

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ELEKTROMANYETİK DALGALARIN
***BACİLLUS CEREUS* İZOLATLARI**
ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Caner ÇOLAK

Biyoloji Bölümü

Bilim Dalı Kodu: 10 600 4010104

Sunuş Tarihi: 13/08/2008

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Füsun UÇAR

ÖZET

ELEKTROMANYETİK DALGALARIN *BACILLUS CEREUS* İZOLATLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ÇOLAK, Caner

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Füsun UÇAR

AĞUSTOS 2008, 73 sayfa

Elektromanyetik dalga kaynakları olarak seçilmiş baz istasyonları yakınlarından alınmış toprak örneklerinden 15 *Bacillus cereus* straini izole edilmiştir. 1000 ve 1850 MHz frekanslardaki elektromanyetik dalgaların, 3 saat içerisinde, *Bacillus cereus* izolatları ve *Bacillus cereus* CCM99 straininin biyokimyasal özellikleri, sporulasyon saati ve spor morfolojileri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca, elektromanyetik dalgalara maruz kalmış sporlar, scanning elektron mikroskopunda incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, 1000 MHz frekansın sporulasyon saati üzerinde etkisi görülmemiş olup, 1850 MHz frekansta *Bacillus cereus* CCM 99' da 9 . saatte ve 15 tane *Bacillus cereus* strainlerinden 11'i 8.saatte, 4' ü 8. saat 20 dakikada sporulasyona girdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, biyokimyasal testler üzerinde herhangi bir değişikliğe rastlanılmamıştır. Scanning elektron mikroskopunda, elektromanyetik dalgalara maruz kalan sporların, morfolojilerinde farklılıklar gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik dalga, İyonize Olmayan radyasyon, *Bacillus cereus*

ABSTRACT
INVESTIGATIONS OF EFFECT OF ELECTROMAGNETIC WAVES
ON BACILLUS CEREUS ISOLATES

ÇOLAK, CANER

Msc in Biology Department

Supervisor: Prof. Dr. Füsün UÇAR

August 2008, 73 page

15 *Bacillus cereus* strains were isolated from soils collected from nears of base stations as electromagnetic wave sources. Effect of electromagnetic waves at 1000 MHz ve 1850 MHz frequency, up to 3 hour, on biochemical tests, sporulation times and spores morphologies of *Bacillus cereus* strains and *Bacillus cereus* CCM99 strain were examined. However, spores exposed to electromagnetic waves were examined by scanning electron microscopy.

According to results, effects of 1000 MHz frequency on sporulation time were not observed. At 1850 MHz frequency, it was observed that *Bacillus cereus* CCM99 strain began forming spore at 9th hour and among 15 *Bacillus cereus* strains, grains of 11 forming spore at 8th hour, also 4 began forming spore at 8 h. 20 minutes. However, it was not found any effect of electromagnetic waves at 1000 and 1850 MHz on biochemical tests. On the other hand, it was observed differences in the surface properties of spores at scanning electron microscopy.

Keywords: Electromagnetic wave, Non-Ionizing radiation, *Bacillus cereus*

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenip yürütülmesinde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Füsun UÇAR ' a, her zaman yardımlarını esirgemeyen Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bölümü eğitim elemanlarına ve araştırma görevlilerine, Fizik Bölümünde Yard. Doç. Teoman YILDIZ hocama, çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan tüm arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	8
2.1. Elektromanyetik Dalgalar ve Elektromanyetik Alan.....	8
2.2. Elektromanyetik Dalgaların Canlılar Üzerine Yapılmış Çalışmaların Tarihçesi.....	11
2.3. İyonize Radyasyonun Canlılar Üzerine Etkisi ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	15
2.4. İyonize Olmayan Radyasyonun Canlılar Üzerine Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	17
2.5. İyonize Olmayan Radyasyonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	21
2.6. İyonize Olmayan Radyasyonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi ile İlgili Olarak Ülkemizde Yapılan Çalışmalar.....	26
3. MATERYAL VE METOT.....	28
3.1. Materyal.....	28

İÇİNDEKİLER (DEVAM)

	<u>Sayfa</u>
3.1.1. Kullanılan Örnekler.....	28
3.1.2 Kullanılan Aletler.....	28
3.1.2.1 Elektromanyetik Dalga Kaynağı.....	28
3.1.2.2 Scanning Elektron Mikroskobu.....	29
3.1.2.3 Spektrofotometre Aleti.....	29
3.1.3 Kullanılan Besiyerleri.....	30
3.1.4. Kullanılan Çözelti ve Kimyasal Maddeler.....	35
3.2 METOT	
3.2.1 Bakteri İzolasyonu.....	40
3.2.2 İzolatların Tanılanmasında Kullanılan Morfolojik Testler.....	41
3.2.3 İzolatların Tanılanmasında Kullanılan Biyokimyasal Testler.....	42
3.2.4 İzolatların Büyüme Eğrilerinin Çıkartılması.....	45
3.2.5 İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Bakterilerin Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	45
3.2.6 Spor Oluşum Saatinin Saptanması ve İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Spor Oluşturma Saatleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	46
3.2.7 Spor Süspansiyonunun Hazırlanması ve İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Spor Yapısı Üzerine Etkisini Araştırmak Üzere Scanning Elektron Mikroskobunda İncelenmesi.....	47
4. BULGULAR	
4.1 İzolatların Elde Edilmesi ve Tanılanması.....	48
4.2 Büyüme Eğrisinin Çıkartılması.....	52

İÇİNDEKİLER (DEVAM)

	<u>Sayfa</u>
4.3 İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Biyokimyasal Testler Üzerine Etkisi.....	55
4.4 İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Sporulasyon Saati Üzerine Etkisi.....	55
4.5 İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Spor Yapısı Üzerine Etkisini Araştırmak Üzere Scanning Elektron Mikroskopunda İncelenmesi.....	56
5. TARTIŞMA.....	64
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	89

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Baz İstasyonlarının Coğrafik Konumları.....	28
4.1. İzolatların Biyokimyasal Özellikleri.....	51
4.4.2. 1000 ve 1850 MHz frekanslarının Spor Oluşum saati üzerine etkisi.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1.2.1. Elektromanyetik Dalga Kaynağı.....	29
4.1.1. PEMBA Agar üzerinde tipik <i>B.cereus</i> kolonilerinin görünüşü.....	49
4.1.2. 3 no' lu <i>Bacillus cereus</i> izolatın Gram boyama sonunda mikroskopik görünümü.....	49
4.1.3. 3 no' lu <i>B.cereus</i> izolatın Endospor boyama sonunda mikroskopik görünümü.....	50
4.2.1. 3 no' lu <i>Bacillus cereus</i> izolatın artan inkübasyon sürelerinde canlı hücrelerinin zamana göre dağılımı.....	52
4.2.2. 3 no' lu <i>Bacillus cereus</i> izolatın büyüme eğrisi.....	53
4.2.3. <i>Bacillus cereus</i> CCM99 straininin artan inkübasyon sürelerinde canlı hücrelerinin zamana göre dağılımı.....	53
4.2.4. <i>Bacillus cereus</i> CCM99 straininin büyüme eğrisi.....	54
4.4.1. 1, 2 ve 3 no'lu izolatlarının spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi.....	57
4.4.2. 4, 5 ve 6 no'lu izolatlarının spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi.....	58
4.4.3. 7, 8 ve 9 no'lu izolatlarının spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi.....	59
4.4.4. 10 ve 11 no' lu izolatlarının spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi.....	60
4.4.5. 12, 13, 14 ve 15 no' lu izolatlarının spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi.....	61
4.4.6. <i>Bacillus cereus</i> CCM99 straininin spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi.....	62

4.5.1. Scanning Elektron Mikroskopunda <i>Bacillus cereus</i> izolatları ve <i>Bacillus cereus</i> CCM99 straininin spor görünümüleri.....	63
---	----

1. GİRİŞ

Çağımızda, bilimsel çalışmaların hayata yansması olan teknoloji yararlarının yanı sıra bilinen ve bilinmeyen zararları da beraberinde getirmektedir. Hayatımızı kolaylaştırarak insanoğluna durmaksızın hizmet eden teknoloji bir yandan da insanoğluna içten içe düşmanlık yaparak ona çeşitli zararlar vermektedir. Elektromanyetik dalgalar, birçok doğal ve insan yapımı kaynak tarafından yayılmakta ve hayatımızda önemli bir rol oynamaktadır (Pak, 2001).

Elektromanyetik dalga kaynakları, doğal ve doğal olmayan elektromanyetik dalgalar diye iki ayrılır. Doğal elektromanyetik kaynaklar, güneş ışığı, bazı uzak yıldızlar ve atmosferik deşarj (yıldırım). Doğal olmayan elektromanyetik dalga kaynakları ise, elektrik akımı taşıyan yer altı ve yer üstü elektrik hatları, yüksek gerilim hatları, trafo ve trafo merkezleri, elektrikle çalışan trenler, elektrikli ev aletleri, TV ve bilgisayar, radyo ve televizyon vericileri, telsiz haberleşme sistemleri, hücresel telefon sistemleri (GSM baz istasyonları ve GSM telefon cihazları), tıp alanında kullanılan aletler ve flüoresan ve halojen lambalar' dır (Hoong, 2003).

Elektromanyetik radyasyon türleri; iyonlaştırıcı radyasyon ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olmak üzere iki grupta toplanır. İyonlaştırıcı radyasyon; madde içerisinden geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştıran radyasyon türüdür. Örneğin; x ve gama ışınları ile α , β ve nötron parçacıklarının yayılması gibi. Yeteri kadar enerjiye sahip olmadıkları için radyo dalgaları, mikrodalgalar, sabit telekomünikasyon cihazları olan baz istasyonları, radyo ve televizyon vericileri ile elektrik iletim hatları, trafo merkezleri iyonlaştırıcı olmayan radyasyon grubunda yer alır. Bilim ve teknolojiye paralel olarak bireysel , endüstriyel ve ticari amaçlı, yaşamın her alanında yaygın biçimde kullanılmaya başlanan, televizyon radyo vericileri, bilgisayar, cep telefonu ve baz istasyonu vb. yukarıda sıralanmış olan iyonlaştırıcı olmayan

radasyon yaydığı bilinen sistemlerin çevre ve insan sağlığı açısından bir takım risklere yol açtığı, bilim adamları arasında tartışmalara ve sonucunda bir çok araştırmalar yapılmasına neden olmuştur (Cleveland ve Ulcek, 1999).

Elektromanyetik Dalgaların Frekanslara göre Uluslararası Sınıflandırması; Ses frekansı (20-20.000 Hz), Radyo frekansı (10 kHz-300.000 MHz), Çok düşük frekans (10-30 kHz), Kısa frekans (30-300 kHz), Orta frekans (300-3.000 kHz), Yüksek frekans (3-30 MHz), Çok yüksek frekans (30-300 MHz), Ultra Yüksek frekans (300-3000 MHz), Süper Yüksek frekans (3.000-30.000 MHz), Ekstrem Yüksek frekans (30.000-300.000 MHz), Isı ve İnfrared, Görünür Bölge, Ultraviole, X-ışınları, Gama ışınları ve kozmik ışınlar' dır. Ultra yüksek frekans bölgesi, 880-960 MHz arasında GSM900 ve 1710-1880 MHz arasında DCS1800 cep telefonu haberleşmesi, baz istasyonları, 2.450 MHz' de evlerde kullandığımız mikrodalga fırınlar, radarlar ve TV yayınlarını içermektedir (Swerdlow, 2003).

Bugün dünyada milyonlarca cep telefonu kullanılmaktadır ve özellikle cep telefonlarının kullanıldığı frekanstaki elektromanyetik dalganın 1993 yılında Belçika' lı bilimciler tarafından insan geninde hasara yol açtığı gösterilmiştir. 1990' lı yılların ikinci yarısında Fransa' da yapılan bir araştırmada; kadın ve erkek olmak üzere her iki cinste de beyin tümörü sayısının %31 artmış olmasının görünmesi teknolojinin bize sunduğu kaynakları sınırsız ve sorumsuzca kullanamayacağımıza ilişkin önemli göstergelerden yalnızca bir kaçıdır. Ayrıca, gazete, dergi ve televizyonlarda cep telefonları hakkında çeşitli haberler ortaya atılmıştır. Cep telefonlarının öncelikle Kanser, Beyin tümörü, Parkinson, Alzheimer, genetik yapının değişimi, vücut ısısının artması, yorgunluk, uykusuzluk, bağışıklık sisteminin zayıflaması, hafıza kaybı, deride yanma hissi gibi hastalıklara yol açtığı söylenmiştir (William, 1992; Stewart, 2000).

Cep telefonlarının DNA molekülleri ve genetik yapımıza olan etkilerine dair en çarpıcı bilimsel araştırmalardan olan REFLEX (Risk Evaluation of Potential Environmental Hazards from Low Energy , Electromagnetic Field (EMF) Exposure

using Sensitive in vitro Methods) projesi' nin sonuçları 2004 aralık ayında açıklandı. Avrupa' nın 7 ülkesinde 12 saygın araştırma merkezi tarafından yürütülen ve tüm avrupayı kapsayan proje yaklaşık 4 yıl sürdü. Burada önemli olan uygulanan elektromanyetik yoğunluğun bugün hayatımızın her alanına girmiş cep telefonları ile tıpatıp aynı şiddete sahip olmasıdır. REFLEX projesi araştırmasının sonuçlarına göre cep telefonları çeşitli insan hücre tiplerinde doğrudan kanser yapma potansiyeline sahip çiftli yada tekli DNA zinciri kırılma olayına yol açmakla kalmıyor DNA molekülünü taşıyan kromozomlarda bozulmalara ve kanser oluşumuna yol açtığı bilinen bazı genlerin aktivitelerinde de değişikliklere yol açabiliyor (Adlkofer, 2005).

Ayrıca, son yıllarda bilimsel araştırmalar cep telefonlarının beyin kan bariyerini tahrip etmek yoluyla beyine zarar verdiğini göstermiştir. Finlandiya Radyasyon ve Nükleer Güvenlik Merkezi cep telefonlarından yayılan radyasyonun kan damarları çeperini büzüştürdüğünü, bunun da beyni saran kan damarlarında hasara yol açtığını belirtmektedir. İki yıl süren araştırmanın sonuçları, düşük radyasyon yayan cep telefonu kulaklık sistemlerinin dahi beyin kan bariyeri üzerinde zararlı olduğunu göstermiştir (Leszczynski et. al., 2002). Cep telefonlarının kan bariyeri üzerindeki etkisi üzerinde bir diğer çalışma Lund Üniversitesi Beyin Cerrahisi Bölümü tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada sadece 2 saat süre ile günlük hayatta maruz kaldığımız şiddette cep telefonu radyasyonuna bırakılan deney farelerinin beyin kesitleri incelenmiş ve bu beyin kesitlerinde kanda bulunan ancak beyin kesitlerinde görülmemesi gereken proteinlere rastlanmıştır (Salford et. al., 2003). Cep telefonlarının uzun süreli kullanımında beyin tümörlerine yol açtığı pek çok bilim adamı tarafından gösterilmiştir. İsveç' te yapılan araştırma raporunda, cep telefonları çeşitli beyin tümörlerinin oluşum riskini uzun vadede 5 kat arttırabilmektedir. Daha da çarpıcı olanı ise, bu tümörler genelde cep telefonunun başa yaslandığı bölgeye yakın yerlerde oluşmaktadır. Yani cep telefonu radyasyonu beyinde ne kadar yoğunlaşırsa, beyin tümör oluşum riski o kadar artmaktadır. Ayrıca,

günlük konuşma miktarı arttıkça da risk yükselmektedir (Hardell et. al., 2002). İsveç’ te 1500 kişi üzerinde yapılan araştırma sonucunda, tüm beyin tümörlerinde cep telefonu kullanımına bağlı olarak, 1,5 katlık bir artış olmuştur. Kulak bölgesine yakın oluşan ve akustik nöroma adı verilen bir tümör için risk artışı 3,5 kat düzeyinde görülmüştür (Lönn et. al., 2004). Bunun yanında, Almanya’ da yapılan benzer bir araştırma ise 5 yıldan daha uzun süreli cep telefonu kullanan kişilerin ne kadar risk altında olduğunu göstermiştir. Buna göre, “ uveal melenoma “ adı verilen kanser türü uzun süreli ve yoğun cep telefonu kullanıcılarında 5 kata yakın bir risk artışı sergilemiştir. Bu araştırma da 120 kadar cep telefonu kullanıcısı kanser hastası üzerinde gerçekleştirilmiştir (Stang et. al., 2001).

Cep telefonlarının sayısız etkileri arasında erkeklerin cinsel yaşamına ve üretkenliğine verdiği zararlar da bulunmaktadır. Macar bilim adamları 221 erkeğin üreme sistemini 13 aylık bir süre boyunca takip etmişler. Araştırmacılar bu erkeklerin cep telefonu kullanıp, kullanmadıklarını, eğer, kullanıyorlarsa ne kadar kullandıklarını ve telefonlarını nerede taşıdıklarını belirlemişler. 13 aylık periyodun sonunda cep telefonu kullanan erkekler ile kullanmayan erkeklerin sperm yapıları ve üreme sistemleri incelenmiş. Sonuçlar cep telefonu kullanımının erkek üreme sistemine zarar verdiğini ortaya çıkarmıştır. Cep telefonu radyasyonunun erkeklerde sperm oranını yüzde 30 oranında düşürdüğünü ortaya çıkarmıştır (Fejes et. al., 2005).

Fertility and Sterility dergisinde yayımlanan araştırma, cep telefonları ve diğer kablosuz cihazların sağlık üzerindeki olumsuz etkisiyle ilgili kafalardaki soruları bir kez daha gündeme getirdi. ABD’ de kısırlık tedavisi kliniklerindeki 361 erkek üzerinde yapılan bir ön araştırmada, cep telefonu ile daha fazla vakit harcayan erkeklerin sperm sayıları ve kalitesinin daha düşük, anormal sperm oranınsa daha yüksek olduğu görülmüş. Günde 4 saatten fazla cep telefonu kullanan erkeklerin sperm sayısının araştırmaya katılanlar arasında en düşük çıktığı ve çok az kaliteli sperme sahip olduğu belirlenmiştir (Agarwal, 2008). Yapılan başka bir araştırmada

da cep telefonlarından çıkan radyasyonun uykuyu kaçırıp, başağrısı ve depresyona yol açtığı belirlenmiş. İsveç’ teki Krolinska Enstitüsü ve Uppsala üniversitesi ile ABD Michigan’ daki Wayne State üniversitesi tarafından yapılan araştırmanın bugüne dek bu alanda yapılan en kapsamlı araştırma olduğu belirtilmiştir (Arnetz, 2008).

İngiltere’ de hükümet ve iletişim endüstrisinin birlikte yürüttüğü 6 yıllık araştırmanın sonucunda, kısa sürede cep telefonu kullanımının kansere yol açma ihtimali olmadığını belirtmiştir. Cep telefonu kullanımı ve baz istasyonlarının uzun dönemde kansere yol açma ihtimalinin “ göz ardı edilemeyeceğini “ de belirtmiştir. Söz konusu 6 yıllık program sırasında cep telefonları ve baz istasyonlarının sağlıkla ilgili etkileriyle ilgili 23 araştırma yapılmıştır. Araştırma ekibi, cep telefonu kullananlar arasında beyin ve kulak (akustik nöroma) kanserine yakalanmada küçük bir artış görüldüğünü kaydetmiştir (Maisch, 2003).

İngiltere Ulusal Radyolojik Koruma Kurulu, cep telefonlarının 8 yaşından küçük çocuklarda beyin riskini arttırdığını belirtmiştir. Araştırmalar, cep telefonlarının sık kullanılmasının beyin ve kulakta tümör oluşuma yol açtığını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, AB ülkelerinde yapılan araştırmalar, cep telefonu sinyallerinin DNA’ ya zarar verebileceğini, İsveç’ te uzun süreli bir araştırmada, 10 yıl cep telefonu kullananlarda işitme duyusu sinirlerinde büyüme görülmüş, Hollanda’ da cep telefonu sinyallerine maruz kalmanın hafıza ve reaksiyon zamanlaması gibi bilinçsel fonksiyonları etkilediğini ve Almanya’ da baz istasyonu yakınında kanser vakalarının arttığı saptanmıştır (Stewart, 2004).

Cep telefonlarının canlılar üzerinde etkisinin olmadığını ortaya koyan çalışmalar da mevcuttur. 1995-1996 yılları arasında fareler üzerinde 2450 MHz ile yapılan deneylerde 4 saatlik süre sonunda elektromanyetik enerjinin DNA bozulmasına yol açtığı açıklanmıştır (Lai and Singh,1995,1996). 1997’ de benzer deneyde Prof. Lai ve Singh’ in elde ettikleri sonuçlara ulaşılammış (Malyapa et. al., 1997). 2002 yılında yapılan deneylerde yine DNA bozulmasının gözlenmediğini

açıklamışlardır (Tice et. al., 2002). 18 ile 80 yaşları arasında değişen kadın ve erkek toplam 900 kişilik bir grupla 1994-1998 yılları arasında gerçekleştirilen ve 4 yıl süren çalışmalarda cep telefonu kullanmanın kısa dönemde beyin tümörü oluşumuna yada tümörün büyümesine etkisinin olmadığı sonucunu elde etmişlerdir (Muscat et. al., 2000). Bir başka çalışmada ise, fareler üzerinde yapılan deneylerde 836 MHz FDMA ve 848 MHz CDMA işaretlerinin lenf ve beyin kanserini arttırıcı etkilerine rastlanmamıştır (Laregina et al., 2003). Yine cep telefonlarının fareler üzerinde göğüs kanseriyle ilk denemede kanser arttırıcı etki gözlenirken, ikinci denemede olumsuz etki gözlenmemiştir (Anane et. al., 2003).

