34) ait olan arkeal cinsler ve bakteriyel *Salinibacter* cinsi (%4.12) ATH24 örneğinde bulunmuştur. *Archaea* ait olan *Halonotus* (%43.03), *Halorubrum* (%37.52), *Halobellus* (%2.82), *Haloplanus* (%2.25), *Haloarcula* (%1.18) cinsleri ve *Bacteria* ait olan *Salinibacter* cinsi (%6.77) ATT örneğinde saptanmıştır. *Bacteria* ait olan cinsler ATH3.5 ve ATH8 örneklerinde baskın olarak bulunurken, *Archaea* ait cinsler ATH24 ve ATT örneklerinde baskın olarak bulunmuştur.

Kasım, 2022

Ecem SAYĞAN

ABSTRACT

EXAMINATION OF PROKARYOTIC COMMUNITY PROFILES IN AYVALIK SALTERN USING 16S rRNA AMPLICON SEQUENCING

Ayvalık saltern (Ayvalık, Türkiye) is an economically and industrially important sea saltern. Therefore, physico-chemical parameters and prokaryotic populations were investigated in the seven brine samples with 3.5% (ASP3.5), 5% (ASP5), 6% (ASP6), 8% (ASP8), 18% (ASP18), 24% (ASP24), and 28% (ASP28) salinity values and one salt sample (ASS) collected from Ayvalık Saltern. In addition, prokaryotic genera were examined in the ASP3.5, ASP8, ASP24 and ASS samples. While all samples contained sodium, potassium, magnesium, calcium and chloride, aluminum was found in the brine samples of ASP6, ASP8, ASP18 and ASP24. Non-halophilic bacteria, moderately halophilic bacteria, proteolytic non-halophilic bacteria, proteolytic moderately halophilic bacteria, lipolytic non-halophilic bacteria, lipolytic moderately halophilic bacteria, cellulolytic non-halophilic bacteria, cellulolytic moderately halophilic bacteria were detected in all samples. While extremely halophilic archaea were detected in six brine samples and one salt sample, proteolytic extremely halophilic archaea were not found in all samples. While lipolytic extremely halophilic archaea were detected in two brine and salt samples, cellulolytic extremely halophilic archaea were found in three brine samples and salt sample. Bacterial genera such as *Idiomarina* (23.98%), *Nafulsella* (14.64%), *Anaerobacillus* (8.46%), *Bacillus* (3.53%), *Salinimicrobium* (1.52%), *Salipaludibacillus* (1.0%) and archaeal genera such as *Halorubrum* (3.76%) and *Halonotius* (1.50%) were found in the ASP3.5 sample. Bacterial genera, belonging to *Puniceicoccus* (14.09%), *Aquiluna* (5.24%), *Thiohalocapsa* (4.12%), *Truepera* (2.44%), *Alcanivorax* (1.93%), *Lentimonas* (1.71%) and *Litoricola* (1.06%) were detected in the ASP8 sample. Archaeal genera, belonging to *Halorubrum* (67.29%), *Halonotius* (9.82%), *Halobellus* (3.56%), *Halomarina* (2.51%) *Halarchaeum* (2.30%), *Natronomonas* (1.52%), and *Haloarcula* (1.34%) and bacterial genus *Salinibacter* (4.12%) were found in the ASP24. Genera *Halonotius* (43.03%), *Halorubrum* (37.52%), *Halobellus* (2.82%), *Haloplanus* (2.25%), and *Haloarcula* (1.18%) belonging to *Archaea* and genus *Salinibacter* (6.77%) belonging to *Bacteria* were detected in the ASS sample. While the genera belonging to *Bacteria* were found to be dominant in ASP3.5 and ASP8 samples, the genera belonging to *Archaea* were seen as dominant in ASP24 and ASS samples.

November, 2022

Ecem SAYĞAN

SEMBOLLER

$^{\circ}\text{C}$	:	Santigrat derece
NaCl	:	Sodyum klorür
KCl	:	Potasyum klorür
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	:	Magnezyum sülfat heptahidrat
CaCl_2	:	Kalsiyum klorür
NaBr	:	Sodyum bromür
H_2O	:	Su
NaHCO_3	:	Sodyum bikarbonat
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	:	Kalsiyum klorür heksahidrat
MgSO_4	:	Magnezyum sülfat
MgCl_2	:	Magnezyum klorür
%	:	Yüzde
®	:	Tescilli ticari marka işareti

KISALTMALAR

ATT	:	Ayvalık Tuzlası Tuzu
µm	:	Mikrometre
ATH	:	Ayvalık Tuzlası Havuzu
cm	:	Santimetre
cm³	:	Santimetreküp
DAPI	:	4 6, 6-diamidino-2-fenilindol
DNA	:	Deoksiribo nükleik asit
FISH	:	Floresan Insitu Hibridizasyon
g	:	gram
KA	:	Kompleks Agar
KB	:	Kompleks Besiyeri
kg	:	Kilogram
Kob	:	Koloni Oluşturma Birimi
L	:	Litre
M	:	Molar
mL	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
N	:	Normal
NA	:	Nutrient Agar
ORF	:	Operational taxonomic unit (operasyonel taksonomik birim)

pH	:	Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması. ($-\log[H^+]$)
RNA	:	Ribonükleik asit
TÖ	:	Tuz Örneği
TS	:	Tuzlu su
TW20	:	Tween20
TW80	:	Tween80



ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Canlılığın Üç Grubu İçindeki Halofillerin Dağılımı. Kırmızı ile İşaretlenmiş Gruplar En Az Bir Halofil İçermektedir	5
Şekil 1.2.	Ekstremofilleri ve Dirençli Özellikleri Gösteren Filogenetik Ağaç	6
Şekil 2.1.	Farklı Tuzluluklara Sahip Ayvalık Tuzlası Havuzları	31
Şekil 2.2.	Ayvalık Tuzlası	31



TABLO LİSTESİ

	<u>SAYFA NO</u>
Tablo 3.1. Ayvalık Tuzlası'ndaki Farklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Suların ve Tuz Örneğinin Fizikokimyasal Parametreleri.	39
Tablo 3.2. Ayvalık Tuzlası'ndaki Farklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğindeki Toplam Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Aşırı Halofilik Arke Sayıları	43
Tablo 3.3. Ayvalık Tuzlası'ndaki Farklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğindeki Toplam Proteolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Proteolitik Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Proteolitik Aşırı Halofilik Arke Sayıları	44
Tablo 3.4. Ayvalık Tuzlası'ndaki Faklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğindeki Toplam Lipolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Lipolitik Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Lipolitik Aşırı Halofilik Arke Sayıları	45
Tablo 3.5. Ayvalık Tuzlası'ndaki Faklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğinde Toplam Selülitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Selülitik Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Selülitik Aşırı Halofilik Arke Sayıları	46

BÖLÜM 1

1. GİRİŞ

Deniz tuzlaları, sodyum klorür çökeline kadar deniz suyunun kademeli olarak konsantre olduğu bir dizi sıg, birbirine bağı havuzdan oluşur (Ghai ve ark., 2011). Aşırı tuzlu sular, içerisinde bulunan toplam tuz konsantrasyonlarının deniz suyundan daha yüksek olan sular olarak tanımlanmıştır (Grant, 2004; Ventosa, 2006). Talasohalin sular deniz suyundan köken alan, başlangıçta en azından deniz suyuna benzer bir iyon içeriğine sahiptirler. Deniz suyundan tuz üretmek için deniz suyunun güneş ışınları ile buharlaştırıldığı yer olan tuzlalar, Talasohalin ortamlara verilebilecek tipik bir örnektir (Grant, 2004; Ventosa, 2006). Eğer tuzlu su ortamının tuz oranı, deniz suyundan farklı ise bu tip ortamlar Atalasohalin olarak adlandırılmaktadır (Grant, 2004; Ventosa, 2006). Atalasohalin habitatlarının büyük bir çoğunluğu, çeşitli tuzlar içeren ve tatlı su geçişlerinin jeolojisine ve coğrafi konumuna bağı olan terminal göllerdir (Ventosa, 2015).

Mikroorganizmalar yaşamın farklı alanlarında varlıklarını sürdürmektedirler. Aşırı ortamlarda yaşayabilen mikroorganizmalar için “Ekstremofil” terimi ilk kez MacElroy tarafından 1974 yılında kullanılmış ve daha sonra ekstremofiller; sıcaklık (Psikrofiller, Termofiller), pH (Nötrofiller, Asidofiller, Alkalifiller), tuz (Halofiller), ekstrem kuru koşullar (Kserofiller), kayaçlar (Endolitler), yüksek şeker içeriğı (Ozmofiller) ve yüksek atmosferik basınç (Piezofiller) olarak 7 farklı habitata sınıflandırılmıştır (MacElroy, 1974; Gerday, 2002).

Yüksek tuzluluğa sahip göller, güneş tuzlaları ve havuzları, topraklar ve kaya tuzu birikintileri dünya genelinde yaygın olarak bulunan, yüksek tuzluluk içeren ortamlardır (Oren, 2011). Bu tip ortamlar aşırı habitatlar olarak kabul edilmiştir ve sınırlı mikrobiyal çeşitliliğe sahiptirler. Halofilik bakteriler ve arkeler, tuzlu topraklar (Chen ve ark., 2008), denizler (Oren, 1983), güneş tuzlaları (Yoon ve ark., 2002; Jeon ve ark., 2007; Cui ve ark., 2007), tuz gölleri (Lim ve ark., 2005) ve antik kayatuzu (Mormile ve ark., 2003; Schubert ve ark., 2010) gibi çeşitli yüksek tuz oranına sahip ortamlardan araştırmacılar tarafından izole edilmiştir. Türkiye’deki Tuz Gölü, (Birbir ve ark., 2007; Birbir ve Sesal, 2003) aşırı halofilleri içeren habitatlara örnek olarak verilebilirler. Bu tip ortamlar düşük besin ve oksijen kullanılabilirliği, yüksek tuz konsantrasyonu, sıcaklık ve pH gibi çeşitli çevresel etkilerden dolayı sınırlı bir mikrobiyal çeşitliliğe sahiptir. Aşırı tuzlu ortamlarda bulunan baskın iyonlar, çevrenin genel iklim

koşullarına, topografik ve jeolojik yapısına bağlıdır (Ventosa, 2006; Ventosa, 2015; Yakimov ve ark., 2015).

Yapılan çalışmaların sonucunda, tuzlu ortamlarda bakteriler ve arkeler gibi prokaryotik mikroorganizmaların yaygın bir şekilde bulunduğu bilgisi elde edilmiştir. Yapılan araştırmalarda ek olarak fotosentetik ve heterotrofik protistalar, mantarlar ve virüslerin de bu ortamlarda bulunduğu saptanmıştır (Ventosa, 2006; Cho ve ark., 2008; De La Haba ve ark., 2011; Santos ve ark., 2012; Luk ve ark., 2014). Ortamdaki artan tuz miktarı ile metabolik tiplerin çeşitliliği önemli ölçüde azalır. Yaygın olarak bulunan ve iyi uyum sağlamış ekstrem halofilik mikroorganizmalara örnek olarak *Halobacteriaceae* ait olan *Halobacterium* cinsi ve üyeleri verilebilir (Yanhe ve ark., 2010).

930.000 m² alana kurulan Ayvalık Tuzlası, Türkiye'nin kuzeydoğusunda bulunmaktadır. Ayvalık Tuzlasının Ayvalık İlçesine uzaklığı yaklaşık olarak 11 km'dir. Ayrıca tuzlanın yanından İzmir-Çanakkale karayolu geçerek deniz ile tuzlayı ayırmaktadır (Kılıç ve ark., 2014). Bölgede yıllık ortalama 524.2 mm yağış ve yıllık ortalama 14.7°C sıcaklık gözlenmektedir (Meteoroloji Genel Müdürlüğü, 1991-2020). Bu tuzlada deniz suyu depolama havuzlarına pompalanmaktadır. Güneş ve rüzgar sayesinde buharlaşma havuzlarında ve kristalleşme havuzlarında buharlaşma ve kristalleşme gerçekleşerek deniz tuzu elde edilir (Kılıç ve ark., 2019).

Ayvalık Tuzlası'ndan elde edilen tuz, kimya, gıda ve deri endüstrilerinde ayrıca karlı yolların tuzlanması için kullanılmaktadır (Kılıç ve ark., 2014). Ayvalık Tuzlası tuz üretimi potansiyeli açısından İzmir ilinde bulunan Çamaltı Tuzlası'ndan sonra gelmektedir (Kılıç ve ark., 2019).

Yaptığımız literatür taraması sonucunda sadece iki adet Yüksek Lisans Tezinde Ayvalık Tuzlası'ndan toplanan örneklerden kültüre bağımlı yöntemler kullanılarak bakteri izolatları elde edilmiş ve bunların fenotipik karakterizasyonları incelenmiştir. Elevi (2002) tarafından yapılan Yüksek Lisans Tezinde aşırı halofilik izolatların fenotipik özellikleri incelenerek hücre zarındaki lipid yapıları, protein profilleri, plazmidleri, farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. Ayrıca bu tuzladan toplanan örneklerin kimyasal analizleri de yapılmıştır (Elevi ve ark., 2004). Yılmaz (2019) tarafından yapılan Yüksek Lisans Tezinde ise Ayvalık Tuzlası'ndan toplanan örneklerden kültüre bağımlı yöntemler ile bakteri izolatları elde edilmiştir. Bu izolatların fenotipik özellikleri, 16S rRNA gen dizi analizi ile karakterizasyonları yapılarak tuzladan alınan örneklerin incelendiği görülmektedir. 2021 yılında Çınar ve Mutlu tarafından yapılan çalışmada, Ayvalık Tuzlası'ndan %32 tuzluluk değerine sahip bir adet tuzlu

su örneğinde prokaryotik çeşitlilik kültürden bağımsız yöntemle (Illumina MiSeq) incelenmiştir. Bu çalışmalardan görüldüğü gibi Ayvalık Tuzlası'ndaki farklı tuzluluk değerlerine sahip tuzlulardan alınan tuzlu su örneklerinde ve tuz örneğinde fizikokimyasal analizlerin ve bu örneklerde bulunan hem arke hem de bakteri çeşitliliğinin kültürden bağımsız moleküler yöntemlerle detaylıca incelenmediği görülmektedir. Bu nedenle, bu Yüksek Lisans Tez çalışmasında, Ayvalık Tuzlası'ndan toplanan tuzlu su örneklerinde ve tuz örneğindeki sertlik, pH, sodyum (Na^+), potasyum (K^+), magnezyum (Mg^{2+}), kalsiyum (Ca^{2+}), klorür (Cl^-) ve bakır (Cu) değerlerinin saptanması, örneklerdeki toplam halofilik olmayan bakteri, toplam ılımlı halofilik bakteri ve toplam aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi, toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri, toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam proteolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi, toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri, toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam lipolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi, toplam selüloolitik halofilik olmayan bakteri, toplam selüloolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam selüloolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi ve %3.5, %8, %24 tuzluluk değerine sahip tuzlu sulardaki ve tuz örneğindeki bakteri ve arke cinslerinin kültürden bağımsız yeni nesil dizi analizi (Illumina MiSeq) ile saptanması amaçlanmıştır.

1.1. Halofilik Mikroorganizmalar

Halofilik mikroorganizmaların ilk keşfi M.Ö. 2700 yılına dayanmaktadır (Bass-Becking, 1931). Aşırı tuzlu ortamlara adaptasyon sağlayan bu mikroorganizmaların çoğalmaları, izolasyonları ve sınıflandırmaları hakkında ilk bilgiler 1920'li yıllarda elde edilmiştir (Baumgartner, 1937). Geçmişten günümüze araştırmacılar aşırı tuzlu ortamların mikrobiyolojisi ve mikrobiyal ekolojisini araştırmak için birçok farklı çalışmalar yapmışlardır. Elazari-Volcani 1940 yılında Ölü Deniz'in mikrobiyal florasını araştırmıştır. Araştırmacı Ölü Deniz'in alt sedimentlerindeki farklı katmanlarında bulunan bakteri gruplarını araştırmak için önemli çalışmalar gerçekleştirmiştir (Elazari-Volcani, 1940). 1977'de Woese ve Fox, temeli ribozomal RNA dizilimine dayanan filogenetik analizi ile canlıları *Bacteria*, *Archaea* ve *Eukarya* olmak üzere üç domain altında sınıflandırmışlardır (Woese ve Fox, 1977). Yapılan literatür taramalarında, 1980'li yıllara ait çalışmalarda tuzlu ortamlardaki bakterilerin veya arkelerin çeşitli kimyasal içerikli besiyerleri kullanılarak bu ortamlardan izole edilmesi ve bu mikroorganizmaların tanımlanmasının fenotipik özelliklerine göre yapıldığı bilgisi elde edilmiştir. Yüksek tuzluluğa sahip olan ortamlarda bulunan mikroorganizmalar *Bacteria*, *Archaea* ve *Eukarya*

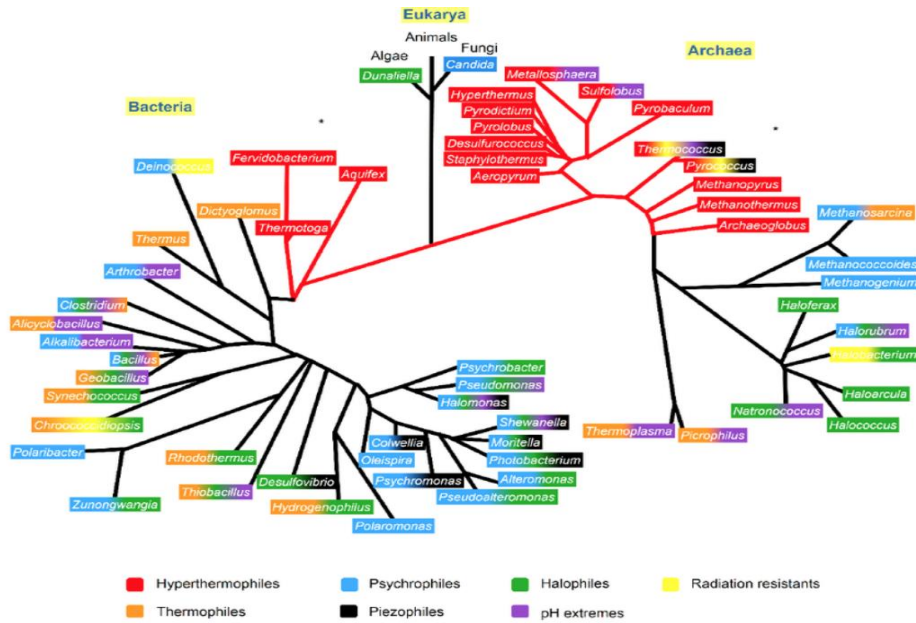
domainlerinde bulunmaktadır (Oren, 2002). Bu tip ortamlarda gelişmeleri için tuza ihtiyaç duyan mikroorganizmalar halofilik mikroorganizmalar olarak adlandırılırlar. Aşırı tuzlu ortamlar, tuz konsantrasyonlarının oldukça fazla olduğu, sıcaklık ve pH değerlerinin değişkenlik gösterdiği, besinlerin az olarak bulunduğu ve oksijen konsantrasyonlarının aşırı tuzdan dolayı az olabildiği ortamlardır. Bu ortamlarda yukarıda belirtilen çevresel koşullardan dolayı mikroorganizma popülasyonu ve çeşitliliği farklı olabilir. Aşırı tuzlu ortamlarda halofilik mikroorganizmalar yaşayabilmeleri, çoğalabilmeleri için aşırı tuzlu ortamların farklı tuzlarına özellikle de NaCl'ye ihtiyaç duymaktadırlar (Ma ve ark., 2010; Safarpour ve ark., 2018). Mikroorganizmaların farklı tuz konsantrasyonlarında gösterdikleri gelişmeler göz önünde bulundurularak bir sınıflandırma yapılmıştır. 0.2 M'dan daha az tuz (NaCl) konsantrasyonda gelişme gösterenler “halofilik olmayanlar”; 0.2-0.5 M tuz (NaCl) konsantrasyonuna sahip olan ortamlarda gelişme yeteneğine sahip olanlar “zayıf halofiller”; 0.5-2.0 M tuz (NaCl) konsantrasyonunda sahip olan ortamlarda gelişme gösterenler “ılımlı halofiller”; 2.0-5.2 M NaCl konsantrasyonlarında gelişenleri ise “aşırı halofiller” olarak sınıflandırılmaktadır (Kushner, 1978; Kushner ve Kamekura, 1988; Kushner, 1993; Ventosa, 2006). Aşırı tuzlu olan ortamlardaki hücresel yaşamı oluşturan organizmaların, arkeler ve bakteriler (prokaryotlar), az sayıda mikrobiyal ökaryotlar (fotosentetik mikroalgler), fotosentetik-heterotropik protistalar, mantarlar ve kabuklulardan olan *Artemia salina* olduğu belirtilmiştir (Ventosa, 2006; Ventosa ve ark., 2014; De La Haba ve ark., 2011; Cho ve ark., 2008). Ayrıca virüslerin de bu topluluğun bir parçası olduğu bildirilmiştir (Santos ve ark., 2012; Luk ve ark., 2014). Bu taksonların dağılımlarının, tuzlu ortamların değişen tuz miktarları olduğu açıklanmıştır. Tuzluluk arttıkça, özellikle %25'in üzerindeki tuzluluk içeren ortamlarda, arkelerin bakterilere göre ortamda baskın oldukları rapor edilmiştir (Simachew ve ark., 2016). Genel olarak, örneklerdeki mikrobiyal topluluk bileşiminin tuzluluk düzeyi ile yaygın bir ilişkisi olduğu tespit edilmiştir (Çınar ve Mutlu, 2016; Simachew ve ark., 2016).

Rhodospirillum, *Halomonas*, *Desulfohalobium*, *Salinivibrio*, *Halothibacillus*, *Arhodomonas*, *Salipiger*, *Idiomarina*, *Marinicola*, *Haloicola*, *Nitrincola*, *Orenia*, *Psychroflexus*, *Alteromonas*, *Halorhodospira*, *Rhodovibrio*, *Halochromatium*, *Marinobacter*, *Salinimonas*, *Halothermothrix* ve *Palleronia* cinslerini içeren mikroorganizmalardır (Sanchez-Porro ve ark., 2003; Ventosa, 2006; Caglayan ve ark., 2015; Akpolat ve ark., 2015; Birbir ve ark., 2015). Ayrıca yapılan çalışmalarda ılımlı halofilik bakterilerin proteaz, amilaz, lipaz, β -galaktosidaz, kazeinaz, DNaz, üreaz, sellüloz ve lesitinaz gibi çeşitli enzimleri ürettikleri bildirilmiştir (Mellado ve ark., 2004; Ventosa, 2006; Caglayan ve ark., 2015; Caglayan ve ark. 2017; Çağlayan ve ark., 2018).

1.2.2. Aşırı Halofilik Mikroorganizmalar

Bazı mikrobiyal ortamlar insanların dahi yaşamasının mümkün olmadığı şekilde özelliklere sahip olan ortamlardır. Bahsi geçen ortamlarda yaşayabilme yeteneğine sahip mikroorganizmalar ekstremofil olarak adlandırılır (Madigan ve ark., 2009).

Ekstremofil mikroorganizmalar; derin su sedimentleri (barofiller), asidik sıcak su kaplıcaları (asidofiller), deniz buzları (psikrofiller), termal sular (termofiller), soda gölleri (alkalifiller), aşırı tuzlu sular (halofiller) gibi ekstrem ortamlarda yaşamaya adaptasyon sağlamışlardır (Dalmaso ark., 2015).



Şekil 1.2. Ekstremofilleri ve Dirençli Özellikleri Gösteren Filogenetik Ağaç (Dalmaso ark., 2015)

Halobacteriales takımının üyeleri olan aşırı halofilik arkeler farklı morfolojik özelliklere (kok, üçgen, disk, çomak, kare) sahiptirler. Gram-negatif özellikte olup ikiye bölünerek çoğalmaktadırlar. Dinlenme safhaları yoktur ve spor oluşturmazlar (Grant ve ark., 2001). Aşırı halofilik arkelerin bazıları ışık enerjisini kullanarak ATP sentezi gerçekleştirir. Fakat bahsi geçen ATP üretimi klorofil pigmenti ile gerçekleşmediğinden dolayı fotosentez olarak adlandırılmamıştır. Klorofile sahip olmadan, ışık vasıtasıyla ATP sentezi gerçekleştiren tek organizma halofilik arkelerdir (Tu ve Huttchinson, 1984; Greene ve Lanyi, 1979; Kushner, 1985; Stoeckenius, 1985; Valera, 1988; Madigan ve ark., 2009).

Halobacteriales takımındaki aerobik halofilik arkeler, *Halobacteriaceae* ailesi içerisindeki baskın halofillerdir. Ölü Deniz, Magadi Gölü gibi aşırı tuzlu soda gölleri ve tuzlaların tuz kristalleştirici havuzlarında bulunan biyolojik çeşitliliğin baskın kısmını oluştururlar. Birçok türde C50 karotenoidleri (bakteriyoruberinler) bulunmaktadır. Bu sebepten ötürü de farklı tonlarda kırmızı koloniler oluştururlar ve doğal ortamlarda kırmızı renk oluşumu gözlemlenir (Oren, 2002; Madigan ve ark., 2009). Dünya üzerinde, Ölü Deniz (Oren, 1988; Oren ve ark., 1995), Büyük Tuz Gölü, Utah, ABD (Wainø ve ark., 2000), Sinai, Mısır'da tuzlu su havuzları (Oren ve ark., 1999) ve Tuz Gölü, Türkiye (Birbir ve Sesal, 2003; Birbir ve ark., 2007) aşırı halofilleri içeren habitatlara örnek olarak verilebilirler.