Şimdiye kadar ki yapılan çalışmalar, Radyo-frekanslarının insan sağlığı üzerindeki etkileri hakkında kafa karıştırıcı sonuçlar üretmiştir. Bu yüzden, Radyo frekanslarının (RF) biyolojik etkilerinin anlaşılması en azından klinik olarak önemlidir. RF alanlarının insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkinliği halen karakterize edilememiştir, bundan dolayı hayvansal ve hücresele testlere dayanan laboratuvar çalışmalarından çıkan temel bilgiler çok önemlidir (Pavicic et. al., 2006). Çalışmalar içerisinde *Bacillus* genusu türleri üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Mikrodalga radyasyonunun *Escherichia coli* ve *Bacillus subtilis* hücre süspansiyonlarındaki canlı sayısında önemli bir oranda azalmaya ve hücrelerden açığa çıkan DNA ve protein miktarında önemli bir miktarda artışa neden olduğu bulunmuştur (Woo et. al., 2000). Bir başka çalışmada, 800Hz ve 1KHz frekansların bakteriel kültüre maruz bırakılması sonucunda *Bacillus subtilis* mutant FJ7 straininin büyümesinde artış olduğu bulunmuştur (Ramon et. al.,1987).Diğer çalışmada farklı koşullar altında ve farklı güç seviyelerinde mikrodalgaların, *Bacillus* spp, *B. cereus* CCRC 14655, *B. coagulans* CCRC10606, *B. licheniformis* CCRC14693 ve *B. subtilis* CCRC14199' un sporları üzerinde etkisi incelenmiş ve uygulama sonunda, mikrodalgaya en fazla toleransı *B. licheniformis* bakterisinin sporlarının gösterdiği bulunmuştur (Wang et. al., 2003). Bir başka çalışmada ise, mikrodalgaların *Bacillus subtilis* sporlarının moleküler ve yapısal komponentleri

üzerine etkisini araştırmışlar. İnceleme sonunda, spor korteksinde daralmaya neden olduğu görölmüştür (Celandroni et. al., 2004).

Yukarıda değinilmiş olan bilgiler ışığında bu çalışmada, Cep telefonu/Radyo frekanslarının (1000 MHz-1850 MHz) sporlu bir bakteri olan *Bacillus cereus*' un spor morfolojisi, spor oluşum saati ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Elektromanyetik Dalgalar ve Elektromanyetik Alan

Elektromanyetik alanlar elektrik yükleri tarafından oluşturulmaktadır. Pozitif (+) ve negatif (-) elektrik yükleri elektrik alanların; hareket eden elektrik yükleri ise manyetik alanların kaynağıdır. Kaynaktan yayılan elektrik ve manyetik alanlar bir elektromanyetik alan içerisinde birleşir. Elektromanyetik alanlar 4 farklı nicelik ile gösterilir; Manyetik akış yoğunluğu B, T (Tesla), manyetik alan şiddeti H, A/m (Amper/metre), elektrik alan şiddeti E, V/m (Volt/metre), elektrik akış yoğunluğu D, C/m² (Coulomb / metrekare). Elektromanyetik dalgalar periyodik olarak değişen, hem elektriksel hem de manyetik bileşenlerden oluşur. Dalgaların 1 saniyedeki titreşimine frekans denir ve Hertz (Hz) birimi ile ifade edilir. Kilohertz (KHz = bin Hertz), Megahertz (MHz = milyon Hz) ve Gigahertz (GHz = Milyar Hz) olarak katları ifade edilir. Bir yayınının frekansı azaldıkça, canlı hücreler üzerindeki tahribatı da azalmaktadır. Düşük enerjili yayınıma “ İyonize olmayan (Noniyonize) Yayınım (Radyasyon) ” denilmektedir. Mobil iletişim sistemlerinin neden oldukları ışınlam, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde yer almaktadır. Noniyonize yayınının doğrudan kanser veya benzer bir hastalığa yol açıp açmadığı bugüne kadar ispatlanabilmiş değildir (Bilgili ve ark., 2006).

Elektromanyetik titreşimler dalga boylarına göre radyo dalgaları, infrared (kızıl ötesi), görülebilen ışık, ultraviole (mor ötesi), X ve gama ışını ve kozmik ışın adını alırlar. Elektromanyetik ışınlamalar iyonizan ve non iyonizan diye ikiye ayrılır. Non iyonize radyasyonların foton enerjileri 12 elektron volt tan daha düşük olup iyonize radyasyonun sınırı olarak kabul edilir. Bu enerji, moleküllerin iyonizasyonunu indüklemek için çok düşük olup aynı zamanda kimyasal bağların kırılması için de çok zayıftır (Verschaeve ve Maes, 1998). Yapılan araştırmalardan iyonlaştırıcı olmayan radyasyon kaynaklarının yarattığı manyetik alandan, çevre ve insan

sağlığının etkilenmelerinin kaynakların yoğunluğuna ve frekanslarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği anlaşılmıştır (Cleveland ve Ulcek, 1999).

Ortamdaki iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik dalgaların etkisinde kalma sonucunda canlılarda iki tür etki oluşabilir. Isıl etkiler ve Isıl olmayan etkiler. Isıl etkiler, vücut tarafından yutulan elektromanyetik enerjinin ısıya dönüşmesi ve vücut sıcaklığını arttırması olarak tanımlanır. Bu sıcaklık artışı, ısının kan dolaşımı ile atılarak dengelenmesine dek sürer. Cep telefonları gibi RF kaynaklarının sebep olabileceği sıcaklık artışı gerçekte çok düşüktür ve büyük olasılıkla vücudun normal mekanizmaları ile kolayca etkisizleştirilebilir. Cep telefonu ile beyinde oluşabilecek sıcaklık artışı ortalama $0,1\infty\text{C}^{\circ}$ dolayındadır. Isıl olmayan etkilere bağlı olarak Radyofrekans dalgalarının etkili olduğu iddia edilen bozukluk ve hastalıklar arasında beyin aktivitelerinde değişiklikler, uyku bozuklukları, dikkat bozuklukları, baş ağrıları bulunmaktadır. Ancak bu riskler çok yüksek deneysel dozlar ve sürelerde geçerli olabilir ve cep telefonları gibi kullanımlar için geçerli değildir (Van Leeuwev et. al., 1999). Elektromanyetik alanlar terimi; mikrodalgalar dahil olmak üzere 0 Hz ile 300 GHz arasında frekansa sahip statik alanları ve Radyo Frekansı (RF) alanlarını kapsar (Cleveland ve Ulcek, 1999).

Radyofrekans alanları, özellikle mikrodalga (300 MHz – 300GHz) hem uygulama sahası hem de sağlık üzerine etkileri nedeni ile elektromanyetik spektrumun önemli bir bölümünü oluşturur. Mikrodalga fırınların (2450 MHz), radar cihazlarının, telsiz iletişiminin (örneğin, mobil telefonlar) etkileri üzerinde son on yıldır yoğun tartışmalar süre gelmektedir. Hızla popülerlik kazanan mobil telefonlar da farklı sistemler kullansalar da bu tartışmanın dışında tutulamazlar. Avrupada sıklıkla kullanılan TDMA (Time Division Multiple Access) tekniğinde ülkemizde de bulunan GSM (Global Sistem for Mobile Communication) kullanılmaktadır. Bu servisler için belirlenmiş taşıyıcı frekans bandları 800-900 MHz ve 1800-2200 MHz spektrumunda yer alır. Cep telefonlarının arama ya da aranma hallerinde antenin başa yakın tutulması sonucu moleküler ya da hücresel düzeyde

harabiyet oluşturabilir genel kanısı hakimdir. Öyle ki bazı araştırmacılar baş taraftan emilen mikrodalga enerjisinin beyinde sıcak nokta oluşturduğunu ifade ederler (Guy, 1997; Bergqvist, 1997). Bunu sonucunda gözde hasarlanma, baş ağrısı ve kanserin potansiyel biyolojik etkiler olarak gözlenebileceği ileri sürülmektedir (Bassen, 1997).

Cep telefonlarında ortalama 2W çıkış gücüne sahip 900 MHz de çalışan bir cep telefonundan 2,2 cm ötede 400V/m şiddetinde elektrik alan değeri ölçülmüştür. Bu değer 1800 MHz ve 1W çıkış gücü ile 200V/m dir. Yani, beynimizin dibinde ölçülen değer baz istasyonlarının neden olduğu etki yanında yüz kattan daha fazla olabilmektedir. Bilim, gelinen noktada elektromanyetik dalgaların insan sağlığına kesinlikle zararı yoktur diyecek durumda değildir. Günümüzde “ Kesin zararlı değildir ” yargısı kadar sınırlı bulgularla varılan “ Kesin zararlıdır ” yargısı da bilimsel olmaktan uzaktır. Sadece cep telefonlarının değil, yüksek gerilim hatları, mikrodalga fırınları, TV, bilgisayar, vb. cihazların insan sağlığına etkileri konusunda aralıksız çalışmalar, deneyler sürdürülmektedir. Her gün değişik deney sonuçları ve bulgular yayınlanmakta ve değerlendirmeler yapılmaktadır. Bu çalışmaların önemli bir derlemesi İngiltere de bağımsız bir uzman grubun bir yılı aşkın bir sürede titiz çalışması sonucu yayınladığı (Mayıs 2000 de) raporda yer almaktadır. Söz konusu raporda, ne yazık ki, deneylerle elde edildiği söylenen (baş ağrısı, uykusuzluk, unutkanlık yarattığı, kanser riskini arttırdığı, P55 genini bozarak bağışıklık sistemini zayıflattığı, kan bariyerlerine zarar verdiği gibi) tıbbi bulguların önemli bir kısmının bilimsel ve tekrarlanabilir olmaktan uzak çelişkili hatta tutarsız olduğu belirtilmekte, bir kısmının ise baz istasyonları ile ilişkilendirelemeyeceğinin altı çizilmekte ve bilimsel deneylerin sürdürülmesi gereği vurgulanmaktadır (Stewart, 2000).

2. 2. Elektromanyetik Dalgaların Canlılar Üzerine Yapılmış Çalışmaların Tarihçesi

Elektromanyetik Alanların (EMA) sağlık üzerine olası zararlı etkiler bilimsel çevrelerce günümüzde büyük bir tartışma konusudur. İnsan evrimsel doğası nedeniyle elektromanyetik alanlara alışkındır. Ama bu alanlar oldukça sınırlıdır. Oysa günümüzde teknolojik gelişmeler sonucu maruz kaldığımız EMA' lar insanın evrimsel sürecinde maruz kaldığından kat kat üstündedir. Bu hızlı ve önüne geçilmez maruziyet " sağlığımız için bir tehdit midir ? " sorusunu akıllara getirmiştir. 1970' ler den hatta daha öncesinden EMA' lar ile ilgili çalışmalar sürmektedir. Son yıllarda bireysel, sanayi ve endüstride kullanılan elektromanyetik alanların hızla artışı bu konudaki çalışmaları da hızlandırmıştır. Örneğin şu anda sadece cep telefonlarının olası tehlikesini araştıran 20 000' den fazla araştırma bulunmaktadır (Stewart, 2000).

1960' lı yıllardan beri (Cep telefonunun gelişinden önce), mikrodalgaların insan vücudu için mümkün olan riskleri bilim adamlarının her zaman dikkatini çekmiştir. Oscar ve Hawkins adlı araştırmacılar 1977 yılında radyo frekanslarının yaymış olduğu elektromanyetik dalgaların beyindeki kan damarları üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonunda, çok düşük enerji seviyelerinde bile, kılcal damarlardan beyin dokusuna inülin, dekstran ve ^{14}C – mannitol' ün önemli oranda geçtiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, Gruenau ve arkadaşları 1982' de aynı çalışmayı denemiş fakat herhangi bir sonuca ulaşamamıştır. Son yıllarda Schirmacher ve çalışma grubu 2000 yılında 1.8 GHz' te elektromanyetik alanın, beyin ve kan bariyerinin sukroza olan permeabilitesini arttırdığını göstermişlerdir (Salford et. al., 2003).

1985 yılında yapılan araştırmada, *Lactobacillus acidophilus*' un 26 ve 40 Hz elektromanyetik alana tabii tutulması sonucunda üremenin inhibe olduğu, ayrıca tavuk embriyolarını 1 ve 10 Hz' lik bir elektromanyetik alana maruz kalması sonucunda teratojenik etkiler gözlemlenmiştir (Delgado, 1985).

Almanya Lübeck Üniversitesinde bir biyofizikçi olan Lebrecht von Klitzing 1993 yılında bazı insanlara verdiği darbe biçimli elektromanyetik alan ışınımı sonucunda bu kişilerde beyinsel iletiminde değişiklikler gözlemiştir. Yine aynı yılda, Almanya Mainz Üniversitesindeki bir grup doktor gece uyku sırasında açık bırakılan cep telefonlarının genç erkeklerde uyku bozukluğuna neden olduğunu göstermiştir. Beyin dalgası ölçümleri rüya fazında önemli derecede kısaldığını göstermişlerdir. Avustralyalı Michael Repacholi cep telefonu frekansı olan 900 MHz ile kemirgenlerle yaptığı çalışmada ışınlanan gruptaki lenf bezi kanser oranını kontrol grubuna göre iki katı kadar fazla olduğunu gözlemlemiştir. Ancak fareler genetik olarak muamele görmüş ve kanseri ortaya çıkaran bir kanser geni taşımakta olduğundan bu çalışmaya itirazlar oldukça çok olmuştur. ABD' de yapılan ve 70 milyon cep telefonu kullanıcısının değerlendirmesine dayanan büyük bir çalışmanın sonuçları 2000 Mayıs ayında açıklandı. Buna göre kanser ve elektronik aletler arasında olası bir bağlantı olduğu bulunmuştur. Hücre kültürleri ile yapılan çalışmalarda nadir rastlanan bir beyin tümörü olan neurozitom, cep telefonu kullanıcılarında üç kat daha fazla görüldüğü ortaya çıkmıştır. İsveçli bir araştırma grubunun 600 cep telefonu kullanıcı ile yaptığı çalışmada ise, herhangi bir beyin tümörü artışı gözlemlemiştir. ABD' de yapılan bir çalışmanın 1995' te yayınlanan sonucuna göre deney hayvanlarında cep telefonuna yakın frekansların beyin ve testislerde DNA'nın bir zincirinde kopmalara neden olduğudur. Gerçi bu kopmalar tamir mekanizmaları ile çift zincirde meydana gelecek kopmalara göre çok çabuk onarılmakta ve mutasyon veya kansere yol açmamaktadır. Almanya Ruhr Üniversitesinde Moleküler Genetik çalışma grubunda bir gen araştırmacısı olan Wolfgang Rüger 1995'te cep telefonu frekansı ile akyuvarları ışınlamıştır. Değerlendirmeler ışık mikroskobu ile yapıldı ve kanserleşmede tümör oluşturacak durumlar gözlemediklerini açıklamışlardır. Elektromanyetik dalgaların DNA' da değişime yol açtığı Dr. Anne-Marie Maes'in ekibi tarafından ortaya konuldu . Maes 1993'te saygın bir bilim dergisi olan Bioelectromagnetics' te, laboratuvar ortamında

2450 MHz' lik elektromanyetik alanlara maruz kalmış olan kan hücreleriyle ilgili (lenfositler) deneyinin sonuçlarını yayımladı. Belçikalı araştırmacılar deney sonunda, elektromanyetik alanlara maruz kalma süresi uzadıkça kromozomların DNA'sında meydana gelen değişikliklerin arttığını gözlemlediler (Stewart, 2000).

Epidemiyolojik çalışmalar genellikle laboratuvar çalışmalarının aksine daha uzun sürer ve daha önceden maruz kalmaya bağlı etkileri gösterebilir. Cep telefonlarının biyolojik etkileri son yıllarda gündeme girdiğinden şu ana kadar yayınlanmış veri sayısı azdır. Ancak radarla çalışanlarda veya askeri bölgede görev alanlarında yapılmış epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Fakat bu çalışmalarda yetersiz ve yanlış veri toplanması yapılmıştır (Verschaeve, 1995; Rothman et. al., 1996; Bassen, 1997). Bir başka çalışmada Moskovada' ki ABD elçiliğinde radyofrekans (RF) dalgalarına maruz kalan personel üzerinde yapılan incelemelerde kanser yapıcı etkiler tespit edilememiştir (Lilienfield et. al., 1978). Fransa ve Kanada da iki ayrı santralde elektromanyetik alana maruz kalan çalışanlar arasında yapılan araştırmada Kanada' da ki tesiste çalışanlarda akciğer kanseri insidansında belirgin farklılıklar tespit edilmiş ancak Fransa' da ki tesislerde çalışanlarda bu etki gözlenmemiştir. Ancak iki merkez arasındaki farklılık bu sonucu çelişkiye düşürmektedir (Armstong et. al., 1994). Robinette ve arkadaşları 1950-54 yılları arasında Kore savaşında görev yapmış deniz kuvvetleri personelinden (toplam 228 bin kişi) RF' ye maruz kalanlarda solunum sistemi kanseri insidansının arttığını rapor etmiştir (Robinette et. al., 1980). Polonyada 1971-1985 yılları arasında RF ve mikrodalgaya (Mw) maruz kalan toplam 128 bin askeri personel arasında yapılan incelemede, kronik myelositer lösemi, akut myelositer lösemi ve Non-hodgkin lenfoma oluşumunun daha sık gözlemlendiği bildirilmiştir (Szmigileski, 1996).

İn vitro çalışmalarda, lenfositleri test tüpünde 3-5 gün süre ile mikrodalgaya maruz bırakma sonucunda lenfoblastoid transformasyon olduğunu ve bunun ısıdan bağımsız olduğu gösterilmiştir (Stodolink, 1967). Hepatoma, insan melanom ve fare fibroblast hücre dizilerine SAR= 3 Watt/kg olacak şekilde uygulanan mikrodalga

etkisinde hücre içi ornitin dekarboksilaz düzeylerindeki artış, kimyasal ajanlara maruz kalındığından daha düşük olarak bulunduğu saptanmıştır (Byus et. al., 1988; Karause et. al., 1990). 1981 yılında McRee ve arkadaşları fareleri 2.4 GHz mikrodalgaya günde 8 saat maruz bırakmış ve bunu 28 gün uygulamış. Farelerin kemik iliği hücrelerinde sister kromatid değişikliklerini araştırmışlar ve hiçbir etki tespit edememişlerdir. 1979 yılında Manikowska ve arkadaşları erkek farelere 9.4 GHz ($1-100\text{Watt/m}^2$) mikrodalgayı günde bir saat olmak üzere değişik SAR oranlarında uygulamışlar ve sonuçta bu farelerin üretim sistemlerini incelemişler ; sonuç olarak SAR ile doğru orantılı olarak spermatozoid kromozomlarında sapmalar tespit etmişlerdir. İn vivo çalışmalarda 1962 yılında Prausnitz, farelerde 2.54 GHz-9.27 GHz frekanslarında RF ve mikrodalga uygulaması sonrası lökoz gözlemlemiştir. 1971 yılında Spalding ve çalışma grubu, farelerde 800 MHz frekansında RF uygulaması sonrası beyaz kürelerde bir değişiklik gözlemlememiştir. Salford ve arkadaşları 1993 yılında rat glioma hücreleri enjekte edilmiş Fisher 344 ratlarına 3 hafta süre ile 915 MHz frekansında RF uygulamış ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik olarak tümör progresyonunda farklılık saptamamışlar. Wu R ve ark. 1994 te yine 2.45 GHz frekansında 5 aylık süre ile elektromanyetik dalgalara maruz bırakılan farelerde dimetilhidrazin enjeksiyonu ile kolon kanseri indüklemeye çalışılmış ancak başarılı olunamamıştır. 1982 yılında Santini ve arkadaşları, aynı frekansta mikrodalgaya maruz bırakılan farelere ise B16 melanoma hücreleri enjekte edilmiş ve kontrol grubu ile yapılan kıyaslamada, mikrodalganın malign melanoma gelişimine ve ortalama sağ kalıma etkisi olmadığı gösterilmiş. Ancak 1997 yılında 900 MHz RF uygulanan başka bir çalışmada lenfoma insidansı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Repacholi et. al., 1997).

2.3. İyonize Radyasyonun Canlılar Üzerine Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar

1932-1936 yılları arasında Muller ve Stadler adlı araştırmacılar, X ışınlarının hayvan ve bitkilerde mutasyonlara neden olduğunu keşfetmişlerdir. X ışınlarının dozajı arttıkça mutasyon oranında artışa, kromozom segmentlerinde delesyon ve translokasyonlara, *Drosophila* spermelerinde ve Mısır bitkisinin polenlerindeki gen dizilerinde kopmalara neden olduğu bulunmuştur (Sax, 1938).