1.2. Halofilik Mikroorganizmaların Tuzlu Ortam Adaptasyonları

Aşırı tuzlu ortamlarda yaşayan mikroorganizmalar, ortam ile ozmotik dengeyi korumak için bazı özel yapılara ve enzimatik adaptasyonlara ihtiyaç duyarlar. Yüksek tuzluluğa sahip koşullarda aşırı su kaybını önlemek için halofiller, sitoplazmalarının ozmotik aktivitesini dış ortamla eşitlemeleri için iki farklı yöntemle ihtiyaç duyarlar. Bunlardan ilki uyumlu organik çözünür maddeler üretilmesidir. İkincisi ise hücreler içindeki toplam tuz konsantrasyonunu, sitoplazmalarındaki büyük tuz konsantrasyonlarıyla birleştirerek ortamda yaşamlarını sürdürmesidir (Mongodin ve ark., 2006). Halofilik mikroorganizmalar, bulundukları ortamlardaki tuz konsantrasyonunu dengelemek için inorganik klor iyonlarını kullanarak ve hücreler arasında bulunan klor iyonlarını biriktirerek, kendilerini tuzlu ortama karşı korurlar. Bu koruma olayını da kloru ortamdan sitoplazmaya taşıyan sadece halofilik mikroorganizmalarda bulunan klor pompası vasıtasıyla gerçekleştirirler (Lanyi, 1990).

Russell (1989) yaptığı bir çalışma sonucunda ılımlı halofilik bakteri olan *Vibrio costicola*'nın tuz oranının yüksek olduğu ortamda, hücre membranındaki stresi en aza indirmek için membranındaki fosfatidilgliserol ve glikolipid miktarını arttırdığını ve aşırı halofilik arkebakterilerin meydana gelen genetik adaptasyonu sonucu sülfat gibi negatif yüklü iyonları biriktirdiğini ortaya çıkarmıştır.

1.3. Halofil Mikroorganizmaların Önemleri

Yapılan araştırmalar sonucunda gezegenimiz üzerindeki atıkların yaklaşık olarak %5'i tuzlu veya aşırı tuzlu ortamlarda olduğu düşünülmektedir. Bu gibi ortamlarda yaşayıp gelişebilen halofillerin, biyoremediasyon için çok önemli bir potansiyele sahip olduğu bilim insanları tarafından düşünülmektedir (Sivaprakasam ve ark., 2008).

Endüstriyel atıklardan toprak kirleticilerine kadar atıkların biyoremediasyon yöntemi kullanılarak giderilmesi için halofillerin kullanımları araştırılmaktadır. Halofil mikroorganizmaların çok çeşitli ve çok yaygın oluşu, kontaminasyon bölgelerinin genellikle tuzlu bölgeler oluşu nedeniyle, halofillerin çevresel uygulamaları önemlidir (Kebbouche-Gana ve ark., 2009).

Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda ılımlı halofilik bakterilerin, biyoteknolojik potansiyellerinin bulunması sebebiyle son yıllarda yapılan çalışmalara konu olmuşlardır (Mellado ve Ventosa, 2003). *Haloarchaea*'nın biyoteknolojideki en önemli kullanımlarından biri ksenobiyotiklerin biyoremediasyonudur (Oren, 2010). ılımlı halofilik mikroorganizmaların, üreme sürelerinin kısa olması ve endüstriyel açıdan farklı özelliklere sahip olduklarından dolayı biyoteknolojik açıdan değerlidirler (DasSarma ve Arora; 2002). Halofilik mikroorganizmaların endüstriyel uygulamaları çok çeşitlilik göstermektedir ve büyük biyoteknolojik potansiyele sahip oldukları yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir (DasSarma, ve ark., 2010).

Günümüzde halofilik mikroorganizmalar kontamine olmuş tuzlu sular ve toksik maddeler ile kirlenmiş ortamları iyileştirmek için kullanılmaktadır. Bunun sebebi ise halofilik mikroorganizmaların tuz ve organik kirleticilere karşı olan toleranslarının kanıtlanmış olmasıdır (Ding ve Lai, 2010). *Natrialba* sp. strain C21'in tek karbon kaynağı olarak organik kirleticilerden olan fenol, naftalin ve piren üzerinde büyümesi bu duruma verilebilecek bir örnektir (Khemili-Talbi ve ark., 2015).

Teknolojik alanda halofilik arkeler, retina proteinlerinin optik biyo-bilgisayar çipleri için kullanılması, bilgi depolama, polidihroksialkanatların biyobozunur plastikler olarak sentezinde kullanılmaktadır (Rodriguez-Valera, 1992). Genellikle, halofillerden elde edilen hidrolazlar termostabildir ve çeşitli pH değerlerine uyum sağlarlar. Halofillere ait hidrolazların organik çözücülerin varlığı, yüksek sıcaklık ve tuz içeriği gibi fiziksel ve kimyasal koşullar altında etkinliğini göstermeleri için gerektiği zaman enzimatik dönüşümlerde de kullanılabilir (Zheng ve ark., 2016). Üretilen halofilik hidrolazlardan olan amilazların nişastanın parçalanmasında etkisi olduğu, proteazların ise deterjan formülasyonları için kullanıldığı bilinmektedir. (Coronado ve ark., 2000; Lama ve ark., 2005; Poli ve ark., 2017).

Halofilik mikroorganizmalardan elde edilen amilaz, nükleaz, lipaz, ksilanaz ve proteaz gibi ekzoenzimler ticari açıdan oldukça büyük bir öneme sahiptir (Kamekura, 1986). Aşırı halofilik arkelerde Cl⁻ iyonunun hücre içine girişini sağlayan ışıkla çalışan halorodopsin pompasının klor iyonları için biyosensör olarak kullanılabileceği açıklanmıştır (Seki ve ark., 1994).

Gıda endüstrisinde halofilik laktik asit bakterileri halofillere örnek mikroorganizmalardır. Halofilik laktik asit bakterilerinin gelişmeleri ve yaşamlarını sürdürebilmeleri için bulundukları ortamlarda yüksek oranda tuz yoğunluğu bulunması lazımdır. *Pediococcus* ve *Tetragenococcus* cinsleri bol yoğunlukta fermente gıdalardan elde edilen halofilik laktik asit bakterileridir. Yüce ve arkadaşları (2017), *Tetragenococcus muriaticus*, *T. halophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* gibi bakterilerinin gıdalarda fermentasyon esnasında önemli rol oynadıklarını saptamışlardır. *Lactobacillus plantarum*'un halofilik bir laktik asit bakterisi olduğu rapor edilerek bu probiyotik bakterinin bağırsak florasını düzenlediği bilinmektedir. (Uchida ve ark., 2014; Yüce ve ark., 2017). Mikroorganizmalardan elde edilen enzimlerin, hayvansal ve bitkisel kaynaklı enzimlere oranla daha ekonomik oldukları, oldukça yüksek enzimatik aktivite gösterdikleri, zararlı ürün oluşturmadıkları, stabil oldukları bilinmektedir (Yüce ve ark., 2017). Hali hazırda kullanılan birçok enzimin yüksek sıcaklık, asit veya alkali pH gibi aşırı koşullar altında yapılarının bozulup yüksek performans gösterememesinden dolayı halofilik enzimler gündeme gelmeye başlamış ve araştırmalar halofiller ve halotolerantlar üzerinde yoğunlaşmıştır (Delgado Garcia ve ark., 2012).

1.4. Halofilik Mikroorganizmalar Hakkında Yapılan Çalışmalar

1982 yılında Quesada ve arkadaşlarının İspanya'nın Alicante şehri yakınlarında farklı tuz konsantrasyonlarda olan tuzlu toprak (%5-10.7) örnekleriyle yapılan çalışmalarında birçoğu

ılımlı halofil içeren 211 suş izole edilmiş ve cins seviyesinde tanımlanmıştır. 1990'lı ve 2000'li yıllarda tuzlu ortamlardaki *Bacteria* ve *Archaea* Domainine ait mikroorganizmaların tanımlanması fenotipik ve 16S rRNA temelli moleküler yöntemlerle yapılmaya başlanmıştır. Arahal ve arkadaşları (1996), 1940 yılında Ron Elazari-Volcani tarafından, Ölü Deniz'in farklı bölgelerinden alınan su örnekleri üzerinde 1996 yılında yürüttükleri çalışmada, 22 aşırı halofilik arke suşu izole etmişlerdir. Bu suşları fenotipik olarak 5 farklı gruba ayırmışlardır. 16S rRNA'yı kodlayan gen dizilimlerinin yaklaşık 1400 baz karşılaştırması kullanılarak yapılan filogenetik analiz sonucunda 5 izolatin *Haloferax*, *Halobacterium* ve *Haloarcula* olarak 3 farklı cinse ait olduğunu saptamışlardır. İki suşun *Haloferax volcanii* ve bir suşun *Halobacterium salinarum* türleri ile yakın ilişkili oldukları, diğer iki suşun ise *Haloarcula hispanica* ile %98.9 ve %98.8 benzerlik gösterdikleri ancak tek bir kaynaktan izole edilen bu iki yeni türün suşlarının farklı kaynaklardan izole edilerek ve tamamen karakterize edilene kadar isimlendirilemeyeceği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.

Birbir ve arkadaşları (2004), ülkemizin İç Anadolu bölgesinde bulunan ve kirlenmemiş bir tuz madeni olan Tuzköy'ün üç farklı noktasından aldıkları tuz örnekleri ile kimyasal ve mikrobiyal analizler yapmışlardır. Aldıkları bu örnekler ile tuzun mikrobiyal kontaminantlarını tanımlamayı ve bunları karakterize etmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sırasında araştırmacılar, tuz örneklerinin 1 gramında 10^5 - 10^6 koloni oluşturma birimi (kob) aşırı halofilik mikroorganizma tespit etmişlerdir. Daha sonra karakterizasyon için rastgele seçilmiş 12 koloniyi, geleneksel ve moleküler yöntemlerle tanımlayarak elde edilen izolatların lipid analizlerini, antibiyotik duyarlılıklarını saptamışlardır. Araştırmacılar *Halobacteriaceae* familyasına ait aşırı halofilik arkelerin *Halobacterium*, *Haloarcula*, *Natrinema* ve *Halorubrum* cinslerine ait olduklarını tespit etmişlerdir. Bunlara ek olarak yapılan araştırmada araştırmacılar, endüstriyel uygulamalar için kullanılan tuzun kalitesini değerlendirmek için izole ettikleri suşların enzimatik aktivitelerini de araştırmışlardır. Araştırmacılar, izole edilen suşların jelatinaz, kazeinaz, amilaz, selülaz ve lipaz gibi hidrolitik enzimler ürettiklerini saptamışlardır ve bu suşların kullanıldığı endüstriyel alanlarda bozulmalara neden olabileceklerini açıklamışlardır. Çalışmadan elde edilen diğer bir önemli sonuç ise *Halobacterium*, *Haloarcula*, *Halorubrum* ve *Natrinema* cinslerine ait arke türlerinde ilk kez selülaz aktivitesinin varlığının saptanmasıdır. Ayrıca araştırmacılar *Haloferax* ve *Halorubrum* türlerinin bazılarında β -galaktosidaz aktivitesinin varlığını bildirmişlerdir (Birbir ve ark., 2004).

Özcan ve arkadaşları (2006), Türkiye'de bulunan 6 farklı tuzlu bölgeden, %25'lik tuz (NaCl) içeriğine sahip kompleks besiyeri hazırlayarak 95 tane halofilik suş izole etmişlerdir.

Araştırmacılar halofilik suşları Seyfe Gölü, Kırşehir; Tuzla Gölü, Kayseri; Salda Gölü, Denizli; Acı Göl, Denizli; Tuz Gölü, Ankara ve Bolluk Gölü, Konya'dan izole etmişlerdir. Bu göllerden izole edilen suşlar hareket, Gram reaksiyon, hücre ve koloni morfolojileri, pigmentasyon, biyokimyasal özellikler ve antibiyotik duyarlılıkları yönünden incelenmiştir. Hücre membranı lipidlerine ve antibiyotik duyarlılıklarına göre izole edilmiş tüm suşların *Archaea* Domainine ait olduğunu tespit etmişlerdir. Bütün izolatlar, agaroz jel elektroforezi ile plazmitlerin varlığı açısından incelenmiş ve çoğu izole edilen suş plazmit içerdiği tespit edilmiştir. Elde edilmiş olan izolatlardan hücre proteini profilleri, SDS-PAGE yöntemi aracılığıyla analiz edilmiş ve UPGMA yöntemi kullanılarak benzer bir biyolojik modelleme (dendogram) ortaya çıkarılmıştır. İzolatlar arasında anlamlı benzerlikler ve farklılıklar da gözlenmiştir.

Birbir ve arkadaşları (2007), İç Anadolu bölgesinde bulunan Tuz Gölü ve Tuz Gölü'nün Kayacık ve Kaldırım tuzlarında mikrobiyal toplulukların karakterizasyonu ve aşırı halofilik arkelerin çeşitliliği üzerine yaptıkları araştırmada, *Halobacteriaceae* familyasına ait aerobik, kırmızı veya pembe renkli 27 adet arke kolonisinin koloni şekillerine, boyutlarına ve pigmentasyonlarına göre seçildiğini, fenotipik ve filogenetik karakteristiklerine (16S rRNA genlerini), hücre membranındaki polar lipid içeriklerine ve antibiyotik duyarlılıklarına göre karakterize edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, araştırmacılar izolatlardaki farklılıkları DGGE analizi ile saptamışlardır. Filogenetik analizler sonucunda, izolatların çoğunun *Haloarcula*, *Halorubrum* ve *Halobacterium* cinslerine ait olduğu tespit edilmiştir. *Haloarcula* cinsinin hem Tuz Gölü'nde hem de tuzlarında ağırlıklı olarak bulunduğu bildirilmiştir. *Halorubrum* türleri Tuz Gölü ve Kaldırım tuzlasından, *Halobacterium* türleri ise Tuz Gölü ve Kayacık tuzlasından izole edilmiştir. Araştırmacılar, bütün suşların deri ve gıda ürünlerinde kullanılan ham tuzun zararlı etkilerinden sorumlu olan proteaz, amilaz ve selülaz gibi çeşitli hidrolitik enzim aktivitelerini gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

Schloss ve Handelsman (2005) tarafından belirtildiği gibi doğal ortamlarda bulunan prokaryotların %99'undan fazlası laboratuvar ortamında kültüre edilemediği için ortamda bulunan organizmaların mikrobiyal fizyolojisi, genetiği ve ekolojisi hakkında elde edilen bilgiler sınırlı kalmaktadır. Bir ortamda bulunan mikroorganizma çeşitliliği genellikle kültürden bağımsız yöntemlerle belirlenmektedir. Metagenomik terimi, istatistiksel meta-analiz (istatistiksel olarak birbirinden farklı olan analizlerin birleştirilme süreci) ve genomik (organizmaya ait olan genetik materyalin analiz edilmesi) kavramlarının birleştirilmesiyle ortaya çıkmıştır (Rondon ve ark., 2000). Metagenomik çalışmalarından önce, mikroorganizmaların besiyerlerinde üretilmeleri sağlanmakta ve üretilen bu

mikroorganizmaların daha sonra genom dizileri yapılmaktaydı (Cowan ve ark., 2015; De Maayer ve ark., 2014). Çevrede bulunan mikroorganizmaların birçoğunun standart yöntemler kullanılarak kültüre edilemediği açıklanmıştır. Bu mikroorganizmaların kültüre edilmeden yapılan genomik analizler metagenomik çalışmaları teşvik etmiştir (Schloss ve Handelsman, 2003). Bir mikroorganizma grubunun metagenomik veya kültürden bağımsız genomik analizi, mikrobiyal ekolojideki temel soruları cevaplama potansiyeline sahiptir (Riesenfeld ve ark., 2004). Günümüze kadar aşırı tuzlu ortamlarda yapılan metagenomik çalışmalar sayesinde birçok yararlı bilgi elde edilmiştir. Küresel mikrobiyom araştırmalarında, genom diziliminin ortaya çıkması ile yeni pencereler açılmıştır. Kırk yıl önce küçük virüslerin genom dizilemesi yapılmış daha sonra 1995 yılında bakteri genom dizilemesi yayınlanmıştır.

Genomik analizlerle 50.000'den fazla *Bacteria* ve *Archaea* Domainine ait mikroorganizmaların ve virüs genomunun patojenik özellikleri, antimikrobiyal maddelere gösterdikleri dirençler ve biyojeokimyasal döngülerdeki rolleri hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir (Madigan ve ark., 2019). Kültürden bağımsız tekniklerle yapılan çalışmalarda, doymuş tuzlu sularda en çok bulunan türlerin *Haloquadratum walsbyi* ve *Salinibacter ruber* olduğu bildirilmiştir. (Zhaxybayeva ve ark., 2013; Dillon ve ark., 2013).

Çınar ve Mutlu (2016), ülkemizde bulunan Bingöl, Fadlum, Kemah ve Tuzlagözü tuzlalarının prokaryotik topluluklarını, kültüre bağımlı ve kültürden bağımsız metotlarını kullanarak araştırmışlardır. Bu araştırmada FISH, Floresans *in situ* hibridizasyon ve 454 pirosekanslama metotlarından yararlanılmıştır. Universal probalarla yapılan FISH analizinde, ağırlıklı olarak haloarkelerden oluşan besleme sularının 1 mililitresinde 1.6×10^2 – 1.7×10^3 kob bulunmuşken, kristalleşmenin meydana geldiği göllerde bu sayı 3.8×10^6 – 2.0×10^7 kob olarak saptanmıştır. Bingöl, Fadlum, Tuzlagözü ve Kemah örneklerinden yapılan metagenomik analizlerinden elde edilen sonuçlarda en fazla görülen arkeyal OTU'lar sırasıyla *Halorubrum* (%49.6), *Haloarcula* (%27.8) ve *Halonotus* (%59.8), *Haloquadratum* (%76.8) olarak tespit edilmiştir. Fadlum (%71.5) ve Bingöl (%79) örneklerinde en baskın şubenin ise *Bacteroidetes* olduğu görülürken, Kemah tuzlasında en baskın şubenin (%79.6) *Proteobacteria* olduğu tespit edilmiştir. Tuzlagözü'nden elde edilen bakteriyel OTU'ların *Bacteroidetes* (%35.0), *Cyanobacteria* (%35.7) ve *Proteobacteria* (%25.5) şubelerine ait oldukları belirtilmiştir. Bakteri izolatlarının *Proteobacteria* (*Alphaproteobacteria* ve *Gammaproteobacteria* sınıfları) ve *Bacteroidetes* şubelerine ait olduğu sonucuna varılmıştır. Karşılaştırmalı analizler ile tuzlaların başlıca üyelerinin *Euryarchaeota*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ve *Cyanobacteria* şubelerine ait olduğunu göstermiştir.

Naghoni ve arkadaşları (2017), İran da bulunan ve talasohalin özelliğe sahip olan Meyghan Gölü'nden tuzlu su örnekleri toplayarak kültür bağımlı ve kültürden bağımsız (Illumina HiSeq) yöntemler kullanarak mikroorganizma profillerini çıkartmışlardır. Meyghan Gölü'nün üç farklı noktasından alınan tuzlu su örnekleri, tuzlu suların baskın rengine göre, Y (yeşil), K (kırmızı) ve B (beyaz) olarak örneklenmiş ve bu ortamlardan toplam 361 suş izole edilmiştir. Her bölgeden, rastgele seçilen 35 izolatin (toplamda 105) 16S rRNA gen dizilemesi yapılmıştır. Düşük tuzluluk havuzunda (Y) ağırlıklı olarak *Bacteria* domainine ait bakteriler bulunmuştur (35'ten 31'i). *Proteobacteria*, *Gammaproteobacteria* (*Idiomarina sp.* ve *Halomonas sp.*) ve *Alphaproteobacteria*'nın baskın gruplar olduğu bildirilmiştir. Diğer bakteri izolatlarının *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* filumlarına ait olduğu bildirilmiştir. Orta tuzlulukta kırmızı havuzdan (K), *Firmicutes*'e (*Bacillus sp.* ve *Thalassobacillus*), *Gammaproteobacteria* ve *Actinobacteria*'ya ait olan 16 adet *Bacteria* domainine ait bakteriler izole edilmiştir. En yüksek tuzluluktan 6'sı *Gammaproteobacteria*, 3'ü *Firmicutes* ve 1'i *Alphaproteobacteria*'ya ait 10 bakteri izole edilmiştir. Tüm arke izolatları *Halobacteria* sınıfındaki üç familyaya (*Halobacteriaceae*, *Haloferacaceae* ve *Natrialbaceae*) ait olarak bulunmuştur. Baskın cinsler ise sırasıyla *Haloarcula*, *Halorubrum* ve *Natrinema* olarak rapor edilmiştir. Alınan örneklerin üç adetinde baskın iyonlar Na^+ ve Cl^- olarak tespit edilirken SO_4^{2-} ve Mg^{2+} diğer baskın iyonlar oldukları tespit edilmiştir. Örneklerin pH'ları sırasıyla 8,8-7,9-7,7 olarak ölçülmüştür. Bu ortamların tuzlulukları sırasıyla 50 g/kg, 180 g/kg ve 300 g/kg olarak bildirilmiştir. Bakteriyel ve Arkeal bolluklar, spesifik 16S rRNA primerleri kullanılarak qPCR ile belirlenmiştir. Tüm tuzlu sularda okumaların yaklaşık %15'inin *Eukarya* domainine ait olduğu bulunmuştur. Baskın bakteri filumu, bolluk sırasına göre üç örnekleme noktasından alınan sudaki toplam bakteri çeşitliliğinin %94'ünden fazlasını oluşturan *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Actinobacteria* olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, bilinen herhangi bir filuma atanamayan çok sayıda bakteri okuması olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, atanmamış bir bakteri cinsi ve atanmamış bir proteobakteriyel cins bol miktarda mevcut olduğu tespit edilmiştir. Bakteri ve Arke domainlerinin bollukları artan tuzlulukla birlikte değiştiği saptanmıştır. *Bacteria*'nın düşük tuzlulukta (Y) baskın domain (%79) iken, en yüksek tuzlulukta (B) *Archaea*'nın baskın domain (%84) olduğu saptanmıştır (Naghoni ve ark., 2017).

Zhu ve arkadaşları 2018 yılında Çin'in Qaidam Havzasında bulunan aşırı tuzluluğa sahip Hulsan Gölü, Baluan Mahai Gölü, Dabsan Gölü, Qarhan Gölü ve Xi Taijnar Gölü ile mezohalin Dong Taijnar Gölü'nü içeren altı göl ve Hulsan Tuzlası, Qarhan Tuzlası, Niulang Zhinu Tuzlası, Mangyai Tuzlası ve Kunteyi Tuzlasından oluşan beş tuzladan alınan tuzlu su örnekleri

kültürden bağımsız yeni nesil Illumina Miseq yöntemi ile araştırmıştır. Yapılan çalışmada aşırı tuzluluğa sahip göllerin sıcaklıkları 15.6–28.7 °C olarak saptanırken Hulsan Gölü’nün pH değeri 6.2, Baluan Mahai Gölü’nün 6.2, Dabsan Gölü’nün 6.8, Qarhan Gölü’nün pH 7.8 ve Xi Taijnar Gölü’nün ise 7.0 olarak belirtilmiştir. Tuzlu su örneklerinin alındığı tuzluların sıcaklıkları 18.8–28.1 °C, pH’ları ise 5.8-6.7 arasında hafif asidik olarak saptanmıştır. Alınan tuzlu su örneklerinde *Bacteria* domainine ait baskın filumların sırasıyla *Proteobacteria* (%39.4-64.6), *Firmicutes* (%17.0-42.7) ve *Bacteroidetes* (%1.5-8.9) olduğu rapor edilmiştir. Aşırı tuzlu ortamda yaşayan topluluklar içinde tanımlanan baskın bakteri cinsleri *Pseudomonas* (%6.3-17.0), *Lactococcus* (%5.8-17.8), *Anoxybacillus* (%4.1-13.2) ve *Acinetobacter* (%4.7-13.7) olarak saptanmıştır (Zhu ve ark., 2020).

Leoni ve arkadaşları 2020 yılında Avrupa’nın en büyük talasohalin tuzlası olan Margherita di Savoia Tuzlası’nın (İtalya) artan tuz konsantrasyonlarına sahip (%4.9-36.0 aralığında) dokuz havuzdaki mikrobiyal toplulukları analiz etmişlerdir. Sırasıyla *Bacteria* ve *Archaea*’nın 16S rRNA geninin V5-V6 ve V3-V4 hiperdeğişken bölgelerini ayrı ayrı ele alan bir derin-metabarkodlama NGS prosedürü ve CARD-FISH (katalizli raportör biriktirme floresan *in situ* hibridizasyon) analizi ile mikroorganizma profilini incelemişlerdir. En düşük tuzluluk oranlarına sahip üç havuzdaki *Archaea*’nın düşük orantılı bolluğu, ilgili ampikon kitaplıklarının kurulmasını engellemiş olsa bile, her iki alan da tuzla boyunca tespit edildiği bildirilmiştir. En yüksek hücre sayıları, *Bacteria* domaini için %14.5 tuzlulukta ve *Archaea* domaini için ise %24,1 tuzlulukta elde edilmiştir. Bakteriler ilk havuzlarda (tuzluluk aralığı %4.9–14.5) en fazla cins sayısını gösterirken, arkeal cinsler tuzlanın son havuzlarında (tuzluluk %24.1–36.0) saptanmıştır. Prokaryotlar arasında *Salinibacter* maksimum bolluğa sahip (%34,6 tuzlulukta ~%49) cins olarak belirlenmiştir. Yüksek bollukta tespit edilen diğer cinsler *Archaea* ait *Haloquadratum* (%36.0 tuzlulukta ~%43) ve *Natronomonas* (%13.1 tuzlulukta ~%18), *Bacteria* ait *Candidatus Aquiluna* (%14.5 tuzlulukta ~%19) olarak rapor edilmiştir. Bu çalışma sonucunda bir ilk olarak *Candidatus Aquiluna*’nın talasohalin sularda ilk kez elde edildiği bilim insanları tarafından bildirilmiştir (Leoni ve ark., 2020).