İyonize radyasyonun moleküler düzeydeki etkileri direkt veya indirekt yolla olur. Direkt yolda, değişikliğe uğrayan molekül doğrudan doğruya iyonize radyasyona maruz kalır ve uyarılmış duruma geçer. İndirekt yolda ise, iyonize radyasyon sonucu oluşan bazı ara ürünler başka bir dizi kimyasal reaksiyona girerek diğer moleküllerin değişmesine neden olurlar (İyonize radyasyonun hücrede bol miktarda bulunan su molekülünün ayrışmasına sebep olarak serbest radikallerin oluşmasına yol açtığı düşünülmektedir.). Radyasyonun oluşturduğu hücresel hasarların serbest radikal oluşumları aracılığıyla meydana geldiği kanıtlanmıştır. Oluşan serbest radikallerin unsurların hücrede yeni reaksiyonlar aracılığı ile daha başka serbest radikal oluşumları, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları ve başta intestinal kanamalar olmak üzere miyokardial iskemi karsinogenezis, katarakt oluşumu, solunum düzensizliği, DNA zincir kırılması, mutajenik ve karsinojenik etkiler oluşturduğu saptanmıştır (Machilin and Pendich, 1987; Weiss et. al., 1990; Athar et. al., 1993). Kan hücrelerini yapan organlar (Kemik iliği, Dalak, Lenf bezleri) radyasyona aşırı duyarlıdır. Beyaz kan hücreleri, özellikle lökositler en çok duyarlı olanıdır. Bunları sırasıyla eritrosit ve trombositler izlerler. Kan hücrelerinden özellikle eritrositlerde, iyonize radyasyona maruz kalma sonunda aşırı derecede serbest radikal oluştuğu ve hücresel hasar meydana geldiği saptanmıştır (Brown, 1993). Kaza ile radyasyona maruz kalan ve meslekleri gereği maruz kalan kişilerde, intestinal bölgelerde ve hematopoetik sistemde ışınlama sonrası görülen serbest radikal oluşumlar, nükleik asitlerin ve proteinlerin dejenerasyonuna neden olduğu

bulunmuştur (Delenay and Bonscak, 1994). Yapılan çalışmalarda genellikle radyasyonun karasal canlıların dış ortamla temas eden yapıları üzerinde durulmuştur (Bisset et. al., 1989; Schwartz et. al., 1988). Ancak bazı araştırmacılar X ışınları, gama ışınları ve He - Ne lazer radyasyonunun derinin altındaki dokulara etkisini ortaya koymak üzere tiroit bezi, bağ dokusu ve salgı bezleri üzerinde çalışmalar yapmışlardır (Phillips and Ross, 1973; Lerma et. al., 1991). X ışınlarına maruz bırakılan ev sıçanlarının hipofiz bezinden salgılanan TSH hormon düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır (Mateyko and Edelman, 1954). Gama radyasyonu uygulanan ev sıçanlarının radyasyona maruz kalmalarından 3 gün sonra serum TSH hormon düzeylerinde belirli bir artış meydana geldiği görülmüştür (Litten et. al., 1990). Yapılan bir çalışmada, yüksek orandaki iyonize radyasyon dozlarına maruz bırakılan farelerin tiroit bezi aktivitesinde azalma meydana gelirken, düşük radyasyon dozlarına maruz bırakılan farelerin ise tiroit bezi aktivitesinde artış olduğu belirtilmiştir (Song and Evans, 1968). Diğer bir araştırmada, fungus olan *Endomyces magnusii* ve maya olan *Torulopsis sphaerica* organizmalarının lazer uygulamasından sonra protein sentezinde aşırı derecede aktive olduğu ve organizmaların logaritmik büyüme fazına 1.5 saat erken girdikleri gözlenmiştir . Bir başka çalışmada, *Escherichia coli* K-12 strainine uygulanan iyonize radyasyon sonucunda hücre bölünmesine gecikme olduğu saptanmış (Simonian and Voskanian, 1988). *Saccharomyces cerevisiae* mayasına uygulanan X ışını sonrası, hücre ve membran seviyesindeki enzimatik aktiviteyi etkilediği sonucuna varmışlardır (Milani et. al., 1998). Diğer çalışmada, maya kolonilerine uygulanan lazer radyasyonunun hücre bölünmesini ve koloni büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Stanescu and Anghel, 2002).

2.4. İyonize Olmayan Radyasyonun Canlılar Üzerine Etkisi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Elektromanyetik dalgaların çeşitli biyolojik cevaplar oluşturabileceğini göstermek için laboratuvar denemeleri yapılmıştır. Bazı çalışmalar bu elektromanyetik dalgaların kesintili maruz kalmalar sonucu genotoksik etki gösterebileceklerini ortaya koymuştur. Berman ve arkadaşları (1980) yılında erişkin rat' ları 2.45 GHz mikrodalgaya dört haftadan fazla ve günde 8 saat maruz bırakmışlar, üremede geçici azalma, rektal ısıda 41 C° ye kadar yükselme ve testiste 37 C° ye kadar sıcaklıkta artma tespit etmişlerdir. Lebovitz ve Johnson (1987) de erişkin rat' ları 1.3 GHz mikrodalgaya maruz bırakmışlar ve erkek üretim organlarında hiçbir fonksiyon değişikliği bulamamışlardır. Sadece rektal ısıda 4.5 C° artış tespit etmişlerdir. Kram, (1997) kemik iliği hücreleri ile yapılan bir çalışmada kesintili elektrik ve elektromanyetik alanların genotoksik aktivitelerini araştırmışlar. Sonuçta mutajenik ve dönüştürücü aktivitenin oluşmadığını gözlemlemişler. Boscolo, (2001) müzede çalışan 7 erkek ve 8 bayan üzerinde elektromanyetik dalgaların etkilerini araştırmıştır. Kan dokusu incelendiğinde lenfositlerde ve interferonlarda düşüşün meydana geldiği bulmuşlardır. Diğer çalışmada ise, Pakhomov ve ark. (2001), mikrodalgaya maruz kalmış *Staphylococcus aureus* ' un antibiyotiklere olan duyarlılığını araştırmıştır. Radyasyonun antibiyotik duyarlılığını arttırması ve azaltmasının antibiyotik konsantrasyonuna bağlı olduğunu bulmuşlar (Banik ve ark, 2003).

Maes ve ark. (2001), 900 MHz radyo-frekans alanının sitogenik etkilerini kromozom kırılma ve kardeş kromatid değişimi sıklığı methodunu kullanarak incelemişler. Sonuçta, iyonize olmayan bu radyasyon çeşidinin mutajenik etkisi olmadığını saptamışlar.

Dasdağ ve arkadaşları (2004), cep telefonlarının sıçan beyninin dokusal yapısı, malondialdehid konsantrasyonu, immün sistemde rol oynayan p53 ve

fosfolipidlerdeki yağ asidi kompozisyonu üzerindeki etkisini araştırmışlar. Sonuçlara göre, beyin yağ asitleri kompozisyonunda değişimler, dokusal bozulmalar ve immün sistemde rol oynayan p53 te herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Melondialdehid konsantrasyonunun ise arttığı gözlemlenmiştir.

Crumpton ve Collins (2004), elektromanyetik dalgaların, DNA da tek zincirde ya da her iki zincirde birden kırılmalara yol açabileceğini göstermişlerdir. Goud ve arkadaşları (2004), düşük frekanslı elektromanyetik alanın kaynağı olan fotokopi makinalarının çalışanlar üzerindeki etkisi yanak epitel hücrelerinde ve kan hücrelerinde mikronükleus taraması ile araştırılmıştır. 98 kişi üzerinden elde edilen sonuçlar; mikronükleus frekansında ciddi bir artışın gerçekleştiğini göstermektedir.

Bonnefont (2004), GSM şebekelerinin yaydığı 900MHz elektromanyetik dalgaların beyin üzerindeki etkilerini farelerde araştırmışlardır. Beyinde glial reaksiyonlar artmıştır. Bunun dışında N-metil-D-aspartat ve GABA_A reseptörlerinde K_d ve B_{max} değerlerinde artış olmuştur. Bu sonuçlar GSM 900-MHz' e maruz kalmanın ani akut etkilerini göstermiştir.

Figueiredo ve ark. (2004) 2.5 ve 10 GHz frekansın in vitro' da kromozomal kırılma sıklığını görüntüleyerek kan lenfositleri üzerindeki etkisini araştırmışlar. Uygulama sonucunda, bu frekanslara maruz kalmış hücreler ile maruz kalmamış hücreler arasında kromozomal kırılmalar açısından önemli bir farklılık bulamamışlar.

Panagopoulos ve ark. (2004), 900 MHz' te insan sesi ile ayarlanmış GSM mobil telefonun *Drosophila melanogasterin* üreme kapasitesi üzerindeki etkisini araştırmışlar. GSM alanının hem erkeği hem de dişi üzerinde etkisinin olduğunu ve bu alanın böceklerdeki gonad gelişimi sırasında meydana gelen hücresel proses hızında azalmanın olabileceğini saptamışlar.

Düşük frekanslı elektromanyetik dalgalara uzun süre maruz kalmak kanser riski taşımaktadır. Bu hücresel mekanizmalardan bir tanesi kanser ile ilişkili genlerin delesyonu veya mutasyonudur. Hücre döngüsünün ilerlemesi farklı siklinler ve sikline bağlı kinazlar tarafından düzenlenmektedir. Bu proteinler hücrede genler

tarafından kontrol edilmektedir. Erdal (2005), elektrik işçilerinde yapılan bir araştırmada p18 gen bölgesinde farklılıkların oluştuğu ancak kanser riskini belirgin bir şekilde arttırmadığı sonucuna varmışlar.

Pavıçic ve arkadaşları (2006) 864 MHz ve 935 MHz radyo-frekansının fare akciğer fibroblast hücrelerinin çoğalması ve canlılığı üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Sonuçta , bu iki frekansa maruz kalan hücrelerin canlılığında ve çoğalmasında önemli bir farklılık saptamamışlardır

Bilgili ve arkadaşları (2006), çeşitli cihazların yaymış oldukları elektromanyetik alan düzeyine, laboratuvarda yetiştirilecek olan bitkilerin maruz bırakılması ve bunlardaki morfolojik ve genetik değişiklikleri incelemişler. Uygulamanın soğan köklerinin sayısını ve uzunluklarını etkilediği bunun dışında farklı seviyelerde kromozom hasarlarına neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Yürekli ve ark. (2006) GTEM (gigahertz transverse electromagnetic) kafesini kullanarak 945 MHz frekansının sıçanlardaki oksidatif stres üzerine etkisi incelemişler. Sonuçta, MDA (Malondialdehid) seviyesinin arttığı, GSH (İndirgenmiş glutation) seviyesinin ise azaldığını saptamışlardır.

Ferreira ve ark. (2006) UHF-EMF; 800 – 1800 MHz (Ultra high electromagnetic fields) alanın sıçan korteksi ve hipokampusundaki lipid ve protein ve enzimatik olmayan antioksidant savunma üzerindeki etkisini incelemişler. Sonuçta lipid, protein ve enzimatik olmayan antioksidant seviyelerinde bir değişim gözlemlenmemişlerdir.

Koyama ve ark. (2007) düşük frekanslı elektromanyetik alanın hidrojen peroksidin mutajenik etkisini arttırıp arttırmadığına ilişkin bir etkileşim çalışması yapmışlar. Bu elektromanyetik alanın tek başına bir hasar oluşturmadığı ancak hidrojen peroksidin etkinliğini arttırdığını saptamışlar.

Mevcut çalışmalardan da izlenildiği üzere elektromanyetik dalgaların canlı sistemler üzerindeki etkilerinin araştırılması günümüzde halen devam etmektedir. Bunun dışında oluşturabilecekleri muhtemel etkiler henüz tam olarak

bilinmemektedir. Bu anlamda başta Dünya Sağlık Örgütü'nün “ Uluslar arası Elektromanyetik Alan Projesi “ olmak üzere bir çok çalışma yürütülmektedir (Bilgili ve ark., 2006).

2. 5. İyonize Olmayan Radyasyonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Elektromanyetik dalgaların hücresel büyüme ve özelliği üzerine etkisi ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur. Grundler ve arkadaşları (1977, 1982) *Sacharomyces cerevisiae* mayasını 41.8 – 42 GHz radyasyona maruz bırakmışlar ve bu mikroorganizmanın büyüme oranında dalgalanmalara rastlamışlar. Dardanoni ve ark. (1994) elektromanyetik dalgaların *Candida albicans* mayasının büyümesi üzerine etkisi araştırmışlar. 72 GHz frekansta büyüme oranının % 15 azaldığını bulmuşlar . Pakhomov ve ark. (2001) *E. coli* ve *S. aureus* strainlerinde, 30 dakika elektromanyetik dalgalara maruz bıraktıklarında R-plazmidlerinin transportunda ki değişimleri gözlemlemişler (Banik et. al., 2003).

Elektromanyetik dalgaların hücre büyümesi üzerine etkisinin yanı sıra genetik üzerine de etkili olduğu saptanmışlar. Bertraud ve arkadaşları (1975) 70.000 – 75.000 MHz te 3 saat, 10Mw güçteki bir elektromanyetik radyasyonun *E. coli* hücrelerinde herhangi bir mutasyonu indüklediği saptamışlar. Blackman ve ark. (1976), 2.450 MHz , 10 ve 50 mW, 4 saat radyasyona bırakılmış *E. coli* hücrelerinde mutasyona rastlamamışlar. Blackman ve ark, (1976) 1.700 MHz' te 3W / kg güç oluşturan bir elektromanyetik dalga kaynağının *E. coli* WWU straininde 3 – 4 saat' lik bir zaman diliminde herhangi bir genotoksik etkiye neden olmadığı sonucuna varmışlardır (Chairman et. al., 1998).

Averbeck ve ark. (1976) 7,000-7,500 MHz; 30 dakika elektromanyetik dalgalara maruz kalmış *E.coli* straininde herhangi bir mutasyona rastlamamışlar. Corelli ve ark. (1977) 2,600-4,000 MHz, 20W/Kg, 10-12 saat elektromanyetik radyasyonun *E.coli* hücrelerinde DNA' da oluşabilecek bir zarara neden olmadığını ortaya koymuşlar. Dutta ve Nelson (1979) 8.500 - 9.000 MHz radyasyona maruz kalmış *Salmonella typhimurium* TA1535, TA 100, TA 98 de mutasyon gözlemlememişler. Blevins ve ark. (1980), 2.450 MHz, 5.100 mW güce maruz kalmış *Salmonella typhimurium* strainlerinde mutasyonun oluştuğunu saptamışlar.

Mezykowski ve ark. (1980) 2,450 MHz, 10mW güçte, 1 saat elektromanyetik dalgaların etkisi altında kalmış *Aspergillus nidulans* DNA' sında bir bozunma saptamamışlar. Anderstam ve ark. (1983) 2.450 ve 3.070 MHz frekans oluşturan elektromanyetik dalga'nın *S. typhimurium* , TA1535 , TA1530 , TA100 de herhangi bir genotoksik bir etkiye rastlamamışlar. Hamnerius ve arkadaşları (1985) 3.100 MHz' te 90 W/ kg güçteki bir elektromanyetik dalga kaynağının *Salmonella typhimurium*, TA100, TA98, TA153, TA1537 de 6 saat' lik bir zamanda meydana gelmiş bir genotoksik etkinin olmadığını saptamışlar (Chairman et. al., 1998).

Nafziger ve arkadaşları (1993) bakterilerde ve memeli hücrelerinde yapılan çalışmada mutagenezise rastlamamışlar.

Gos ve arkadaşları (1997) 41.682 ile 41. 710 arasında değişen frekanstaki elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* mayasının bölünmesi üzerinde ısısal olmayan etkisinin varlığını araştırmışlar. Uygulama sonucunda, elektromanyetik alana maruz kalmış ve maruz kalmamış hücreler arasında önemli bir farklılık olmadığını saptamışlar.

Gülbandılar ve Gülbandılar (1999) 15 Hz lik elektromanyetik alanın (EMF) *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisini araştırmışlar. Yapılan istatistiksel inceleme sonunda uyum dönemi (ilk altı saat) ile statik dönemde (26 . saatten sonra) deney ve kontrol gruplarının absorpsiyon değerleri arasında anlamlı farklılık bulunamamış. Ekimden sonraki altıncı ve 26 . saatler arasında, manyetik alan etkisinde üreyen hücrelerin absorpsiyon değerlerinin kontrol grubundan daha az olduğu tespit edilmiş. Ayrıca deney ve kontrol gruplarındaki maya hücrelerinin jenerasyon süreleri arasında önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır.

Woo ve arkadaşları (2000) mikrodalga tarafından oluşturulan ısısal etkinin gram pozitif (*Bacillus subtilis*) ve gram negatif (*Escherichia coli*) bakteriler üzerindeki farklı etkilerinin olup olmadığını araştırmışlar. Çalışma sonucunda, mikrodalga radyasyonunun canlı sayımında bir azalma ve hücrelerden açığa çıkan protein ve DNA miktarında bir artışa neden olduğunu saptamışlar. Ayrıca,

mikrodalgaya maruz kalmış gram negatif bakteri olan *E. coli* bakterisinin scanning elektron mikroskobu incelemeleri sonucunda hücre yüzeyinde bozunmalar olduğu fakat gram pozitif bakteri olan *B. subtilis* bakterisinin hücre yüzeyinde herhangi bir bozunma olmadığı sonucuna varmışlardır.

Hadjiloucas ve arkadaşları (2002) 200 – 350 GHz elektromanyetik alanın *S. cerevisiae* maya hücrelerinin kolonileri üzerindeki termal olmayan etkisini gözlemlemek üzere yaptıkları araştırma sonucunda, 341 GHz te büyüme oranının arttığını gözlemlemişler.

Strasak ve arkadaşları (2002) düşük frekanslı manyetik alanın ($B_m = 2.7 - 10$ mT , $f = 50$ Hz) gram negatif olan *Escherichia coli* bakterisinin canlılığı ve oksidoreduktif aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlar. Uygulama sonucunda, koloni oluşturan bakteri sayısında artan manyetik alan ile azaldığını gözlemlemişler. Ayrıca oksidoreduktif aktivitenin, maruz kalma süresinin artması ile azaldığı saptanmıştır.

Erol ve ark, (2003) 50 Hz frekanslı, 30 μ T elektromanyetik alanın *E. coli* ve *S. cerevisiae* suşlarının üreme davranışları ile protein sentezlerine ilişkin etkilerini araştırmışlar. Çalışma sonuçlarına göre, elektromanyetik alan, bakteri ve maya hücrelerinin protein miktarında azalmaya yol açmış ve aynı zamanda hücrelerin çoğalma hızını indirdiğini saptamışlar.

Celandroni ve arkadaşları (2004) convensiyonel ısıtma ve mikrodalganın *Bacillus subtilis* sporlarının yapısal ve moleküler komponentler üzerinde oluşturduğu etkileri karşılaştırmayı hedeflemişler. Uygulama sonucunda, mikrodalganın *B. subtilis* sporlarını inhibe etmede convensiyonel ısıtma kadar etkili olduğu fakat mikrodalganın oluşturduğu elektromanyetik alanın sporların yapısal ve moleküler komponentlerinde değişikliklere sebep olduğu gerçeğini ortaya koymuşlardır.

Fojt ve ark. (2004) üç farklı bakteriel strain üzerinde düşük frekanslı elektromanyetik alanın biyolojik etkilerini incelemişler. Sonuçta, manyetik alandan en çok etkilenen *E.coli* en az etkilenenin *S. aureus* olduğu sonucuna varmışlardır.

Babushkina ve arkadaşları (2005) düşük frekanslı manyetik alanın *E. coli* HB – 101 hücreleri üzerindeki etkisi araştırmışlar. Yapılan uygulama sonucunda, manyetik alana maruz kalmış *E. coli* kolonilerinin, manyetik alana maruz kalmamış *E. coli* kolonilerinden daha küçük olduğu ve manyetik alanın hücre büyümesini stimüle ederek hücre kolonilerinin sayısını arttırdığını saptamışlar.

Strasak ve ark. (2005) 50 Hz bir manyetik alanın farklı bakteriel strainlerin büyümesi üzerindeki etkisini araştırmışlar. Araştırma sonucunda, manyetik alana maruz kalmış örneklerdeki optik yoğunluğun azaldığını ve manyetik alan etkisinin küremsi şekilli bakterilere nazaran çubuk şekilli bakteriler üzerinde daha büyük etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Pal (2005) statik manyetik alan altında fitopatogen olan mikroskobik fungusların sporulasyonunu ve büyümesini araştırmış. Sonuçta, manyetik alan, kolonilerin gelişimini azaltmış olup , *Alternaria alternata* ve *Curvularia inaequalis* in konidiyum gelişimini yüzde 68 ile 133 oranında arttırmış fakat *Fusarium oxysporum* konidiyumlarının sayısını yüzde 79 ile 83 oranında azalttığını saptamıştır.

Voychuk ve Gromozova (2005) fungusidal antibiyotik olan nistatinin lethal dozları ve elektromanyetik alan (40.68 MHz) nın etkisi altına bırakılmış *S. cerevisiae* mayasının hücre duvarında meydana gelebilecek yüzey özelliklerinin değişimini araştırmışlar. Çalışma sonucunda, organizmanın elektromanyetik alan sonucunda antifungal antibiyotiklere hassaslaşmış olup, hücre yüzeyinde değişikliklere sebep olduğunu saptamışlardır.

Berg ve Berg (2006) 50 Hz elektromanyetik alanın ($B = 0.6 - 10$ mT) 10 gün boyunca, 12 tane fungusun misel oluşturması üzerine etkisini araştırmışlar. Çalışma sonucunda, önemli bir değişim olmadığını fakat 5 – 7 mT' lık bir manyetik alanda misel çapının maksimum seviyeye ulaştığını saptamışlardır.

Koyoma ve arkadaşları (2007) 2.45 GHz elektromanyetik alanın bakteriel mutasyonlar ve hipoksantin – guanin fosforibozil transveraz (HPRT) gen mutasyonları üzerindeki etkisini incelemişler. Sonuçta, tüm strainlerde revertant

kolonilerin sıklığında önemli bir farklılık gözlemlenmemişler. Elektromanyetik alanın ve bleomisin isimli kimyasal madde ile oluşturdukları kombinasyonun *HPRT* mutasyonlarını arttırdığını bulmuşlardır.

2. 6. İyonize Olmayan Radyasyonun Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi ile İlgili Olarak Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

15 Hz' lik elektromanyetik alanın (EMF) *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisi ile ilgili bir uygulama 1999 yılında Gülbandır tarafından araştırılmıştır. Yapılan istatistiksel inceleme sonunda uyum dönemi (ilk altı saat) ile statik dönemde (26.saatten sonra) deney ve kontrol gruplarının absorbans değerleri arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. Ekimden sonraki altıncı ve 26. saatler arasında manyetik alan etkisinde üreyen hücrelerin absorbans değerlerinin kontrol grubundan daha az olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

50 Hz frekanslı 30 μ T elektromanyetik alanın *Escherichia coli* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının üreme davranışları ile protein sentezlerine ilişkin etkileri 2003 yılında Erol ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, elektromanyetik alanın bakteri ve maya hücrelerinin protein miktarında azalmaya yol açtığı ve aynı zamanda hücrelerin çoğalma hızını indirdiğini saptamışlar.