1.5. Çalışmamızda Saptanan Prokaryotik Mikroorganizma Cinslerine Ait Bilgiler

Cins *Anaerobacillus*

Anaerobacillus cinsinin şimdiye resmi olarak tanımlanan 7 türünün olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). Zavarzina ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan çalışma sonucunda izole edilen mikroorganizmaların, zorunlu anaerobik

veya aerotolerant, zorunlu veya orta derecede alkalifilik, halotolerant veya orta derecede halofilik oldukları bilgisi elde edilmiştir. Fermentasyon veya anaerobik solunum yoluyla büyüyen ve arsenatı indirgeyebilen, Gram pozitif çomaklar şekilli hücreler içermektedir (Zavarzina ve ark., 2009; Bassil ve Lloyd, 2019).

Cins *Bacillus*

Bacillus cinsinin türleri Gram pozitifdir ve endospor oluştururlar. Birçoğu ayrıca aerobik veya mikroaerofilik olarak büyüdükleri bilinmektedir. Bazıları fakültatif anaeroblardır (Ludwig ve ark., 2015). *Bacillus subtilis*, *Bacillus* cinsinin tip suşudur (Cohn, 1872; Skerman ve ark., 1980). *Bacillus* cinsine ait türler hidrolitik enzim üretmelerinden ve çözünen uyumlu maddelerinden ötürü biyoteknolojik açıdan önemlidir (Horikoshi, 1999; Arahal ve Ventosa, 2002; Margesin ve Schinner, 2001; Krulwich ve ark., 2007; Nogi ve ark., 2005; Chen ve ark., 2011).

Cins *Salipaludibacillus*

Salipaludibacillus cinsinin şimdiye resmi olarak tanımlanan 5 türü olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). Filogenetik olarak *Bacillaceae* familyasına aittir ve ilk olarak Narayan Sarovar Gölü, Hindistan'dan izole edilmiştir (Sultanpuram ve Mothe, 2016). *Salipaludibacillus* cinsinin hücrelerinin hareketsiz, çomak şeklinde, Gram pozitif özellikte ve alt terminal konumunda oval veya elipsoidal endosporlar oluşturdukları bildirilmiştir. Aerobik veya fakültatif anaerobiktirler, katalaz ve oksidaz aktiviteleri pozitifdir. DNA G+C içeriği %39.3–42.4 mol'dür. Tip türü *Salipaludibacillus aurantiacus*'tur (Sultanpuram ve Mothe, 2016).

Cins *Thiohalocapsa*

Thiohalocapsa cinsinin şimdiye kadar tanımlanmış 2 türü olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). Bu cinse ait hücreler küresel, hareketsiz ve ikiye bölünme ile çoğalırlar. Gram negatif, fotosentetik pigmentler olarak bakteriyoklorofil a ve karotenoidler ile veziküler tipte dahili fotosentetik membranlar içerdikleri bildirilmiştir (Imhoff ve ark., 1998). Karanlıkta mikooksik ile oksik koşullar altında kemolitotrofik veya kemoorganotrofik büyüme mümkündür. 20–30°C ve pH 6.5–7.5'te optimum büyüme gösteren mezofilik bakterilerdir ve gelişmeleri için ortamda yüksek konsantrasyonlarda sodyum klorüre ihtiyaç duymaktadırlar. Yüksek tuz konsantrasyonlarına sahip ve ışığa maruz kalan tuz ve diğer

kıyı habitatlarının sülfid içeren suları ve tortularında bulundukları bilgisi elde edilmiştir (Imhoff ve ark., 1998; Imhoff ve Caumette, 2015).

Cins *Alcanivorax*

Alcanivorax cinsinin şimdiye kadar resmi olarak tanımlanmış 16 türünün olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). *Alcanivorax* cinsinin hücreleri piruvat içeren ortamda büyürken genellikle 0.6-0.3 µm genişliğinde ve 1.6-2.3 µm uzunluğunda, Gram negatif, hareketli olmayan aerobik çubuklardır. Tek karbon ve enerji kaynağı olarak n-alkanlar kullanıldığında daha kısadırlar (1.0-1.5 µm). Oksidaz ve katalaz pozitiflerdir. Alifatik hidrokarbonlar, büyüme için tek veya ana karbon kaynakları olarak kullanılırlar. Aktif biyosümfaktanlardan oluşan bir karışımdan glikoz lipidleri üretilir. Bunlardan biri, ester bağları ile birbirine bağlanmış ve glikozidik olarak C-1 glikoz ile bağlanmış dört 3-hidroksidekanoik asitten oluşur (Yakimov ve ark., 1998). *Alcanovorax* cinsi, kirlenmemiş sularda düşük sayılarda bulunduğu ancak petrolle kirlenmiş sularda ve kıyı şeritlerinde yüksek miktarda bulunduğu ve burada petrolü bozan mikrobiyal topluluğun %80-90'ını oluşturturduğu bilim insanları tarafından bildirilmiştir (Harayama ve ark., 1999; Kasai ve ark., 2001; Syutsubo ve ark., 2001). Bu bulgular, *Alcanivorax*'ın petrolle kirlenmiş deniz sistemlerinin doğal temizliğinde kritik bir rol oynadığını ve çevresel onarım sürecini hızlandırmak için yeni biyoteknoloji stratejilerinin temelini oluşturabileceği sonucu elde edilmektedir (Golyshin ve ark., 2003).

Cins *Idiomarina*

Idiomarina cinsi ilk olarak 2000 yılında Ivanova ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu cinsin 61 türü bilinmektedir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). *Idiomarina* cinsi hidrotermal menfezler (Donachie ve ark., 2003), fermente balıklar (Sitdhipol ve ark., 2013), deniz kıyısı kumundan (Kwon ve ark., 2006), denizaltı hipertermal suları ve güneş tuzlaları üretim yerlerinde (Jean ve ark., 2009), resif oluşturan mercanlar (Chen ve ark., 2012) ve deniz tortusu (Zhang ve ark., 2012) gibi deniz suyu ve aşırı tuzluluğa sahip ortamlardan izole edilmiştir (Vinales ve ark., 2022). Oksidaz pozitiflerdir. Gram-negatif, çomak şekilli, heterotrofik, zorunlu aerobik ve flagellaya sahip türlerden oluşmaktadır. Optimum NaCl, optimum pH ve optimum sıcaklık ihtiyaçları ise sırasıyla %0.6-%15, 7.5-8.0, ve 4-30 °C'dir. DNaz, jelatinaz ve lipazı üretebildikleri halde, amilazı üretmedikleri bilim insanları

tarafından bildirilmiştir (Ivanova ve ark., 2000). *Idiomarina* türleri arasındaki habitat çeşitliliğine rağmen, mineral bakımından zengin ve/veya halojenür bakımından zengin ortamlarda yaygın olarak bulunmasına rağmen, karakterize edilen tüm suşların amino asitler üzerinde büyüdüğü bilinmektedir (Erable ve ark., 2010).

Cins *Halarchaeum*

Halarchaeum cinsi, filogenetik olarak *Salarchaeum* ve *Halobacterium* cinsleriyle yakından ilişkilidir. *Halarchaeum* türleri üçgen ve disk şekilli hücrelere sahip pleomorfiktirler ve Gram negatif boyanır. Tek ve kompleks karbon kaynakları dahil olmak üzere çok çeşitli substratlar üzerinde büyüyen ve en az 1,6 M NaCl ve 4.0 ile 8.2 arasında pH değerleri gerektiren aşırı halofilik mikroorganizmalardır ve orta derecede asidofilik kemoorganotrofik aeroblardır. Polar lipidler, fosfatidil gliserol (PG), fosfatidil gliserofosfat metil ester (PGP-Me) ve tanımlanmamış glikolipidlerin C₂₀C₂₀ ve C₂₀C₂₅ türevleridir (Minegishi, 2015).

Cins *Haloarcula*

Haloarcula hücreleri sıvı kültürde çomak şeklinde gözlemlenmektedir fakat aynı zamanda da pleomorfik özellikte göstermektedirler. *Haloarcula* cinsi, yüksek tuz içeriği gibi sınırlayıcı faktörün olduğu ortamlarda, gelişimi kolay olması sebebiyle model organizma olarak kullanılmaktadır (Ma ve ark., 2010). Aerobik veya fakültatif anaerobik, hareketli veya hareketsiz olarak gözlemlenebilirler. Hücreler gram boyamada negatif, oksidaz ve katalaz pozitifler. Aşırı halofil olan *Haloarcula*, 2.0–5.2 M NaCl içeren besiyerinde gelişim gösterirken optimum gelişim için 2.5–3.0 M NaCl ihtiyaç duymaktadır. Optimum sıcaklık ve pH aralıklarının sırasıyla 40–45 °C ve 7.0–7.5 olduğu bildirilmiştir. Şekerlerden asit üretirler (Gonzalez ve ark., 1978; Ventosa, 2015).

Cins *Natronomonas*

Natronomonas cinsine ait türler, Gram negatif, düz şekiller, koklar, kısa çomaklar ve tetragonlar gibi çeşitli hücre şekilleri olmak üzere pleomorfik şekillidir ve kırmızı renklidirler. Halofil arke olan *Natronomonas* türleri, kemoorganotrofik, aerobik ve bulundukları ortamlarda 2.0 M NaCl konsantrasyonuna ihtiyaçları vardır. Alkalifilik veya nötrofilik olarak değerlendirilmektedir. Membran polar lipitleri, fosfatidilgliserol, fosfatidilgliserolfosfat metil ester ve fosfatidik asidin gliserol dieter analoglarıdır. Fitanyl-sesterterpanil parçaları mevcut iken, bilinmeyen

fosfolipitler veya glikolipit mevcut olabilmektedir. DNA G+C içerikleri %61.8–64.3 arasında değişkenlik göstermektedir (Soliman ve Trüper, 1982; Minegishi ve Kamekura, 2015).

Cins *Haloplanus*

Haloplanus cinsi, düz, pleomorfik kırmızı veya pembe pigmentli ve Gram boyamada negatif özellik gösteren hücreler içermektedir. 0.9–5.1 M NaCl konsantrasyonunda gelişim gösteren aşırı halofiller oldukları, bazılarının hareketli olduğu, birçoğunun gaz vezikülleri oluşturduğu bilgisi yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir. 20–52 °C sıcaklık ve 5.5–9.5 pH aralıklarındaki değerler gelişimi desteklemektedir. Oksidaz ve katalaz pozitif, aerobik, heterotroflardır. Bazı türler için ortamda dimetil sülfoksit (DMSO), nitrat veya arjinin varlığında anaerobik gelişme gösterdikleri rapor edilmiştir. Filogenetik olarak en yakın ilişki olarak *Halopelagius*, *Haloferax* ve *Halogramum* cinsleri içermektedir. Türlerin çoğu deniz tuzlarından izole edilmiştir. DNA G+C içerikleri %62.1–67.2 arasında değişkenlik göstermektedir. *Haloplanus* cinsinin tip türü *Haloplanus natans* olarak belirlenmiştir (Oren, 2015).

Cins *Halorubrum*

Halorubrum, uygun koşullar altında çomak veya pleomorfik ve Gram negatif boyanma özelliktedirler. Bakteriyoruberin karotenoidlerinin varlığından dolayı koloniler genellikle kırmızı-turuncu renktedir. Fakat bu özelliğin tam tersi olarak bazı türler neredeyse renksizdir. Bazı suşlarında gaz vezikülleri üretmektedir. Gelişim gösterebilmek için 1.0–5.2 M NaCl konsantrasyon aralığına ihtiyaç duyan *Halorubrum* türleri aşırı halofiliktir. Başlıca polar lipidler (C₂₀C₂₀ ve bazen C₂₀C₂₅), S-DGD-3 gibi sülfatlanmış bir glukosil mannosil dieter, fosfatidilgliserol fosfat metil esterin (PGP-Me), fosfatidilgliserolün (PG), fosfatidilgliserol sülfatın (PGS) gliserol dieter türevleridir. DNA G+C içerikleri %60.2–71.2 arasında değişmektedir. Optimal olarak pH 8.5–9.0 veya üzerindendeki pH'larda gelişim gösterebilen alkalifilik türler, glikolipitlerden ve PGS içermezler. *Halorubrum* cinsinin türleri tuzlu yiyeceklerden, deniz tuzlarından, tuzlu topraklardan, tuz göllerinden, kaya tuzundan, soda göllerinden ve diğer aşırı tuzlu ortamlardan izole edilmiştir. *Halorubrum* cinsinin tip türü *Halorubrum saccharovorum* olarak belirlenmiştir (Tomlinson ve Hochstein, 1976; McGenity ve Grant, 1995; Oren, 2018).

Cins *Halomarina*

Halomarina cinsi üç tür içermektedir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). 2015 yılında elde edilen bilgiye göre *Halomarina oriensis*, Tokyo, Japonya'daki bir akvaryumdan örneklenen deniz suyundan izole edilmiştir. Organizma hareketsiz, kokoid, nötrofiliktir, büyüme için en az 1,7 M NaCl gerektirir ve optimal olarak 2,7 M NaCl'de büyüdüğü bildirilmiştir (Inoue ve Kogure, 2015).

Cins *Halonotius*

Halonotius cinsi, katı besiyerinde kırmızı pigmentli koloniler oluşturarak üreyen, Gram negatif özellikte olan, genellikle yuvarlak uçlu, yassı çomaklar şeklindedirler. Hücreler bir polar kamçı ile zayıfça hareketlidir ve zorunlu aerobik heterotroflardır. Katalaz ve oksidaz testleri negatiftir. DNA G+C içerikleri %58.4–58.7 arasındadır. Tuz gölleri tuz örnekleri ve tuzlaların tuz kristalleştirici havuzlarından izole edilmişlerdir. *Halonotius* cinsinin tip türü *Halonotius pteroides* olarak belirlenmiştir (Burns ve ark., 2010; Durán-Viseras ve ark., 2019).

Cins *Halobellus*

Halobellus cinsine giren türlerin hücreleri, optimal büyüme koşulları altında çubuklar, koklar veya pleomorfik formlar dahil olmak üzere farklı şekiller gösterirler ve kırmızı pigmentlidirler. Gram negatif özellik gösterirler. Çoğu tür hareketlidir. *Halobellus spp.* pH 6.5-8.0'da ve 37°C'de optimal olarak büyüyen nötrofillerdir. Aerobik, kemoorganotrofik aşırı halofillerdir (2,6–3,9 M NaCl'de optimum büyüme), karbon ve enerji kaynağı olarak çok çeşitli karbonhidratlar, organik asitler ve amino asitler üzerinde büyüeyebilirler. Şekerler, bazı türler tarafından asit oluşumu ile metabolize edilir (Cui, 2016).

Cins *Salinibacter*

Bacteria domainine ait olan *Salinibacter* cinsinin hücreleri çomak şekilli veya kavisli, oksidaz ve katalaz pozitif, Gram negatif özellikli, aerobik ve heterotrofik bakterilerdir. Tuz gölleri ve tuzlarda yaşayan bu mikroorganizmalar aşırı halofiliktirler ve gelişim için ortamlarda minimum 150 g/L tuz konsantrasyonuna gereksinimleri vardır. Hücreler karotenoid pigmentler üretmektedir. Polar lipitleri fosfatidilkolin, difosfatidilgliserol ve tanımlanmamış glikolipit ve lipitlerdir. Cinsin tip türü *Salinibacter ruber* olarak belirlenmiştir (Antón ve ark., 2002; Makhdoumi-Kakhki ve ark., 2012; Munoz ve ark., 2016).

Cins *Nafulsella*

Nafulsella cinsinin şimdiye kadar tanımlanmış tek bir türü olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). Hücreler yaklaşık 0,5–0,6 mm genişliğinde ve 1,4–3,2 mm uzunluğunda olan ve süzülerek hareket edebilen, zorunlu aerobik, Gram negatif çomaklardır. MA'da 3 gün boyunca büyütülen koloniler, açık kenarlı, soluk pembe, pürüzsüz, dairesel, düz ve 1-2 mm çapında olduğu gözlemlenmiştir (Zhang ve ark., 2013). Hücrelerin çoğalması için gereken optimum sıcaklık 30-37 °C, optimum pH 7 ve %0.5-6 (w/v) (optimum %2) oranında deniz tuzuna ihtiyaç duyarlar. Jelatin, nişasta ve kazeini hidrolize edebildikleri ancak, karboksimetilselüloz, kitin veya tirozini hidrolize edemedikleri bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2013).

Cins *Salinimicrobium*

Salinimicrobium cinsinin şimdiye kadar resmi olarak tanımlanan 10 türü olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). Hücreler Gram negatif, spor oluşturmeyen çomak şeklindedir. Katalaz pozitif, oksidaz negatif ve üreaz negatiftirler. Nitratı nitrite indirgeyemezler. Koloniler sarı pigmentlidir. Kamçı ve kayma hareketlerinden yoksundur. DNA G+C içeriği %42.1–44.4 mol'dür Tip türü *Salinimicrobium catena*'dır (Lim ve ark., 2008).

Cins *Puniceicoccus*

Puniceicoccus cinsinin şimdiye kadar tanımlanmış tek bir türü olduğu bildirilmiştir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi 2022). *Puniceicoccus* cinsi, Gram negatif, fakültatif anaerobik, karotenoid pigmentler üreten, hareketsiz kok şeklindedirler (çap olarak 0,6–1,0 µm). Gelişmesi için sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon değerleri sırasıyla 8–37°C (optimum, 25–30°C), pH 5.0–12,0 (optimum, pH 9.0) ve %1.0–7.5 (a/h) NaCl'dir (optimum, %3,0–3,5). Kemoheterotrofiktirler. Büyüme için NaCl'ye ihtiyaç duyar. Oksidaz ve katalaz negatiftirler. DNA G+C içeriği %52.1'dir (Choo ve ark., 2007). *Puniceicoccus* cinsinin tip türü *Puniceicoccus vermicola*'dır.

Cins *Lentimonas*

Lentimonas cinsinin şimdiye kadar tanımlanan 1 adet türü bulunmaktadır. *Lentimonas* cinsinin tip türü *Lentimonas marisflavi* olarak bilinmektedir (Eužby, 1997; <http://www.bacterio.net/>,

Erişim Tarihi 2022). *Lentimonas marisflavi* ve YN31-114 kodlu izolatın 16S rRNA gen dizisini gösteren bir dizi GenBank’da bulunmaktadır (Brown ve ark., 2010).

Cins *Aquiluna*

Aquiluna cinsinin şimdiye kadar resmi olarak tanımlanan 2 türü olduğu bildirilmiştir (Euźby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Eriřim Tarihi 2022). *Aquiluna* cinsine ait hücre kültürleri açık kırmızı pigmentli, çok küçük ve çubuk şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. *Aquilina* cinsinin tip türü *Aquiluna borghonia*’dır. DNA G+C içeriği %54,8 mol’dür (Pitt ve ark., 2021).

Cins *Litoricola*

Litoricola cinsinin şimdiye kadar resmi olarak tanımlanan 2 türü olduğu bildirilmiştir (Euźby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Eriřim Tarihi 2022). *Litoricola* cinsinin hücreleri Gram negatif, kısa çomaklar ve hareketsizlerdir. Oksidaz pozitif ve katalaz negatiftir. Kemoheterotrofik ve fakültatif olarak gelişen aerobik bakterilerdir. Glikoz fermentasyonundan asit üretmezler. Büyümeleri için ortamda NaCl’ye ihtiyaçları vardır. Tip türlerinin tip suşunun DNA G+C içeriği %57.9 mol’dür. Cinsin tip türü *Litoricola lipolytica*’dır (Kim ve ark., 2007).

Cins *Truepera*

Truepera cinsinin şimdiye kadar resmi olarak tanımlanan 1 türü olduğu bildirilmiştir (Euźby, 1997; <http://www.bacterio.net/>, Eriřim Tarihi 2022). Bu cinsin hücreleri küresel şeklinde gözlemlenirken, kolonilerin turuncu/kırmızı pigment içerdiği bildirilmiştir. Bu cinsin  yeleri endospor oluşurmazlar. Alkalifilik, hafif termofilik ve hafif halofiliktirler. Oksidaz ve katalaz pozitif özelliktedirler. Karbon ve enerji kaynağı olarak şekerler, organik asitler ve amino asitler kullandıkları gözlemlenmiştir. DNA G+C içeriği %67-68 mol’dür. Tip türü *Truepera radiovictrix*’tir (Albuquerque ve ark., 2005).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu tez araştırmasında kullanılan yedi adet tuzlu su ve bir adet ham tuz örnekleri Ayvalık Tuzlası'ndan steril koşullarda toplanmıştır.

2.1.1. Kullanılan Çözeltiler

Bu deneyde %0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su, %10 NaCl, %25 NaCl, içeren tuzlu su çözeltileri, 1 M NaCl çözeltisi, Frazier Ayırıcı, %0.1'lik Kongo Kırmızısı kullanılmıştır.

2.1.1.1. Frazier Ayırıcı

HgCl₂.....: 12.4 g

HCl.....: 16 ml

Kimyasal maddeler 80 ml distile su içine konularak karıştırılmıştır (Sánchez-Porro ve ark., 2003).

2.1.1.2. %0.1'lik Kongo Kırmızısı

Kongo Kırmızısı.....: 0.1 g

Kongo kırmızısı 100 ml steril su içine konularak iyice karıştırılmıştır.

2.1.1.3. 1 M NaCl

NaCl.....: 58.5 g

Distile su.....: 100 ml

2.1.1.4. %0.85 NaCl İçeren Tuzlu Su

NaCl.....: 0.85 g

Distile su.....: 100 ml

2.1.1.5. %10 NaCl İçeren Tuzlu Su

NaCl.....: 10 g

Distile su.....: 100 ml

Sterilizasyon işlemi 121°C’de 20 dakika yapılmıştır.

2.1.1.6. %25 NaCl İçeren Tuzlu Su

NaCl.....: 25 g

Distile su.....: 100 ml

Sterilizasyon işlemi 121 °C’de 20 dakika yapılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Bu Tez çalışmasında, NaCl içermeyen Nutrient Agar besiyeri, %10 NaCl içeren Kompleks Agar besiyeri, %25 NaCl içeren Brown Agar besiyeri, NaCl içermeyen Jelatin Agar besiyeri, %10 NaCl içeren Jelatin Agar besiyeri, %25 NaCl içeren Jelatin Agar besiyeri, NaCl içermeyen Tween 80 Agar besiyeri, %10 NaCl içeren Tween 80 Agar besiyeri, %25 NaCl içeren Tween 80 Agar besiyeri, NaCl içermeyen Selülaz Agar besiyeri, %10 NaCl içeren Selülaz Agar besiyeri, %25 NaCl içeren Selülaz Agar besiyeri kullanılmıştır.

2.1.2.1. NaCl İçermeyen Nutrient Agar Besiyeri

Et özütü: 3 g

Pepton: 5 g

Agar.....: 20 g

Distile su.....: 1000 ml

pH.....: 7.5

Yukarıdaki kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür.

2.1.2.2. %10 NaCl İçeren Kompleks Agar Besiyeri

NaHCO ₃	: 0.06 g
MgSO ₄	: 9.6 g
Maya Özütü.....	: 5 g
NaBr.....	: 0.026 g
KCl.....	: 2 g
CaCl ₂	: 0.36 g
MgCl ₂	: 7.0 g
NaCl.....	: 100 g
Agar.....	: 20 g
Distile su.....	: 1000 ml
pH.....	: 7.5

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Ventosa ve ark., 1989; Sánchez-Porro ve ark., 2003).

2.1.2.3. %25 NaCl İçeren Brown Agar Besiyeri

Sodyum tri-sitrat.....	: 3 g
Maya özütü.....	: 5 g
KCl.....	: 2 g
CaCl ₂ . 6H ₂ O	: 0.2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	: 20 g
Agar.....	: 20 g
NaCl.....	: 250 g
pH.....	: 7.0
Distile Su.....	: 1000ml

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra

steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Brown, 1963; Birbir ve Berber, 2009; Birbir ve Çağlayan, 2015; Birbir ve ark., 2007).

2.1.2.4. NaCl İçermeyen Jelatin Agar Besiyeri

Jelatin.....: 20 g
Proteaz pepton.....: 5 g
Glikoz.....: 1 g
Maya özütü.....: 5 g
Agar.....: 20 g
Distile su.....: 1000 ml
pH.....: 7.0

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlendeki distile su içerisine konularak homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra steril petri kutularına aseptik koşullar altında dökülmüştür (Sanchez-Porro, 2005; Beşe, 1974; Birbir ve Çağlayan 2015).

2.1.2.5. %10 NaCl İçeren Jelatin Agar Besiyeri

Glikoz.....: 1 g
Proteaz pepton.....: 5 g
Maya özütü.....: 5 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
Jelatin.....: 20 g
MgSO₄.....: 9.6 g
NaBr.....: 0.026 g
KCl.....: 2 g
CaCl₂.....: 0.36 g
NaCl.....: 100 g
MgCl₂.....: 7.0 g
Agar.....: 20 g
Distile su.....: 1000 ml
pH.....: 7.0

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde

edildikten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Ventosa ve ark., 1989; Beşe, 1974; Sánchez-Porro, 2005; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Çağlayan ve ark., 2017).

2.1.2.6. %25 NaCl İçeren Jelatin Agar Besiyeri

Proteaz pepton.....: 5 g
Jelatin.....: 20 g
Maya özütü.....: 5 g
Glikoz.....: 1 g
KCl.....: 2 g
CaCl₂. 6H₂O: 0.2 g
MgSO₄.7H₂O.....: 20 g
Agar.....: 20 g
NaCl.....: 250 g
Distile Su.....: 1000ml
pH.....: 7.0

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra 121°C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Beşe, 1974; Birbir ve Berber, 2009; Birbir ve ark., 2007).

2.1.2.7. NaCl İçermeyen Tween 80 Agar Besiyeri

Maya özütü.....: 5 g
Distile su.....: 1000 ml
Agar.....: 20 g
pH.....: 7.0

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır ve 20 dakika süreyle 121°C’de otoklavda sterilizasyon işlemi yapılmıştır. Besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra içerisine 10 gram Tween 80 eklenmiştir ve steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Beşe, 1974; Birbir ve Berber, 2009; Berber ve Birbir, 2010).

2.1.2.8. %10 Tuz İçeren Tween 80 Agar Besiyeri

Maya özütü.....	5 g
KCl.....	2 g
NaCl.....	100 g
NaHCO ₃	0.06 g
NaBr.....	0.026 g
CaCl ₂	0.36 g
MgSO ₄	9.6 g
MgCl ₂	7.0 g
Agar.....	20 g
Distile su.....	1000 ml
pH.....	7.0

Yukarıda belirtilen maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra Sterilizasyon işlemi 121°C’de 20 dakika süreyle yapılmıştır. Besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra içerisine 10 gram Tween 80 eklenmiştir ve steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Beşe, 1974; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Ventosa ve ark., 1989; Çağlayan, 2015).

2.1.2.9. %25 NaCl İçeren Tween 80 Agar Besiyeri

Maya özütü.....	5 g
KCl.....	2 g
CaCl ₂ . 6H ₂ O	0.2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	20 g
Agar.....	20 g
NaCl.....	250 g
Distile su.....	1000 ml
pH.....	7.0

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra sterilizasyon işlemi 121°C’de 20 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir.

Besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra içerisine 10 gram Tween 80 eklenmiştir ve steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Beşe, 1974; Birbir ve Berber, 2009; Birbir et al 2007).

2.1.2.10. NaCl İçermeyen Selüloz Agar Besiyeri

Maya özütü.....: 1 g
Kazaminoasit.....: 1 g
Karboksimetil selüloz.....: 2 g
Distile su.....: 1000 ml
Agar: 20 g
pH.....7

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra 15 dakika süreyle 121°C’de otoklavda steril işlemi yapılmıştır ve besiyeri steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Limauro ve ark., 2001; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark., 2007).

2.1.2.11. %10 Tuz İçeren Selüloz Agar Besiyeri

Maya özütü.....: 1 g
Kazaminoasit.....: 1 g
Karboksimetil selüloz.....: 2 g
NaHCO₃.....: 0.06 g
NaBr.....: 0.026 g
MgSO₄.....: 9.6 g
KCl.....: 2 g
NaCl.....: 100 g
MgCl₂.....: 7.0 g
CaCl₂.....: 0.36 g
Agar.....: 20 g
Distile su.....: 1000 ml

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak ısıtıcıda homojen karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Homojen karışım elde

edildikten sonra sterilizasyon işlemi 121°C’de 20 dakika süreyle yapılmıştır. Besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Ventosa ve ark., 1989; Limauro ve ark., 2001; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark., 2007; Birbir ve ark., 2007).

2.1.2.12. %25 Tuz İçeren Selüloz Agar Besiyeri

Maya özütü.....: 1 g
Kazaminoasit.....: 1 g
Karboksimetil selüloz.....: 2 g
KCl.....: 2 g
CaCl₂. 6H₂O: 0.2 g
MgSO₄.7H₂O.....: 20 g
Agar.....: 20 g
NaCl.....: 250 g
Distile su.....: 1000 ml

Yukarıda belirtilen kimyasal maddeler erlenin içerisindeki distile su içerisine konularak homojen karışım elde edilinceye kadar ısıtıcıda karıştırılmıştır. Homojen karışım elde edildikten sonra sterilizasyon işlemi 121°C’de 20 dakika süreyle yapılmıştır. Besiyeri otoklavdan çıktıktan sonra steril petri kutularına steril koşullar altında dökülmüştür (Limauro ve ark., 2001; Birbir ve ark., 2007).

2.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında ve Fen Fakültesi Bitki Hastalıkları Laboratuvarında bulunan Terazi (Sartorius Analytic), Pasteur Fırını (Kermanlar), Buzdolabı (Arçelik), Otoklav (Web MLW), Distile Su Cihazı (GFL), Etüv (Nüve EN500), Desikatör, Vakum pompası, Vorteks Tüp Karıştırıcısı (Nüve), Refraktometre, Çalkalamalı Etüv (Edmund Bühler), Biyogüvenlik Kabini, pH Metre (WTW) ve Çeker Ocak’tan faydalanılarak Tez çalışması gerçekleştirilmiştir.

2.2. Yöntem

1. Ayvalık Tuzlası'ndan Tuzlu Su ve Tuz Örneklerinin Toplanması,
2. Örneklerin Fizikokimyasal Parametrelerinin İncelenmesi,
3. Örneklerdeki Toplam Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi,
4. Örneklerdeki Toplam Proteolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Proteolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Proteolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi,
5. Örneklerdeki Toplam Lipolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Lipolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Lipolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi,
6. Örneklerdeki Toplam Selüloolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Selüloolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Selüloolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi,
7. Tuzlu Sulardan ve Tuz Örneğinden Prokaryotik Hücrelerin Elde Edilmesi,
8. Tuzlu Sulardan ve Tuz Örneğinden Toplanan Prokaryotik Hücrelerden DNA Ekstraksiyonunun Yapılması,
9. Tuzlu Sulardaki ve Tuz Örneğindeki Prokaryotik Hücrelerden Ekstre Edilen DNA'lardan 16S rRNA Amplikonlarının Çoğaltılması,
10. Veri Tabanları Kullanılarak Metagenomik Okumaların Karşılaştırmalı Analizlerinin Yapılması.

2.2.1. Ayvalık Tuzlası'ndan Tuzlu Su ve Tuz Örneklerinin Toplanması

Bu Tez çalışmasında yedi adet tuzlu su örnekleri, Ayvalık Tuzlası'nın yedi farklı havuzundan toplanmıştır (Şekil 2.1b). Tuzlu su örnekleri, toplandıkları havuzun tuzluluk yüzdelere göre Ayvalık Tuzlası Havuzu 3.5 (ATH 3.5), Ayvalık Tuzlası Havuzu 5 (ATH5) Ayvalık Tuzlası Havuzu 6 (ATH6), Ayvalık Tuzlası Havuzu 8 (ATH8), Ayvalık Tuzlası Havuzu 18 (ATH18), Ayvalık Tuzlası Havuzu 24 (ATH24) ve Ayvalık Tuzlası Havuzu 28 (ATH28) kodu ile Tuz örneği ise Ayvalık Tuzlası Tuzu (ATT) olarak kodlanmıştır.



Şekil 2.1. Farklı Tuzluluklara Sahip Ayvalık Tuzlası Havuzları



Şekil 2.2. Ayvalık Tuzlası (Google Haritalar, 2022)

2.2.2. Örneklerin Fizikokimyasal Parametrelerinin İncelenmesi

Ayvalık Tuzlasının farklı havuzlarından toplanan Tuzlu suların ve Tuz örneğinin tuzluluk değerleri Refraktometre (Reef Octopus, China) ile saptanmıştır. Ayvalık Tuzlasının farklı havuzlarından toplanan Tuzlu suların ve Tuz örneğinin pH değerleri pH metre ile (PT 10, Sartorius Professional Meter PP-50 AG, Goettingen, Germany) ile ölçülmüştür. Ayvalık Tuzlasının farklı havuzlarından toplanan Tuzlu sularda ve Tuz örneğinde sodium, potasyum, magnezyum, kalsiyum, aliminyum ve selenyum konsantrasyonları ICP-OES (Perkin Elmer

Optima 2100 DV, Waltham, Massachusetts, United States) cihazı kullanılarak kantitatif olarak saptanmıştır. Örneklerin klorür değeri ise arjantometrik yöntemlerden olan Mohr yöntemi kullanılarak kantitatif olarak ölçülmüştür (Clarke, 1950; Olesik, 1991; Federation & American Public Health Association, 2005).

2.2.3. Örneklerdeki Toplam Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi

Toplam halofilik olmayan bakteri sayısını belirlemek için NaCl içermeyen Nutrient Agar besiyeri, toplam ılımlı halofilik bakteri sayısını belirlemek için %10 NaCl içeren Kompleks Agar besiyeri (Ventosa ve ark., 1989; Sánchez-Porro ve ark., 2003), toplam aşırı halofilik arke sayısını belirlemek için %25 NaCl içeren Brown Agar besiyeri (Brown, 1963; Birbir ve ark., 2007) kullanılmıştır. Toplam halofilik olmayan bakteri, toplam ılımlı halofilik bakteri ve toplam aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için, tuzlu su örneklerinden 20 ml ve tuz örneklerinden 20 g ayrı ayrı alınarak, sırasıyla içerisinde 180 ml steril %0.85 NaCl, %10 NaCl, ve %25 NaCl solüsyonlarını içeren erlenmeyerler içine konulmuştur (Harley ve Prescott 2002; Birbir ve ark., 2007). Erlenmeyerler çalkalamalı etüvde 100 rpm ve 25°C’de 4 saat çalkalanmıştır. Daha sonra, örneklerin direkt ve seri dilüsyonlarından 100 µl alınarak NaCl içermeyen Nutrient Agar besiyerine, %10 NaCl içeren Kompleks Agar besiyerine ve %25 NaCl içeren Brown Agar besiyerine ekilmiştir. Toplam halofilik olmayan bakteri ve toplam ılımlı halofilik bakterilerin üremesi için ekim yapılan besiyerleri 24 saat süreyle 37°C’de bekletilmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2003). Toplam aşırı halofilik arkelerin üremesi için petri kapları 39°C’de 4 haftalık inkübasyona bırakılmıştır (Birbir ve ark., 2007). İnkübasyondan sonra petri kaplarında üreyen koloniler sayılarak, tuzlu su örneklerinin 1 mililitresindeki ve tuz örneğinin 1 gramındaki toplam sayılar koloni oluşturma birimi (kob) olarak hesaplanmıştır.

2.2.4. Örneklerdeki Toplam Proteolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Proteolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Proteolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi

Toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri sayısını belirlemek için NaCl içermeyen Jelatin Agar besiyeri, toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri sayısını belirlemek için %10 NaCl içeren Jelatin Agar besiyeri, toplam proteolitik aşırı halofilik arke sayısını belirlemek için %25

NaCl içeren Jelatin Agar besiyeri kullanılmıştır (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Beşe, 1974; Birbir ve ark., 2007). Toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri, toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam proteolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için, tuzlu su örneklerinden 20 ml ve tuz örneklerinden 20 g ayrı ayrı alınarak, sırasıyla 180 ml steril % 0.85 NaCl, %10 NaCl ve %25 NaCl solüsyonlarının içine konulmuştur (Harley ve Prescott 2002; Birbir ve ark., 2007). Erlenmeyerler çalkalamalı etüvde 100 rpm ve 25°C'de 4 saat çalkalanmıştır. Daha sonra, örneklerin direkt ve seri dilüsyonlarından 100 µl alınarak NaCl içermeyen jelatin agar besiyerine, %10 NaCl içeren jelatin agar besiyerine ve %25 NaCl içeren jelatin agar besiyerine toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri, toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam proteolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için sırayla ekilmiştir.

Toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri ve toplam proteolitik ılımlı halofilik bakterilerin üremesi için petri kapları 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Sánchez-Porro ve ark., 2003). Toplam proteolitik aşırı halofilik arkelerin üremesi için petri kapları 39°C'de 4 haftalık inkübasyona bırakılmıştır (Birbir ve ark., 2007). İnkübasyondan sonra halofilik olmayanlar, ılımlı halofiller ve aşırı halofiller için petri kaplarına Frazier ayırıcı dökülmüştür. Etrafında şeffaf zon oluşan koloniler proteolitik koloni olarak sayılmıştır (Beşe 1974; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark. 2015). Tuzlu su örneklerinin 1 mililitresindeki ve tuz örneklerinin 1 gramındaki toplam proteolitik koloniler koloni oluşturma birimi (kob) olarak hesaplanmıştır.

2.2.5. Örneklerdeki Toplam Lipolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Lipolitik Ilımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Lipolitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi

Toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri sayısını belirlemek için NaCl içermeyen Tween 80 Agar besiyeri, toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri sayısını belirlemek için %10 NaCl içeren Tween 80 Agar besiyeri, toplam lipolitik aşırı halofilik arke sayısını belirlemek için %25 NaCl içeren Tween 80 Agar besiyeri (%1'lik Tween 80) kullanılmıştır (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark., 2007). Toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri, toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam lipolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için, tuzlu su örneklerinden 20 ml ve tuz örneklerinden 20 g ayrı ayrı alınarak, sırasıyla 180 ml steril %0.85 NaCl, %10 NaCl ve %25 NaCl solüsyonlarının içine konulmuştur (Harley ve Prescott 2002; Birbir ve ark., 2007). Erlenmeyerler çalkalamalı etüvde 100 rpm ve 25°C'de 4 saat çalkalanmıştır. Daha sonra, örneklerin direkt ve seri dilüsyonlarından 100 µl alınarak NaCl

içermeyen Tween 80 Agar besiyerine, %10 NaCl içeren Tween 80 Agar besiyerine ve %25 NaCl içeren Tween 80 agar besiyerine toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri, toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam lipolitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için sırasıyla ekilmiştir. Toplam lipolitik halofilik olmayan bakterilerin ve toplam lipolitik ılımlı halofilik bakterilerin üremesi için ekim yapılan besiyerleri 24 saat süreyle 37°C’de bekletilmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2003). Toplam lipolitik aşırı halofilik arkelerin üremesi için petri kapları 39°C’de 4 haftalık inkübasyona bırakılmıştır (Birbir ve ark., 2007). İnkübasyondan sonra etrafında opak zon oluşan koloniler lipaz pozitif olarak kabul edilmiştir (Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark., 2007). Tuzlu su örneklerinin 1 mililitresindeki ve tuz örneklerinin 1 gramındaki toplam lipolitik koloniler koloni oluşturma birimi (kob) olarak hesaplanmıştır.

2.2.6. Örneklerdeki Toplam Selülitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Selülitik İlımlı Halofilik Bakteri ve Toplam Selülitik Aşırı Halofilik Arke Sayılarının Belirlenmesi

Toplam selülitik halofilik olmayan bakteri sayısını belirlemek için NaCl içermeyen Selüloz Agar besiyeri ve toplam selülitik ılımlı halofilik bakteri sayısını belirlemek için %10 NaCl içeren Selüloz Agar besiyeri kullanılmıştır. Toplam selülitik aşırı halofilik arke sayısını belirlemek için ise %25 NaCl içeren Selüloz Agar kullanılmıştır (Limauro ve ark., 2001; Sánchez-Porro ve ark., 2003; Birbir ve ark., 2007). Toplam selülitik halofilik olmayan bakteri, toplam selülitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam selülitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için tuzlu su örneklerinden 20 ml ve tuz örneklerinden 20 g ayrı ayrı alınarak sırasıyla 180 ml steril %0.85 NaCl, %10 NaCl, ve %25 NaCl solüsyonlarının içine konulmuştur. Erlenmayerler çalkalamalı etüvde 100 rpm ve 25°C’de 4 saat çalkalanmıştır. Daha sonra, örneklerin direkt ve seri dilüsyonlarından 100 µl alınarak NaCl içermeyen Selüloz Agar besiyerine, %10 NaCl içeren Selüloz Agar besiyerine ve %25 NaCl içeren Selüloz Agar besiyerine toplam selülitik halofilik olmayan bakteri, toplam selülitik ılımlı halofilik bakteri ve toplam selülitik aşırı halofilik arke sayılarının belirlenmesi için sırasıyla ekilmiştir. Toplam selülitik halofilik olmayan bakteri ve toplam selülitik ılımlı halofilik bakterilerin üremesi için ekim yapılan besiyerleri 24 saat süreyle 37°C’de bekletilmiştir. Toplam selülitik aşırı halofilik arkelerin üremesi için petri kapları 39°C’de 4 haftalık inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra petri kapları üzerine %0.1’lik kongo kırmızısı dökülmüştür ve 30 dakika beklenmiştir. Daha sonra koloniler 1 M NaCl ile yıkanmıştır. Yıkamadan sonra koloniler

etrafında şeffaf zon oluşması selüloolitik aktivite olarak kabul edilmiştir. Tuzlu su örneklerinin 1 mililitresindeki ve tuz örneklerinin 1 gramındaki toplam selüloolitik koloniler koloni oluşturma birimi (kob) olarak hesaplanmıştır.

2.2.7. Tuzlu Sulardan ve Tuz Örneğinden Prokaryotik Hücrelerin Elde Edilmesi

Ayvalık Tuzlası'nın %3.5, %8 ve %24 tuzluluğa sahip havuzlarından toplanan Tuzlu sulardan ve Tuz örneğinden hazırlanan solüsyondan 3 litre alınmıştır. Bu tuzlu su örnekleri membran filtrasyon yöntemi ile por çapı 5 µm olan filtrelerden süzülerek steril erlenlere konulmuştur. Süzülen bu tuzlu su örnekleri tekrar membran filtrasyon yöntemi ile por çapı 0.2 µm olan filtrelerden süzülmüştür. Süzülme işlemi esnasında filtrelere tutunan mikroorganizmalar steril koşullar altında toplanarak steril falkon tüpleri içine aktarılmıştır.

Bu bakteri süspansiyonundan 1.5 ml alınarak Eppendorf tüplerine konulmuş ve 13.000 rpm'de 30 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. Santrifüj tamamlandıktan sonra Eppendorf tüplerindeki süpernatant steril pipetle alınarak tüplerde yalnızca pelletin kalması sağlanmıştır. Pellet içeren tüpler DNA ekstraksiyon işlemine kadar -20°C'de saklanmıştır (Ghai ve ark., 2011; Fernández ve ark., 2014a; Vavourakis ve ark., 2016).

2.2.8. Tuzlu Sulardan ve Tuz Örneğinden Toplanan Prokaryotik Hücrelerden DNA Ekstraksiyonunun Yapılması

Tuzlu sulardan ve Tuz örneğinden toplanan prokaryotik hücrelerden DNA ekstraksiyon işlemi DNeasy® PowerSoil® kiti kullanılarak yapılmıştır. DNA ekstraksiyon işlemi DNeasy® PowerSoil® kitinde açıklanan yöntemle göre gerçekleştirilmiştir (Quick Start Protokol, DNeasy® PowerSoil® Kit, 2016). Eppendorf tüplerindeki pelletler içerisine steril bilyeler ile birlikte tampon çözelti konularak tüpler hafifçe vortekslenmiştir. Daha sonra tüplere SDS (Sodyum dodesil sülfat) ve diğer parçalayıcı ajanları içeren C1 çözeltisinden 60 µl konulmuş ve tüpler 10 dakika süreyle maksimum hızda vortekslenmiştir. C1 çözeltisi etanol içermektedir ve liziz prosedürü olarak adlandırılmıştır. Hücre zarında bulunan yağ asitleri ve lipitler parçalanarak DNA sitoplazmada içerisinde serbest bırakılır. Daha sonra tüpler 10.000 x g 30 saniye santrifüj edilmiştir. Bu işlemde sonra tüpün üstünde toplanan süpernatantlar steril pipetle alınarak steril 2 ml'lik toplama tüplerine konulmuştur. Bu toplama tüplerine 250 µl C2 çözeltisinden konularak 5 saniye süreyle tüpler vortekslenmiştir. C2 çözeltisi etanol-

guanidinyum klorür (tuz)- isopropanol içermektedir. DNA haricinde ortamda bulunan (tüp içerisinde) organik ve inorganik materyallerin uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Vorteksleme işleminden sonra tüpler 10.000 x g hızında 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bu işlemden sonra steril 2 ml'lik toplama tüplerine tüplerdeki pelete kesinlikle dokunulmadan 750 µl'lik süpernatantlar konulmuştur. Tüplerdeki süpernatantlar üzerine 200 µl C3 çözeltisinden konularak tüpler hafifçe vortekslenmiştir. C3 çözeltisi hümitik asit içermektedir. C2 çözeltisi gibi ortamdaki organik ve inorganik materyallerin uzaklaştırılması amacıyla ikinci basamak işleminde kullanılmıştır. Bu işlemden sonra tüpler, 1 dakika süre ile 10.000 x g santrifüjlenmiştir. Bu tüplerden pellete kesinlikle dokunulmadan 750 µl'lik süpernatantlar alınarak steril 2 ml'lik toplama tüplerine konulmuştur. Bu tüplere 1200 µl C4 çözeltisinden konularak 5 saniye süreyle tüpler 5 kez vortekslenmiştir. C4 çözeltisi yüksek tuz konsantrasyonu içermektedir. Ortamda bulunan organik ve inorganik materyallerin uzaklaştırılmasını ve DNA'nın spin kolona bağlanmasını kolaylaştırmıştır. Daha sonra bu tüplerden 675 µl alınarak spin kolonlar içine konulmuş ve 10.000 x g hızında 1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra sıvı kısım dökülerek tüm örnekler bitene kadar bu işleme devam edilmiştir. Örneklerin konulduğu kolonların üzerine 500 µl C5 çözeltisinden konulmuş ve kolonlar 30 saniye süreyle 10.000 x g hızında santrifüj edilmiştir. C5 çözeltisi spin kolona bağlanan DNA'nın temizlenmesi için kullanılan etanol bazlı yıkama solüsyonudur. Bu solüsyon DNA'nın spin kolondaki silika membrana bağlanmasının sağlarken ortamda bulunan tuzun, hümitik asidin ve diğer materyalleri uzaklaştırmıştır. Bu işlemden sonra sıvı kısım atılmış ve kolonlar 1 dakika süre ile 10.000 x g hızında santrifüj edilmiştir. Daha sonra spin kolonlar steril 2 ml'lik toplama tüplerine konularak 60 µl C6 çözeltisinden eklenmiş ve tüpler 30 saniye süre ile 10.000 x g hızında santrifüj edilmiştir. C6 çözeltisi steril elüsyon tampon içerir. Silika membrana tutunan DNA'nın membrandan ayrılması için kullanılmıştır. Santrifüjleme aşamasından sonra spin kolonlar atılarak DNA'nın bulunduğu tüplerin ağızları sıkıca kapatılmıştır. Tuzlu Sulardan ve Tuz örneğinden elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonu NanoDrop spektrofotometre cihazı (NanoDrop 2000) kullanılarak ölçülmüştür. DNA örneklerinin bulunduğu tüpler dizi analizi yapılncaya kadar -20 °C'de depolanmıştır (Klindworth ve ark., 2013).

2.2.9. Tuzlu Sulardaki ve Tuz Örneğindeki Prokaryotik Hücrelerden Ekstre Edilen DNA'lardan 16S rRNA Amplikonlarının Çoğaltılması

Ayvalık Tuzlası'nın %3.5, %8 ve %24 tuzluluk değerine sahip havuzlardan toplanan tuzlu sular ve tuz örneğinden elde edilen prokaryotik Arke ve Bakteri Domainlerine ait

mikroorganizmaların 16S SSU rRNA'larının V4 değişken bölgesi, universal 515F (GTGYCAGCMGCCGCGGTAA) ve 806R (GGACTACNVGGGTWTCTAAT) (Caporaso ve ark., 2011; Parada ve ark., 2016) primerleri kullanılarak ve ileri primerlere eklenmiş barkod dizileri ile amplifiye edilmiştir. PCR amplifikasyonları, HotStarTaq Plus Master Mix (Qiagen, USA) kullanılarak PCR cihazında 3 dakika 94°C'de, 35 döngü 45 saniye 94°C'de, 50°C'de 60 saniye ve 72°C'de 90 saniye, en son uzatma aşamasında da 10 dakika 72°C'de bekletilerek gerçekleştirilmiştir (Caporaso ve ark., 2018; Ul-Hasan ve ark. 2019). Amplifikasyon işleminden sonra PCR ürünleri %2'lik agaroz jel kullanılarak jelde yürütülmüştür. Bu işlem sonrasında amplifikasyonlar kontrol edilerek tuzlu sulara ve tuz örneğine ait DNA konsantrasyonları ölçülmüş ve ekimolar miktarda karıştırılmıştır. Birleştirdiğimiz ampikonlar AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) manyetik boncuklar kullanılarak saflaştırılmıştır. Elde ettiğimiz birleştirdiğimiz ve saflaştırdığımız örneklerimiz, DNA kütüphanesi hazırlama kiti protokollerine göre dizilenmek için hazırlanmıştır. Yeni nesil DNA dizileme (Next Generation Sequencing-NGS, Macrogen Inc., Seoul, Korea), Illumina MiSeq platformunda her örnek için ortalama 2x300 baz çiftlik okuma elde edilecek şekilde gerçekleştirilmiştir (Fernández ve ark., 2016).

2.2.10. Veri Tabanları Kullanılarak Metagenomik Okumaların Karşılaştırmalı Analizlerinin Yapılması

Dizileme işlemi sonrasında elde ettiğimiz her fragmanın ileri ve geri dizileri birleştirilmiş, birleştirme öncesi ve sonrası tüm dizinin kalite kontrolü [FASTQC](https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/) programında gerçekleştirilmiştir (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). 16S rRNA ampikon verisi, QIIME (Caporaso ve ark., 2010) yazılım paketi kullanılarak analiz işlemi gerçekleştirilmiştir.

Önce demultipleksleme işlemi ile dizilerdeki barkod bilgisi kullanılarak her örneğe ait diziler ayrılmıştır. Bu işlem yapılırken ileri/geri primer ve barkod dizilerinin tamamının eşleşmediği fragmanlar analiz işlemine katılmamıştır. Fragmanlardaki adaptör ve barkod dizileri kesildikten sonra analize hazır hâle getirilmiştir. Elde edilen fragmanlar, UCLUST (Edgar, 2010) yazılımının kullanılması ile %97 benzerlik seviyesinde OTU (operasyonel taksonomik birim) birimlerine kümelendirilmiştir. Her OTU'yu temsil eden dizi seçildikten sonra PyNAST (DeSantis ve ark., 2006) yazılımı kullanılması ile Greengenes veritabanına hizalaması (alignment) yapılmıştır. Bu işlemi takiben, ChimeraSlayer (Haas ve ark., 2011) algoritması

kullanılarak kimerik okumalar tespit edilmiş ve temizleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda sadece 1 dizi içeren OTU birimleri, analiz işlemine dahil edilmemiştir. Tüm örneklerimizin, her OTU kümesindeki dizilerinin miktarları belirlendikten sonra OTU birimlerinin taksonomik sınıflandırması için Greengenes veritabanı ve UCLUST algoritması kullanılmıştır.



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Ayvalık Tuzlası'ndan toplamda yedi adet tuzlu su örnekleri ve bir adet ham tuz örneği toplanmıştır.