Çeşitli cihazların yaymış oldukları elektromanyetik alan düzeyine laboratuvarında yetiştirilecek olan bitkilerin maruz bırakılması ve bunlardaki morfolojik ve genetik değişikliklerin incelenmesine ilişkin etkileri 2006 yılında Bilgili ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Bu kapsamda 2mT ve 6mT uygulamaları çeşitli sürelerde yapılmıştır. Bu uygulamaların soğan köklerinin sayısını ve uzunluklarını etkilediği bunun dışında farklı seviyelerde kromozom hasarlarına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu hasar 6mT uygulama grubunda %44 seviyelerine yükseldiği görülmüştür.

Bir başka çalışmada düşük (400Watt) ve en yüksek (800 Watt) mikrodalganın %0.2; 0.5; 0.8; 1.0; 1.5 oranında nişasta konsantrasyonlarındaki solüsyonlara inoküle edilmiş *Bacillus subtilis* IMG22, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. subtilis* var. *niger*, *B. brevis* FMC 3, *B. cereus* E.Ü sporları üzerindeki etkileri 2006

yılında Erdoğan ve Erbilir tarafından incelenmiştir. Uygulama sonucunda, *B. subtilis* IMG 22 en duyarlı, *B. brevis* FMC3 ise en dirençli suş olarak belirlenmiştir. *B. brevis* FMC3' ü dirençlilikte *B. subtilis* var. *niger*, *B. cereus* EU, *B. subtilis* ATCC 6633 takip ettiği gözlemlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan örnekler

Çalışmada kullanılacak *Bacillus cereus* izolatlarının eldesi için, çalışmanın amacına yönelik olarak elektromanyetik dalganın etkili olabileceği yerler olan baz istasyonlarının, örnek almak için mümkün olan en yakınından toprak örnekleri alınarak izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Referans organizması olarak *Bacillus cereus* CCM99 kullanılmıştır. Seçilen baz istasyonlarının coğrafik konumları Çizelge. 3.1’de verilmiştir.

Çizelge.3.1. Baz İstasyonlarının Coğrafik Konumları

Baz İstasyon no	Yer	Coğrafik Konumu	İzolat no
1	Balçova	38° 23' 07.23'' Kuzey 27° 02' 47.31'' Doğu	1,2,3,4
2	Ege Üniversitesi Kampüsü	38° 27' 25.56'' Kuzey 27° 12' 59.75'' Doğu	5,6,7,8
3	Bayraklı	38° 26' 53.01'' Kuzey 27° 10' 18.99'' Doğu	9,10,11,12
4	Özkanlar	38° 27' 00.72'' Kuzey 27° 11' 17.79'' Doğu	13,14,15

3.1.2 Kullanılan Aletler

3.1.2.1 Elektromanyetik Dalga Kaynağı

Çalışmada markası UNILAB olan kaynak, Transmitter, Receiver, Power supply, Frekansmetre, Ampermetre, Gaussmetre'den (manyetik alan ölçer) oluşmaktadır. Power supply (Güç kaynağı) 8 ile 13 Volt arasında değişmekte olup, gücü 5 Watt' tır. Frekansmetre, 1000 MHz ve 1850 MHz arasında değişmektedir. Manyetik alan her iki frekansta da değişmemekte olup, 1mT (militesla)' dır. Transmitter, elektromanyetik dalgaları üreten, Receiver ise, elektromanyetik dalgaları alan cihazlardır. Çalışmada elektromanyetik dalga üretebilmek için yukarıda bileşenleri belirtilen ve Şekil 3.1.2.1' de gösterilen cihaz kullanılmıştır. Söz konusu

cihaz güç kaynağının ayarlanan voltaj değerinde ve frekansmetre aracılığı ile belirlenen frekans değerinde elektromanyetik dalga üretmesi prensibi ile çalışmaktadır.

3.1.2.2 Scanning Elektron Mikroskobu

Spor morfolojisindeki değişiklikleri belirlemek için, elektromanyetik dalgalara maruz kalmış ve kalmamış spor örnekleri scanning elektron mikroskobunda (SEM) incelenmiştir. SEM’de yapılan mikroskobik analizlerde örnekler 60 dakika süre ile 10 nm kalınlığında buharlı altın ile kaplanmıştır. Örnekler 5.0 kV voltajda ve 15000 kez büyütülerek incelenmiştir. Çalışmada PHİLİPS (FEI) XL-30 (SFEG) scanning elektron mikroskobu kullanmıştır.

3.1.2.3 Spektrofotometre

Mikroorganizmaların bulunduğu sıvı ortamın absorbans değerlerini ölçmede, WPA CO220 AUTO DİGİTAL KOLORİMETER isimli aygıttan yararlanılmıştır.



Şekil 3.1.2.1. Elektromanyetik Dalga Kaynağı

3.1.3 Kullanılan Besiyerleri

Besiyeri 1 : Plate Count Agar (PCA)

Tripton	5 gr
Yeast extract	2,5 gr
Glukoz	1.0 gr
Agar	9.0 gr
Distile su	1000 ml

Ticari olarak hazırlanmış Merck “Plate Count Agar” ın 17,5 gramı 1 lt distile suda karıştırılarak tamamen çözülünceye kadar kaynatılmıştır. Otoklovda 121° C de 15 dakika steril edildikten sonra, 45° C ye soğutulmuş ve steril petrilere dökülmüştür (Tamer ve ark, 1989; Atlas, 1995; Petrick ve Parsch, 2000).

Besiyeri 2. Nutrient Agar

Et Ekstraktı	3.0 g
Pepton	5.0 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

PH 7.4' e ayarlanarak, bütün içerikler kaynatılarak eritilmiştir. 121 °C de 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiştir. Bu ortam Gram reaksiyonunun ve spor konumunun belirlenmesinde kullanılan 24 saatlik kültürlerin hazırlanmasında ve izolatların stoklar halinde saklanmasında kullanılmıştır (Sneath et. al., 1986; Tamer ve ark, 1989).

Besiyeri 3: PEMBA

Pepton	1.0 g
Mannitol	10 g
Sodyum klorid	2.0 g
Magnezyum Sülfat	0.1 g
Disodyum Hidrojen Fosfat	2.5 g
Potasyum Dihidrojen Fosfat	0.25 g
Sodyum Piruvat	10 g
Bromtimol Blue	0.12 g
Agar	14 g
Distile su	1000 ml

Ticari şekilde bulunan bu ortamın 20.5 gramı 475 ml. Distile suda çözdürdükten sonra 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Su banyosunda 45-50°C' ye soğutulup üzerine aseptik koşullara uyulmak kaydıyla 25 ml steril yumurta sarısı emülsiyonu ile 2 ml *Bacillus cereus* selektif katkısı (Merck 1.09875) ilave edilmiştir. Bu ortam *Bacillus cereus* kolonilerinin seçimi için kullanılmıştır (Sneath et. al., 1986; Atlas, 1997; Petrick ve Parsch, 2000; FDA, 2001).

Besiyeri 4 : MR – VP Broth

Tamponlanmış Pepton	7.0 g
Glukoz	5.0 g
K ₂ HPO ₄	5.0 g
Distile su	1000 ml

Ortam içeriği distile suda çözdükten sonra test tüplerine dağıtılmış ve 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Bu ortam Asetilmetilkarbinol (asetoin) oluşumunu belirtmek amacıyla kullanılmıştır (Tamer ve ark, 1989; Petrick ve Parsch, 2000).

Besiyeri 5 : Nitrat Broth

Pepton	2.0 g
NaCl	0.5 g
KNO ₃	1.0 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra test tüplerine dağıtılmış ve 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Bu ortam nitrat indirgenmesini belirlemek amacıyla kullanılmıştır (Sneath et. al.,1986; Petrick ve Parsch, 2000).

Besiyeri 6 : Nutrient Broth

Beef ekstract	5 gr
Pepton	3 gr
Distile Su	1000ml

Besiyeri içerikleri belirtilen miktardaki distile su içinde çözüldürülerek hazırlanmıştır (Sneath et. al., 1986; Tamer ve ark, 1989).

Besiyeri 7 : Tripton Broth

Tripton	10 gr
Distile Su	1000ml

Tripton distile suda çözüldükten sonra tüplere dağıtılmış ve otoklavda 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiştir (Sneath, 1986; Tamer ve ark, 1989)

Besiyeri 8 : Fenil Alanin Agar

Yeast ekstrakt	3 gr
DL-Fenil alanin	2 gr
Disodyum Hidrojen Fosfat	1 gr
Sodyum Klorid	5 gr
Agar	12 gr
Distile Su	1000ml
pH 7,3	

Ortam içerikleri distile su ile karıştırılarak kaynatıldıktan sonra, tüplere paylaştırılmış ve 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiştir. Bu ortam, izolatların fenil alanini oluşturup oluşturmadığının saptanmasında kullanılmıştır (Sneath et. al., 1986).

Besiyeri 9 : Süt Agar

Skim milk	10 ml
Nutrient Agar	100 ml

İlk önce Skim milk çözeltisi 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiş ve daha sonra otoklavlanarak 45° C ye soğutulmuş olan nutrient agar ile karıştırılarak iyice çalkalandıktan sonra steril petrilere dökülmüştür. Agar donduğu zaman, kollaidal olan kazein moleküllerinden dolayı, opak bir hal alır. Bu ortam izolatlardaki kazeinaz enziminin varlığını saptamak için kullanılmıştır (Sneath et. al., 1986; Tamer ve ark, 1989).

Besiyeri 10 : Nutrient Jelatin Ortamı

Et ekstraktı	3 gr
Pepton	5 gr
Jelatin	4 gr
Distile Su	1000ml
pH 6.8	

Besiyeri içerikleri 50° C de eritildikten sonra test tüplerine dağıtılmış ve otoklavda 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiştir. Bu besiyeri izolatların jelatinaz aktivitelerini test etmede kullanılmıştır (Sneath et. al., 1986; Tamer ve ark, 1989)

Besiyeri 11 : Simmons Sitrat Agar

Sodyum Sitrat	2 gr
NaCl	5 gr
MgSO ₄	0,2 gr
Na ₄ H ₂ PO ₄	1,0 gr
KH ₂ PO ₄	1,0 gr
Brom Timol Mavisi	0,08 gr
Agar	15 gr
Distile Su	1000ml
pH 6,9	

Besiyeri içerikleri distile suda çözüldükten sonra agarı çözmek için ortam kaynatılmış ve test tüplerine dağıtılarak otoklavda 121 °C' de 1.5 atmosfer basınçta 15 dakika sterilize edilmiştir. Bu ortam, izolatların sitrat kullanıp kullanmadıklarını test etmek için kullanılmıştır (Sneath et. al.,1986; Petrick ve Parsch, 2000).

Besiyeri 12 : Nişasta Agar

Agar	1,5 gr
Nişasta	0,2 gr
Distile su	100 ml

Ortam içerikleri 100 ml distile su içerisinde kaynatılarak çözündürülüp 121°C’ de 1.5 atmosfer basınçta, 15 dakika sterilize edilmiştir. Steril petrilere dökülüp, katılaştan ortama çizgi ekimi yapılmıştır. Bu ortam organizmanın amilaz enzimine sahip olup olmadığının saptanmasında kullanılmıştır (Gerhardt ve ark., 1994).

3.1.4 Kullanılan Çözelti ve Kimyasal Maddeler

Çalışmalarımızın çeşitli safhalarında kullanılan çözelti ve diğer kimyasallar aşağıda verilmiştir.

Çözelti 1. Gram İyodür Çözeltisi

İyot	1.0 gr
Etanol (%75)	250 ml
Distile su	250 ml

İyot ve potasyum iyodür havanda iyice karıştırılarak toz haline getirilmiş ve üzerine yavaş yavaş su ilave edilerek iyice karıştırılmıştır (Pertel ve Kazanas, 1984; Tamer ve ark, 1989).

Çözelti 2. Gram' ın Kristal Violet Boyası

Kristal Violet	2.0 gr
Etil Alkol (% 95' lik)	20 ml
Amonyum Oksalat	0.8 gr
Distile su	80 ml

20 ml etanolde 2 gram Kristal Violet ve 80 ml distile suda 0.8 gram Amonyum Oksalat çözülür. Bu çözelti alkolde çözülmüş olan kristal violete ilave edilmiştir (Harley ve Prescott, 1990; Tamer ve ark. 1989).

Çözelti 3. Gram' ın Safranin Boyası

Safranin	0.25 gr
Etanol (% 95' lik)	10 ml
Distile su	1000 ml

Safranin etanolde çözülüp distile su ilave edilerek iyice karıştırılmış ve sonra filtre kağıdından süzölmüştür (Wistreich ve Lechtman, 1980; Tamer ve ark, 1989).

Çözelti 4. %5' lik Malaşit Yeşili Boyası

Malaşit Yeşili	5.0 gr
Distile su	100 ml

Boya suda çözölerek hazırlanmıştır. Bu boya endospor boyama işleminde kullanılmıştır (Tamer ve ark, 1989; Prescott, 2002).

Çözelti 5. %5' lik Safranin Çözeltisi

Safranin	0.5 gr
Distile su	100 ml

Safranin distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Bu çözelti endospor boyama işleminde kullanılmıştır (Tamer ve ark, 1989; Petrick ve Parsch, 2000).

Çözelti 6. α - Naftol Çözeltisi

α - Naftol	5.0 gr
Etanol (%95' lik)	100 ml

α - Naftol, % 95'lik etanolde çözülerek hazırlanmıştır. Bu çözelti Voges Proskauer ve nitrat indirgenmesi denemelerinde kullanılmıştır (Wistreich ve Lechtman, 1980; Pertel ve Kazanas, 1984).

Çözelti 7. % 40' lık KOH Çözeltisi

KOH	10 gr
Keratin	0.3 gr
Distile su	100 ml

KOH, 75 ml distile suda çözülmüş ve solüsyon oda sıcaklığında bir süre bekletilmiştir. Daha sonra, Keratin eklenerek iyice çözülmüş ardından distile suyun 25 ml' si eklenerek hazırlanmıştır (Tamer ve ark, 1989; Prescott, 2002).

Çözelti 8. Sülfanilik Asit Çözeltisi

Sülfanilik Asit	8.0 gr
Asetik Asit (5N)	1000 ml
Distile su	706 ml

5 N' lik Asetik Asit distile suya eklenerek karıştırılmış ve ardından Sülfanilik asit eklenerek iyice çalkalanmıştır (Tamer ve ark, 1989; Harley ve Prescott, 1990).

Çözelti 9. Loeffler' in Metilen Mavisi Boyası

Metilen Mavisi	0,3 gr
Etanol (%95' lik)	30 ml
Distile Su	100 ml

Metilen mavisi etanolde çözülüp daha sonra distile su ilave edilerek iyice karıştırılmış ve en son olarak filtre kağıdından süzülmüştür (Wistreich ve Lechtman, 1980; Petrick ve Parsch, 2000)

Çözelti 10. Kovaks Çözeltisi

Paradimetil Amino Benzaldehit	5,0 gr
Butil Alkol	75 ml
% 37' lik HCl	25 ml

Paradimetil Amino Benzaldehit, alkolde çözündürülüp, su banyosunda hafifçe ısıtılmıştır. Bütün içerikler çözündürüldükten sonra HCl dökülüp karıştırılmıştır. Çözelti indol üretiminde kullanılmıştır (Pertel ve Kazanas, 1984; Harley ve Prescott, 1990).

Çözelti 11. % 3 ' lük H₂O₂

Katalaz denemesinde kullanılmıştır (Tamer ve ark, 1989; Prescott, 2002)

3.2 METOT

3.2.1 Bakteri İzolasyonu

Toprak örneklerinden 25 gr, içinde 225 ml steril serum fizyolojik bulunan erlenlere aktararak 10^{-1} , lik seyreltmeler elde edilmiştir. Karışımlar çalkalanarak homojen hale gelmesi sağlandıktan sonra, bu seyreltmeler 80° C deki su banyosunda 20 dakika tutulmuştur. Bu seyreltmelerden, içerisinde 9 ml steril serum fizyolojik su bulunan tüplere, steril pipetlerle 1' er ml transfer edilerek 10^{-2} , lik seyreltmeler hazırlanmıştır. Aynı işlem 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , lik seyreltmeler içinde yapılmıştır

10^{-1} - 10^{-7} arasında hazırlanan seri dilüsyonlardan PEMBA (Polimiksin Egg Yolk Mannit Bromtimol Agar) besiyerlerine çift paralelli 1 ml dökme plaka ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriyerler 30° C ayarlı etüvlere 18 – 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. *Bacillus cereus* mannitol negatif olduğundan, PEMBA besiyerinde turkuaz mavisi koloniler oluşturmakla birlikte, lesitinaz aktivitesi nedeni ile de koloni etrafında presipitasyon (çökme) halkası oluşturur. Bu özelliklere sahip koloniler *B.cereus* kolonileri olarak kabul edilmiştir. Daha sonra her petriden ikişer tipik koloni olmak kaydıyla, ileride identifikasyon testlerinde kullanılmak üzere ağızları vidalı test tüplerinde Yatık Nutrient Agar' lara ekim yapılmıştır. 30° C' ye ayarlanmış etüvde 24 saat inkübasyonu gerçekleştirilen *Bacillus cereus* stokları buzdolabına kaldırılmıştır (Atlas, 1995; Prescott, 2002; Altayar ve Sutherland, 2006)

3.2.2 İzolatların Tanılanmasında Kullanılan Morfolojik Testler

3.2.2.1 Gram Boyama

Temiz bir lam ortasına küçük bir su damlası bırakılmış ve öze yardımıyla bir miktar 24 saat' lik şüpheli *B.cereus* kültüründen alınıp su damlası içine dairesel hareketlerle yayılmıştır. Bu şekilde hazırlanan bakteriyel film önce havada kurutulmuş ve daha sonra bakteriyel film üstte kalacak şekilde lam iki-üç kez alevden geçirilerek tespit edilmiştir. Tespit edilen bakteriyel filme sırasıyla: kristal-violet, iyodür çözeltisi, alkol ve safranin uygulanmıştır. Preperat önce kristal violet ile mikrobiyal film kaplanacak şekilde örtülmüş ve 1 dk. etkiye bırakılmıştır. Fazla boya akıtıldıktan sonra bu kez preperat gram iyodür çözeltisiyle örtülmüş ve 1 dk. etkiye bırakılmıştır. Fazla gram iyodür akıtıldıktan sonra 6 saniye alkol ile muamele edilen preperatın alkol uzaklaştırıldıktan sonra üzeri safranin ile kaplanmıştır. 30 saniye muameleden sonra boya akıtılarak preperat suyla yıkanmıştır. Yıkanıp kurumaya bırakılan preperat yağ immersiyon objektifi yardımıyla incelenmiştir. Kristal-violet boyasını tutup mor renkte gözüken basiller Gram pozitif olarak saptanmıştır (Tamer ve ark., 1989)

3.2.2.2 Endospor Boyama

Bacillus cereus olduğundan şüphe edilen 48 saatlik kültürlerden bir öze dolusu alınarak temiz bir lam üzerindeki su damlasına dairesel hareketlerle yayılmıştır. Bu şekilde hazırlanan bakterial film havada kurutulduktan sonra üç kez alevden geçirilerek fikse edilmiştir. Preperat filtre edilmiş malaşit yeşili ile örtülmüş, alevde etkiye bırakılmış ve buharlaştıkça boya ilave edilmiştir. Su ile yıkandıktan sonra 30 saniye safranin ile muamele edilmiştir. Su ile tekrar yıkanıp havada kurutulduktan sonra yağ immersiyon objektifi ile incelenmiştir. Uygulanan işlem sonucu spollar yeşil renkli olarak görülmüştür (Atlas, 1995; Prescott, 2002).

3.2.3 İzolatların Tanılanmasında Kullanılan Biyokimyasal Testler

3.2.3.1 Katalaz testi

24 saatlik kültürlerden, nutrient agara ekim yapılmış ve 30° C' lik etüvlere kaldırılmıştır. 48 saat büyütülmüş kültürlerin üzerine, % 3 ' lük 1 ml hidrojen peroksit çözeltisi damlatılarak, gaz habbeciklerinin çıkıp çıkmadığına bakılmıştır. Gaz habbeciklerinin çıkışı pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir (Tamer ve ark., 1989; Atlas, 1995; Petrick ve Parsch, 2000).

3.2.3.2 V-P Testi (Voges Proskauer)

Yatık Nutrient Agar' da 30° C' de 24 saat büyütülmüş *B. cereus* olduğundan şüphelenilen kolonilerden 1-2 öze dolusu MR-VP Broth' lara ekilmiş ve 30° C' de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda kültürün 1 ml' si başka bir tüpe aktarılmış ve üzerine 0,5 ml α - Naftol ve 0.5 ml KOH damlatılıp iyice çalkalanmıştır. 5-10 dakika bekledikten sonra beliren kırmızı-kahverengi renk test için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Sneath et. al., 1986; Petrick ve Parsch, 2000).

3.2.3.3 İndol Üretimi

Yatık olarak hazırlanmış aktivasyon ortamında büyütülen 24 saatlik kültürlerden, Tripton Broth' a ekim yapılmış ve bu tüpler, 30° C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda her tüpe birkaç damla Kovaks çözeltisi damlatılmıştır. Tüplerin üzerinde oluşan kırmızı renk indol üretimi için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Sneath et. al., 1986)

3.2.3.4 Nitrat Testi

24 saatlik yatık aktivasyon ortamındaki kültürlerden, nitrat brothlara, öze ile inokülasyon yapılmış bir tüp de kontrol olarak inokülasyon yapılmadan bırakılmıştır. Tüpler 30° C'de, 4-6 gün inkübe edilmiş ve ikinci günden itibaren temiz test tüplerine, steril pipetlerle, kültürlerden 1'er ml aktarılmıştır. Bunların 3 damla sülfanilik asit çözeltisi ve 2 damla α -naftol çözeltisi ilave edilmiştir. Eğer ortamda nitrit mevcutsa, nitrit ile bu iki çözelti karışımı pembemsi-kırmızı bir renk oluşturacağından; bu rengin oluşumu nitrat redüksiyonu için pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Nitritler için pozitif sonuç elde edildiğinde, tüpler yine birkaç gün inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda NH_3 oluşumunu saptamak için yine test tüplerine 1'er ml transfer edilmiş ve üzerlerine birkaç damla Nessler çözeltisi damlatılmıştır. Eğer amonyak mevcutsa ortamda sarımsı turuncu rengin varlığı, amonyak pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. N_2 gazı oluşumu da, nitrat brothlar içine ters çevrili olarak konmuş olan Durham tüplerindeki gaz oluşumundan anlaşılmıştır ve pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Tamer ve ark., 1989; Petrick ve Parsch, 2000).