ATH3.5 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 8.10, tuzluluk değeri %3.5, ATH5 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 8.30, tuzluluk değeri %5, ATH6 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 7.99, tuzluluk değeri %6, ATH8 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 7.93, tuzluluk değeri %8, ATH18 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 7.55, tuzluluk değeri %18, ATH24 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 7.30, tuzluluk değeri %24, ATH28 kodlu havuzdan alınan tuzlu suyun pH'ı 6.91, tuzluluk değeri %28, ATT tuzunun pH'ı 7.18 olarak ölçülmüştür (Tablo 3.2). ATH3.5 ve ATH5 kodlu havuzlardan alınan tuzlu suların pH değeri alkali iken, diğer havuzlardan alınan tuzlu suların ve tuz örneğinin pH değerinin nötral olduğu gözlenmiştir (Tablo 3.2).

Elevi ve arkadaşları (2004), Ayvalık Tuzlasından topladıkları tuzlu su numunesinin pH'sını 8.49 ve sertlik değerlerini 525F olarak bulurken, tuz örneğinin pH değerini 8.87 ve sertlik 3085F değerleri olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise sadece iki tuzlu su örneğinde (ATH3.5 ve ATH5) pH değerleri alkali (8.10-8.30) olarak ölçülürken, diğer tuzlu su örneklerinde (ATH6, ATH8, ATH18, ATH24, ATH28) ve tuz örneğinde (ATT) pH değerlerinin nötral olduğu (6.91-7.99) (7.18) görülmüştür. ATH 3.5 kodlu örneğimizde pH 8.1, ATH 5 kodlu örneğimizde ise pH değeri 8.3 hafif alkali olarak tespit edilmesi, Elevi ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları çalışmadaki pH değerleri ile benzerlik göstermektedir.

Tablo 3.1. Ayvalık Tuzlası'ndaki Farklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Suların ve Tuz Örneğinin Fizikokimyasal Parametreleri.

Örnek Kodu	Örnek cinsi	pH	Tuzluluk	Na ⁺ (mg/L)	K ⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Cl ⁻ (mg/L)	Cu (mg/L)	Al (mg/L)	Se (mg/L)
ATH3.5	Tuzlu su	8.1	%3.5	11364±495	339.9±7.2	138.6±2.6	50.2±1.4	23813.4±635.6	<0.96	<0.96	<1.96
ATH5	Tuzlu su	8.3	%5	14690±640	382.6±8.2	835.1±15.4	76.2±2.1	30122.9±203.5	<0.96	<0.96	<1.96
ATH6	Tuzlu su	7.99	%6	17596±767	1272±27	3041±56	855±23	35618.3±269.3	<0.96	2.1±0.1	<1.96
ATH8	Tuzlu su	7.93	%8	19589±853	1479±32	3440±63	1071±29	44980.9±443.6	<0.96	2.4±0.1	<1.96
ATH18	Tuzlu su	7.55	%18	43345±1888	4195±89	7815±144	915±25	101766.7±619.0	<0.96	2.1±0.1	<1.96
ATH24	Tuzlu su	7.3	%24	59804±2605	6435±137	10452±193	432±12	133517.9±366.9	<0.96	1.4±0.1	<1.96
ATH28	Tuzlu su	6.91	%28	38918±1695	10900±232	34336±633	139.7±3.8	157534.8±305.3	<0.96	<0.96	<1.96
ATT	Tuz	7.18	-	44896±1956	367.3±7.8	554±10.2	117.7±3.2	261642.1±352.5	<0.96	<0.96	<1.96

Ayvalık tuzlasındaki farklı tuz konsantrasyonundaki havuzlardan alınan tuzlu sularda, sodyum (Na^+) konsantrasyonunun en yüksek değeri 59804 ± 2605 mg/L olarak ATH24 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde saptanırken, sodyum (Na^+) konsantrasyonunun en düşük değeri 11364 ± 495 mg/L olarak ATH3.5 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde belirlenmiştir.

Potasyum (K^+) konsantrasyonunun en yüksek değeri 10900 ± 232 mg/L olarak ATH28 kodlu havuzdan alınan tuzlu örneğinde tespit edilirken, potasyum (K^+) konsantrasyonunun en düşük değeri 339.9 ± 7.2 mg/L olarak ATH3.5 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde saptanmıştır. Magnezyum (Mg^{2+}) konsantrasyonunun en yüksek değeri 34336 ± 633 mg/L olarak ATH28 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde gözlenirken, magnezyum (Mg^{2+}) konsantrasyonunun en düşük değeri 138.6 ± 2.6 mg/L olarak ATH3.5 kodlu havuzdan alınan tuzlu örneğinde tespit bulunmuştur.

Kalsiyum (Ca^{2+}) konsantrasyonunun en yüksek değeri 1071 ± 29 mg/L olarak ATH8 kodlu havuzdan alınan tuzlu örneğinde gözlenirken, kalsiyum (Ca^{2+}) konsantrasyonunun en düşük değeri 50.2 ± 1.4 mg/L olarak ATH3.5 kodlu havuzdan alınan tuzlu örneğinde saptanmıştır.

Klorür (Cl^-) konsantrasyonunun en yüksek değeri 157534.8 ± 305.3 mg/L olarak ATH28 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde belirlenirken, klorür (Cl^-) konsantrasyonunun en düşük değeri 23813.4 ± 635.6 mg/L olarak ATH3.5 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde saptanmıştır.

ATH3.5, ATH5, ATH28 kodlu havuzlardan alınan tuzlu su örneklerinde alüminyum (Al) 0.96 mg/L'nin altında bulunurken, ATH 6 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde 2.1 ± 0.1 mg/L, ATH 8 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde 2.4 ± 0.1 mg/L, ATH 18 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde 2.1 ± 0.1 mg/L, ATH24 kodlu havuzdan alınan tuzlu su örneğinde 1.4 ± 0.1 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Ayvalık tuzlasından toplanan tuz örneğinde (ATT) sodyum (Na^+), potasyum (K^+), magnezyum (Mg^{2+}), kalsiyum (Ca^{2+}) ve klorür (Cl^-) konsantrasyonları sırasıyla 44896 ± 1956 , 367.3 ± 7.8 , 554 ± 10.2 , 117.7 ± 3.2 ve 261642 olarak bulunmuştur. Ayvalık tuzlasından toplanan tuzlu sularda ve tuz örneğinde, bakır (Cu) değerleri 0.96 mg/L ve selenyum (Se) değerleri ise 1.96 mg/L'nin altında saptanmıştır (Tablo 3.2).

Elevi ve arkadaşlarının 2004 yılında Ayvalık Tuzlasından aldıkları tuzlu su örneğinin sertlik, kalsiyum (Ca^{2+}), magnezyum (Mg^{2+}), klorür (Cl^-), bikarbonat (HCO_3^-), sülfat (SO_4^{2-}), sodyum (Na^+) içerikleri sırasıyla 525 F, 1800 mg/L, 1800 mg/L, 80400 mg/L, 16700 mg/L, 12520 mg/L, 49000 mg/L olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise Ayvalık Tuzlası'ndan alınan tuzlu su örneklerinin sodyum (Na^+), magnezyum (Mg^{2+}), kalsiyum (Ca^{2+}), ve klorür (Cl^-) içerikleri sırasıyla 11363 mg/L-59804 mg/L, 138.6 mg/L-34336 mg/L, 50.2 mg/L-1071 mg/L, 101766.7 mg/L-261642.1 mg/L aralığındadır.

Yine aynı çalışmada Ayvalık Tuzlası'ndan alınan tuz örneğinin sertlik, kalsiyum (Ca^{2+}), magnezyum (Mg^{2+}), klorür (Cl^-), bikarbonat (HCO_3^-), sülfat (SO_4^{2-}), sodyum (Na^+) içerikleri ise sırayla 3085F, 2100000 mg/L, 6200000 mg/L, 519000000 mg/L, 24000000 mg/L, 3900000 mg/L ve 34300000 mg/L olarak bulunmuştur. Ayvalık Tuzlası'ndan bizim aldığımız tuz örneğinin ise kalsiyum (Ca^{2+}), magnezyum (Mg^{2+}), klorür (Cl^-) ve sodyum (Na^+) içerikleri 117.7 mg/L, 554 mg/L, 261642.1 mg/L, 44896 mg/L olarak belirlenmiştir.

Yapılan iki çalışmanın sonucunda Elevi ve arkadaşlarının (2004) Ayvalık Tuzlasından aldıkları tuzlu su örneğinin kalsiyum iyonu içeriği (1800 mg/L) ile bizim çalışmamızdaki ATH8 numaralı örneğimizin kalsiyum iyonu içeriğinin (1071 mg/L) benzer olduğu görülmüştür. Yine iki çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında, Elevi ve arkadaşlarının (2004) aldığı tuzlu su örneğinin sodyum içeriği (49000 mg/L) ile bizim çalışmamızdaki ATH18 kodlu örneğin sodyum içeriklerinin (43345 mg/L) benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Akpolat ve arkadaşları (2021), 2017 yılında temmuz ayında talasohalin olan Tuz Gölü, Derin Bölge, Kayacık, Kaldırım ve Yavşan Tuzlalarının 15 farklı bölgesinden çift tekrarlı olması için ikişer adet tuzlu su örneği alarak toplamda 30 adet tuzlu su örneğinin fizikokimyasal parametrelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar bu örneklerdeki en yüksek sodyum konsantrasyonu Derin Bölge örneklerinde 100559 mg/L olarak saptamışken en düşük sodyum konsantrasyonunu Kaldırım Tuzlası örneklerinde 70703 mg/L olarak saptamışlardır. Yine aynı çalışmada en yüksek potasyum konsantrasyonu Kaldırım Tuzlası örneklerinde 8832 mg/L olarak, en düşük potasyum konsantrasyonu Kayacık Tuzlası örneklerinde 4709 mg/L olarak bulunmuştur. Araştırmacılar en yüksek magnezyum konsantrasyonu Kaldırım Tuzlası örneklerinde 28335 mg/L olarak, en düşük magnezyum konsantrasyonunda Derin Bölge örneklerinde 8470 mg/L olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. En yüksek kalsiyum konsantrasyonu Yavşan Tuzlası örneklerinde 404 mg/L olarak tespit edilirken, en düşük kalsiyum konsantrasyonu Kaldırım Tuzlası örneklerinde 154 mg/L ölçülmüştür. En yüksek

klorür konsantrasyonu Kayacık Tuzlası örneklerinde 206839 mg/L olarak saptanırken, en düşük klorür konsantrasyonu Tuz Gölü örneklerinde 192194 mg/L olarak ölçülmüştür (Akpolat ve ark., 2021).

ATH 3.5, ATH 5, ATH 6, ATH 8, ATH 18, ATH24, ATH28, ATT numunelerinde toplam halofilik olmayan bakteri sayıları 1.8×10^5 kob/ml, 1.2×10^5 kob/ml, 1.2×10^4 kob/ml, 1.2×10^6 kob/ml, 7.2×10^7 kob/ml, 1.3×10^7 kob/ml, 1.8×10^6 kob/ml, 7.0×10^4 kob/g olarak; toplam ılımlı halofilik bakteri sayıları 4.0×10^4 kob/ml, 8.0×10^4 kob/ml, 6.0×10^3 kob/ml, 1.3×10^6 kob/ml, 4.1×10^5 kob/ml, 3.5×10^5 kob/ml, 3.0×10^4 kob/ml, 7.0×10^3 kob/g olarak saptanmıştır. ATH3.5, ATH5, ATH6, ATH18, ATH24, ATH28, ATT numunelerinde toplam aşırı halofilik arke sayıları sırasıyla 2.0×10^1 kob/ml, 1.0×10^1 kob/ml, 1.0×10^1 kob/ml, 5.0×10^1 kob/ml, 7.0×10^3 kob/ml, 2.0×10^1 kob/ml, 1.0×10^4 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 3.3). ATH8 nolu örnekte toplam aşırı halofilik arke tespit edilmemiştir (Tablo 3.3).

Halofil olmayan bakteri (10^4 - 10^7 kob/ml and 10^4 kob/g), ılımlı halofil bakteri (10^3 - 10^6 kob/ml ve 10^3 kob/g), proteolitik halofil olmayan bakteri (10^3 - 10^5 kob/ml ve 10^3 kob/g), proteolitik ılımlı halofil bakteri (10^3 - 10^4 kob/ml ve 10^2 kob/g), lipolitik halofil olmayan bakteri (10^3 - 10^5 kob/ml ve 10^2 kob/g), lipolitik ılımlı halofil bakteri (10^2 - 10^4 kob/ml ve 10^2 kob/g), sellüloolitik halofil olmayan bakteri (10^2 - 10^3 kob/ml ve 10^2 kob/g), sellüloolitik ılımlı halofil bakteri (10^1 - 10^2 kob/ml ve 10^1 kob/g) tüm tuzlu su örneklerinde ve bir tuz örneğinde saptanmıştır. Aşırı halofilik arkeler altı tuzlu su örneğinde (10^1 - 10^3 kob/ml) ve bir tuz örneğinde (10^4 kob/g) saptanırken, proteolitik aşırı halofilik arkeler tüm tuzlu su örneklerinde ve bir tuz örneğinde bulunamamıştır. Lipolitik aşırı halofilik arkeler iki tuzlu su örneğinde (10^1 kob/ml) ve bir tuz örneğinde (10^1 kob/g) saptanmıştır. Sellüloolitik aşırı halofilik arkeler üç tuzlu su örneğinde (10^1 kob/ml) ve bir tuz örneğinde (10^1 kob/g) saptanmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.2. Ayvalık Tuzlası'ndaki Farklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğindeki Toplam Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam ılımlı Halofilik Bakteri, Toplam Aşırı Halofilik Arke Sayıları

Örnek kodu	Toplam halofilik olmayan bakteri sayısı	Toplam ılımlı halofilik bakteri sayısı	Toplam aşırı halofilik arke sayısı
ATH3.5	1.8×10^5 kob/ml	4.0×10^4 kob/ml	2.0×10^1 kob/ml
ATH5	1.2×10^5 kob/ml	8.0×10^4 kob/ml	1.0×10^1 kob/ml
ATH6	1.2×10^4 kob/ml	6.0×10^3 kob/ml	1.0×10^1 kob/ml
ATH8	1.2×10^6 kob/ml	1.3×10^6 kob/ml	-
ATH18	7.2×10^7 kob/ml	4.1×10^5 kob/ml	5.0×10^1 kob/ml
ATH24	1.3×10^7 kob/ml	3.5×10^5 kob/ml	7.0×10^3 kob/ml
ATH28	1.8×10^6 kob/ml	3.0×10^4 kob/ml	2.0×10^1 kob/ml
ATT	7.0×10^4 kob/g	7.0×10^3 kob/g	1.0×10^4 kob/g

ATH3.5, ATH5, ATH6, ATH8, ATH18, ATH24, ATH28, ATT numunelerinde toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri sayıları sırasıyla 2.0×10^4 kob/ml, 9.0×10^4 kob/ml, 3.0×10^3 kob/ml, 1.0×10^5 kob/ml, 1.7×10^5 kob/ml, 9.6×10^5 kob/ml, 2.1×10^4 kob/ml, 3.4×10^3 kob/g olarak; toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri sayıları sırasıyla 5.0×10^3 kob/ml, 6.0×10^3 kob/ml, 3.0×10^3 kob/ml, 1.3×10^4 kob/ml, 2.0×10^4 kob/ml, 1.6×10^4 kob/ml, 4.0×10^3 kob/ml, 6.0×10^2 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 3.4). Örneklerin hiçbirinde toplam proteolitik aşırı halofilik arke tespit edilmemiştir (Tablo 3.4).

Tablo 3.3. Ayvalık Tuzlası'ndaki Farklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğindeki Toplam Proteolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Proteolitik Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Proteolitik Aşırı Halofilik Arke Sayıları

Örnek kodu	Toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri sayısı	Toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri sayısı	Toplam proteolitik aşırı halofilik arke sayısı
ATH3.5	2.0×10^4 kob/ml	5.0×10^3 kob/ml	-
ATH5	9.0×10^4 kob/ml	6.0×10^3 kob/ml	-
ATH6	3.0×10^3 kob/ml	3.0×10^3 kob/ml	-
ATH8	1.0×10^5 kob/ml	1.3×10^4 kob/ml	-
ATH18	1.7×10^5 kob/ml	2.0×10^4 kob/ml	-
ATH24	9.6×10^5 kob/ml	1.6×10^4 kob/ml	-
ATH28	2.1×10^4 kob/ml	4.0×10^3 kob/ml	-
ATT	3.4×10^3 kob/g	6.0×10^2 kob/g	-

ATH3.5, ATH5, ATH6, ATH8, ATH18, ATH24, ATH28, ATT numunelerinde toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri sayıları sırasıyla 5.4×10^4 kob/ml, 2.2×10^4 kob/ml, 2.0×10^3 kob/ml, 4.0×10^4 kob/ml, 4.0×10^4 kob/ml, 2.0×10^5 kob/ml, 3.0×10^3 kob/ml, 8.0×10^2 kob/g olarak; toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri sayıları sırasıyla 6.0×10^2 kob/ml, 2.0×10^3 kob/ml, 1.0×10^3 kob/ml, 3.0×10^3 kob/ml, 8.0×10^3 kob/ml, 1.1×10^4 kob/ml, 1.0×10^2 kob/ml, 1.0×10^2 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 3.5). ATH18, ATH28, ATT numunelerinde toplam lipolitik aşırı halofilik arke sayıları sırasıyla 2.0×10^1 kob/ml, 1.0×10^1 kob/ml, 5.0×10^1 kob/g olarak bulunmuştur (Tablo 3.5). ATH3.5, ATH5, ATH6, ATH8, ATH24 numunelerinde toplam lipolitik aşırı halofilik arke tespit edilmemiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.4. Ayvalık Tuzlası'ndaki Faklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğindeki Toplam Lipolitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Lipolitik Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Lipolitik Aşırı Halofilik Arke Sayıları

Örnek kodu	Toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri sayısı	Toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri sayısı	Toplam lipolitik aşırı halofilik arke sayısı
ATH3.5	5.4x10 ⁴ kob/ml	6.0x10 ² kob/ml	-
ATH5	2.2x10 ⁴ kob/ml	2.0x10 ³ kob/ml	-
ATH6	2.0x10 ³ kob/ml	1.0x10 ³ kob/ml	-
ATH8	4.0x10 ⁴ kob/ml	3.0x10 ³ kob/ml	-
ATH18	4.0x10 ⁴ kob/ml	8.0x10 ³ kob/ml	2.0x10 ¹ kob/ml
ATH24	2.0x10 ⁵ kob/ml	1.1x10 ⁴ kob/ml	-
ATH28	3.0x10 ³ kob/ml	1.0x10 ² kob/ml	1.0x10 ¹ kob/ml
ATT	8.0x10 ² kob/g	1.0x10 ² kob/g	5.0x10 ¹ kob/g

ATH3.5, ATH5, ATH6, ATH8, ATH18, ATH24, ATH28, ATT numunelerinde toplam selüloolitik halofilik olmayan bakteri sayıları sırasıyla 1.0x10² kob/ml, 2.0x10² kob/ml, 1.0x10² kob/ml, 4.0x10² kob/ml, 2.0x10³ kob/ml, 2.0x10² kob/ml, 3.0x10² kob/ml, 1.0x10² kob/g olarak; toplam selüloolitik ılımlı halofilik bakteri sayıları sırasıyla 4.0x10² kob/ml, 2.0x10¹ kob/ml, 2.0x10¹ kob/ml, 1.0x10¹ kob/ml, 1.0x10² kob/ml, 3.0x10² kob/ml, 1.0x10² kob/ml, 1.0x10¹ kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 3.6). ATH3.5, ATH18, ATH28, ATT numunelerinde toplam selüloolitik aşırı halofilik arke sayıları sırasıyla 1.0x10¹ kob/ml, 2.0x10¹ kob/ml, 2.0x10¹ kob/ml, 1.0x10¹ kob/g olarak bulunmuştur (Tablo 3.6). ATH5, ATH6, AT 8, ATH24 numunelerinde toplam selüloolitik aşırı halofilik arke tespit edilmemiştir (Tablo 3.6).

Tablo 3.5. Ayvalık Tuzlası'ndaki Faklı Tuzluluğa Sahip Havuzlardan Alınan Tuzlu Sularda ve Tuz Örneğinde Toplam Selülitik Halofilik Olmayan Bakteri, Toplam Selülitik Ilımlı Halofilik Bakteri, Toplam Selülitik Aşırı Halofilik Arke Sayıları

Örnek kodu	Toplam selülitik halofilik olmayan bakteri sayısı	Toplam selülitik ılımlı halofilik bakteri sayısı	Toplam selülitik aşırı halofilik arke sayısı
ATH3.5	1.0x10 ² kob/ml	4.0x10 ² kob/ml	1.0x10 ¹ kob/ml
ATH 5	2.0x10 ² kob/ml	2.0x10 ¹ kob/ml	-
ATH6	1.0x10 ² kob/ml	2.0x10 ¹ kob/ml	-
ATH8	4.0x10 ² kob/ml	1.0x10 ¹ kob/ml	-
ATH18	2.0x10 ³ kob/ml	1.0x10 ² kob/ml	2.0x10 ¹ kob/ml
ATH24	2.0x10 ² kob/ml	3.0x10 ² kob/ml	-
ATH28	3.0x10 ² kob/ml	1.0x10 ² kob/ml	2.0x10 ¹ kob/ml
ATT	1.0x10 ² kob/g	1.0x10 ¹ kob/g	1.0x10 ¹ kob/g

Elevi ve arkadaşları (2004), Ayvalık Tuzlası'ndan alınan örneklerde kültüre bağımlı yöntemlerle izole edilen 7 adet aşırı halofil suşunun morfolojik yapılarını, gelişmeleri için gerekli tuz konsantrasyonlarını, enzimatik özelliklerini, biyokimyasal reaksiyonlarını, hücre zarındaki lipid yapılarını, protein profillerini, plazmidlerinin, farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını incelemişlerdir. Yapılan kimyasal testler sonucunda tüm suşların katalaz ve oksidaz pozitif olduğu, besiyerinde nitrat varlığında anaerobik olarak geliştikleri ve nitrattan nitrit ve gaz ürettikleri bulunmuştur. İzolatların hiçbirisi besiyerinde arginin varlığında anaerobik olarak gelişmemişlerdir. Tüm izolatların indol üretmediği, kazeinaz ve lipaz (Tween 20 veya Tween 80) aktivitelerinin olmadığı rapor edilmiştir.

2019 yılında Ayvalık Tuzlası'nda kültüre bağımlı yöntemle yapılan bir diğer çalışmada ise Ayvalık Tuzlası'ndan (Balıkesir) halofilik arkelerin izolasyonu yapılarak bu halofilik arkelerin biyoteknolojik enzim potansiyelleri araştırılmıştır (Yılmaz, 2019). Ayvalık Tuzlası'nın 10 farklı havuzundan alınan su ve sediment örnekleri kullanılarak farklı besiyerlerinde kültüre edilebilir halofilik arke izolatları elde edilmiştir. Araştırmacılar, iyon kromatografisi ile toplanan tuzlu su örneklerinde sülfat, florür, nitrit, klorür ve bromür değerlerini belirlerken, sodyum, kalsiyum, magnezyum, kadmiyum, bakır, demir, mangan değerleri ICP-OES cihazı

kullanılarak belirlenmiştir. Bu Tez çalışmasında ayrıca, kimyasal analiz sonuçları ile halofilik prokaryotik izolatların sayısı ve türleri arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır (Yılmaz, 2019). Ayvalık Tuzlasından toplanan 10 tuzlu su örneğindeki florür (<0.1 mg-279 mg/L), klorür (32392 mg/L-205027 mg/L), nitrit (<0.1), bromür (415 mg/L-1280 mg/L), sülfat (<0.1 mg/L-775 mg/L), nitrat (280 mg/L-1205 mg/L), fosfat (9899 mg/L-62156 mg/L), sodyum (1.256 g/L -12.990), kalsiyum (0.355 g/L-11.174 g/L), magnezyum (2.032 g/L-24.756 g/L), kadmiyum (0.743 g/L-0.910 g/L), bakır (<1.00), demir (1.487 g/L-3.316 g/L), mangan (4.347 g/L-7.727 g/L) miktarları bu çalışmada rapor edilmiştir.

Daha önceki çalışmada Ayvalık Tuzlası'ndan alınan su örneklerinde 1.2×10^3 kob/ml halofilik prokaryotik mikroorganizma saptanmıştır. Tuzladan farklı 55 adet halofilik izolat seçilmiştir. Bu prokaryotik mikroorganizmaların sıvı besiyerinde ve agarlı besiyerinde çeşitli enzimleri üretenler belirlenmiş ve ürettikleri enzimler tespit edilmiştir. Agarlı besiyerinde yapılan testler sonucunda 55 halofilik izolatdan 34 izolatın enzimlerden en az birini ürettiği bilgisi rapor edilmiştir. Bu izolatlardan 14'ünün fazla miktarda enzim ürettiği açıklanmıştır. İzolatlar tarafından üretilen enzimlerin ise ısı toleranslarının 40 °C'ye yakın olduğu, alkali pH'larda daha çok stabil oldukları bildirilmiştir. 14 farklı prokaryotik izolatın 11 adeti kültürel karakteristikler morfolojik yapılar ve 16S rRNA dizi verileri ile tanımlanmıştır. Yapılan çalışmada *Marinobacter algicola*, *Halobacillus karajensis*, *Halobacillus alkaliphilus*, *Actinopolyspora erythraea*, *Halomonas denitrificans*, *Chromohalobacter beijerinckii*, *Halomonas alimentaria*, ve *Salegentibacter salarius* türleri tespit edilmiştir. Ek olarak enzim üreten 3 halofil izolat cins seviyesinde tanımlanmıştır. Bu izolatların 2 adeti *Haloferax* sp., ve 1 adeti ise *Saccharopolyspora* sp. olarak tanımlanmıştır. Tanımlandığı bildirilen türlerden AT-01-006 izolat numaralı *Halobacillus karajensis*'in ksilanaz ve amilaz pozitif, AT-06-002 izolat numaralı *Halobacillus alkaliphilus*'un ksilanaz, amilaz ve selüloz pozitif, AT-07-001 izolat numaralı *Salegentibacter salarius*'un ksilanaz, amilaz ve selüloz pozitif, AT-07-002 izolat numaralı *Halomonas alimentaria*'nın ksilanaz, amilaz ve selüloz pozitif, AT-08-002 izolat numaralı *Halomonas denitrificans*'ın selüloz pozitif, AT-09-003 izolat numaralı *Actinopolyspora erythraea*'nın selüloz pozitif, AT-10-003 izolat numaralı *Chromohalobacter beijerinckii*'nin ksilanaz, amilaz, selüloz ve pektinaz pozitif, AT-10-004 izolat numaralı *Marinobacter algicola*'nın selüloz pozitif olduğu bildirilmiştir. Tanımlanan AT-02-001 kodlu izolatın *Haloferax* sp. olarak tanımlandığı ve bu suşun ksilanaz pozitif olduğu bildirilmiştir. AT-02-002 *Haloferax* sp.'nin ksilanaz ve selüloz pozitif, AT-04-001 izolat numaralı *Saccharopolyspora* sp.'nin ksilanaz, amilaz, selüloz ve pektinaz pozitif olduğu rapor edilmiştir.

(Yılmaz 2019). Bu çalışmada selüloz üreten prokaryotik mikroorganizmaların belirlenmesi, bizim çalışmamızdaki selüloz üreten prokaryotik mikroorganizmaların saptaması ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlardan ve bizim sonuçlarımızdan görüldüğü gibi Ayvalık Tuzlası'ndaki prokaryotik topluluğun endüstriyel öneme sahip olduğu görülmektedir.

Ayvalık Tuzlasından toplanan %3.5 tuzluluğa sahip olan tuzlu su örneğinde *Bacteria* domainine ait olan *Idiomarina*, *Nafulsella*, *Anaerobacillus*, *Bacillus*, *Salinimicrobium* ve *Salipaludibacillus* cinsleri sırasıyla %23.98, %14.64, %8.46, %3.53, %1.52 ve %1.09 bollukta saptanmıştır. Ayrıca %3.5 tuzluluğa sahip olan tuzlu su örneğinde *Archaea* domainine ait olan *Halorubrum* ve *Halonotius* cinslerinin ise %3.76 ve %1.50 bolluklarında olduğu belirlenmiştir.

Ayvalık Tuzlasından toplanan %8 tuzluluğa sahip olan tuzlu su örneğinde *Bacteria* domainine ait *Puniceicoccus*, *Aquiluna*, *Thiohalocapsa*, *Truepera*, *Alcanivorax*, *Lentimonas* ve *Litoricola* cinsleri sırasıyla %14.09, %5.24, %4.12, %2.44, %1.93, %1.71 ve %1.06 bolluklarında saptanmıştır.

Ayvalık Tuzlasından toplanan %24 tuzluluğa sahip olan tuzlu su örneğinde *Archaea* domainine ait *Halorubrum*, *Halonotius*, *Halobellus*, *Halomarina*, *Halarchaeum*, *Natronomonas* ve *Haloarcula* cinsleri ve *Bacteria* domainine ait *Salinibacter* cinsi sırasıyla %67.29, %9.82, %3.56, %2.51, %2.30, %1.52, %1.34 ve %4.12 bolluklarında bulunmuştur.

Ayvalık Tuzlasından toplanan tuz örneğinde *Archaea* domainindeki *Halonotius*, *Halorubrum*, *Halobellus*, *Haloplanus*, *Haloarcula* cinsleri ve *Bacteria* domainine ait *Salinibacter* cinsi sırasıyla %43.03, %37.52, %2.82, %2.25, %1.18 ve %6.77 bolluklarında bulunmuştur.

Çınar ve Mutlu (2021), ülkemizdeki bulunan Ayvalık Tuzlası'nın %32 tuzluluğa ve 7.50 pH değerine sahip kristalizasyon havuzundan aldıkları tuzlu su örneğinde Yeni Nesil Miseq Gen Dizileme yöntemini kullanarak gen dizilemesi yapmışlardır. Tuzlu su örneğinden elde edilen dizilemeler sonucunda OTU'larda *Halobacteriales* ile ilişkili okumaların baskın olduğu gözlemlenmiştir. *Haloquadratum* üzerindeki okumaların göreceli bolluğu tüm örneklerde en yüksek olup Ayvalık Tuzlası'ndan alınan örneğin %29'unu oluşturduğu tespit edilmiştir.

Yapılan örneklemede en bol bulunan *Bacteria* domainine ait grubun ise *Salinibacter* olduğu bildirilmiştir. Elde edilen bilgiler sonucunda Ayvalık Tuzlası'nda tespit edilen diğer OTU'lar *Halonotius* (%19), *Haloferacaceae_g1* (%19), *Halorubrum* (%11) ve *Natronomonas* (%7), *Halobellus* (%3.6), *Haloplanus* (%3.5), *Salinibacter* (%2.2) ve *Haloarcula* (%1.9) ile ilişkilendirilmiştir. Bizim çalışmamızda da Çınar ve Mutlu (2021) çalışmasında olduğu gibi hem Ayvalık Tuzlası'nın %24 tuzluluğa sahip kristalizasyon havuzundan alınan örnekte

Archaea domaininin (%67.29 *Halorubrum*, %9.82 *Halonotius*, %3.56 *Halobellus*, %2.51 *Halomarina*, %2.30 *Halarchaeum*, %1.52 *Natronomonas* ve %1.34 *Haloarcula*) ve *Bacteria* domainine ait *Salinibacter* cinsinin (%4.12) hem de Ayvalık tuzlasından toplanan tuz örneğinde *Archaea* domaininin (%43.03 *Halonotius*, %37.52 *Halorubrum*, %2.82 *Halobellus*, %2.25 *Haloplanus* ve %1.18 *Haloarcula*) ve *Bacteria* domainine ait *Salinibacter* cinsinin (%6.77) yüksek bollukta oldukları bulunmuştur.

Yaşa ve arkadaşları (2008) Çamaltı Tuzlası'nın 2 farklı noktasından alınan örneklerden 13 adet izolat elde edilmiştir. Örneklerden elde edilen 2 suşun kırmızı-mor, izole edilen diğer suşların ise turuncu-kırmızı pigmente sahip oldukları bildirilmiştir. İzolatların %5-%30 NaCl tuz içeren ortamlarda gelişebildikleri ve NaCl içermeyen ortamda ise gelişim gösteremedikleri bildirilmiştir. Bütün suşların pH 5-8, sıcaklık 27°C- 50°C arasında gelişim gösterebildikleri gözlemlenmiştir. Yapılan biyokimyasal testler sonucunda, elde edilen izolatlardan bir tanesi indol pozitif, diğer izolatlar indol negatif, hiçbir izolatta gaz ve nitrattan nitrit oluşumu gözlenmemiştir. İzolatların hepsi katalaz pozitif ve oksidaz negatif olarak sonuç vermiştir. Hiçbir izolatta selüloz, amilaz ve lipaz aktivitesi gözlemlenmemiş, beş izolatta esteraz aktivitesi gözlenmiştir. Proteaz aktivitesi üç izolatta görülürken tüm izolatlarda DNaz aktivitesi gözlemlenmiştir. İzolatlara ait 16S rDNA dizileri NCBI Blast ile veri bankasındaki mikroorganizmalarla karşılaştırılmıştır. Yedi adet izolatın *Haloferax alexandrines* (%99), bir adet izolatın *Haloferax alexandrines* (%98), bir izolatın *Haloferax alexandrines* (%96), bir izolatın *Haloferax sp.* HSC4 (%99), bir izolatın *Haloferax* YT 228 (%97), bir izolatın *Halobacterium salinarum* R1 strain (%99), bir izolatın ise *Halobacterium salinarum* (%97) ile eşleşmiş olduğu bildirilmiştir.

Mutlu ve Güven (2011), Çamaltı Tuzlası'nda bulunan 10 farklı havuzdan (%6 -%30 tuzluluk, pH 6.5-7.5) aldıkları tuzlu su örneklerindeki prokaryot çeşitliliğini, kültürden bağımsız iki yöntem olan Real Time PCR ve fluorescence *in-situ* hybridization (FISH) ile araştırmışlardır. Tuzladan alınan örneklerin DAPI ($1.21-3.2 \times 10^7$ kob/ml) sayıları, hücre morfolojilerini (basil, düzensiz çubuklar ve koklar) incelenmiş ve yüksek tuzluluğa sahip olan örneklerin daha yüksek sayıda *Archaea* içerdiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, Çamaltı Tuzlası'ndan alınan tuzlu su örneklerinin analizi için uluslararası problemler kullanmıştır (EUB338 probu (*Eubacteria* spesifik), ARC915 probu (*Archaea* özgü prob). Araştırmacılar *Eubacteria* spesifik probu ile hibritlenen hücrelerin tüm DAPI ile boyanmış hücrelerin %48 ila %67'si ve *Archaea*'ya özgü prob ile hibritlenen tüm DAPI ile boyanmış hücrelerin %33 ila %57'si arasında değiştiği sonucunu FISH ile elde etmişlerdir. Havuz sularından %6 tuzluluğa sahip örneğin (örnek 1), EUB338 probu ile

FISH sonuçlarına göre en yüksek *Bacteria* popülasyonunu içerdiğini göstermiştir. Sırasıyla %30 ve %28 tuzluluk oranına sahip olan tuzlu su örnekleri (2. ve 3. Numuneler), ARC915 probu ile en yüksek *Archaea* popülasyonunu göstermiştir.

Mutlu ve Güven (2015), Çamaltı Tuzlası'ndan aldıkları örneklerdeki mikrobiyal çeşitliliği ortaya çıkartmak için kültüre bağımlı ve kültürden bağımsız yöntemleri kullanmışlardır. Tuzladan toplanan su örneklerinden elde edilen DNA'dan amplifiye edilen 16S rRNA gen parçaları DGGE yöntemi ile incelenerek 16S rRNA gen kütüphane analizi de yapılmıştır. Tanımlanan izolatların 17 tanesinin *Bacteria* Domaini ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmadaki tüm bakteri izolatlarının *Halobacillus* (%99), *Halomonas* (%98) ve *Virgibacillus* (%97) cinsleriyle filogenetik olarak bir benzerliğinin olduğu bilgisini elde etmişlerdir. 16S rRNA gen kütüphanesinden toplam 50 klon ARDRA ile analiz edilmiş ve bu bakteriyal klonların birçoğunun *Bacteroidetes* (%85) şubesinin *Salinibacter* cinsi üyeleri arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Yapılan DGGE sonucunda ise elde edilen bantların dizileri kültüre edilmemiş halofil bakteri, *Salinibacter* ve *Halomonas* sp. ile ilişkili olduğu bilgisi elde edilmiştir.

Ghai ve arkadaşları (2011), İspanya'nın Alicante şehri yakınlarındaki Bras del Port'da bulunan ve sırasıyla %19 ve %37 tuz konsantrasyonuna sahip iki güneş tuzlası havuzundan aldıkları örneklerde, Roche 454 GS-FLX platformu ile çevresel DNA'nın dizilemesini yapmışlardır. %19 tuzluluğa sahip güneş tuzlası havuzundan aldıkları örneklerde farklı oranlarda *Archaea* Domainine ait (%17) *Halorubrum*, (%17) *Haloquadratum*, (%5) *Natronomonas*, (%1) *Halobacterium*, (%1) *Haloferax*, (%1) *Natronobacterium*, (%2) *Arhodomonas*, (%2) *Halomicrobium* cinsleri ve *Bacteria* Domainine ait (%2) *Nitrococcus*, (%16) *Alkalilimnicola*, (%7) *Salinibacter*, (%4) *Leifsonia*, (%2) *Puniceicoccus*, (%1) *Roseovarius*, (%1) *Renibacterium*, (%2) *Clavibacter*, (%1) *Aquiluna*, (%1) *Pseudoruegeria*, (%1) *Roseobacter*, (%1) *Gramella*, (%1) *Planktoluna*, (%1) *Dinoroseobacter*, (%1) *Flavobacterium*, (%1) *Psychroflexus* cinslerini saptamışlardır. Aynı tuzlada bulunan % 37 oranında tuzluluğa sahip güneş tuzlası havuzundan alınan örneklerde ise farklı oranlarda *Archaea* Domainine ait (%79) *Haloquadratum*, (%4) *Halorubrum*, (%4) *Halomicrobium*, (%1) *Halorhabdus*, (%1) *Haloferax*, (%1) *Halosimplex*, (%1) *Halobacterium* ve *Bacteria* Domainine ait (%9) *Salinibacter* cinsleri tespit edilmiştir.

López-López ve arkadaşları (2013), Akdeniz'de bulunan Mallorca Adası'nın güney batı kıyılarında bulunan tuzlalardan aldıkları örnekler ile tuzcul ortamın genetik havuzunu, arkeyal

topluluğun ve metanojenik üyelerin üzerinde daha fazla durarak bir çalışma yapmışlardır. Gerçekleştirilen bu çalışmanın odak noktası, ekolojik olarak önemli olabilecek arkeyal soylar hakkında önceki çalışmadan elde edilmiş bilgilerin genişletilmek istenmesi olarak belirtilmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçların, farklı moleküler teknikler kullanılarak yapılmış önceki çalışmada karşılaşılan bakteri çeşitliliği ile uyumlu olduğu fakat çevresel genomik (metagenomik) ve 16S rRNA kökenli yöntemler kullanılarak elde edilmiş sonuçlarla arke çeşitliliğinde önemli farklılıklar içerdiğini belirtmişlerdir. Bilinen genomlara sahip metagenomik parçaların birçoğu için aynı gen sırasına sahip sıralanmış belirleyicilerin eksikliği ile Açık Okuma Çerçevesinde (ORF: Open Reading Frame) olan benzerlik seviyesinin düşüklüğünün çalışılmış olan topluluğun yenilik derecesini yansıttığını rapor etmişlerdir. Dizilenen klonları çalışılan genom bölümünün temsilcileri ile ilişkilendirmenin bu Arke grubuyla ilgili erişime açık olan gen havuzlarında ek bilgiler bulunmamasından dolayı mümkün olamayacağını tespit etmişlerdir.

Fernández ve arkadaşları (2014) Güney İspanya'nın Alicante şehrinde bulunan Santa Pola Tuzlası'nda gerçekleştirdikleri metagenomik çalışmasında, tuzlanın farklı bölgelerinden örnekler almışlardır. Santa Pola Tuzlası'nın %13 tuzluluğa sahip bir tuzlasından aldıkları örnekteki toplam prokaryotik DNA'yı pirosekanslama yöntemi ile elde etmişlerdir. Tuzladan alınan örnekler orta tuzluluk (%13 ve %19) ve yüksek tuzluluğa (%33 ve %37) sahip olan havuzlardan alınmıştır. Bu bölgeden elde edilen analiz sonuçları daha sonra diğer kıyı örneklemelerinin sonuçlarıyla karşılaştırıldığında ortaya çıkan mikrobiyal çeşitliliğin *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* ve *Euryarchaeota* filumlarına ait oldukları saptanmıştır. Ek olarak, %57 oranında dizinin daha önce tanımlanan herhangi bir cinse ait olmadığını belirtmişlerdir. Birleştirilen kontiglerin tetranükleotid frekanslarının temel bileşen analizi daha önce açıklanandan farklı ancak *Haloquadratum walsbyi* ve *Halobacteriaceae*'nin diğer üyeleri ile ilişkili yeni *Euryarchaeota* gruplarının varlığını gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, yeni izole edilmiş bir bakteri olan *Spiribacter salinus* ile ilişkili yeni *Gammaproteobacteria* üyeleri gözlemlediklerini rapor etmişlerdir (Fernández ve ark., 2014a).

Ventosa ve arkadaşları (2014), Güney İspanya'nın Santa Pola Tuzlası'nda hem kültüre bağımlı hem de kültürden bağımsız genetik analizlerle saptanan mikroorganizma topluluklarını 1975 yılından günümüze kadar incelemişlerdir. Bu tuzlada yapılan kültüre bağımlı ilk çalışmalarda, saf kültürlerde mikroorganizmaları geleneksel yöntemlerle izole etme ve izole edilen mikroorganizmaların biyokimyasal testlerle fenotipik özelliklerinin incelenmesine

dayanmaktadır. Rodriguez-Valera ve arkadaşları (1981, 1985), mikrobiyal popülasyonların kompozisyonundaki değişimleri ve taksonomik grupların %10 tuzdan tuz doygunluğuna kadar olan havuzlardaki dağılımını belirlemiş, tuzlulukları %15'in üzerinde olan havuzlardan izole edilen organizmaların çoğunun halofil mikroorganizmalar, tek hücreli algler *Dunaliella* ve diğer ökaryotik organizmalar olduklarını gözlemlemişlerdir. Protozoa, diğer algler ve diatomlar %15 tuzluluğa kadar olan havuzlardan alınan örneklerde tespit edilmiştir. Santa Pola Tuzlası'ndan *Haloarcula hispanica* (Juez ve ark., 1986), *Haloferax mediterranei* (orjinal adı: *Halobacterium mediterranei*) (Rodriguez-Valera ve ark., 1983; Torreblanca ve ark., 1986), *Haloferax gibbonsii* (Juez ve ark., 1986), *Haloferax lucentense* (Gutierrez ve ark., 2002), *Haloquadratum walsbyi* (Burns ve ark., 2007) gibi arke türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Santa Pola Tuzlası'ndan izole edilmiş ve tanımlanmış bakteri türlerinin ise *Halobacillus halophilus* (orjinal adı: *Sporosarcina halophila*) (Claus ve ark., 1983; Ventosa ve ark., 1983; Spring ve ark., 1996), *Salimicrobium album* (orjinal adı: *Marinococcus albus*) (Hao ve ark., 1984; Yoon ve ark., 2007), *Salinivibrio costicola* subsp. *costicola* (orjinal adı: *Vibrio costicola*) (Garcia ve ark., 1987a, 1987b; Mellado ve ark., 1996), *Marinococcus halophilus* (Hao ve ark., 1984), *Salinicoccus roseus* (Ventosa ve ark., 1990), *Salinicoccus hispanicus* (orjinal adı: *Marinococcus hispanicus*) (Márquez ve ark., 1990; Ventosa ve ark., 1992), *Chromohalobacter marismortui* (Ventosa ve ark., 1989), *Halomonas salina* (orjinal adı: *Deleya salina*) (Valderrama ve ark., 1991; Dobson ve Franzmann, 1996), *Salinibacter ruber* (Antón ve ark., 2002), *Halomonas ilicicola* (Arenas ve ark., 2009), *Marinococcus halophilus* (Márquez ve ark., 1992) olduğu bildirilmiştir. Aynı tuzladan alınan örneklerde, kültürden bağımsız yeni nesil dizi analizleri kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Tuzlanın 4 farklı tuzluluk oranına sahip bölgesinden ve Akdeniz'den alınan örneklerden elde edilen sonuçlara göre aşağıda belirtilen mikrobiyal çeşitlilik verileri elde edilmiştir. %13 tuzluluğa sahip havuzdan alınan örneklerde toplam dizi sayısı 1552 ve cins sayısı 95 olarak açıklanmıştır. Araştırmacılar, %1 üstünde olan cinslerin *Roseovarius* (% 3.1), *Oceanicola* (%3.5), *Alkalilimnicola* (%1.2), *Spiribacter* (% 4.8), *Pseudoruegeria* (%1.9), *Aquiluna* (%2.3), *Rhodoluna* (%1.1), *Agrococcus* (%1), *Arhodomonas* (%1), *Haloquadratum* (%1) olduğunu belirtmişlerdir. %19 tuzluluğa sahip havuzdan alınan örneklerde toplam dizi sayısı 1477 ve cins sayısı 69 olarak tespit edilmiştir. Bu havuzda, %1 üzerinde olan cinslerin *Halorubrum* (%12.5), *Haloquadratum* (%7.9), *Salinibacter* (%6.4), *Natronomonas* (%5.6), *Oceanicola* (%1.1), *Spiribacter* (%4.4), *Aquiluna* (%1.5), *Arhodomonas* (%1.8), *Puniceicoccus* (%1.5), *Haloredivivus* (%3.2), olduğu saptanmıştır. %33 tuzluluğa sahip havuzdan alınan örneklerde *Halorubrum* (%23.1), *Salinibacter* (%4.7), *Haloquadratum* (%29.5), *Haloplanus* (%3.4), *Natronomonas* (%5.7) cinsleri tespit edilmiş

olup bu havuzdan elde edilen toplam dizi sayısı 888 ve cins sayısı 16 olarak rapor edilmiştir. %37 tuzluluğa sahip havuzdan alınan örneklerde ise %1 üstünde olan cinslerin *Nanosalinarum* (%1.7), *Salinibacter* (%9.1), *Halomicrobium* (%1), *Halorubrum* (%3.2), *Haloquadratum* (%58), *Nanosalina* (%4) olduğu belirlenmiştir. Bu havuzda toplam dizi sayısı 1408 ve cins sayısı 13 olarak tespit edilmiştir. Akdeniz'den %3 tuzlulukta olan bölgeden alınan örnekte ise toplam dizi sayısı 2596 ve cins sayısı 171 olarak açıklanmıştır. Bu bölgede *Pelagibactera* (%32.6), *Prochlorococcus* (%1.7), *Synechococcus* (%1.5), *Coralimargarita* (%0.7) ve *Flavobacterium* (%0.6) cinsleri saptanmıştır.



4. SONUÇLAR

Balıkesir'in Ayvalık ilçesinde bulunan Ayvalık Tuzlası, ülkemize ekonomik açıdan katkı sağlayan ikinci büyük deniz tuzlasıdır. Bu nedenle, Ayvalık Tuzlasının fizikokimyasal parametreler, enzimatik aktiviteye sahip prokaryotik populasyonlar, prokaryotik çeşitlilik açısından incelenmesi çok önemlidir.

Ayvalık Tuzlasından toplanan tuzlu su örneklerinin sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, klorür konsantrasyonları sırasıyla 11364 ± 495 mg/L ile 59804 ± 2605 mg/L, 339.9 ± 7.2 mg/L ile 10900 ± 232 mg/L, 138.6 ± 2.6 mg/L ile 34336 ± 633 mg/L, 50.2 ± 1.4 mg/L ile 1071 ± 29 mg/L, 23813.4 ± 635.6 mg/L ile 157534.8 ± 305.3 mg/L arasında değişmiştir. Tuzluluk oranı %6, %8, % 18 ve % 24 olan tuzlu su numunelerinde alüminyum konsantrasyonları sırasıyla 2.1 ± 0.1 mg/L, 2.4 ± 0.1 mg/L, 2.1 ± 0.1 mg/L ve 1.4 ± 0.1 mg/L olarak bulunurken, % 3,5, % 5 ve % 28 tuzluluk içeren tuzlu su numunelerinin alüminyum konsantrasyonları 0.96 mg/L'den düşük bulunmuştur. Tuz örneğinin sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve klorür konsantrasyonları sırasıyla 44896 ± 1956 , 367.3 ± 7.8 , 554 ± 10.2 , 117.7 ± 3.2 ve 261642.1 ± 352.5 olarak saptanmıştır. Ancak tuzlu su numunelerinin ve tuz numunesinin bakır konsantrasyonları 0.96 mg/L'den ve selenyum konsantrasyonları ise 1.96'dan düşük olarak saptanmıştır. Bu tuzlada bulunan mikroorganizmaların proteolitik, lipolitik, selüloolitik aktivitelere sahip olduğu görülmektedir. Ayvalık Tuzlasından toplanan tuzlu su (ATH3.5, ATH5, ATH6, ATH8, ATH18, ATH24, ATH28) numunelerinin hepsinde toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri sayısı 10^3 - 10^5 kob/ml arasında, toplam lipolitik halofil olmayan bakteri sayısı 10^3 - 10^5 kob/ml, toplam selüloolitik halofilik olmayan bakteri sayısı 10^2 - 10^3 kob/ml arasında bulunmuştur. Aynı örneklerdeki toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri sayısı 10^3 - 10^4 kob/ml, toplam lipolitik ılımlı halofilik bakteri sayısı 10^2 - 10^4 kob/ml ve toplam selüloolitik ılımlı halofilik bakteri sayısı 10^1 - 10^2 kob/ml arasında belirlenmiştir. ATH18, ATH28 örnek kodlu numunelerde lipolitik aşırı halofil arke sayısı 10^1 kob/ml, ATH3.5, ATH18 ve ATH28 nolu örneklerde toplam selüloolitik aşırı halofil arke sayısı 10^1 kob/ml olarak saptanmıştır.

ATH3.5, ATH18, ATH28 tuzlu su örneklerinde selüloolitik aşırı halofil arke saptanırken, ATH18, ATH28 tuzlu su örneklerinde toplam lipolitik aşırı halofil arke saptanmıştır. Hiçbir örnekte proteolitik aşırı halofil bakteri tespit edilmemiştir.

Ayvalık Tuzlası'ndan toplanan tuz örneğinde (ATT) toplam proteolitik halofilik olmayan bakteri sayısı 10^3 kob/g, toplam lipolitik halofilik olmayan bakteri sayısı 10^2 kob/g ve toplam

selülolitik halofilik olmayan bakteri sayısı 10^2 kob/g olarak belirlenmiştir. Aynı örnekteki toplam proteolitik ılımlı halofilik bakteri sayısı 10^2 kob/g, toplam lipolitik ılımlı halofil bakteri sayısı 10^2 kob/g ve toplam selülolitik ılımlı halofil bakteri sayısı 10^1 kob/g olarak bulunmuştur. Tuzdaki toplam aşırı halofil arke sayısı 10^4 kob/g, toplam lipolitik aşırı halofil arke sayısı 10^1 kob/g iken ham tuz örneğinde proteolitik aşırı halofil arke görülmemiştir.