3.2.3.5 Jelatin Hidrolizi

Yatık aktivasyon ortamındaki 24 saatlik kültürlerden, Nutrient jelatin içeren tüplere dik ekim yapılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, besiyerinde büyümenin olduğu yerlerdeki sıvılaşıma, pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Gerhardt et. al., 1994; Atlas, 1995).

3.2.3.6 Simmon' s Sitrat

24 saatlik yatık nutrient agarda büyütülmüş kültürlerden Simmon' s sitrat içeren tüplere, iğne ile dik ekim yapılarak, 30° C' de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sitratın kullanılmasından dolayı, NaOH açığa çıkarak besiyerinin yeşilden maviye dönüşmesini, sitrat testi için pozitif sonuç olarak değerlendirilir (Petrick ve Parsch, 2000).

3.2.3.7 Şeker Kullanım Testleri

Yatık olarak hazırlanmış aktivasyon ortamında, 30° C’ de 24 saat aktive edilmiş olan kültürlerden, Glukoz, Arabinoz, Ksiloz ve Mannitol içeren Nutrient brothlu tüplerin her birine ayrı ayrı inoküle edilir ve tüpler, 30° C’ lik etüvlerde 24 saat’ lik inkübasyona bırakılmıştır. Asit oluşumu besiyerindeki indikatörün renginin kırmızıdan sarıya dönüşmesi ile, gaz oluşumu ise ters çevrili durham tüplerindeki gaz birikimi ile gözlemlenir ve pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Sneath et. al., 1986).

3.2.3.8 Kazeinaz Üretimi

24 saat aktive edilmiş kültürlerden, süt agarlı petrilere ekim yapılmış ve bu petrilere, 30° C’ de, 24 saat inkübe edilmiştir. Koloni etrafında kazeinin hidrolizi sonucu oluşan açık zon pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Bu bölgede, kazein, kazeinaz ile parçalanmış ve amino asitler oluşmuştur (Sneath et. al., 1986; Atlas, 1995).

3.2.3.9 Fenil Alanin Deaminasyonu

Yatık olarak hazırlanmış aktivasyon ortamındaki 24 saatlik kültürlerden, tüplere yatık olarak hazırlanmış fenil alanin agara ekim yapılmıştır. 30° C’ de, 7 gün inkübasyondan sonra % 10’ luk Ferik kloridin 4-5 damlası, yatıklarda büyümenin üzerine pipetlenmiştir. Yeşil renk oluşumu bu test için pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Bu renk değişimi fenil pürüvik asitten, fenil alanin oluşumunu göstermektedir (Sneath et. al., 1986).

3.2.3.10 Hareketlilik Testi

Yarı katı nutrient agar deney tüpleri içerisinde dik dondurularak hazırlanmıştır. Merkezden iğne ile bir defada batırılarak yarı katı nutrient agara inokülasyon yapılarak, 30 °C’de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnokülasyon hattı boyunca yaygın üreme gösteren izolatlar hareketli, sadece çizgi üzerindeki gelişim ise hareketsiz olarak değerlendirilmiştir. *Bacillus cereus* izolatlarından hareketli strainler

iğnenin battığı iz boyunca ortama doğru diffüze büyüme gösterirken; *B. mycoides* dışındaki hareketsiz strainler yalnızca iğne izinin içinde ve iz boyunca büyürler (Atlas, 1995).

3.2.4 İzolatların Büyüme Eğrilerinin Çıkarılması

Farklı toprak kaynaklarından izole edilmiş ve *Bacillus cereus* olarak belirlenmiş izolatlar ile *Bacillus cereus* CCM99 straininin büyüme eğrileri çıkarılmıştır. Büyüme eğrisinin çıkartılması için söz konusu bakterilerin her biri ayrı ayrı 24 saat boyunca Nutrient Broth besiyerinde 30° C’de statik koşullarda inkübasyona bırakılmış ve 0. saatten itibaren her saat örnekler alınarak 600 nm’deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Aynı zamanda alınan örneklerden %0.9 NaCl ile 10⁻⁸e kadar canlı sayımı için gerekli seyreltmeler yapılmıştır. Canlı koloni sayımlarını cfu/ml cinsinden belirlemek için; elde edilen her bir seyreltmeden 1 ml örnek alınarak, dökme plaka yöntemine göre Plate Count Agara (PCA) ekim yapılmıştır. Böylelikle organizmaların hangi saatlerde, uyum, logaritmik, durgunluk ve ölüm fazına girdiği belirlenmiştir (Salvetti et. al., 2003).

3.2.5 İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Bakterilerin Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Bacillus cereus izolatları ve *Bacillus cereus* CCM99 straini Nutrient Broth ortamında, büyüme eğrisinden yararlanılarak, hücreler, 6.saatte logaritmik faza ulaşmış ve organizma sayısı, 2.10⁷ cfu/ml olarak hesaplanmıştır. Logaritmik faza ulaşmış hücreler steril pipetler yardımı ile tüplere aktarılır ve 6000 rpm’ de 10 dakika santrifüjlenir. Böylelikle çökmüş hücreler Nutrient Brottan ayrılmış olur. Tüplerden Süpernatant sıvı atılıp yerine % 0.9 serum fizyolojik tuzlu su (FTS) eklenmiş ve eklenmiş olan FTS ile hücrelerin karışması için tüpler vortekslenmiştir. Bu işlem hem deney grubu hem de kontrol grubu tüpler için gerçekleştirilir. Deney grubu tüpler, 3 saatlik sürede, 1mT manyetik alanda, 3 cm lik mesafede, 1000 ve 1850 MHz frekanslardaki iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılır. Maruz

bırakılma işlemi bittikten sonra kontrol grubu ile deney grubu biyokimyasal testler yönünden karşılaştırılmıştır (Fujikawa ve Ohta, 1994).

3.2.6 Spor Oluşum Saatinin Saptanması ve İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Spor Oluşturma Saatleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Bölüm 3.2.7' da hazırlanan spor solüsyonundan 1ml alınıp, 500 ml' lik erlende bulunan 100 ml Nutrient Brota aktarılır. Erlen, 30° C' ye kaldırılır ve her saat başı boyama yapılarak, preperat üzerinde spor oluşup oluşmadığı incelenmiştir. 6. saatten itibaren ana kültürden 20 dakika aralıklarla 1' er ml örnekler alınarak 80° C' lik su banyosunda 20 dakika bekletilerek vejetatif hücrelerin ölmesi sağlanmış ve bu örneklerden Nutrient agar üzerine spotlama yapılarak, ilk üremenin kaçınıcı saatte olduğuna bakılıp spor oluşturma saati saptanmıştır (Doyle ve ark, 1985). Aynı yöntem, 3cm lik mesafede ve 1mT manyetik alanda, 3 saat lik bir sürede 1000 ve 1850 MHz' lik iyonize olmayan elektromanyetik dalgaların spor oluşturma saatleri üzerindeki etkisini saptamak için uygulanmıştır. Böylelikle, iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılmamış kontrol grubu ile iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmış deney grubu arasında çimlenen sporların oluşturduğu kolonilere göre spor oluşum saatleri açısından karşılaştırmalar yapılmıştır (Wang ve ark, 2003)

3.2.7 Spor Süspansiyonunun Hazırlanması ve İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Spor Yapısı Üzerine Etkisini Araştırmak Üzere Scanning Elektron Mikroskopunda İncelenmesi

Nutrient Agar' a ekilen bakteriler 24 saat 30° C' lik etüvde inkübe edilmiş ve inkübasyon süresi sonunda etüvden çıkarılan petrielerde üreyen bakterilerden alınan bir öze dolusu bakteri hücrelerinin zarar görmemesi ve canlılık özelliklerini kaybetmemeleri için fizyolojik tuzlu su içerisine alınmıştır. Vortex ile karıştırılarak homojen hale getirilen bakterilerden bir damla, spor oluşumunu indüklemek için litrede 30mg MnCl₂ içeren Nutrient Agar' a ekilmiş ve 37° C' de 4 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda üreyen bakteri kolonileri santrifüj tüplerine alınarak steril distile su ile iki kez yıkanmış ve fizyolojik tuzlu su içerisine alınmıştır. Santrifüj tüplerine alınan süspansiyon 6000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildikten sonra santrifüj tüpünün üst kısmında kalan sıvı kısım tüpten atılarak geri kalan kısım 80° C' lik su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Bu prosedürle vejetatif hücreler elemine olur. Böylelikle *Bacillus cereus* sporları elde edilmiştir. Spor boyama yapılarak vejetatif hücre olmadığı mikroskop ile tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2003; Erdoğan ve Erbilir, 2006). Bu işlem hem deney grubu hem de kontrol grubu tüpler için gerçekleştirilmiştir. İyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılmış *Bacillus cereus* izolatları ve *Bacillus cereus* CCM99 straininin spor solüsyonları ile iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılmamış kontrol grubu spor solüsyonları membran filtreden geçirilmiştir. Böylece sporlar membran filtre kağıtlarına tutturulmuştur. Membran filtre kağıtları küçük parçalar halinde kesilip, yuvarlak diskler üzerine yapıştırılmıştır Yuvarlak diskler üzerine yapıştırılmış olan membran filtre kağıtları, 10 nm kalınlığında buharlı altın ile kaplanıp, scanning elektron mikroskopunda incelenmiştir. Scanning elektron mikroskopunda incelenmiş olan sporların morfolojileri, Şekil 4.5.1' de gösterilmiştir.

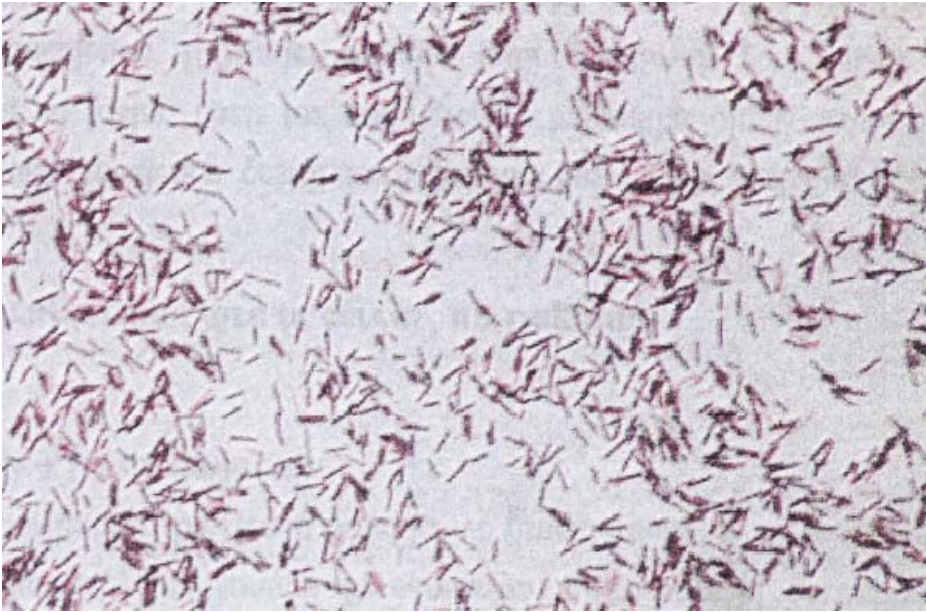
4. BULGULAR

4.1. İzolatların Elde Edilmesi ve Tanılanması

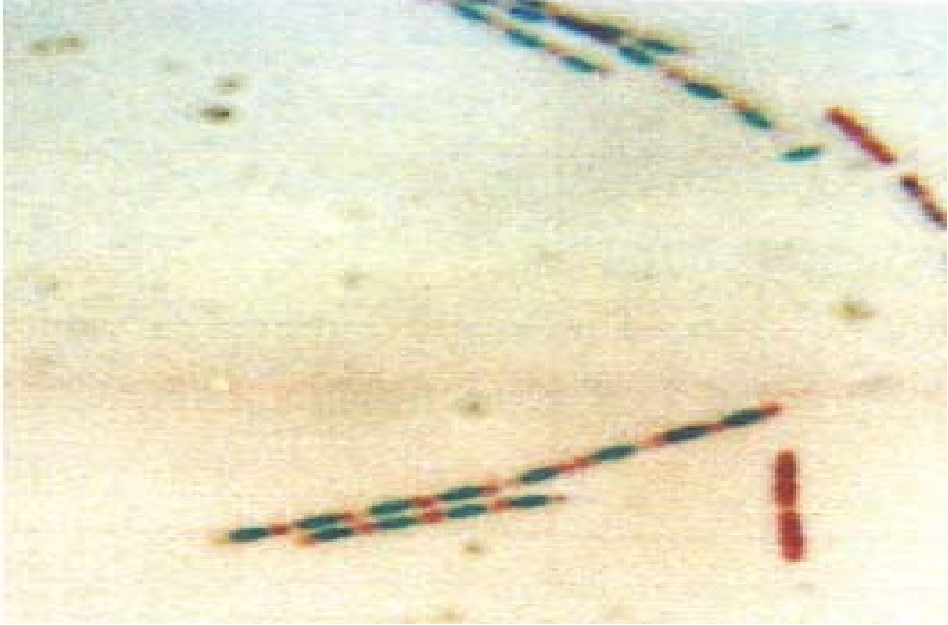
Bölüm 3.2.1.' de belirtilen yöntemle farklı toprak kaynaklarından toplam 15 adet *Bacillus cereus* izole edilmiştir. Bu izolatlar seçici ve ayırt edici bir besiyeri olan Polimiksin-Pirüvat Egg-Yolk Mannitol Bromtimolblue Agar (PEMBA) kullanılarak izole edilmiştir. *Bacillus cereus* kolonileri PEMBA besiyerinde parlak mavi renkli koloniler oluşturmaktadır. PEMBA Agar üzerinde tipik *B.cereus* kolonilerinin görünüşü şekil 4.1.1' de gösterilmiştir. Gram reaksiyonu, morfolojisi ve hücrelerin düzenleniş biçimleri incelenmiştir. Takiben endospor boyama tekniği uygulanarak spor pozisyonları saptanmıştır. Bu uygulamaların sonucunda; gram reaksiyonunun (+), hücre morfolojisinin çubuk, hücrelerin uzun zincirler halinde ve sporların vejetatif hücre içindeki pozisyonunun sentral yapıda olduğu gözlenmiştir. Gram boyama sonucu 3 no' lu *B.cereus* izolatın mikroskoptaki görünümü şekil 4.1.2' de ve endospor boyama sonucu mikroskoptaki görünümü ise şekil 4.1.3' de gösterilmiştir. *Bacillus cereus* olduğu şüpheli bu tip kolonilerin tanısında Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (1986) esas alınmıştır. *Bacillus cereus* kültürlerinin biyokimyasal özelliklerini incelemek amacıyla yapılan testler çizelge 4.1' de gösterilmiştir.



Şekil 4.1.1 PEMBA Agar üzerinde tipik *B.cereus* kolonilerinin görünüşü



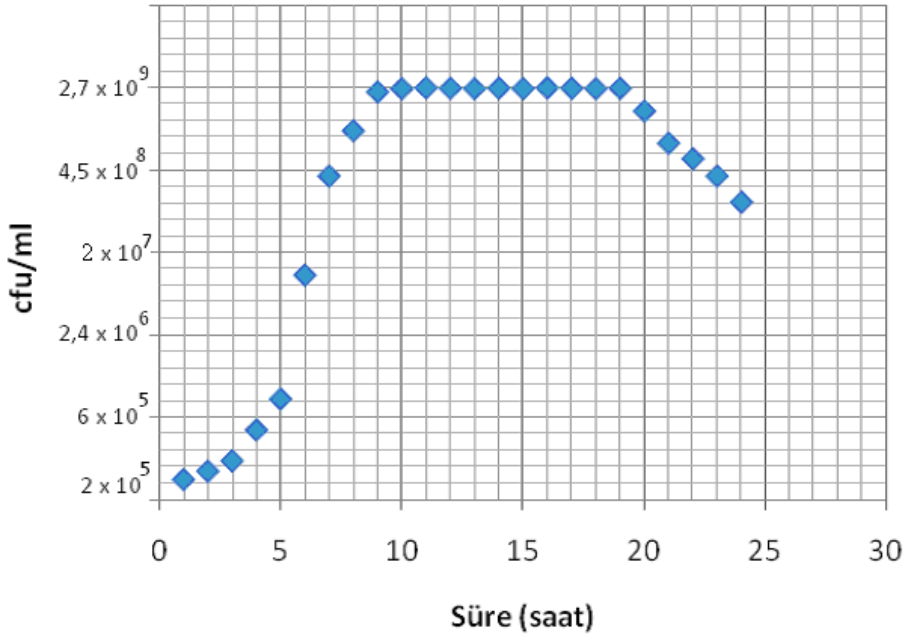
Şekil 4.1.2. 3 no' lu *Bacillus cereus* izolatın Gram boyama sonunda mikroskobik görünümü



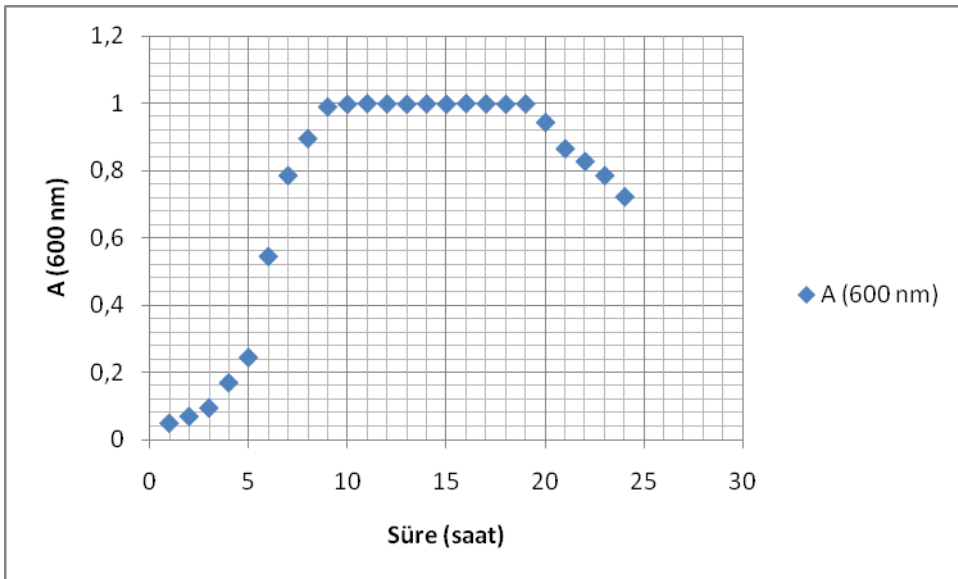
Şekil 4.1.3. 3 no' lu *B.cereus* izolatın endospor boyama sonunda mikroskobik görünümü

4.2 Büyüme Eğrisinin Çıkarılması

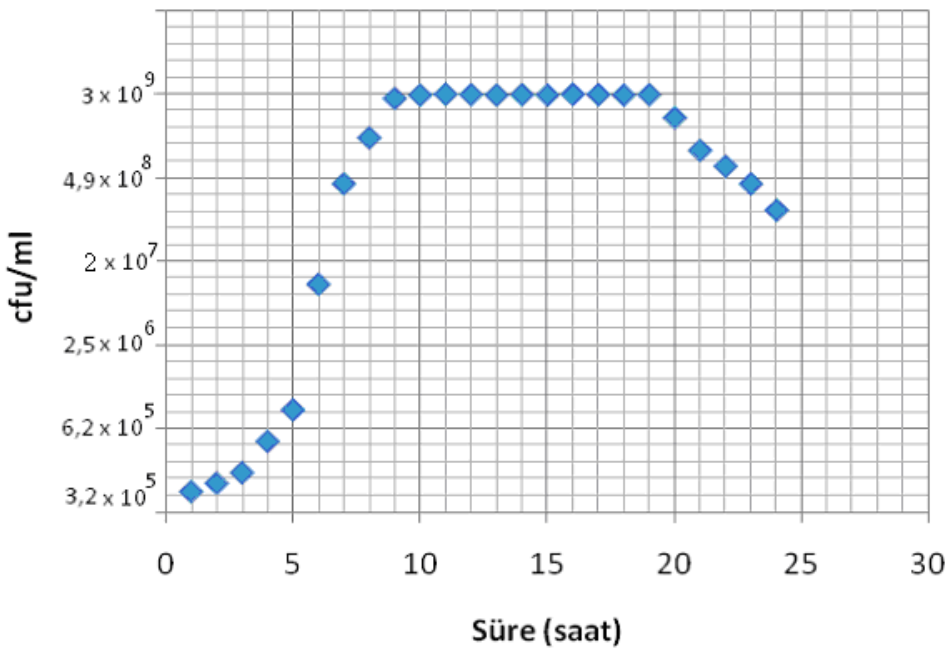
Farklı toprak kaynaklarından izole edilmiş ve *Bacillus cereus* olarak tanılanmış 15 izolatın ayrı ayrı büyüme eğrileri çıkarılmış ve çıkarılmış olan büyüme eğrileri kıyaslanmıştır. Bakterilerin 24 saat boyunca saat başı canlı mikroorganizma sayısı cfu/ml cinsinden hesaplanmış olup, izolatların büyüme eğrileri arasında fazla bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle 3 no'lu *Bacillus cereus* izolatının zamana göre canlı hücre sayısını gösteren genel grafik Şekil.4.2.1' de ve 600 nm de ölçülmüş olan absorbans değeri Şekil.4.2.2'de gösterilmiştir. Ayrıca, *Bacillus cereus* CCM99 straininin zamana göre canlı hücre sayısı ve absorbans değerleri sırasıyla Şekil. 4.2.3 ve Şekil 4.2.4' de verilmiştir.