Bu tuzlardan elde edilen farklı tuz konsantrasyonlarında üreyen proteolitik, lipolitik ve sellülolitik bakteriler çeşitli endüstrilerde de kullanım potansiyeli bulabilir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda Ayvalık Tuzlasından toplanan tuzlu su ve ham tuz örneklerinin proteolitik aşırı halofil arke içermemesi bu tuzların, dericilik endüstrisinde, derilerin tuzlanması için kullanılıp deriye zarar vermesini en aza indirgeyerek ekonomik olarak avantaj ve önem sağlayabilir. Aynı şekilde tuzlarda bulunan selülaz üreten bakteriler derilerde bulunan gübrenin temizlenmesinde büyük öneme sahip olabilirler. Lipolitikler bakteriler ise derilerdeki yağın giderilmesinde kullanılabilir.

%3.5 tuzlulukta tuzlu su havuzundan toplanan tuzlu su örneğinde (ATH3.5) beklenildiği gibi *Bacteria* ait olan cinslerin [*Idiomarina* (%23.98), *Nafulsella* (%14.64), *Anaerobacillus* (%8.46), *Bacillus* (%3.53), *Salinimicrobium* (%1.52) ve *Salipaludibacillus* (%1.0)], *Archaea* domainine ait cinslerden [*Halorubrum* (%3.76) ve *Halonotius* (%1.50)] daha fazla bulunduğu gözlemlenmiştir. Bu örnekte en fazla bollukta *Idiomarina* cinsinin (%23.98) olduğu belirlenmiştir.

% 8 tuzlulukta tuzlu su havuzundan toplanan tuzlu su örneğinde (ATH8) ise sadece *Bacteria* ait cinsler [*Puniceicoccus* (%14.09), *Aquiluna* (%5.24), *Thiohalocapsa* (%4.12), *Truepera* (%2.44), *Alcanivorax* (%1.93), *Lentimonas* (%1.71) ve *Litoricola* (%1.06)] saptanmıştır. Bu örnekte en fazla bollukta *Puniceicoccus* cinsinin (%14.09) olduğu görülmüştür.

%24 tuzlulukta tuzlu su havuzundan toplanan tuzlu su örneğinde (ATH24) oldukça yüksek miktarlarda arkeal cinsler [*Halorubrum* (%67.29), *Halonotius* (%9.82), *Halobellus* (%3.56), *Halomarina* (%2.51), *Halarchaeum* (%2.30), *Natronomonas* (%1.52) ve *Haloarcula* (%1.34)] bulunmuştur. Bu tuzlu su örneğinde oldukça fazla miktarda *Halorubrum* cinsi (%67.29) bulunmuştur. Bu ortamda sadece *Bacteria* ait olan ve tuzlu ortamlarda bulunun *Salinibacter* cinsi (%4.12) tespit edilmiştir.

Ayvalık Tuzlasından toplanan tuz örneğinde (ATT) de *Archaea* ait olan cinslerin bolluğu [*Halonotius* (%43.03), *Halorubrum* (%37.52), *Halobellus* (%2.82), *Haloplanus* (%2.25), *Haloarcula* (%1.18)] dikkat çekmiştir. Bu örnekte fazla miktarlarda *Halonotius* (%43.03) ve

Halorubrum (%37.52) cinsleri saptanmıştır. *Bacteria* ait olan *Salinibacter* cinsi (%6.77) bu örnekte diğer örneklerle kıyasla yüksek miktarlarda bulunmuştur.

Sonuç olarak, Ayvalık Tuzlası'nın fiziko-kimyasal analizlerle belirlenmesinin, bu tuzlada bulunan mikrobiyal toplulukların izolasyonu için önemli ipuçları sunabileceğini düşünmekteyiz. Ayvalık Tuzlası'nda bulunan prokaryotik toplulukların ve prokaryotik çeşitliliğin, aşırı tuzlu ortamlar hakkında hem ulusal hem de uluslararası çalışmalara önemli bilgiler sağlayacağı kanısındayız. Bu çalışmadan elde edilen fiziko-kimyasal ve mikrobiyal topluluk verileri, aşırı tuzlu ortamlarda bulunan endüstriyel potansiyeli olan mikroorganizmaların keşfedilmesi için kullanılabilir.



KAYNAKLAR

- [1] Abdallah, M. B., Karray, F., Mhiri, N., Mei, N., Quéméneur, M., Cayol, J. L., Erauso, G., Tholozan, J.L., Alazard, D., Sayadi, S. (2016). Prokaryotic Diversity in a Tunisian Hypersaline Lake, Chott El Jerid. *Extremophiles*, 20(2), 125-138.
- [2] Akpolat, C., Ventosa, A., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Caglayan, P. (2015). Molecular Identification of Moderately Halophilic Bacteria and Extremely Halophilic Archaea Isolated from Salted Sheep Skins Containing Red and Yellow Discolorations. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 10, 211-220.
- [3] Albuquerque, L., Simoes, C., Nobre, M. F., Pino, N. M., Battista, J. R., Silva, M. T., de Costa, M. S. (2005). *Truepera radiovictrix* gen. nov., sp. nov., a New Radiation Resistant Species and the Proposal of *Trueperaceae* fam. nov. *FEMS Microbiology Letters*, 247(2), 161-169.
- [4] Amoozegar, M. A., Makhdoumi-Kakhki, A., Fazeli, S. A. S., Azarbaijani, R., Ventosa, A. (2012). *Halopenitus persicus* gen. nov., sp. nov., an Archaeon from an Inland Salt Lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(8), 1932-1936.
- [5] Amoozegar, M. A., Siroosi, M., Atashgahi, S., Smidt, H., Ventosa, A. (2017). Systematics of Haloarchaea and Biotechnological Potential of Their Hydrolytic Enzymes. *Microbiology*, 163(5), 623-645.
- [6] Antón, J., Oren, A., Benlloch, S., Rodríguez-Valera, F., Amann, R., Rosselló-Mora, R. (2002). *Salinibacter ruber* gen. nov., sp. nov., a Novel, Extremely Halophilic Member of The *Bacteria* from Saltern Crystallizer Ponds. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2), 485-491.
- [7] Antón, J., Oren, A., Benlloch, S., Rodríguez-Valera, F., Amann, R., Rosselló-Mora, R. (2002). *Salinibacter ruber* gen. nov., sp. nov., a novel, Extremely Halophilic Member of the *Bacteria* from Saltern Crystallizer Ponds. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2), 485-491.
- [8] Arahall, D. R., Dewhirst, F. E., Paster, B. J., Volcani, B. E., Ventosa, A. (1996). Phylogenetic Analyses of Some Extremely Halophilic *Archaea* Isolated from Dead Sea Water, Determined on the Basis of Their 16S rRNA Sequences. *Applied and Environmental*
- [9] Arahall, D.R., Ventosa, A. (2002). Moderately Halophilic and Halotolerant Species of *Bacillus* and Related Genera'', Applications and Systematics of *Bacillus* and Relatives,

- Berkeley, R.C.W., Heyndrickx, M., Logan, N., DeVos, P. Editors, Oxford:Blackwell, 83-99.
- [10] Arenas, M., Bañón, P. I., Copa-Patiño, J. L., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., Soliveri, J. (2009). *Halomonas ilicicola* sp. nov., a Moderately Halophilic Bacterium from a Saltern. International Journal of Systematic And Evolutionary Microbiology, 59(3), 578-582.
- [11] Bass-Becking, L. G. M. (1931). Historical Notes on Salt and Salt-Manufacture. The Scientific Monthly 32.5 434-446.
- [12] Bassil, N. M., Lloyd, J. R. (2017). Draft Genome Sequences Of Four Alkaliphilic Bacteria Belonging to the *Anaerobacillus* genus. Genome Announcements, 5(3), e01493-16.
- [13] Baumgartner, J. G. (1937). The Salt Limits and Thermal Stability of a New Species of Anaerobic Halophile. Journal of Food Science, 2(4), 321-329.
- [14] Berber, D., Birbir, M. (2010). Examination of Bacterial Populations in Salt, Salted Hides, Soaked Hides and Soak Liquors. Journal of the American Leather Chemists Association, 105(10), 320-326.
- [15] Berber, D., Birbir, M., (2009). Tuzlarda, Tuzlanmış ve Islatılmış Ham Derilerdeki Bakteriyel Popülasyonun İncelenmesi. Doktora Proje, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [16] Beşe, M. (1974). Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri. Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 298.
- [17] Birbir, M., Calli, B., Mertoglu, B., Bardavid, R. E., Oren, A., Ogmen, M. N., Ogan, A. (2007). Extremely Halophilic Archaea from Tuz Lake, Turkey, and The Adjacent Kaldırım and Kayacık Salterns. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23(3), 309-316
- [18] Birbir, M., Ogan, A., Calli, B., Mertoglu, B. (2004). Enzyme Characteristics of Extremely Halophilic Archaeal Community in Tuzkoy Salt Mine, Turkey. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 20(6), 613-621
- [19] Birbir, M., Sesal, C. (2003). Extremely Halophilic Bacterial Communities in Şereflikoçhisar Salt Lake in Turkey. Turkish Journal of Biology, 27(1), 7-22.
- [20] Birbir, M., Ventosa, A., Caglayan, P., (2015). Characterization of Moderately Halophilic Bacteria Found on the Sheep and Goat Skins. The Scientific Research Project Commission of Marmara University, Project number FEN-C-DRP-0407120281, 2015.
- [21] Brown, A. D. (1963). The Peripheral Structures of Gram-Negative Bacteria: IV. The Cation-Sensitive Dissolution of the Cell Membrane of the Halophilic Bacterium, *Halobacterium halobium*. Biochimica Et Biophysica Acta, 75, 425-435.

- [22] Brown, D. R., Hedlund, B. P., Krieg, N. R., Ludwig, W., Paster, B. J., Staley, J. T., Whitman, W. B. (2010). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume Four The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes*. Springer, New York, p.727.
- [23] Burns, D. G., Janssen, P. H., Itoh, T., Kamekura, M., Echigo, A., Dyall-Smith, M. L. (2010). *Halonotius pteroides* gen. nov., sp. nov., an Extremely Halophilic Archaeon Recovered from a Saltern Crystallizer. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 60(5), 1196-1199.
- [24] Burns, D. G., Janssen, P. H., Itoh, T., Kamekura, M., Li, Z., Jensen, G., Rodriguez-Valera, F., Bolhuis, H., Dyall-Smith, M. L. (2007). *Haloquadratum walsbyi* gen. nov., sp. nov., The Square Haloarchaeon of Walsby, Isolated from Saltern Crystallizers in Australia And Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(2), 387-392.
- [25] Çağlayan, P. (2015). Küçükbaş Hayvan Derilerindeki Ilımlı Halofil Bakterilerin Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- [26] Çağlayan, P., Birbir, M., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A. (2018). Detection of Industrially Potential Enzymes of Moderately Halophilic Bacteria on Salted Goat Skins. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(3), 312-322.
- [27] Çağlayan, P., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., Birbir, M., (2015). Characterization of Moderately Halophilic *Bacteria* from the Salt-Pack-Cured Hides. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 99(5), 250-254.
- [28] Caporaso, J. G., Ackermann, G., Apprill, A., Bauer, M., Berg-Lyons, D., Betley, J., Fierer, N., Fraser, L., Fuhrman, J.A., Gilbert, J.A., Gormley, N., Humphrey, G., Huntley, J., Jansson, J.K., Knight R., Lauber, C.L., Lozupone, C.A., McNally S., Needham, D.M., Owens, S.M., Parada A.E., Parsons R., Smith, G., Thompson, L.R., Thompson, L., Turnbaugh, P.J., Walters W.A., Weber, L. (2018). EMP 16S Illumina Amplicon Protocol. <http://www.earthmicrobiome.org/protocols-and-standards/16s>.
- [29] Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Gonzalez Peña, A., Goodrich, J. K., Gordon J. I., Huttley, G. A., Kelley S.T., Knights, D., Koenig J. E., Ley R. E., Lozupone C. A., McDonald D., Muegge B. D., Pirrung M., Reeder J., Sevinsky J. R., Turnbaugh P.J., Walters W. A., Widmann J.,

- Yatsunenکو T., Zaneveld J., Knight R. (2010). QIIME Allows Analysis of High-Throughput Community Sequencing Data. *Nature Methods*, 7(5), 335.
- [30] Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R. (2011). Global Patterns of 16S rRNA Diversity at a Depth of Millions of Sequences Per Sample. *PNAS*, 4516–4522, 108:1.
- [31] Carrasco, I.J., Marquez, M.C., Xue, Y., Ma, Y., Cowan, D.A., Jones, B.E., Grant, W.D., Ventosa, A. (2007). *Bacillus chagannoriensis* sp. Nov., a Moderate Halaophile from a Soda Lake in Inner Mongolia, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 2084-2088.
- [32] Chen, M.H., Sheu, S.Y., Chen, C.A., Wang, J.T., Chen, W.M. (2012). *Idiomarina aquimaris* sp. nov., Isolated from the Reef-Building Coral *Isopora Palifera*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 1536–1542.
- [33] Chen, Y. G., Cui, X. L., Li, W. J., Xu, L. H., Wen, M. L., Peng, Q., Jiang, C. L. (2008) *Salinicoccus salitudinis* sp. nov., a New Moderately Malophilic Bacterium Isolated from a Saline Soil Sample. *Extremophiles*, 12(2), 197-203.
- [34] Chen, Y.G., Zhang, Y.Q., He, J.W., Klenk, H.P., Xiao, J.Q, Zhu, H.Y, Tang, S.K., Li, W.J. (2011). *Bacillus hemicentroti* sp. nov., a Moderate Halophile Isolated from a Sea Urchin. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 2950-2955.
- [35] Cho, B. C., Park, J. S., Xu, K., Choi, J. K. (2008).. Morphology and Molecular Phylogeny of *Trimyema koreanum* n. sp., a Ciliate from the Hypersaline Water of A Solar Saltern. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 55(5), 417-426.
- [36] Choo, Y.J., K. Lee, J. Song and J.C. Cho. (2007). *Puniceicoccus vermicola* gen. nov., sp. nov., a Novel Marine Bacterium, and Description of *Puniceicoccaceae* fam. nov., *Puniceicoccales* ord. nov., *Opitutaceae* fam. nov., *Opitutaes* ord. nov. and *Opitutae* classis nov. in the Phylum ‘*Verrucomicrobia*’. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57: 532–537.
- [37] Ciccarelli, F. D., Doerks, T., Von Mering, C., Creevey, C. J., Snel, B., Bork, P. (2006). Toward Automatic Reconstruction of a Highly Resolved Tree of Life. *Science*, 311(5765), 1283-1287.
- [38] Çınar, S., Mutlu, M. B. (2016). Comparative Analysis of Prokaryotic Diversity in Solar Salterns in Eastern Anatolia (Turkey). *Extremophiles*, 20(5), 589-601.
- [39] Çınar, S., Mutlu, M. B. (2021). Assessing the Diversity of Prokaryotic Communities And Nanohaloarchaeal Lineages in Various Aquatic Hypersaline Habitats (Turkey) Using

High-Throughput Sequencing and Cloning. Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji, 10(1), 57-68.

- [40] Clarke, F. E. (1950). Determination of Chloride in Water Improved Colorimetric and Titrimetric Methods. *Analytical Chemistry*, 22(4), 553-555.
- [41] Claus, D., Fahmy, F., Rolf, H. J., Tosunoglu, N. (1983). *Sporosarcina halophila* sp. nov., An Obligate, Slightly Halophilic Bacterium from Salt Marsh Soils. *Systematic and Applied Microbiology*, 4(4), 496-506.
- [42] Coronado, M.J., Vargas, C., Hofemeister, J., Ventosa, A., Nieto, J.J. (2000). Production and Biochemical Characterization of an α -amylase from the Moderate Halophile *Halomonas meridiana*. *FEMS Microbiology Letters* 183, 67–71.
- [43] Cowan, D. A., Ramond, J. B., Makhalanyane, T. P., De Maayer, P. (2015). Metagenomics of Extreme Environments. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 97-102.
- [44] Cui H.L. (2016). *Halobellus*. in: Whitman W.B., Rainey F., Kampfer P., Trujillo M., Chun J., DeVos P., Hedlund B., Dedysh D., editors. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* Hoboken, N.J: John Wiley & Sons, Ltd., p1–13.
- [45] Cui, H. L., Lin, Z. Y., Dong, Y., Zhou, P. J., Liu, S. J. (2007). *Halorubrum litoreum* sp. nov., an Extremely Halophilic Archaeon from a Solar Saltern. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2204-2206.
- [46] Dalmaso, G. Z. L., Ferreira, D., Vermelho, A. B. (2015). Marine Extremophiles : a Source of Hydrolases for Biotechnological Applications. *Marine Drugs*, Vol. 13, 1925-1965.
- [47] Darcan, C., Türkyılmaz, O. (2017). Yeni Nesil Dizileme Teknolojisine Genel Bakış. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(1), 41-49.
- [48] DasSarma, P., Coker, J.A., Huse, V., DasSarma, S. (2010). *Encyclopedia of Industrial Biotechnology, Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*. Ed.:Flickinger, M.C. 2769-2777.
- [49] DasSarma, S., Arora, P. (1997). Genetic Anaysis of The Gas Vesicle Gene Cluster in Haloarchaea. *FEMS Microbiolgy Letters*, 153: 1–10.
- [50] DasSarma, S., Arora, P. (2002) Halophiles. *Encyclopedia of Life Science*, London, Nature Publishing Group, 8, 458-466.
- [51] De la Haba, R. R., Sánchez-Porro, C., Márquez, M. C., Ventosa, A. (2011). Taxonomy of Halophiles. *Extremophiles Handbook*, 255-308.
- [52] De Maayer, P., Valverde, A., Cowan, D. A. (2014). The Current State of Metagenomic Analysis. *Genome Analysis: Current Procedures and Applications*, 183, 183-220.

- [53] Delgado, Garcia, M., Urdiales, B. V., Gonzalez, C. N. A., Esquivel, J. C. C., Herrera, R. R. (2012). Halophilic Hydrolases as a New Tool for the Biotechnological Industries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 2575-2580.
- [54] Delgado-Garcia, M., Valdivia-Urdiales, B., Aguilar-Gonzalez, C., Contreras-Esquivel, J., Rodriguez-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.
- [55] DeSantis, T. Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E. L., Keller, K. L., Huber, T., Dalevi, D., Hu, P., Andersen, G. L. (2006). Greengenes, a Chimera-Checked 16S rRNA Gene Database and Workbench Compatible with ARB. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 5069-5072.
- [56] Dillon, J. G., Carlin, M., Gutierrez, A., Nguyen, V., McLain, N. (2013). Patterns of Microbial Diversity Along a Salinity Gradient in The Guerrero Negro Solar Saltern, Baja CA Sur, Mexico. *Frontiers in Microbiology*, 4, 399.
- [57] Ding, J. Y., Lai, M. C. (2010). The Biotechnological Potential of The Extreme Halophilic Archaea *Haloterrigena sp. H13* in Xenobiotic Metabolism using a Comparative Genomics Approach. *Environmental Technology*, 31(8-9), 905-914.
- [58] Dobson, S. J., Franzmann, P. D. (1996). Unification of the Genera *Deleya* (Baumann et al. 1983), *Halomonas* (Vreeland et al. 1980), and *Halovibrio* (Fendrich 1988) and The Species *Paracoccus halodenitrificans* (Robinson and Gibbons 1952) into A Single Genus, *Halomonas*, and Placement of The Genus *Zymobacter* in the family *Halomonadaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(2), 550-558.
- [59] Donachie, S.P. Hou, S., Gregory, T.S., Malahoff, A. Alam, M. (2003). *Idiomarina loihiensis* sp. nov., a Halophilic *Proteobacterium* from the Loihi Submarine Volcano, Hawaii. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1873–1879.
- [60] Durán-Viseras, A., Andrei, A. S., Ghai, R., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A. (2019). New *Halonotius* species provide Genomics-Based Insights into Cobalamin Synthesis in *Haloarchaea*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1928.
- [61] Edbeib, M. F., Wahab, R. A., & Huyop, F. (2016). Halophiles: Biology, Adaptation, and Their Role in Decontamination of Hypersaline Environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(8), 135.
- [62] Eder, W., Jahnke, L. L., Schmidt, M., Huber, R. (2001). Microbial Diversity of the Brine-Seawater Interface of The Kebrit Deep, Red Sea, Studied via 16S rRNA Gene

- Sequences and Cultivation Methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 3077-3085.
- [63] Edgar, R. C. (2010). Search and Clustering Orders of Magnitude Faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460-2461.
- [64] Elevi, R., Assa, P., Birbir, M., Ogan, A., Oren, A. (2004). Characterization of Extremely Halophilic *Archaea* Isolated from The Ayvalik Saltern. Turkey, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(7), 719-725.
- [65] Erable, B., Vandecandelaere, I., Faimali, M., Delia, M.L., Etcheverry, L., Vandamme, P., Bergel, A. (2010). Marine Aerobic Biofilm as Biocathode Catalyst. *Bioelectrochemistry* 78, 51–56.
- [66] Federation, W. E., Aph Association (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA, 21.
- [67] Fernández, A. B., Ghai, R., Martin-Cuadrado, A. B., Sanchez-Porro, C., Rodriguez-Valera, F., Ventosa, A. (2014a). Prokaryotic Taxonomic and Metabolic Diversity of an Intermediate Salinity Hypersaline Habitat Assessed by Metagenomics. *FEMS Microbiology Ecology*, 88(3), 623-635.
- [68] Fernández, A. B., Vera-Gargallo, B., Sánchez-Porro, C., Ghai, R., Papke, R. T., Rodriguez-Valera, F., Ventosa, A. (2014b). Comparison of Prokaryotic Community Structure from Mediterranean and Atlantic Saltern Concentrator Ponds by a Metagenomic Approach. *Frontiers in Microbiology*, 5(196), 116-127.
- [69] Garcia, M. T., Nieto, J. J., Ventosa, A., Ruiz-Berraquero, F. (1987a). The Susceptibility of the Moderate Halophile *Vibrio costicola* to Heavy Metals. *Journal of Applied Bacteriology*, 63(1), 63-66.
- [70] Garcia, M. T., Ventosa, A., Ruiz-Berraquero, F., Kocur, M. (1987b). Taxonomic Study and Amended Description of *Vibrio costicola*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(3), 251-256.
- [71] Gerday, C. (2002). Extremophiles: Basic Concepts. Knowledge for Sustainable Development. An Insight into the Encyclopedia of Life Support Systems. UNESCO Publishing/EOLSS Publishers, Oxford, 1, 573-598.
- [72] Ghai, R., Pašić, L., Fernández, A. B., Martin-Cuadrado, A. B., Mizuno, C. M., McMahon, K. D., Papke, R. T., Stepanauskas, R., Rodriguez-Brito, B., Rohwer, F., Sanchez-Porro, C., Ventosa, A., Rodriguez-Valera F. (2011). New Abundant Microbial Groups in Aquatic Hypersaline Environments. *Scientific Reports*, 1, 135.

- [73] Golyshin, P. N., Dos Santos, V. A. M., Kaiser, O., Ferrer, M., Sabirova, Y. S., Lünsdorf, H., Timmis, K. N. (2003). Genome Sequence Completed of *Alcanivorax borkumensis*, a Hydrocarbon-Degrading Bacterium That Plays a Global Role in Oil Removal from Marine Systems. *Journal of Biotechnology*, 106(2-3), 215-220.
- [74] Gonzalez, C., Gutierrez, C., Ramirez, C. (1978). *Halobacterium vallismortis* sp. nov. an Amylolytic and Carbohydrate-Metabolizing, Extremely Halophilic Bacterium. *Canadian Journal of Microbiology*, 24(6), 710-715.
- [75] Grant, W. D. (2004). Life at Low Water Activity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1448), 1249-1267.
- [76] Grant, W. D., Gemmell, R.T., McGenity, T.J. (1998). Halophiles. In *Extremophiles: Microbial Life in Extreme Environments*, Editors: Horikoshi, K., Grant, W.D. 93–132. Wiley-Liss, Inc. ISBN 0-471-02618-2.
- [77] Grant, W.D., Kamekura, M., Mcgenity, T.J., Ventosa, A. (2001). Class III Halobacteria class. nov. Order I. *Halobacteriales*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria* vol 1. (Boone, D.R., Garrity, G.M, Eds) 294–334. New York: Springer-Verlag.
- [78] Greene, R.V., Lanyi, J.K. (1979). Proton Movements in Response to Light-Driven Electrogenic Pump for Sodium Ions in *Halobacterium halobium* Membranes. *The Journal of Biological Chemistry*, 254, 21 10986-10994.
- [79] Gutierrez, C. M., Kamekura, M., Holmes, M. L., Dyll-Smith, M. L., Ventosa, A. (2002). Taxonomic Characterization of *Haloferax* sp. ("*H. alicantei*") Strain Aa 2.2: Description of *Haloferax lucentensis* sp. nov. *Extremophiles*, 6(6), 479-483.
- [80] Haas, B. J., Gevers, D., Earl, A. M., Feldgarden, M., Ward, D. V., Giannoukos, G., Ciulla, D., Tabbaa, D., Highlander, S. K., Sodergren, E., Methé, B., DeSantis, T.Z., Petrosino, J. F., Knight, R., Birren, B. W. (2011). Chimeric 16S rRNA Sequence Formation and Detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR Amplicons. *Genome Research*, 21(3), 494-504.
- [81] Hao, V.M., Kocur, M., Komagata, K. (1984). *Marinococcus* gen. nov., a New Genus for Motile Cocci with Meso-diaminopimelic Acid in The Cell Wall; And *Marinococcus albus* sp. nov. and *Marinococcus halophilus* (Novitsky and Kushner) comb. nov. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 30(6), 449-459.
- [82] Harayama, S., Kishira, H., Kasai, Y., Shutsubo, K., (1999). *Petroleum biodegradation* in Marine Environments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 1, 63–70.