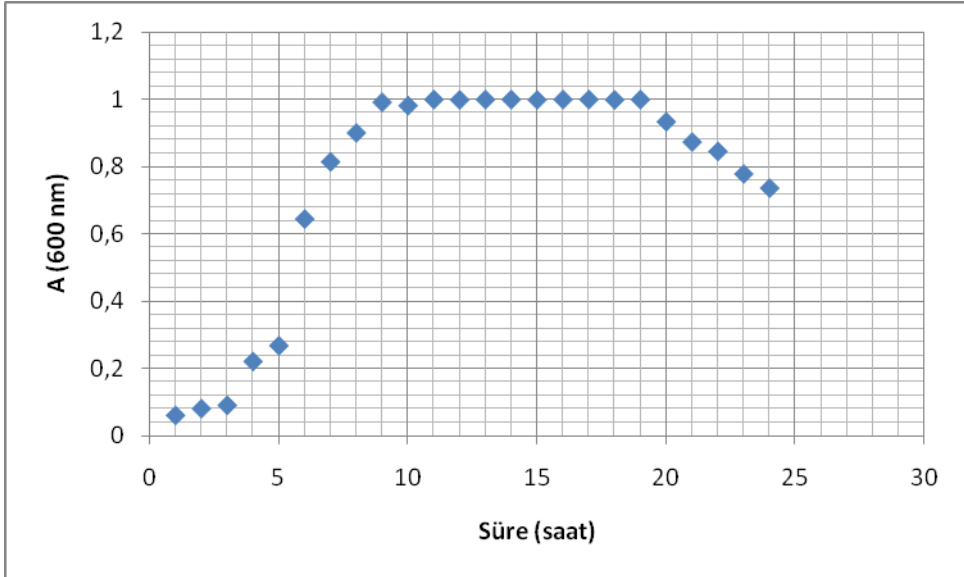
Şekil. 4.2.1. 3 no' lu *Bacillus cereus* izolatın artan inkübasyon sürelerinde canlı hücrelerinin zamana göre dağılımı



Şekil. 4.2.2. 3 no' lu *Bacillus cereus* izolatın büyüme eğrisi



Şekil. 4.2.3. *Bacillus cereus* CCM99 straininin artan inkübasyon sürelerinde canlı hücrelerinin zamana göre dağılımı



Şekil. 4.2.4. *Bacillus cereus* CCM99 straininin büyüme eğrisi

4.3. İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Biyokimyasal Testler Üzerine Etkisi

Bölüm 3.2.5' te belirtildiği şekilde büyüme eğrilerinden yararlanarak log fazında olan *Bacillus cereus* kültürleri alınmış ve 1mT manyetik alan ve 3 cm mesafede, 3 saat lik bir sürede, 1000 ve 1850 MHz frekanstaki iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılarak bakterilerin biyokimyasal özelliklerinde herhangi bir değişim olup olmadığı incelenmiştir. Her iki frekansında yaymış olduğu iyonize olmayan elektromanyetik dalgaların bakterilerin biyokimyasal özellikleri üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

4.4. İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Sporulasyon Saati Üzerine Etkisi

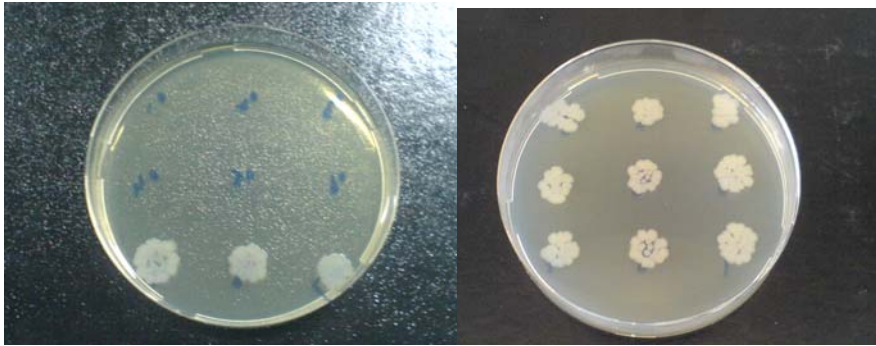
Bölüm 3.2.7' de belirtildiği şekilde 1000 ve 1850 MHz frekanstaki iyonize olmayan elektromanyetik dalgaların *Bacillus cereus* izolatları ve *Bacillus cereus* CCM99 straininin sporulasyon saati üzerindeki etkisi incelenmiştir. 1000 MHz frekansın yaymış olduğu iyonize olmayan elektromanyetik dalgaların bakterilerin spor oluşumu üzerinde etkisi görülmezken, 1850 MHz frekanstaki iyonize olmayan elektromanyetik dalgalar 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11 no' lu izolatlarda 8.saatte, 12,13,14,15 no' lu izolatlarda ise, 8.saate 20. dakikada erken spor oluşumuna gitmesine neden olmuştur. Deney sonuçları, Çizelge 4.4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.4.2. 1000 ve 1850 MHz frekanslarının Spor Oluşum saati üzerine etkisi.

	KONTROL	1000 MHz	1850 MHz
<i>Bacillus cereus</i> CCM99	10. saat	10. saat	9. saat
<i>Bacillus cereus</i> İzolatları (15 tane)	10. saat	10. saat	11 tanesi 8. saat, 4 tanesi 8. saat 20 dk.

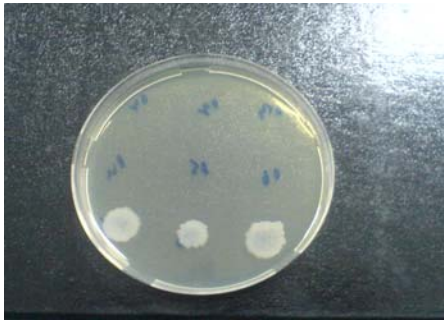
4.5. İyonize Olmayan Elektromanyetik Dalgaların Spor Yapısı Üzerine Etkisini Araştırmak Üzere Scanning Elektron Mikroskobunda İncelenmesi

Bölüm 3.2.7' da belirtildiği şekilde İyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılmadan önceki sporlar (Kontrol grubu) ile 1000 MHz frekansın spor oluşumuna etkili olmadığı için, 1850 MHz frekansın yaymış olduğu İyonize Olmayan elektromanyetik dalgaların spor morfolojileri üzerindeki etkileri, scanning elektron mikroskobunda karşılaştırılmıştır. 3,5,12 ve 15 no' lu izolatlar ve 1 tanede *Bacillus cereus CCM99*' un scanning elektron mikrograflarında, sporlarında büzüşme ve spor çeperlerinde içe doğru girintiler olduğu Şekil 4.5.1' de gösterilmiştir.

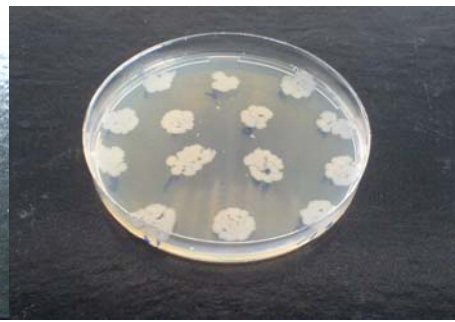


a) 1 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)

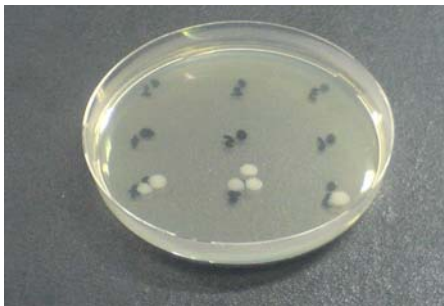
A) 1 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8.saat)



b) 2 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)



B) 2 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8.saat)

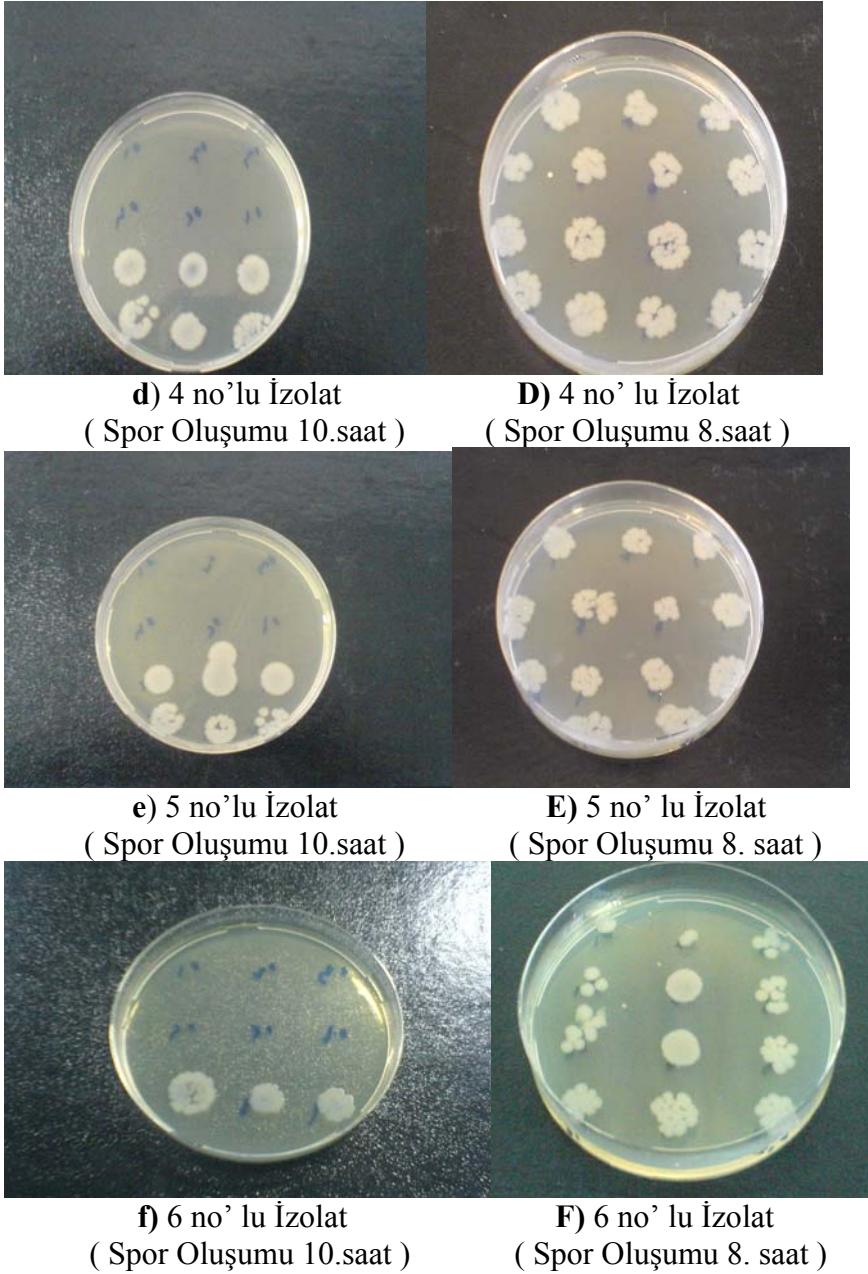


c) 3 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10. saat)

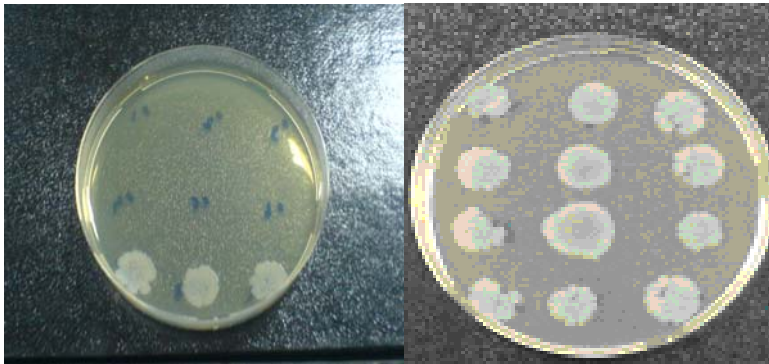


C) 3 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8. saat)

Şekil 4.4.1. 1, 2 ve 3 no'lu izolatların spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi. (a), (b) ve (c), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmadan önceki spor oluşum saatlerini, (A), (B) ve (C), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kaldıktan sonraki spor oluşum saatlerini göstermektedir.

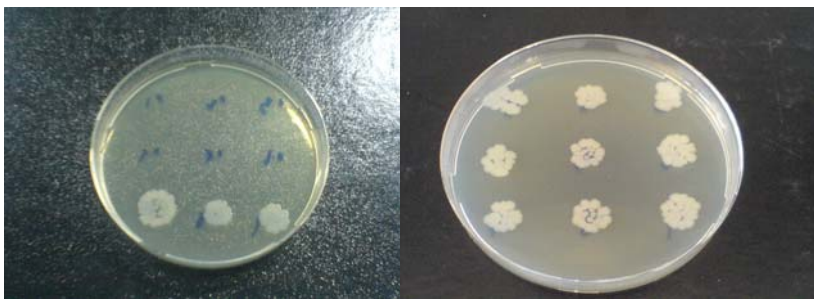


Şekil 4.4.2 4, 5 ve 6 no'lu izolatların spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi. (d), (e) ve (f), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmadan önceki spor oluşum saatlerini, (D), (E) ve (F), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kaldıktan sonraki spor oluşum saatlerini göstermektedir.



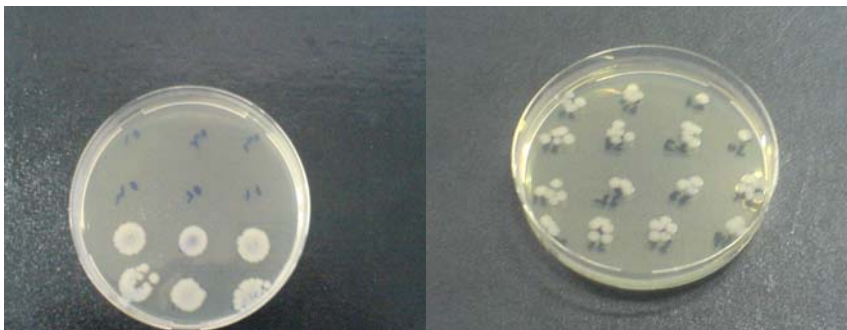
g) 7 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)

G) 7 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8.saat)



h) 8 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)

H) 8 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8. saat)



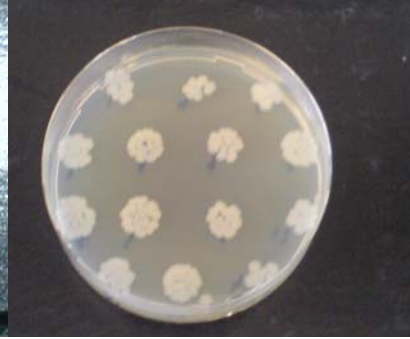
k) 9 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)

K) 9 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8. saat)

Şekil 4.4.3. 7, 8 ve 9 no'lu izolatların spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi, (g), (h) ve (k), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmadan önceki spor oluşum saatlerini. (G), (H) ve (K), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kaldıktan sonraki spor oluşum saatlerini göstermektedir



m) 10 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)



M) 10 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8.saat)

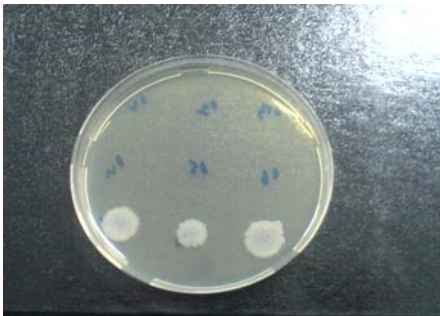


n) 11 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)

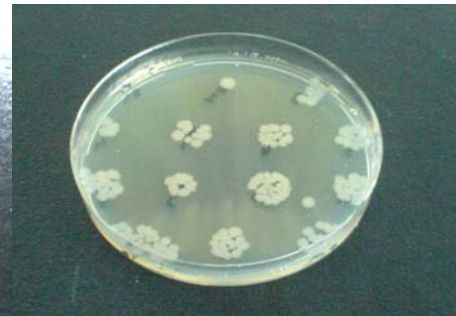


N) 11 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8.saat)

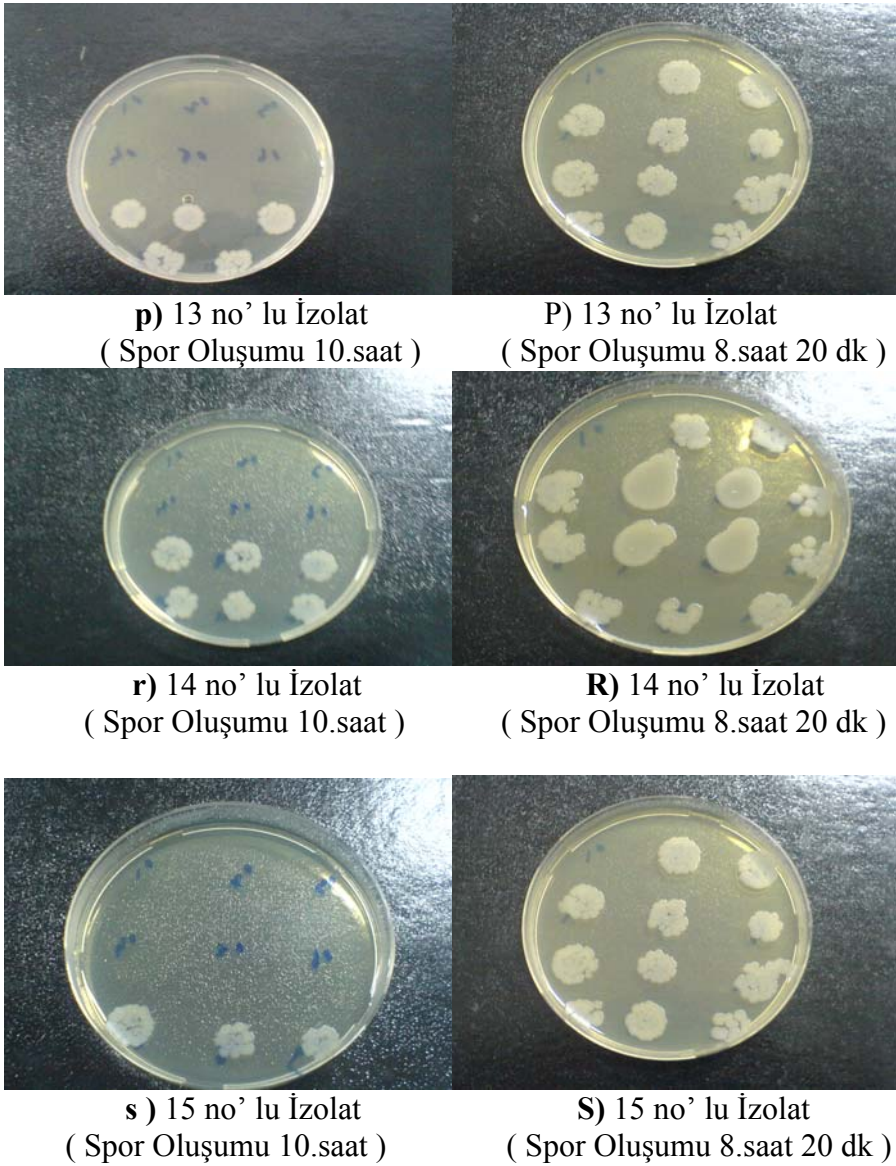
Şekil 4.4.4. 10 ve 11 no' lu izolatların spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi. (m), (n), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmadan önceki spor oluşum saatlerini. (M), (N), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kaldıktan sonraki spor oluşum saatlerini göstermektedir.