- [83] Harley, J.P., Prescott, L.M. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology*, The McGraw-Hill Companies, New York.
- [84] Imhoff, J. F., Caumette, P. (2015). *Thiohalocapsa*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-6.
- [85] Imhoff, J.F., Süling, J. and Petri, R. (1998) Phylogenetic Relationships Among the *Chromatiaceae*, Their Taxonomic Reclassification and Description of the New Genera *Allochromatium*, *Halochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium*, *Thiococcus*, *Thiohalocapsa* and *Thermochromatium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 48: 1129–1143.
- [86] Inoue, K., Kogure, K. (2015). *Halomarina*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-5.
- [87] Ivanova, E.P., Romanenko, L.A., Chun, J., Matte, M.H., Matte, G.R., Mikhailov, V.V., Svetashev, V.I., Huq, A., Maugel, T., Colwell, R.R. (2000). *Idiomarina* gen. nov., Comprising Novel Indigenous Deep-Sea *Bacteria* from the Pacific Ocean, Including Descriptions of Two Species, *Idiomarina abyssalis* sp. nov. and *Idiomarina zobellii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 901–907.
- [88] Jean, W.D., Leu, T.Y., Lee, C.Y., Chu, T.J., Lin, S.Y., Shieh, W.Y. (2009). *Pseudidiomarina marina* sp. nov. and *Pseudidiomarina tainanensis* sp. nov. and Reclassification of *Idiomarina homiensis* and *Idiomarina salinarum* as *Pseudidiomarina homiensis* comb. nov. and *Pseudidiomarina salinarum* comb. nov., *Respectively Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 53–59.
- [89] Jeon, C. O., Lim, J. M., Lee, J. R., Lee, G. S., Park, D. J., Lee, J. C., Oh, H. W., Kim, C. J. (2007). *Halomonas kribbensis* sp. nov., a Novel Moderately Halophilic Bacterium Isolated from a Solar Saltern in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2194-2198.
- [90] Juez, G., Rodriguez-Valera, F., Ventosa, A., Kushner, D. J. (1986). *Haloarcula hispanica* spec. nov. and *Haloferax gibbonsii* spec, nov., Two New Species of Extremely Halophilic *Archaeobacteria*. *Systematic and Applied Microbiology*, 8(1-2), 75-79.
- [91] Kambura, A. K., Mwirichia, R. K., Kasili, R. W., Karanja, E. N., Makonde, H. M., Boga, H. I. (2016) *Bacteria and Archaea Diversity within The Hot Springs of Lake Magadi and Little Magadi in Kenya*. *BMC Microbiology*, 16(1), 136.
- [92] Kamekura, M. (1986) Production and Function of Enzymes of Eubacterial Halophiles. *FEMS Microbiology Reviews*, 2(1-2), 145-150.

- [93] Kasai, Y., Kishira, H., Syutsubo, K., Harayama, S., (2001). Molecular Detection of Marine Bacterial Populations on Beaches Contaminated by the Nakhodka Tanker Oil-Spill Accident. *Environmental Microbiology*. 3, 246–255.
- [94] Kebbouche-Gana, S., Gana, M. L., Khemili, S., Fazouane-Naimi, F., Bouanane, N. A., Penninckx, M., Hacene, H. (2009) Halophiles, Industrial Applications. *Journal Indian Microbiolgy Biotechnology*, 36(5): 727–738, 1367–5435.
- [95] Khemili-Talbi, S., Kebbouche-Gana, S., Akmoussi-Toumi, S., Angar, Y., Gana, M. L. (2015) Isolation of an Extremely Halophilic Arhaeon *Natrialba* sp. C21 Able to Degrade Aromatic Compounds and to Produce Stable Biosurfactant at High Salinity. *Extremophiles*, 19(6), 1109-1120.
- [96] Kılıç M., Ay G., Koçbaş F., Mungan F., Kula İ, Karabaş M. (2014) Ayvalık Tuzlasında Yayılış Gösteren *Suaeda prostrata subsp. prostrata* pall. Alttürünün Ağır Metal Birikimi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(4): 9-18.
- [97] Kilic, M., AY, G., Kocbas, F., Kilic, F. M. (2019) Determination Level of Heavy Metal in Ayvalik Saltern Using *Halimione portulacoides* (L.) Plant. *Biodiversity and Conservation*. 12(1), 100-106.
- [98] Kim, H., Choo, Y. J., Cho, J. C. (2007). *Litoricolaceae* fam. nov., to Include *Litoricola lipolytica* gen. nov., sp. nov., a Marine Bacterium Belonging to the Order *Oceanospirillales*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(8), 1793-1798.
- [99] Krulwich, T.A., Hicks, D.B., Swartz, T.H., Ito, M. (2007) Bioenergetic Adaptations That Support Alkaliphily, Physiology and Biochemistry of Extremophiles, Editors: Gerday, C., Glansdorff, N., Washington, DC: American Society for Microbiology, 311-329.
- [100] Kushner, D. J. (2020) Growth and Nutrition of Halophilic *Bacteria*. In *The Biology of Halophilic Bacteria*. CRC Press, pp. 87-103.
- [101] Kushner, D.J. (1978) Life in High Salt And Solute Concentrations: Halophilic *Bacteria*, in *Microbial Life in Extreme Environments*. Editor: Kushner, DJ., 317–367. Academic Press, London.
- [102] Kushner, D.J. and Kamekura, M. (1988) Physiology of Halophilic *Eubacteria*, in “Halophilic *Bacteria*” vol. 1. Editor: Rodriguez-Valera, F., pp.109–140. CRC Press, Boca Raton.
- [103] Kushner, D.J. The *Halobacteriaceae*”, Chapter 3, *The Bacteria*, Vol VIII, Academic Press, Inc., London, 171-213.

- [104] Kwon, S.W., Kim, B.Y., Weon, H.Y., Baek, Y.K., Koo, B.S., Go, S.J. (2006). *Idiomarina homiensis* sp. nov., Isolated from Seashore Sand in Korea. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56, 2229–2233.
- [105] Lama, L., Romano, I., Calandrelli, V., Nicolaus, B., Gambacorta, A. (2005). Purification And Characterization of a Protease Produced by an Aerobic Haloalkaliphilic Species Belonging to The *Salinivibrio* genus. Research in Microbiology, 156, 478–484.
- [106] Lanyi, J. K. (1990) Halorhodopsin a Light-Driven Electrogenic Chloridetransport System. Physiological Reviews, 70(2): 319,30.
- [107] Lim, J. M., Jeon, C. O., Lee, S. S., Park, D. J., Xu, L. H., Jiang, C. L., Kim, C. J. (2008). Reclassification of *Salegentibacter catena* Ying et al. 2007 as *Salinimicrobium catena* gen. nov., comb. nov. and Description of *Salinimicrobium xinjiangense* sp. nov., a Halophilic Bacterium Isolated from Xinjiang Province in China. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 58(2), 438-442.
- [108] Lim, J. M., Jeon, C. O., Song, S. M., Lee, J. C., Ju, Y. J., Xu, L. H., Jiang, C. L., Kim, C. J. (2005). *Lentibacillus lacisalsi* sp. nov., a Moderately Halophilic Bacterium Isolated from A Saline Lake in China. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55(5), 1805-1809.
- [109] Limauro, D., Cannio, R., Fiorentino, G., Rossi, M., Bartolucci, S. (2001). Identification and Molecular Characterization of an Endoglucanase Gene, Cells, from the Extremely Thermophilic *Archaeon Sulfolobus solfataricus*. Extremophiles, 5(4), 213-219.
- [110] López-López, A., Richter, M., Peña, A., Tamames, J., Rosselló-Móra, R. (2013). New Insights into the *Archaeal* Diversity of a Hypersaline Microbial Mat Obtained by a Metagenomic Approach. Systematic and Applied Microbiology, 36(3), 205-214.
- [111] Luk, A. W., Williams, T. J., Erdmann, S., Papke, R. T., Cavicchioli, R. (2014). Viruses of *Haloarchaea*. Life, 4(4), 681-715.
- [112] Ma Y, Galinski EA, Grant WD, Oren A, Ventosa A (2010). Halophiles 2010: Life in Saline Environments. Applied and Environmental Microbiology 76:6971–6981
- [113] Ma, Y., Galinski, E. A., Grant, W. D., Oren, A., Ventosa, A. (2010). Halophiles 2010: Life in Saline Environments. Applied and Environmental Microbiology, 76(21), 6971–6981.
- [114] MacElroy, R. D. (1974) Some Comments on the Evolution of Extremophiles. Biosystems, No. 6, pp. 74–5.

- [115] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., Clark, D.P. (2009). Prokaryotic Diversity: the *Bacteria*, Brock Biology of Microorganisms, Twelfth Edition, Benjamin Cummings, U.S.A.
- [116] Makhdoumi-Kakhki, A., Amoozegar, M. A., Ventosa, A. (2012b). *Salinibacter iranicus* sp. nov. and *Salinibacter luteus* sp. nov., Isolated from s Salt Lake, snd Emended Descriptions of the Genus *Salinibacter* and of *Salinibacter ruber*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 62(7), 1521-1527.
- [117] Margesin, R., Schinner, F. (1999). Biological Decontamination of Oil Spills in Cold Environments. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 74, 381-389.
- [118] McGenity, T. J., Grant, W. D. (1995). Transfer of *Halobacterium saccharovororum*, *Halobacterium sodomense*, *Halobacterium trapanicum* NRC 34021 and *Halobacterium lacusprofundi* to the Genus *Halorubrum* gen. nov., as *Halorubrum saccharovororum* comb. nov., *Halorubrum sodomense* comb. nov., *Halorubrum trapanicum* comb. nov., and *Halorubrum lacusprofundi* comb. nov. Systematic and Applied Microbiology, 18(2), 237-243.
- [119] Mellado, E., Sánchez-Porro, C., Martín, S., Ventosa, A. (2004). Extracellulalydrolytic Enzymes Produced by Moderately Halophilic *Bacteria*. In: A. Ventosa(Ed.) Halophilic Microorganisms. Springer-Verlag. Berlin,Germany. 285–295.
- [120] Mellado, E., Ventosa, A. (2003). Biotechnological Potential of Moderately and Extremely Halophilic Microorganisms. In: J.L. Barredo (ed.), Microorganisms for Health Care, Food and Enzyme Production. Research Signpost, Kerala, 233-256.
- [121] Meteoroloji Genel Müdürlüğü, İllerimize Ait Genel İstatistik Verileri. Erişim 25 Haziran 2022. <https://mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?k=H>
- [122] Minegishi, H. (2015). *Halarchaeum*. Bergey's Manual of Systematics of *Archaea* and *Bacteria*, 1-9.
- [123] Minegishi, H., Kamekura, M. (2015). *Natronomonas*. Bergey's Manual of Systematics of *Archaea* and *Bacteria*, 1-8.
- [124] Mongodin, E.F., Nelson, K.E., Daugherty, S., Deboy, R.T., Wister, J., Khouri, H., Weidman, J., Walsh, D.A., Papke, R.T., Sanchez, Perez, G., Sharma, A.K., Nesbø, C.L., MacLeod, D., Baptiste, E., Doolittle, W.F., Charlebois, R.L., Legault, B., Rodriguez-Valera, F. (2006). The Genome of *Salinibacter ruber*. National Academy of Sciences of the US of America, 18147-18152.

- [125] Mormile, M. R., Biesen, M. A., Gutierrez, M. C., Ventosa, A., Pavlovich, J. B., Onstott, T. C., Fredrickson, J. K. (2003). Isolation of *Halobacterium salinarum* Retrieved Directly from Halite Brine Inclusions. *Environmental Microbiology*, 5(11), 1094-1102.
- [126] Munoz, R., Rosselló-Móra, R., Amann, R. (2016). Revised Phylogeny of *Bacteroidetes* and Proposal of Sixteen New Taxa and Two New Combinations Including *Rhodothermaeota* phyl. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 39(5), 281-296.
- [127] Mutlu, M. B., Güven, K. (2015). Bacterial Diversity in Çamalti Saltern, Turkey. *Polish Journal of Microbiology*, Vol. 64, No 1, 37–45
- [128] Naghoni, A., Emtiazi, G., Amoozegar, M. A., Cretoiu, M. S., Stal, L. J., Etemadifar, Z., Shahzadeh Fazeli, S. A., Bolhuis, H. (2017). Microbial Diversity in the Hypersaline Lake Meyghan, Iran. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
- [129] Nogi, Y., Takami, H., Horikoshi, K. (2005). Characterization of Alkaliphilic *Bacillus* Strains Used in Industry: Proposal of Five Novel Species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 2309-2315.
- [130] Olesik, J. W. (1991). Elemental Analysis Using ICP-OES and ICP-MS. *Analytical Chemistry*, 63(1), 12A-21A.
- [131] Oren, A. (1983). *Halobacterium sodomense* sp. nov., a Dead Sea *Halobacterium* with an Extremely High Magnesium Requirement. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 33(2), 381-386.
- [132] Oren, A. (1988). The Microbial Ecology of the Dead Sea. In *Advances in Microbial Ecology*. Springer, Boston, MA. 193-229.
- [133] Oren, A. (2002). Diversity of Halophilic Microorganisms: Environments, Phylogeny, Physiology, and Applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 56-63.
- [134] Oren, A. (2010). Industrial and Environmental Applications of Halophilic Microorganisms. *Environmental Technology*, 31(8-9), 825-834.
- [135] Oren, A. (2011). Thermodynamic Limits to Microbial Life at High Salt Concentrations. *Environmental Microbiology*, 13(8), 1908-1923.
- [136] Oren, A. (2015). *Haloplanus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-10.
- [137] Oren, A. (2015). *Halorubrum*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-48.
- [138] Oren, A., Gurevich, P. (1995). Dynamics of a Bloom of Halophilic *Archaea* in the Dead Sea. *Hydrobiologia*, 315(2), 149-158.

- [139] Oren, A., Ventosa, A., Gutiérrez, M. C., Kamekura, M. (1999). *Haloarcula quadrata* sp. nov., a square, Motile *Archaeon* Isolated from a Brine Pool in Sinai (Egypt). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(3), 1149-1155.
- [140] Ozcan, B., Cokmus, C., Coleri, A., Caliskan, M. (2006). Characterization of Extremely Halophilic *Archaea* Isolated from Saline Environment in Different Parts of Turkey. *Microbiology*, 75(6), 739-746.
- [141] Parada, A.E., Needham, D.M., Fuhrman, J.A. (2016). Every Base Matters: Assessing Small Subunit rRNA Primers for Marine Microbiomes with Mock Communities, Time Series and Global Field Samples. *Environmental Microbiology* 18(5), 1403–1414.
- [142] Poli, A., Finore, I., Romano, I., Gioiello, A., Lama, L., Nicolaus, B. (2017). Microbial Diversity in Extreme Marine Habitats and Their Biomolecules. *Microorganisms*, 5(2), 25.
- [143] Quesada, E., Ventosa, A., Rodriguez-Valera, F., Ramos-Cormenzana, A. (1982). Types and Properties of Some *Bacteria* Isolated from Hypersaline Soils. *Journal of Applied Bacteriology*, 53(2), 155-161.
- [144] Rodriguez-Valera F.R. (1988). In *Halophilic Bacteria*. CRS Press, Baco Raton 1.
- [145] Rodriguez-Valera, F. (1992). Biotechnological Potential of *Halobacteria*. In *Biochemical Society Symposium*, Vol. 58, pp. 135-147.
- [146] Russell, N.J. (1989). Adaptive Modifications in Membranes of Halotolerant and Halophilic Microorganisms. Mini-review, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 21 93-113.
- [147] Safarpour, A., Amoozegar, M. A., Ventosa, A. (2018). Hypersaline Environments of Iran: Prokaryotic Biodiversity and Their Potentials in Microbial Biotechnology. In *Extremophiles in Eurasian Ecosystems: Ecology, Diversity, and Applications*. Springer, pp. 265-298.
- [148] Sanchez-Porro, C. (2005). Caracterization Bioquímica y Molecular de la *Haloproteasa* CP1 Producida por *Pseudoalteromonas ruthenica*, Doktora Tezi, İspanya, 102-144.
- [149] Sánchez-Porro, C., Martín, S., Mellado, E., Ventosa, A. (2003). Diversity of Moderately Halophilic *Bacteria* Producing Extracellular Hydrolytic Enzymes. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 295-300.
- [150] Sánchez-Porro, C., Martín, S., Mellado, E., Ventosa, A. (2003). Diversity of Moderately Halophilic *Bacteria* Producing Extracellular Hydrolytic Enzymes. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 295-300.

- [151] Santos, F., Yarza, P., Parro, V., Meseguer, I., Rosselló-Móra, R., Antón, J. (2012). Culture-independent Approaches for Studying Viruses from Hypersaline Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(6), 1635-1643.
- [152] Schloss, P. D., Handelsman, J. (2005). Metagenomics for Studying Unculturable Microorganisms: Cutting the Gordian knot. *Genome Biology*, 6(8), 229.
- [153] Schubert, B. A., Lowenstein, T. K., Timofeeff, M. N., Parker, M. A. (2010). Halophilic Archaea Cultured from Ancient Halite, Death Valley, California. *Environmental Microbiology*, 12(2), 440-454.
- [154] Seki, A., Kubo, I., Sasabe, H., Tomioka, H. (1994). A New Anion-sensitive Biosensor Using an Ion-sensitive Field Effect Transistor and a Light-driven Chloride Pump, Halorhodopsin. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 48 205211.
- [155] Simachew, A., Lanzén, A., Gessesse, A., Øvreås, L. (2016). Prokaryotic Community Diversity Along an Increasing Salt Gradient in a Soda Ash Concentration Pond. *Microbial Ecology*, 71(2), 326-338.
- [156] Sitdhipol, J., Visessanguan, W., Benjakul, S., Yukphan, P., Tanasupawat, S. (2013). *Idiomarina piscisalsi* sp. nov., from Fermented Fish (Pla-Ra) in Thailand. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 59, 385–391.
- [157] Sivaprakasam, S., Mahadevan, S., Sekar S., Rajakumar, S. (2008). Biological Treatment of Tannery Wastewater by Using Salt-Tolerant Bacterial Strains. *Microbial Cell Factories*, 7: 15-21
- [158] Soliman, G. S., Trüper, H. G. (1982). *Halobacterium pharaonis* sp. nov., a new, Extremely Haloalkaliphilic *Archaeobacterium* with Low Magnesium Requirement. *Zentralblatt Für Bakteriologie Mikrobiologie Und Hygiene: I. Abt. Originale C: Allgemeine, Angewandte Und Ökologische Mikrobiologie*, 3(2), 318-329.
- [159] Stoekenius, W. (1985). The Rhodopsin-like Pigments of Halobacteria: Light Energy and Signal Transducers in an *Archaeobacterium*. *Biochemical Sciences*, 10, 483-486.
- [160] Sultanpuram, V. R., Mothe, T. (2016). *Salipaludibacillus aurantiacus* gen. nov., sp. nov. A Novel Alkali Tolerant Bacterium, Reclassification of *Bacillus agaradhaerens* as *Salipaludibacillus agaradhaerens* comb. nov. and *Bacillus neizhouensis* as *Salipaludibacillus neizhouensis* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(7), 2747-2753.
- [161] Syutsubo, K., Kishira, H., Harayama, S., (2001). Development of Specific Oligonucleotide Probes for the Identification and in Situ Detection of Hydrocarbon-Degrading *Alcanivorax* strains. *Environmental Microbiology*. 3, 371–379.

- [162] Tomlinson, G. A., Hochstein, L. I. (1976). *Halobacterium saccharovorum* sp. nov., a Carbohydrate-Metabolizing, Extremely Halophilic Bacterium. Canadian Journal of Microbiology, 22(4), 587-591.
- [163] Tu, S.I., Huttchinson, H. (1985). Temperature Dependence of Light-Induced Reconstituted Purple Membrane. Archives of Biochemistry and Biophysics, 228 (1984) 609-616.
- [164] Uchida, M., Miyoshi, T., Yoshida, G., Niwa, K., Mori, M., Wakabayashi, H. (2014). Isolation and Characterization of Halophilic Lactic Acid Bacteria Acting as a Starter Culture for Sauce Fermentation of the Red Alga Nori (*Porphyra yezoensis*). Journal of Applied Microbiology, 116, 1506 -1520.
- [165] Ul-Hasan, S., Bowers, R. M., Figueroa-Montiel, A., Licea-Navarro, A. F., Beman, J. M., Woyke, T., Nobile, C. J. (2019). Community Ecology Across *Bacteria*, *Archaea* and Microbial *Eukaryotes* in the Sediment and Seawater of Coastal Puerto Nuevo, Baja California. Plos One, 14(2), e0212355.
- [166] Ventosa, A. (2006). Unusual Micro-organisms from Unusual Habitats: Hypersaline Environments. SGM Symposium 66: Procaryotic Diversity-Mechanisms and Significance, Cambridge University Pres, 223-254.
- [167] Ventosa, A. (2015). *Haloarcula*. Bergey's Manual of Systematics of *Archaea* and *Bacteria*, 1-10.
- [168] Ventosa, A., de la Haba, R. R., Sánchez-Porro, C., Papke, R. T. (2015). Microbial Diversity of Hypersaline Environments: A Metagenomic Approach. Current Opinion in Microbiology, 25, 80-87.
- [169] Ventosa, A., Fernández, A. B., León, M. J., Sánchez-Porro, C., Rodríguez-Valera, F. (2014). The Santa Pola Saltern as a Model for Studying the Microbiota of Hypersaline Environments. Extremophiles, 18(5), 811-824.
- [170] Ventosa, A., Garcia, M.T., Kamekura, M., Onishi, H., Ruiz-Berraquero, F. (1989). *Bacillus halophilus* sp. nov., a Moderately Halophilic *Bacillus* Species. Systematic and Applied Microbiology 12(2), 162-166p.
- [171] Ventosa, A., Nieto, J. J., Oren, A. (1998). Biology of Moderately Halophilic Aerobic *Bacteria*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62(2), 504-544.
- [172] Ventosa, A., Nieto, J.J., Oren, A. (1998). The Biology of Aerobic Moderatel Halophilic *Bacteria*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62, 504-544.

- [173] Vinales, J., Sackett, J., Trutschel, L., Amir, W., Norman, C., Leach, E., Rowe, A. (2022). Physiologic, Genomic, and Electrochemical Characterization of Two Heterotrophic Marine Sediment Microbes from the *Idiomarina* Genus. *Microorganisms*, 10(6), 1219.
- [174] Volcani, B. E. (1940). Studies on the Microflora of the Dead Sea. The Hebrew University of Jerusalem, Israel, Doktora Tezi, 84.
- [175] Wainø, M., Tindall, B. J., Ingvorsen, K. (2000). *Halorhabdus utahensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic, Extremely Halophilic Member of the *Archaea* from Great Salt Lake, Utah. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(1), 183-190.
- [176] Woese, C. R., Fox, G. E. (1977). Phylogenetic Structure of the Prokaryotic Domain: the Primary Kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(11), 5088-5090.
- [177] Yakimov, M. M., Golyshin, P. N., Lang, S., Moore, E. R., Abraham, W. R., Lünsdorf, H., Timmis, K. N. (1998). *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a New, Hydrocarbon-Degrading and Surfactant-Producing Marine Bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(2), 339-348.
- [178] Yakimov, M. M., La Cono, V., Spada, G. L., Bortoluzzi, G., Messina, E., Smedile, F., Giuliano, L. (2015). Microbial Community of the Deep-Sea Brine Lake Kryos Seawater–Brine Interface is Active Below the Chaotropicity Limit of Life as Revealed by Recovery of mRNA. *Environmental Microbiology*, 17(2), 364-382.
- [179] Yanhe, Ma., Erwin, A., Galinski, W., Grant, D., Aharon, O., Antonio, V. (2010). Halophiles Life in Saline Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(21): 6971–6981.
- [180] Yaşa, İ., Kahraman, Ö., Tekin, E., Koçyiğit, A. (2008). Çamaltı Tuzlasından Ekstrem Halofilik *Archaea* İzolasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu. *Su Ürünleri Dergisi*, 25(2), 117-121.
- [181] Yılmaz, M.M. (2019). Ayvalık Tuzlası (Balıkesir)’ndan Halofilik Bakterilerin İzolasyonu Ve Biyoteknolojik Enzim Potansiyellerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, Türkiye.
- [182] Yoon, J. H., Kang, K. H., Park, Y. H. (2002). *Lentibacillus salicampi* gen. nov., sp. nov., a Moderately Halophilic Bacterium Isolated From a Salt Field in Korea. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2043-2048.
- [183] Yuce, S., Tahtaci, S., Kilic, G. B. (2017). The Hydrolytic Enzymes Produced by Halophilic Lactic Acid Bacteria. *The Journal of Food*, 42(3), 242-251.
- [184] Zavarzina D.G., Tourova T.P., Kolganova T.V., Boulygina E.S., Zhilina T.N. (2009). Description of *Anaerobacillus alkalilacustre* gen. nov., sp. nov. Strictly anaerobic

Diazotrophic *Bacillus* Isolated From Soda Lake And Transfer of *Bacillus arseniciselenatis*, *Bacillus macyae*, and *Bacillus alkalidiazotrophicus* to *Anaerobacillus* as the new combinations *A. arseniciselenatis* comb. nov., *A. macyae* comb. nov., and *A. alkalidiazotrophicus* comb. nov. Microbiology;78:723–731.

- [185] Zhang, L., Shen, X., Liu, Y., Li, S. (2013). *Nafulsella turpanensis* gen. nov., sp. nov., a Member of the Phylum *Bacteroidetes* Isolated From Soil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 63(Pt_5), 1639-1645.
- [186] Zhang, Y.J., Zhang, X.Y., Zhao, H.L., Zhou, M.Y., Li, H.J., Gao, Z.M., Chen, X.L., Dang, H.Y., Zhang, Y.Z. (2012). *Idiomarina maris* sp. nov., a Marine Bacterium Isolated from Sediment. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 62, 370–375.
- [187] Zheng, B., Jiang, X., Xu, Z., Fang, Y., Li, L. (2016). Characterization of a Novel Metallo- β -lactamases Fold Hydrolase from *Pelagibacterium halotolerans*, a Marine Halotolerant Bacterium Isolated from East China Sea. Extremophiles, 20(1), 37-44.
- [188] Zhu, D., Han, R., Long, Q., Gao, X., Xing, J., Shen, G., Yongzhen Li, Wang, R. (2020). an Evaluation of the Core Bacterial Communities Associated with Hypersaline Environments in the Qaidam Basin, China. Archives of Microbiology, 202(8), 2093-2103.