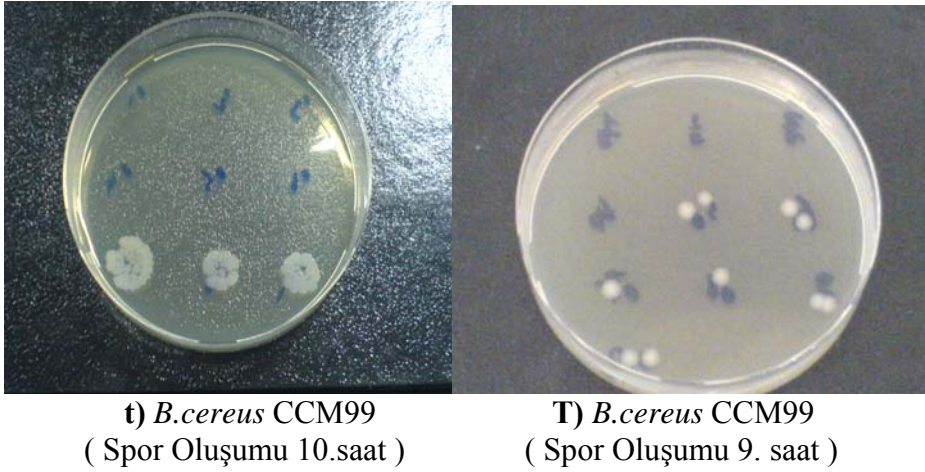
o) 12 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 10.saat)



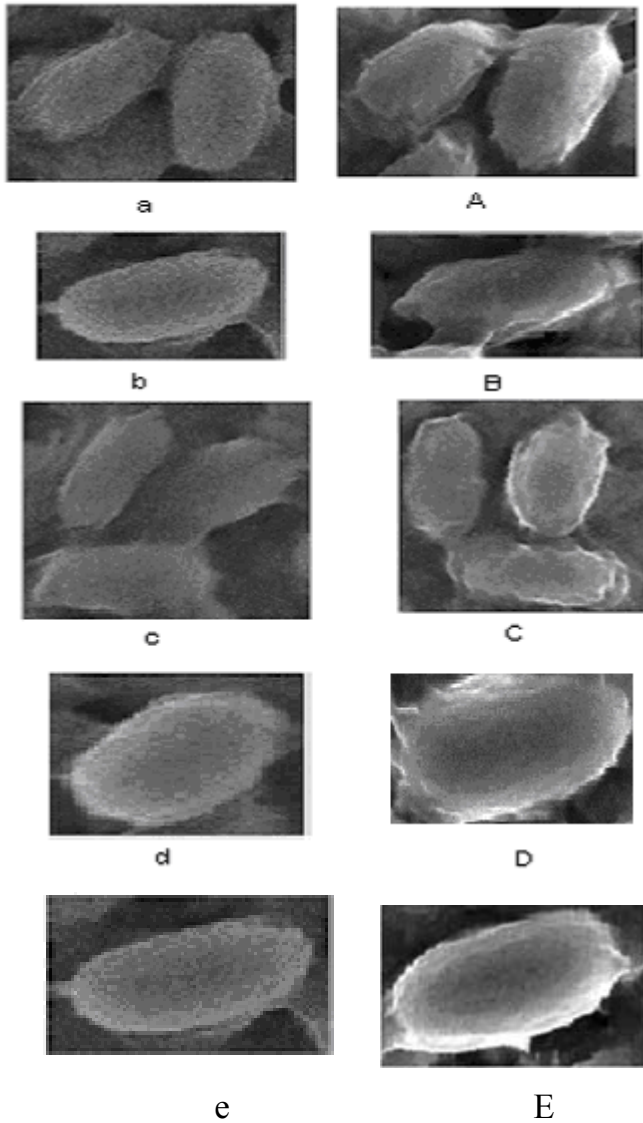
O) 12 no' lu İzolat
(Spor Oluşumu 8.saat 20 dk)



Şekil 4.4.5. 12, 13, 14 ve 15 no' lu izolatların spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi. (o), (p), (r), (s), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmadan önceki spor oluşum saatlerini. (O), (P), (R) ve (S), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kaldıktan sonraki spor oluşum saatlerini göstermektedir.



Şekil 4.4.6. *Bacillus cereus* CCM99 straininin spor oluşum süresi üzerine elektromanyetik dalgaların etkisinin belirlenmesi. (t), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmadan önceki spor oluşum saatini. (T), iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kaldıktan sonraki spor oluşum saatini göstermektedir.



Şekil 4.5.1. Scanning Elektron Mikroskopunda *Bacillus cereus* izolatları ve *Bacillus cereus* CCM99 straininin spor görünüşleri. (a), (b), (c), (d) ve (e) iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz bırakılmamış *Bacillus cereus* sporları. (A) 3 no' lu izolatın (B) 5 no' lu izolatın, (C) 10 no' lu izolatın, (D) 12 no' lu izolatın ve (E) *Bacillus cereus* CCM99 straininin, 1850 MHz frekanstaki iyonize olmayan elektromanyetik dalgalara maruz kalmış sporlarını göstermektedir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde, elektromanyetik dalgaların olumlu ve olumsuz yönde birçok biyolojik etkisi üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Biyolojik sistemlerin farklı frekans ve şiddetlerdeki elektromanyetik dalga uygulamalarına farklı biyolojik yanıtlar verdiği bilinmektedir. Bu hücrel yanıtların temel mekanizması elektromanyetik dalgaların enerjisinin özellikle iyonik formdaki atom veya moleküllerin elektron dönüşlerinin etkilenmesine ve böylelikle iyonların enerji düzeylerinin değişimine dayanmaktadır. Elektromanyetik dalga enerjisinin frekansı, şiddeti, biyolojik sistemin yapısı, hücrel düzeni, su içeriği, elektromanyetik dalga kaynağına olan yakınlığı, maruz kalma süresi ve sıklığı gibi faktörlere bağlı olarak meydana gelen değişimler, biyokimyasal tepkimeler, hücrel iletişim sistemleri, hücre döngüsü, gen transkripsiyonu ve protein sentezine değin uzanan birçok temel sistem üzerinde ve farklı şekillerde sonuçlanabilen etkilere yol açmaktadır (Goodman ve ark, 1995).

Bugün dünyada milyonlarca cep telefonu kullanılmaktadır ve özellikle cep telefonlarının kullanıldığı frekanstaki elektromanyetik dalgaların 1993 yılında Belçika' lı bilimciler tarafından insan geninde hasara yol açtığı gösterilmiştir. 1990' lı yılların ikinci yarısında Fransa' da yapılan bir araştırmada; kadın ve erkek olmak üzere her iki cinste de beyin tümörü sayısının %31 artmış olmasının görünmesi teknolojinin bize sunduğu kaynakları sınırsız ve sorumsuzca kullanamayacağımıza ilişkin önemli göstergelerden yalnızca bir kaçıdır. Ayrıca gazete, dergi ve televizyonlarda cep telefonları hakkında çeşitli haberler ortaya atılmıştır. Cep telefonlarının öncelikle kanser, beyin tümörü, parkinson, alzheimer, genetik yapının

değişimi, vücut ısısının artması, yorgunluk, uykusuzluk, bağışıklık sisteminin zayıflaması, hafıza kaybı, deride yanma hissi gibi hastalıklara yol açtığı söylenmiştir (William, 1992; Stewart, 2000).

Literatüre girmiş olan birçok çalışmada, elektromanyetik dalgaların biyolojik etkileri araştırılırken, farklı organizma ve biyolojik sistemler üzerinde durulmuştur ve sonuçta, elektromanyetik dalgaların, şiddetine, frekansına, maruz kalma süresine, organizma tip ve içeriğine ve de incelenen biyolojik sisteme göre değişik şekillerde etkiler gösterdiği saptanmıştır (Aarholt et. al., 1981., Goodman et. al., 1994., Malko et. al., 1994., Blank ve Goodman, 1997., Miyaskoshi et. al., 1997., Cairo et. al., 1998., Tsuchiya et. al., 1999., Jonathan ve Kenneth, 2000., Schreiber et. al., 2001., Novikov et. al., 2002). Bu nedenle, çalışmalardan elde edilen sonuçlar, genel olarak elektromanyetik dalgaların biyolojik etkilerinin temel mekanizmasının anlaşılabilmesi için kesin kanıtlar oluşturamamıştır. Gerek kullanılan elektromanyetik dalga frekanslarının, gerekse yoğunluklarının farklı olması ve bunun yanında farklı biyolojik sistemler üzerinde çalışılmış olması, değişik sonuçların alınmasına sebep olmuştur (Erol ve ark, 2003)

Yapılan bu araştırmada, elektromanyetik dalganın etkili olabileceği yerler olarak seçilen baz istasyonlarının, örnek almak için mümkün olan en yakınından toprak örnekleri alınmış ve *Bacillus cereus* bakterisinin izolasyonu için 10-20 dakika, 80°C'de bekletilen toprak süspansiyonu izolasyon çalışmalarında kullanılmıştır. İzolasyon besiyeri olarak Holbrook ve Anderson (1980) tarafından önerilmiş Polimiksin Egg Yolk Mannit Bromtimol Agar (PEMBA) kullanılmıştır. Besiyeri bileşimine Polimiksin eklenmesinin amacı, gram negatif organizmaların büyümelerini baskılamaktır. Polimiksin kullanımı, Gilbert ve Taylor (1976), Mossel ve ark, (1982) tarafından önerilmektedir.

Sonuç olarak; yapılan mikroskobik incelemeler sonucunda, saf olarak elde edilen izolatların hepsinin gram pozitif, spor oluşturan, çubuk şeklindeki bakteriler olduğu gözlemlenmiştir. Bakteri hücrelerinin biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerinin test edilmesinde Sneath ve ark. (1986) tarafından önerilen tayin tablosundan yararlanılmıştır. İzolatlara uygulanan testler: Karbonhidratların kullanım testi, Jelatinaz üretimi, Glukozdan gaz oluşumu, Kazein hidrolizi, Nişasta hidrolizi, Simmon's sitrat tasti, V-P testi, Tirozin degredasyonu, Fenilalanin deaminasyonu, Nitrat redüksiyonu, Katalaz testi ve Hareketlilik testleridir. Araştırmamızda, Çizelge 3.1' de yerleri verilmiş olan baz istasyonlarının yakın çevresinden alınmış toprak örneklerinden 15 izolat *Bacillus* genusunun *B. cereus* türü olarak tanımlanmıştır. Tanımlama çalışmaları sırasında izolatların elde edilen biyokimyasal özellikleri ve *B. cereus* CCM99 straini için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Şimdiye kadar ki yapılan çalışmalar, Radyo-frekanslarının insan sağlığı üzerindeki etkileri hakkında kafa karıştırıcı sonuçlar üretmiştir. Bu yüzden, Radyo frekanslarının (RF) biyolojik etkilerinin anlaşılması en azından klinik olarak önemlidir. RF alanlarının insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkinliği halen karakterize edilememiştir, bundan dolayı hayvansal ve hücresele testlere dayanan laboratuvar çalışmalarından çıkan temel bilgiler çok önemlidir (Pavicic et. al., 2006). Bu konuda radyofrekanslarının mikroorganizmalar üzerine yaygın çalışmaları vardır

Babushkina ve arkadaşları (2005) tarafından gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada; düşük frekanslı manyetik alanın *E.coli* bakterisinin biyokimyasal özellikleri üzerine etkisi araştırılmış ve glukoz fermentasyonunun geciktiği saptanmıştır. 1000 ve 1850 MHz frekanstaki elektromanyetik dalgaların biyokimyasal özellikler üzerine etkinin saptanması için 15 adet *Bacillus cereus*

straini ve 1 adet *Bacillus cereus* CCM 99 tip türünün kullanıldığı bu çalışmada; her iki frekansın yaymış olduğu elektromanyetik dalgalara, 3 saat lik bir süre zarfı içinde, 3 cm lik mesafede ve 1mT manyetik alana maruz kalan bakterilerin biyokimyasal özelliklerinde herhangi bir değişime neden olmadığı saptanmıştır.

Celondroni ve arkadaşları, (2004) tarafından gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada; 2450 MHz frekanstaki mikrodalga radyasyonunun *Bacillus subtilis* ATCC 6633 sporlarının yapısal ve moleküler komponentleri üzerinde oluşturduğu etkileri araştırmayı hedeflemişler. Uygulama sonucunda, mikrodalğanın *B. subtilis* sporlarını inhibe etmede konvensional ısıtma kadar etkili olduğu; fakat mikrodalğanın oluşturduğu elektromanyetik alanın sporların yapısal ve moleküler komponentlerinde değişikliklere sebep olduğu gerçeğini ortaya koymuşlardır. Woo ve arkadaşları (2000) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, mikrodalga tarafından oluşturulan ısısal etkinin gram pozitif (*Bacillus subtilis*) ve gram negatif (*Escherichia coli*) bakteriler üzerindeki farklı etkilerinin olup olmadığını araştırmışlar. Çalışma sonucunda, mikrodalga radyasyonunun canlı sayımında bir azalma ve hücrelerden açığa çıkan protein ve DNA miktarında bir artışa neden olduğunu belirlemişler. Ayrıca, mikrodalgaya maruz kalmış gram negatif bakteri olan *E. coli* bakterisinin scanning elektron mikroskopu incelemeleri sonucunda hücre yüzeyinde bozunmalar olduğu fakat gram pozitif bakteri olan *B. subtilis* bakterisinin hücre yüzeyinde herhangi bir bozunma olmadığı sonucuna varmışlardır. Salvatorelli ve arkadaşları (1993) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, mikrodalğanın yaymış olduğu radyasyonun *Bacillus stearothermophilus* bakterisinin vejetatif ve spor formlarının morfolojileri üzerine etkisini araştırmışlar ve uygulama sonunda, vejetatif formların scanning elektron mikroskopunda inceleme sonucunda, mikrodalga

radyasyonunun morfolojide değişimlere neden olduğu ve spor formların da ise önemli bir morfolojik değişimlere sebep olmadığını gözlemlemişlerdir. Diğer bir çalışmada Vaid ve Bishop (1998) mikrodalga radyasyonunun, *Bacillus megaterium* NCIMB 7581, *B. stearothermophilus* NCIMB 8922, *Clostridium sporogenes* NCIMB 8053 ve *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* NCIMB 9385 bakterilerinin oluşturduğu endosporların morfolojik değişimleri üzerine etkisinin olmadığını saptamışlar. 1850 MHz frekansın yaymış olduğu elektromanyetik dalgaların *Bacillus cereus* izolatları ve *Bacillus cereus* CCM 99 strainin sporlarının morfolojileri üzerine etkisini belirlemek amacıyla scanning elektron mikroskobunda analiz edildikleri bu çalışmada ise; *Bacillus cereus* sporlarında büzüşme ve spor çeperlerinde içe doğru girintiler olduğu saptanmıştır (Scanning elektron mikroskobu fotoğrafları Polytechnic Üniversitesinde görev yapan Spencer P. Kou adlı araştırmacıya gönderilmiş ve spor morfolojilerinde farklılıklar olduğu belirtilmiştir; Kişisel Görüşme).

Moore, (1979) tarafından gerçekleştirilmiş bir çalışmada, beş bakteri ve bir maya hücresinin manyetik alanda gelişiminin, manyetik alanın frekansına ve gücüne bağlı olduğu ve spor çimlenmesi ve mutasyon sıklığının üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır. Fujikawa ve Ohta. (1994) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 2450 MHz frekanstaki mikrodalga radyasyonun, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus cereus* sporları üzerinde inhibe edici etki gösterdiği saptanmıştır. Diğer yandan Burgos ve arkadaşları (1972) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ultrasonik dalgalara maruz kalan *Bacillus cereus* ve *Bacillus licheniformis* sporlarının ısı direncinde azalma olduğu saptanmıştır. Diğer bir çalışmada, Salvatorelli ve arkadaşları (1993) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, mikrodalğanın yaymış olduğu radyasyonun *Bacillus stearothermophilus* bakterisinin vejetatif ve spor

formlarının morfolojileri üzerine etkisini araştırmışlar ve uygulama sonunda, vejetatif formların scanning elektron mikroskobunda inceleme sonucunda , mikrodalga radyasyonunun morfolojide değişimlere neden olduğu ve spor formların da ise önemli bir morfolojik değişimlere sebep olmadığı saptanmıştır. 3 saat lik bir süre zarfı içinde, 3 cm mesafede ve 1mT manyetik alanda, 1000 ve 1850 MHz frekanstaki elektromanyetik dalgaların, sporulasyon saati üzerine etkisinin saptanması için 15 adet *Bacillus cereus* straini ve *Bacillus cereus* CCM 99 tip türünün kullanıldığı bu çalışmada, 1000 MHz frekansın yaymış olduğu elektromanyetik dalgaların bakterilerin spor oluşumu üzerinde etkisinin olmadığı fakat, 1850 MHz frekansın yaymış olduğu elektromanyetik dalgaların, bakterilerin erken spor oluşumuna gitmesine neden olduğu saptanmıştır.

Bu denemeler sonucunda, kısa sürede radyofrekanslarının *Bacillus cereus* sporlarının yapılarında fazla bir etkiye neden olmadığı ancak uzun süreçte ve tekrarlayan şekilde radyofrekanslarının mutajenik etkilere neden olabileceği ve daha ileride fenotipik çalışmalar yanında genotipik çalışmaların yapılması gerektiği düşünölmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Aarholt, E., Flinn, E.A., Smith, C.W., 1981, Effects of low – frequency magnetic fields on bacterial growth rate, *Phys Med Biol*,26-613.

Adlkofer, F., 2005. Risk Evaluation of Potential Environmental Hazards from Low Energy , Electromagnetic Field (EMF) Exposure using Sensitive in vitro Methods, *Magazine on European Research*, 46: 3-11.

Agarwal, A., 2008. Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending in fertility clinic : an observational study, *Fertility and Sterility*, 89:124-128.

Altayar, M., Sutherland, A.D., 2006, *Bacillus cereus* is common in the environment but emetic toxin producing isolates are rare, *Journal of Applied Microbiology*, 100, 7-14.

Anane, R., Dulou, P.E., Taxile, M., Geffard, M., Crespeau, F.L., Veyret, B., 2003. Effects of GSM-900 microwaves on DMBA-induced mammary gland tumors in female Sprague-Dawley rats, *Radiat Res*, 160: 492-497.

Anderstam, B., Hamnerius, Y., Hussain, S., Ehrenberg, L., 1983. Studies of possible genetic effects in bacteria of high frequency electromagnetic fields, *Hereditas*, 98: 11-32.

Armstrong, B., Theriault, G., Guenel, P., et al, 1994. Association between exposure to pulsed electromagnetic fields and cancer in electric utility workers in Quebec, Canada, and France, *Am J Epidemiol*, 140: 805-820.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Arnetz, B., 2008. Wayne State University researcher gains international attention for cell phone study, <http://www.media.Wayne.edu/2008/01/22wayne-state-university>, January 22.

Athar, M., Abdula, M., Sultana, S., Favier, A., 1993. Free radicals and trace elements. The journal of trace elements in experimental medicine. 6: 65-73.

Atlas, R.M., Parks, L.C., 1997. Handbook of Microbiology Media, 2th. Edition, CRC Press, Boca Rotan, Florida, 1705s.

Atlas, R.M., 1995. Handbook of Microbiological Media For The Examination Of Food, CRC Press, Boca Rotan, Florida, 310s.

Averbeck, D., Dardalhon, M., Bertaud, A.J., 1976, Microwaves action in procaryotic and eukaryotic cells and a possible interaction with X-rays. J. Microw. Power 11: 143- 144.

Babushkina, I.V., Borodulin, V.B., Shmetkova, N.A., Morrison, V.V., Usanov, A.D., Skripal, A.V., Usanov, D.A., 2005. The influence of alternating magnetic field on *Escherichia coli* bacterial cells, Pharmaceutical Chemistry Journal, 39, p. 6-8.

Banik, S., Bandyopadhyay, S., Ganguly, S., 2003. Bioeffects of microwave, Bioresource Technology, 87: 155-159.

Bassen, H.I., RF interference of medical devices, In: Kuster, N., Balzano, Q., Lin, J.C, eds., 1997. Mobil Comminucation Safety, Chapman and Hall, p. 13-67.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Berg, A., Berg, H., 2006, Influence of ELF Sinuodial Electromagnetic Fields on Proliferation and Metabolite Yield of Fungi, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 25: 71-77.

Bergqvist, U., 1997, Review of epidemiological studies, In: Kuster N, Balzono Q, Lin JC, eds. *Mobil Communication Safety*, Chapman and Hall, London, 147-170.

Berman E, Carter, H.B., House, D., 1980, Tests for mutagenesis and reproduction in male rats exposed to 2.45 GHz (CW) microwaves. *Bioelektromagnetics* ; 1:65-76.

Berteaud, A.J., Dardalhon, M., Rebcyrotte, N., Averbek, D.M., 1975. Effect of an electromagnetic microwave radiation on the growth of bacteria.

Bilgili, D., Akıncı, E., Olgun, H., Özmen, A., 2006, Elektromanyetik Alanın Canlı Sistemler Üzerindeki Etkilerinin Allium Test Sistemi ile Araştırılması, 1. Basım, Nobel Yayın, Ankara, p.250-251.

Bissett, D. L., Hannon, D. P, Orr, T. V., 1989, Wavelength dependence of histological, physical, and visible changes in chronically UV-irradiated hairless mouse, skin *Photochem. Photobiol.* 50: 763-769

Blackman, C.F., Surles, M.C., Benane, S.G., 1976, The effect of microwave exposure on bacteria: Mutation induction. In Johnson CC, Shore M (eds) : “ Biological effects of electromagnetic waves. “ Washington DC: US Food and Drug Administration (FDA) , (USNC/ URSI Annual Meeting – Selected papers, Vol, 1: 406-41.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Blank, M., Goodman, R., 1997, Do electromagnetic fields interact directly with DNA?, *Bioelectromagnetics*, 18:111.

Blevins, R.D., Crenshaw, R.C., Houghland, A.E., Clark, C.E., 1980. The effects of microwave radiation and heat on specific mutants of *Salmonella typhimurium* LT2, *Radiat Res* 82:511–517.

Bonnefont, A.L.M., 2004, Acute exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields induces glial reactivity and biochemical modification in the rat brain, *Neurobiology of Diseases*, 17: 445-454

Boscolo, P., 2001. Effects of low frequency electromagnetic fields on expression of lymphocyte subsets and biochemical modification in the rat brain, *Neurobiology of Diseases*, 270: 23-20.

Brown, M.A., 1993. Resistance of Human erythrocytes containing elevated levels of vitamin E to radiation –induced hemolysis . *Radiat research*, 95:2, 303-316.

Burgos, J., Ordonez, J.A., Sala, F., 1972. Effect of ultrasonic waves on the heat resistance of bacillus cereus and bacillus licheniformis spores, *Aplied Microbiology*, 72: 497-498.

Byus, C.V., Kartun, K., Pieper, S., Adey, W.R., 1988, Increased ornithine decarboxylase activity in cultured cells exposed to low energy modulated microwave fields and phorbol ester tumour promoters, *Cancer Res*, 48: 4222-4226.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Cairo, P., Greenebaum, B., Goodman, E., 1998, Magnetic field exposure enhances mRNA expression of sigma 32 in E.coli. J Cell Biochem, 68:1.

Celandroni, F., Longo, I., Tossoratti, N., Giannessi, F., Ghelardi, E., Savletti, S., Baggiani, A., Senesi, S., 2004. Effect of microwave radiation on *Bacillus subtilis* spores, Journal of Applied Microbiology, 97: 1220-1227.

Chairman, D.B., Albertini, R., McRee, D., Peterson, D., Williams, G., Hanawalt, P., Preston, J., 1998, Genotoxicity of Radiofrequency Radiation, Environmental and Molecular Mutagenesis, 32: 1-16.

Cleveland, R. F., Ulcek, J.L., 1999, Questions and Answers about Biological Effects and Potential Hazards of Radiofrequency Electromagnetic Fields, Federal Communications Commission Office of Engineering & Technology, Fourth Edition, p. 1-36.

Corelli, J.C., Gutmann, R.J., Kohazi, S., Levy, J., 1977, Effects of 2.6–4.0 Ghz microwave radiation on E-coli B. J Microw 12:141–144.

Crompton, M.J., Collins, A.R., 2004. Are environmental electromagnetic fields genotoxic?, DNA repair, 3 : 1385-1387.

Dardanoni, L., Toregrossa, M.V., Zanforlin, L., 1994, Millimeter wave effects on *Candida albicans* cells, J. Bioelectricity,4, 171-176.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Dasdag, S., Akdag, M.Z., Aksen, F., Bashan, M., 2004, Does 900 MHz GSM mobile phone exposure affect rat brain? *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23:201-214.

Delenay, J.P, Bonscak, M.E., 1994. Radioprotection of the rat the smallintestine with topical WR-2721, *Cancer*, 15: 74-78.

Delgado, J.M.R., 1985. Biological effects of extremely low frequency electromagnetic field, *J. Bioelectricity*, 4(1): 75-91.

Doyle, R.J., Keller, K.F., ve Ezzell, J.W., 1985, *Bacillus*, 211-215, Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J., and Shadomy, H.J. (Eds), *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed, American Society of Micobiology, Washington, D.C

Dutta, S.K., Nelson, W.H., 1978. Lack of genetic effects of short duration low power density 2.45 GHz CW and 8.5-9.6 GHz pulsed electromagnetic radiation on selected microbial tester strains, *Environ Mutagen Soc – Ann Meet Program Abstr 9th*, 69-70s.

Erdal, N., 2005, Lack of effect of extremely low frequency electromagnetic fields on cyclic-dependent kinase 4 inhibitor gene p18INK4C in electric energy workers, *Archives of Medical Research*, 120-123.

Erdoğrulu, Ö., Erbilir, F., 2006. Mikroalganın bazı *Bacillus* türlerinin sporlarına etkisi, *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(1): 27-31.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Erol, Ö., Oldacay, S., Erdem, G., 2003. Escherichia coli ve Saccharomyces cerevisiae suşlarının elektromanyetik alandaki üreme davranışları. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 33: 191-196.

FDA, 2001. Bacteriological Analytical Manual, 9th Edition, Association of Official Analytical Chemists, America, 946p.

Fejes, I., Závaczki, Z., Szöllosi, J., Koloszár, S., Daru, J., Kovács, L., Pál, A., 2005, Is there a relationship between cell phone use and semen quality?, Arch Androl, 51: 385-393.

Ferreira, A.R., Bonatto, F., Pasquali, M.A.B., Polydoro, M., Dal-Pizzol, F., Fernandez, C., Salles A.A., Moreira, J.C.F., 2006. Oxidative stress effects on the central nervous system of rats after acute exposure to ultra high frequency electromagnetic fields, Bioelectromagnetics, 27, p. 487-493.

Figueiredo, A.B.S., Alves, R.N., Ramalho, A.T., 2004, Cytogenetic analysis of the effects of 2.5 and 10 GHz microwaves on Human Lymphocytes, Genetic and Molecular Biology, 27: 460-466.

Fojit, L., Strasak, L., Vetteri, V., Smarda, J., 2004. Comparison of the low-frequency magnetic field effects on bacteria *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxylata* and *Staphylococcus aureus*, Bioelectrochemistry, 63: 337-341.

Fujikawava, H., Ohta, K., 1994. Patterns of bacterial destruction in solution by microwave irradiation. Journal of Applied Bacteriology, 76: 389-394.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A., Krieg, N.R., 1994. Methods for General and Molecular Bacteriology, American Society for Microbiology, Washington D.C, 791p.

Gilbert, R., Taylor, A.J., 1976. *Bacillus cereus* Food poisoning, (Eds.FA. Skinner and J.G. Carr) Microbiology in Agriculture, Fishers and Food, Academic Press, London.

Goodman, E.M., Greenebaum, B., Marron, M.T., 1994, Magnetic fields after translation in *Escherichia coli*. Bioelectromagnetics,15-77.

Goodman, E.M., Greenebaum, B., Marron, M.T., 1995. Effects of electromagnetic fields on molecules and cells, Int Rev Cytol,158-279.

Gos, P., Eicher, B., Kohli, J., Heyer, W., 1997. Extremely high frequency electromagnetic field at low power density do not affect the division of exponential phase *saccharomyces cerevisiae* cells, Bioelectromagnetics, 18, p. 142-155.

Grundler, W., Keilman, F., Froehlich, H., 1977. Resonance growth rate response of yeast cells irradiated by weak microwaves, Phys. Lett, 62A, 463-466.

Grundler, W., Keilman, F., Putterlik, V., Strube, D., 1982, Resonance like dependence of yeast growth rate on microwave frequencies, Br. J. Cancer, 45, 206-208.

Guy, A.W., 1997, The starting point: wireless technology research, L.L.C.'s dosimetry risk evaluation resarch, Hum.Ecol.Risk Assess,3:25-50.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Gülbandılar, E., Gülbandılar, A., 1999. Elektromanyetik alanın *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin üremesi üzerine etkisinin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi, Türk Hij Den Biol Derg, cilt 56, no, 2 : 61-66.

Hadjiloucas, S., Chahal, M.S., Bowen, J.W., 2002. Preliminary results on the non-thermal effects of 250-350 GHz radiation on the growth rate of *S. cerevisiae* cells in microcolonies, Phys. Med. Biol, 47: 3831-3839.

Hamnerius, Y., Rasmuson, A., Rasmuson B., 1985. Biological effects of high-frequency electromagnetic fields on *Salmonella typhimurium* and *Drosophila melanogaster*, Bioelectromagnetics, 6: 405-414

Hardell, L., Hallquist, A., Mild, K.H, Carlberg, M., Pålsson, A., Lilja, A., 2002, Cellular and cordless telephones and the risk for brain tumours, Eur J Cancer Prev, 11: 377-386

Harley, J.P., Prescott, L.M., 1990. Laboratory Exercises in Microbiology, WCB, America, 416p.

Holbrook, R., Anderson, J.M., 1980. An improved selective and diagnostic medium for the isolation and enumeration of bacillus cereus in foods, Can Journal of Microbiology, 26: 753-759.

Hoong, N.G.K., 2003, Non-Ionizing Radiations – Sources, Biological Effects, Emissions and Exposures, Proceedings of the International Conference on Non-ionizing Radiation at UNITEN (ICNIR), Electromagnetic Fields and Our Health, 1-16.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Jonathan, H.L., Kenneth, J.M., 2000, Morphologic responses of osteoblast-like cells in monolayer culture to elf electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 21: 129.

Karause, D., Brent, J.A., Mullins, J.M, et al., 1990, Enhancement of ornithine decarboxylase activity in L929 cells by amplitude modulated microwaves, In:Abstarcts, 12 th. Annual Meeting of the Bioelectromagnetics Society, San Antonio, Texas, p. 94.

Koyoma, S., Takashima, Y., Tomonori, S., Suzuki, Y., Taki, M., Miyakoshi, J., 2007 . Effects of 2.45 GHz electromagnetic field with a wide range of SARs on bacterial and HPRT gene mutations, *J. Radiat. Res*,48: 69-75

Kram D.J., 1997. Evaluation of potential genotoxicity of pulsed electric and electromagnetic fields used for bone growth stimulation, *Mutation Research*, 388:45-47.

Kuo, P., Tarasenko, O., Nourkbash, S., Bakhtina, A. and Levon, K., 2006, Plasma Effects on Bacterial spores in a Wet Environment, *New Journal of Physics*, 8: 1-15.

Lai, H., Singh N.P., 1995, Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells, *Bioelectromagnetics*, 16:207-210.

Lai, H., Singh N.P., 1996, DNA: single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to low-level radiofrequency electromagnetic radiation, *Int. J. Radiat. Biol*, 69: 513- 521.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Laregina, M., Moros, E.G., Pickard, W.F., Straube, W.L., Baty, J., Roti, R. J.L., 2003, The effect of chronic exposure to 835.62 MHz FDMA or 847.74 MHz CDMA radiofrequency radiation on the incidence of spontaneous tumors in rats, *Radiat Res*, 160: 143-151.

Lebovitz, R.M., Johnson, L., 1987, Acute, whole body microwave exposure and testicular function of rats. *Bioelectromagnetics*, 8:37-46.

Lerma, E., Hevia, A., Rodrigo, P., Gonzalez, C.R., Armas, J.R., Galera, H., 1991 The effect of He-Ne laser radiation on the thyroid gland of the rat, *Int. J. Exp. Path.*, 72: 379-385.

Leszczynski, D., Joenvaara, S., Reivinen, J., and Kuokka, R., 2002, Non-thermal activation of the hsp27/p38mapk stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: Molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects, *Differentiation*, 70: 120-129.

Lilienfield, A.M., Tonascia, J., Tonascia, S., et al., 1978, Evaluation of health status of foreign service and other employees from selected EasternEuropean posts. Final report to U.S. Department of State. Baltimore: Johns Hopkins School of Public Health, Department of Epidemiology.

Litten, R.Z., Carr, F.E., Fein, H.G. and Smallridge, R.C., 1990, Effects of irradiation and semistarvation on rat thyrotropin beta subunit messenger ribonucleic acid, pituitary thyrotropin content, and thyroid hormone levels, *Life-Sci.*, 47: 1409-1417.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Lönn, S., Klæboe, L., Hall, P., Mathiesen, T., Auvinen, A., Christensen, H.C., Johansen, C., Salminen, T., Tynes, T., Feychting, M., 2004, Incidence trends of adult primary intracerebral tumors in four Nordic countries, *Int J Cancer*, 108: 450-455.

Machilin, L.J., Pendich, A., 1987. Free radical tissue damage. *Faseb J.I.* 441-445

Maes, A., Collier, M., Verschaeve, L., 2001. Cytogenetic effects of 900 MHz (GSM) microwaves on human lymphocytes, *Bioelectromagnetics*, 22: 91-96.

Maisch, D., 2003, Children and Mobile Phones... Is There a Health Risk ? *Journal of Australasian College of Nutritional & Environmental Medicine*, 22: 3-8.

Malko, J.A., Constantinidis, I., Dillehay, D., Fajman, W.A., 1994, Search for influence of 1,5 tesla magnetic field on growth yeast cells. *Bioelectromagnetic*, 15-495.

Malyapa, R.S., Ahern, E.W., Straube, W.L., Moros, E.G., Pickard W.F., Roti Roti, J.L., 1997a, Measurement of DNA damage after exposure to 2450 MHz electromagnetic radiation, *Radiat. Res*, 148:608-617.

Malyapa, R.S., Ahern, E.W., Straube, W.L., Moros, E.G., Pickard W.F., Roti Roti, J.L., 1997b, Measurement of DNA damage after exposure to electromagnetic radiation in the cellular phone communication frequency band (835.62 and 847.74 MHz), *Radiat. Res*, 148: 618-627.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Mateyko, G.M., Edelman, A.,1954, The effects of localized cathode ray particle irradiation of the hypophysis and whole body x-irradiation on gonadotropin, thyrotropin and adrenocorticotropin of the rat pituitary, *Radiat. Res.*, 1: 470-482.

Mezykowski, T., Bal, J., Debiec, H., Kwarecki, K., 1980, Response of *Aspergillus nidulans* and *Physarium polycephalum* in microwave irradiation. *J Microw Power* 15:75–80.

Milani, M., Conte, A., Costato, M., Salsi, F., Baroni, G., Batani, D., Ferraro, L., Turcu, I.C.E., 1998, NMR and pressure correlated analysis of metabolic changes in soft-X-rays irradiated yeast cells, *Eurepean Physical Journal D- Atomic Molecular*, 5: 267-270..

Miyakoshi, J., Kitagawa, K., Takebe, H., 1997, Mutation induction by high-density 50Hz magnetic fields in human MeWo cells exposed in the DNA synthesis phases, *Int J Rad Biol*, 71:75.

Moore, R.L., 1979. Biological effects of magnetic fields: studies with microorganisms, *Can J Microbiol*, 25: 1145-1151.

Mossel, D.A.A., Koopman, M.J., Jongerius, E., 1982. Enumeration of *Bacillus cereus* in foods, *Appl.Microbiology*, 15: 650-653.

Muscat, J.E., Malkin, M.G., Thompson, S., Shore, R.E., Stellman, S.D., McRee, D., Neugut, A.I., Wynder, E.L., 2000, Handheld cellular telephone use and risk of brain cancer, *JAMA*, 284: 3001-3007.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Nafziger, J., Desjobert, H., Benamer, B., Guillosson, J.J., Adolphe, M., 1993. DNA mutations and 50Hz electromagnetic fields, *Bioelectrochem Bioenergy*, 30: 133-141.

Novikov, V.V., Sheiman, I.M., Fesenko, E.E., 2002, Effect of weak and extraweak magnetic fields on the intensity of asexual propagation of Planarians *Dugesia tigrina*, *Biofizika*, 47:125.

Pak, N.K., 2001, Elektromanyetik Dalgalar ve İnsan Sağlığı Sıkça Sorulan Sorular ve Yanıtları, *Tubitak-Bilten*, 1-21

Pakhomov, A.G., Akyel, Y., Pakhomova, O.N., Stuck, B.E., Murphy, M.R., 2001. Current State and implications of research on biological effects of millimeter waves, *Bioelectromagnetics* 19: 393-413.

Pal, N., 2005. The effect of low inductivity static magnetic field on some plant pathogen fungi, *journal Central European Agriculture*, 6: 167-171.

Panagopoulos, D.J., Karabarounis, A., Margaritis, L.H., 2004. Effect of GSM 900-MHz mobile phones radiation on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster*, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23: 29-43

Pavicic, I., Trosic, I., Sarolic, A., 2006. Comparison of 864 MHz and 935 MHz microwave radiation effects on cell culture, *Arh Hig Rada Toksikol*, 57: 149-54.

Pertel, R., Kazanas, N., 1984. *Bacteriological Analytical Manual*, 6th Edition, Association of Official Analytical Chemists, America, 946p.

Petrick, K., Parsch, J., 2000. *Microbiology Manual*, Merck, Berlin, 405p

Phillips, T.L, Ross, G., 1973, A quantitative technique for measuring renal damage after irradiation. *Radiology*, 109: 457-462.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Prescott, H., 2002. Laboratory Exercises in Microbiology, fifth edition, Mc Graw-Hill, 466p.

Ramon,C., Martin, J.T., Powell, M.R., 1987, Low-level, magnetic-field-induced growth modification of *Bacillus subtilis*, Bioelectromagnetics, 8(3), 275-282.

Repacholi, M.H., Basten, A., Gebski, V, et al., 1997, Lymphomas in EU-Pim1 transgenicmice exposed to pulsed 900 MHz electromagnetics fields, Radiation Res, 147: 631-641.

Robinette, C.D., Silverman, C., Jablon, S., 1980, Effect upon health of occupational exposure to microwave radiation (radar), Am J Epidemiol, 112, 59-53.

Rothman, K.J., Luoghlin, J.E., Funch, D.P., Dreyer, N.A., 1996, Overall mortality of cellular telephone customers, Epidemiology, 7: 303-305.

Salford, L.G., Brun A.E., Eberhardt, J.L., Malmgren, L., Persson, B.R., 2003, Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones, Environ Health Perspect, 111, p. 881-883.

Salvatorelli, G., Rosaspina, S., Sartea, A., Anzanel, D., 1993. Effect of microwaves on the vegetative and spore forms of *Bacillus stearothermophilus*, Boll Soc Ital Biol Sper, 69: 115-119.

Salvetti, S., Celandroni, F., Gherlardi, E., Baggini, A., Senesi, S., 2003. Rapid determination of vitamin B₂ secretion by bacteria growing on solid media, Journal of Applied Microbiology, 95: 1255-1260

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Sax, K., 1938. Chromosome Aberrations Induced By X-Rays, *Genetics*, 23:494-516.

Schreiber, W.G., Teichmann, E.M., Schiffer, I., Hast, J., Akbari, W., Georgi, H., Graf, R., Henn, M., Spiess, H.W., Thelen, M., Oesch, F., Hengstler, J.G., 2001, Lack of mutagenic and co-mutagenic effects of magnetic fields during magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging*, 14:779.

Schwartz, J.L., Rotmensch, J., Giovanazzi, S., Cohen, M.B., Weichselbaum, R.R., 1988, Faster repair of DNA double-strand breaks in radioresistant human tumor cells, *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 15: 907-912

Simonian, N.V., Voskanian, K.S.H., 1988, Effect of laser radiation and combined ionizing and laser radiation on the cell-division time of bacteria, *Radiobiologia*, 28:262-264.

Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E.,and Holt, J.G., 1986, Endospores-forming Gram –positive Rods and Cocci in *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Wilkins & Wilkins, 1104-1138

Song, C.W. and Evans, T.C.,1968 , The effect of whole body irradiation on thyroid function in the mouse, *Radiat. Res.*, 33: 480-489.

Stanescu, C., Anghel, S., 2002. Competing Phenomena In Laser Effects On the Growth Of Yeast Cell Colonies, *Journal of Optoelectronics and Advanced Material*, 4: 129-134.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Stang. A., Anastassiou, G., Ahrens, W., Broman, K., Bornfeld, N., Jöckel, K.H., 2001, The possible role of radiofrequency radiation in the development of uveal melanoma, *Epidemiology*, 12:7-11.

Stewart, W., 2000, Mobile Phones and Health, IEGMP (Independent Expert Group on Mobile Phones) Raporu, 1-159

Stewart, W., 2004, Mobile Phones and Health, NRPB, 15(5): 1-118

Stodolnik-Baranska, W., 1967, Microwave-induced lymphoblastoid transformation of human lymphocytes in vitro, *Nature*, 214:102-103

Strasak, L., Vetteri, V., Smarda, J., 2002. Effects of low-frequency magnetic fields on bacteria *Escherichia coli*, *Bioelectrochemistry*, 55: 161-164.

Strasak, L., Vetterl, V., Fojt, L., 2005. Effects of 50 Hz magnetic fields on the viability of different bacterial strains, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 24: 293-300.

Swerdlow, A.J., 2003, Health effects from Radiofrequency Electromagnetic fields, National Radiological Protection Board (NRBP), 14:1-181.

Szmigileski, S., 1996, Cancer morbidity in subjects occupationally exposed to high frequency (radiofrequency and microwave) electromagnetic radiation, *Sci Total Environ*, 180: 9-17.

Tamer, A. Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, İ., Bursalıoğlu, M. ve Oğultekin, R., 1989. Mikrobiyoloji Laboratuvar klavuzu, 3. Baskı Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Teks. Ser. No: 55, İzmir, 260 sayfa

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Tice, R.R., Hook, G.G., Donner, M., McRee, D.I., Guy, A.W, 2002, Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation on DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells, *Bioelectromagnetics*, 23:113-126.

Tsuchiya, K., Okuno, K., Takahashi, H., Shoda, M., 1999, High magnetic field enhances stationary phase specific transcription activity of *Escherichia coli*, *Bioelectroch Bioener*, 48:383.

Vaid, A., Bishop, A.H., 1998. The destruction by microwave radiation of bacterial endospores and amplification of the released DNA. *Journal Of Applied Microbiology*, 85: 115-122.

Van Leeuwen, G.M., Legendijk, J.J., Van Leersum, B.J., Zwamborn, A.P., Hornsleth, S.N., Kotte, A.N., 1999, Calculation of change in brain temperatures due to exposure to a mobile phone, *Phys. Med. Biol*, 44: 2367-2379.

Verschaeve, L., Maes, A., 1998, Genetic, carcinogenic and teratogenic effects of radio frequency fields, *Mutation Research*, 410:141- 165.

Verschaeve, L., 1995, Can non-ionising radiation induce cancer ?, *Cancer J*, 8: 237-249.

Voychuk, S.I., Gromozova, E.N., 2005. Changes of surface properties of yeast cell wall under exposure of electromagnetic field (40.68 MHz) and action of nystatin, *The Environmentalist*, 25:139-144.

Wang, J.C., Hu, S.H., Lin, C.Y., 2003, Lethal Effect of Microwaves on Spores of *Bacillus* spp, *Journal of Food Protection*, 66: 604-609.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

Weiss, J.F., Kumor, K.S., Walden, T.L., 1990. Advances in radioprotection through the use of combined agent regimens, *Int. J. Radiat Biol*, 57: 709-722.

William, N.R, 1992, *Environmental and Occupational Medicine*, Second Edition, Little, Brown and company

Wistreich, G.A., Lechtman, M.D., 1980. *Laboratory Exercises in Microbiology*, 4th. Edition, Mc Milan Publishing Co. Inc, New York.

Woo, I., Rhee, I., Park, H., 2000. Differential damage in bacteria cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure, *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2243-2247.

Yürekli, A.I., Ozkan, M., Kalkan, T., Saybasılı, H., Tunceli, H., Atukeren, P., Gümüştas, K., Şeker, S., 2006, GSM Base Station Electromagnetic Radiation and Oxidative Stres in Rarts, *Electromagnetic Biology and Medicine*, 25:177-188.

ÖZGEÇMİŞ

Caner Çolak, Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olup 1983 yılında İzmir’ de doğmuştur. İlköğretimini Türkbirliği İlkokulunda tamamladıktan sonra , 3 yıl Selçuk Yaşar Orta Okulunda eğitim görmüş, Lise 1. sınıfa geçtiği Karşıyaka lisesinden 2000 yılında mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümüne girerek, 2005 yılında Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ağırlıklı Biyolog diplomasını alarak mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilimdalı’ nın Mikrobiyoloji Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır.