



**Türkiye’deki Volkanik Krater Göllerinin Algolojik
Yapısının Belirlenmesi, Mikroalg Kütüphanesi
Oluşturulması Ve Kültüre Alınan Mikroalglerin Endüstriyel
Potansiyellerinin Değerlendirilmesi**

Program Kodu: 3501

Proje No: 112Y029

Proje Yürütücüsü:
Doç. Dr. Turgay ÇAKMAK

Araştırmacı(lar):

Prof.Dr. Aydın Akbulut
Doç.Dr. Turgay Tekinay
Doç.Dr. İlkay Erkaya Açıkgoz

Danışman(lar):

Prof. Dr. Semra Cirik
Prof. Dr. Kazım Yıldız

Bursiyer(ler):

Zeynep Elibol Çakmak
Zeynep Neva Koytak
Elif Koçak

KASIM 2015
İSTANBUL



ÖNSÖZ

Yüksek biyoenerji verimleri ve ürettikleri değerli kimyasal bileşikler sayesinde biyoteknoloji endüstrisinin dikkatini toplayan mikroalgler tatlı, tuzlu,acı ve sodalı sulardan kar ve buzullara, mağaralardan çöller kadar yeterli ışık ve nemin bulunduğu değişik ekolojik koşullara uyum sağlamış ve çoğu ekosistemi ele geçirmiş konumda bulunan antik bir grup teşkil ederler. Jeomorfolojik yapısı, güneşlenme süresi ve iklim özellikleri itibarıyla oldukça zengin bir mikroalg çeşitliliğine sahip olan ülkemizin iç sularında ticari önemi bilinmeyen çok sayıda mikroalg türü bulunmaktadır.

Bu proje ile ülkemizdeki dört mevsim varlığını sürdüren, farklı iklim kuşaklarında bulunan, su özellikleri bakımından farklılık gösteren ve kendine özgü mikroiklim özellikleri sergileyen volkanik krater gölleri olan Nemrut kalderası gölleri, Isparta gölcük krater gölü, Meke gölü (Konya), Acıgöl (Konya), Acıgöl (Nevşehir) ve Süphan Aygır (Bitlis) maar göllerinin mikroalg tür çeşitliliği belirlenmiş, laboratuvar da kültüre alınan mikroalg örneklerinin kriyoprezervasyonu ile bir mikroalg kütüphanesi oluşturulmuş ve kültüre alınan türlerin genel biyoteknolojik özellikleri proje kapsamında değerlendirilmiştir.

Bu araştırma projesi TÜBİTAK tarafından “Kariyer Geliştirme Programı” kapsamında 1 Kasım 2012 - 1 Kasım 2015 tarihleri arasında üç yıl süre ile desteklenmiştir.



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM	7
3.1. Çalışma Alanlarının Tanımlanması	7
3.1.1. Nemrut Kalderası Gölleri (Bitlis).....	7
3.1.2. Süphan Aygır Gölü (Bitlis).....	9
3.1.3. Meke Gölü ve Acıgöl (Konya)	9
3.1.4. Acıgöl (Narlıgöl) (Niğde)	11
3.1.5. Gölcük Krater Gölü (Isparta)	12
3.2. Arazi Çalışmaları ve Örnekleme.....	13
3.3. Mikroalg ve siyanobakterilerin izolasyonu, saflaştırılması, kültüre alınması ve canlılıklarının test edilmesi	14
3.4. Kriyoprezervasyonla mikroalg kütüphanesi oluşturulması	18
3.5. Mikroalglerin genel besinsel özelliklerinin belirlenmesine yönelik analizler	19
3.5.1. Saf mikroalg kültürlerinin büyüme değerleri	19
3.5.2. Toplam protein Tayini	20
3.5.3. Toplam nişasta tayini	21
3.5.4. Toplam lipid tayini	21
3.5.5. Mikroalglerin içerdikleri makro- ve mikroelement kompozisyonlarının belirlenmesi	22



3.6. Mikroalglerin abiyotik stres şartlarına verdikleri genel cevapların tanımlanmasına yönelik analizler	24
3.2. Mikroalglerin atık su arıtımı ve ağır metal gideriminde kullanılabilirliklerinin tanımlanmasına yönelik analizler	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	26
4.1. Volkanik göllerin mikroalgal çeşitliliklerinin belirlenmesi ve mikroalg kütüphanesi oluşturulmasına yönelik elde edilen bulgular	26
4.2. Kültüre alınan türlerin genel biyoteknolojik üstünlüklerinin belirlenmesine yönelik elde edilen bulgular	54
4.2.1. İzolatların İkiye katlanma süreleri	54
4.2.2. Kültüre alınan mikroalglerin kuru ağırlık, protein, nişasta ve lipid içerikleri	57
4.2.3. Mikroalglerin makro ve mikroelement kompozisyonları	61
4.2.4. İzolatların abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdikleri büyüme davranışlarının değerlendirilmesi.....	70
4.2.5. İzolatların ortam element manipölasyonuna cevapta büyümelerinde meydana gelen değişimler	77
4.2.6. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin ağır metal stresine cevapta büyüme davranışlarında meydana gelen değişim.....	86
4.2.7. İzolatların endüstriyel boya giderimi ve atık su arıtımında kullanılabilme potansiyelleri üzerine elde edilen bulgular.....	92
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	96
6. KAYNAKLAR	101

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Nemrut Kalderası ve göllerinin yer bulduru haritası	8
Şekil 2. Süphan Aygır Gölü'nün yer bulduru haritası	9
Şekil 3. Meke Gölü ve Acıgöl'ün yer bulduru haritası	10
Şekil 4. Acıgöl'ün yer bulduru haritası	11
Şekil 5. Isparta Gölcük krater gölü yer bulduru haritası	12
Şekil 6: Mikroalg örneklerinin saflaştırılması ve kültüre alınmasını ana hatlarıyla gösteren şema	16
Şekil 7. Protein tayini için hazırlanmış standart grafik	21
Şekil 8. Kültüre alınan izolatlar	46
Şekil 9. Kültüre alınan izolatların ikiye katlanma süreleri	56
Şekil 10. İzolatların nisbi kuru ağırlıkları (%).	59
Şekil 11. İzolatların protein içerikleri (mgr/gr taze ağırlık)	60
Şekil 12. İzolatların nişasta içerikleri (%kuru ağırlık)	60
Şekil 13. İzolatların toplam lipid içerikleri (%kuru ağırlık)	61
Şekil 14. İzolatların azot (N) içerikleri (%kuru ağırlık)	63
Şekil 15. İzolatların kükürt (S) içerikleri (%kuru ağırlık)	63
Şekil 16. İzolatların Magnezyum (Mg) içerikleri (%kuru ağırlık)	64
Şekil 17. İzolatların Kalsiyum (Ca) içerikleri (%kuru ağırlık)	65
Şekil 18. İzolatların Potasyum (K) içerikleri (%kuru ağırlık)	65
Şekil 19. İzolatların Demir (Fe) içerikleri (%kuru ağırlık)	67
Şekil 20. İzolatların Çinko (Zn) içerikleri (%kuru ağırlık)	68
Şekil 21. İzolatların Bakır (Cu) içerikleri (%kuru ağırlık)	68
Şekil 22. İzolatların Manganez (Mn) içerikleri (%kuru ağırlık)	69
Şekil 23. İzolatların Kobalt (Co) ve Molibden (Mo) içerikleri (%kuru ağırlık)	70

Şekil 24. Sıcaklık değişimine karşı izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim	74
Şekil 25. pH değişimine karşı izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim	75
Şekil 26. CO ₂ ilavesine karşı izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim	76
Şekil 27. Azot ve Kükürt açlığına cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler.	80
Şekil 28. Fosfor açlığına cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler.	81
Şekil 29. Magnezyum açlığına cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler.	83
Şekil 30. Büyütme N yoğunluğu normalden 5 kat fazla olduğu durumda izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler.	84
Şekil 31. Büyütme P yoğunluğu normalden 5 kat fazla olduğu durumda izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler.	85
Şekil 32. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Cd metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.	88
Şekil 33. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Cu metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.	89
Şekil 34. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Pb metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.	90
Şekil 35. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Pb metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.	91
Şekil 36. Çalışılan izolatların Rremazol Brilliant Orange 3R giderim etkinlikleri.	93
Şekil 37. İzolatların %20, %50 ve %100 oranında atık su bulunan büyüme ortamlarında ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.	95

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Mikroalglerin saflaştırılmasında ve kültüre alınmasında kullanılan zenginleştirilmiş besiyerleri.	14
Tablo 2. Çalışmalarda kullanılmış olan primerler ve sekansları.....	17
Tablo 3. Çalışılan göllerin dinamik su kimyası.....	28
Tablo 4. Çalışma'ya konu olan göllerde belirlenen metal değerleri.	30
Tablo 5. Proje bölgesinde teşhis edilen mikroalg türlerinin sistematik sunumu ve göllere göre dağılımları.....	33
Tablo 6. Proje kapsamında genel biyoteknolojik özellikleri değerlendirilmiş olan türlerin listesi.....	47
Tablo 7. Kültüre alınan mikroalglerin ikiye katlanma süresi, büyüme oranı ve bölünme hızları	55
Tablo 8. Çalışılan mikroalglerin %kuru ağırlık, protein, nişasta ve lipid içerikleri	58
Tablo 9. İzolatların makroelement içerikleri.....	62
Tablo 10. İzolatların mikroelement içerikleri	66
Tablo 11. Sıcaklık, pH ve CO ₂ değişimlerine cevapta izolatların ikiye katlanma süreleri.....	72
Tablo 12. Büyüme ortamlarındaki N,S,P ve Mg elementlerinin açlığı ve N,P elementlerinin normalden 5 kat fazla bulunduğu duruma cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerindeki değişimler	78
Tablo 13. Ağır metal stresine cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerindeki değişimler	87



ÖZET

Besin zincirinin temel üreticileri konumunda olan mikroalgler okyanus ve denizlerden tatlı, acı ve sodalı sulara, su sızdıran kayalardan mağaralara, çöllerden sıcak su kaynakları, kar ve buzullara kadar çok değişik ekolojik özelliklere sahip sistemlere adapte olmuş, ototrof ve/veya heterotrof beslenme özelliği gösterebilen, ökaryot ya da prokaryot yapıda ve milyarlarca yıldır varlıklarını çeşitlenerek sürdürebilmiş, su sistemlerinde serbest azotun bağlanması, sudaki ve havada bulunan serbest oksijenin büyük bir kısmının üretiminden sorumlu olan özel mikroorganizmalardır.

Bazı mikroalgler yüzyıllardır Doğu Asya, Kuzey Amerika ve Orta Afrika'nın bazı bölgelerinde yöresel topluluklar tarafından toplanarak kurutulup besin olarak tüketilmektedir. Bilimsel ilerlemeler ile birlikte ancak 19. yüzyılın sonlarında başlatılan kültüre alınma çalışmaları 1900'lü yılların ilk çeyreği içerisinde meyvelerini vermiş, bugün geniş çapta biyokütle ticareti yapılan *Chlorella*, *Spirulina* ve *Dunaliella* türleri ilk olarak bu tarihlerde kültüre alınmıştır. Besleyici özelliklerinden dolayı özellikle 20. yüzyılın ortalarında başlayan mikroalglerden biyokütle eldesi ticarileştirilmiş, mikroalglerin biyoteknolojik değerlendirilmeleri çalışmaları da bu tarihlerde yoğunlukla devam etmiştir. Takip eden kısa süre içerisinde değişik mikroalglerin beslenmeden biyolojik arıtıma, gıda ve ilaç sanayisinden kozmetik ve boya sanayisine ve yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullanımına kadar çok sayıda özellikleri keşfedilmiş ve böylece 20. yüzyılın ortalarında başlayan mikroalg endüstrisi çok kısa sürede oldukça hızlı bir büyüme ve çeşitlenme göstermiştir. Endüstriyel potansiyeli olan yeni türlerin tanımlanması ile birlikte mikroalg endüstrisinin genişleyerek büyüyeceği bilinmektedir.

Üç farklı biyoiklim tipi ve biyocoğrafik bölgeyi içinde bulunduran, ve böylece biyolojik çeşitlilik açısından küçük bir kıta özelliği gösteren ülkemiz mikroalg türleri bakımından oldukça zengindir ve sularımızda ticari önemi bilinmeyen çok sayıda tür bulunmaktadır. Ancak ülkemizde 1980'li yıllardan itibaren ivme kazanan çalışmalarda çoğunlukla iç sularımızdaki alglerin teşhisleri ve yoğunluklarındaki mevsimsel değişimler incelenmiş ve bazı ekolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Mikroalglerin biyoteknolojik uygulamalara yönelik kullanımı üzerine çalışmalar yapan araştırma gruplarının sayısı ülkemizde olması gerekenin çok altındadır ve böylece bu konudaki çalışmalar nispeten yavaş ilerlemektedir.

Bu proje ile ülkemizde dört mevsim varlığını sürdüren, çoğunlukla yer altı suları ile beslenen, özel koruma alanları olarak belirlenmiş, jeolojik oluşumu, iklimsel özellikleri ve su yapısı yönünden birbirinden farklı özellikler sergileyen volkanik krater gölleri olan Nemrut kalderası (Bitlis) gölleri, Gölcük (Isparta) krater gölü, Meke (Konya), Acıgöl (Konya), Narlıgöl (Niğde) ve Süphan Aygır (Bitlis) maar göllerinin algolojik yapılarını belirlenmiş, yapılan örneklemelerle proje kapsamında sekans analizi ile tanımlanmış 57 tür ve morfolojik olarak farklı türler olduğu belirlenen toplam 91 mikroalg ve siyanobakteri türünden oluşan ve proje kapsamında hem kriyoprezervasyonla ve hem de katı agar ortamında saklanan bir mikroalg kütüphanesi oluşturulmuş, kütüphanede bulunan mikroalg ve siyanobakterilerin genel biyoteknolojik üstünlükleri değerlendirilmiştir.

Çalışma alanlarında belirlemiş olan istasyonlardan ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış aylarında örneklenen mikroalg ve siyanobakteriler morfolojik özelliklerine göre mikroskobik analizlerle tanımlanarak çalışma alanlarının mikroalgal biyoçeşitliliği belgelenmiştir. Safılaştırılarak kültüre alınabilecek olan mikroalglerin kriyoprezervasyonla saklanması amaçlı çalışmalar yürütülmüştür. Kültüre alınan mikroalglerin ilk aşamada besleyici değerleri (bölünme hızları, toplam protein, karbohidrat, lipid, klorofil ve karotenoid içerikleri, mikro ve makroelement içerikleri ve toplam antioksidant kapasiteleri) irdelenmiş, daha sonra olağanüstü çevresel şartlara, özellikle sıcaklık değişimlerine, artan CO₂ derişimine ve büyüme ortamındaki element manipulasyonlarına cevapta fizyolojik adaptasyon kabiliyetleri değerlendirilmiştir. Yine ülkemizde değişik atık su arıtma tesislerinden sağlanacak olan atık sular kullanılarak kültüre alınmış olan mikroalglerin atık su arıtımında ve ağır metal gideriminde kullanılabilirlikleri test edilmiştir.

Bu araştırma sayesinde elde edilen algolojik veriler Türkiye mikroalg florası kayıtlarına katkıda bulunacaktır. Yine bu proje ile ülkemizde doğal ortamdan izole edilen mikroalglerin kriyoprezervasyonla saklandığı bir mikroalg kütüphanesi oluşturulmuştur. Son olarak, bu araştırma kapsamında kültüre alınan mikroalgler içerisinde daha önce tanımlanmış bazı türler de tedarik edilerek karşılaştırma materyali olarak kullanılmış ve böylece kültüre aldığımız mikroalglerin genel biyoteknolojik üstünlükleri üzerine bazı makale çalışmaları da yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyoteknoloji, Kriyoprezervasyon, Mikroalg, Mikroalg kütüphanesi, Volkanik krater gölleri



ABSTRACT

Microalgae, as being the primary producers of the food chain, are the special community of procaryotic and eukaryotic organisms that are feeding photoautotrophically, heterotrophically or mixotrophically and responsible for the production of the most of the ionic nitrogen and molecular oxygen on the earth which enrich their biodiversity through the course of evolution and adapted so well to the habitats of oceans, seas, rivers, fresh ad alkaline waters, humid rocks, caves, sands, deserts, brackish waters, snows and glaciers.

Natives in East Asia, North America and Central Africa has been processing and consuming some species of microalgae for thousands of years. As the culturing methods started to emerge at the end of the 19th century, *Chlorella*, *Spirulina* and *Dunaliella* became the first genera to be cultured that all have an enormously growing biomass market today. Thanks to their high nutritional values, microalgae biomass has become popularized in 1950's and the number of studies increases vastly in the following years. Application areas of microalgae to the industry are broadening to include food, cosmetics, pharmaceuticals, bioremediation, dyeing and renewable energy resource industries and the microalgae market grows substantially in recent decades. As the superb characteristics of newly isolated species are surfaced, it is projected that the expansion of this industry will be boosted exponentially.

Our country is a home to exceedingly high number of microalgae species owing to its distinct climates and typical geographic morphology that enhances biodiversity. Therefore, it is certain that Turkey possess many microalgae species that each one of them has great industrial potentials that needs to be discovered. Microalgae studies in Turkey has gain a momentum by 1980's and those studies are generally about the determination of microalgae species in a water system and its ecological importance. There are very few groups doing research about the applications of microalgae to the biotechnology and most of the groups emerge recently causing slow progress in this research field.

With this project, our aim is to **determine the algological characteristics** of the volcanic crater lakes of Turkey, isolate microalgae species to **form a constant microalgae culture collection through the cryopreservation methods** and **assess the biotechnological and industrial potentials** of microalgae species isolated from the lakes. A microalgae culture collection with a sequence-based-identified 57 strain and morphologically characterized 91 strains in total was established. All of the chosen volcanic crater lakes (Nemrut and Süphan Aygır Lakes in Bitlis, Gölcük in Isparta, Meke and Acıgöl in Konya and Narlıkuyu Acıgöl in Niğde) have declared to be "special protection zones" by the ministry and exhibit various geological generation, climatic and limnological characteristics.

Microalgal sampling from the chosen lakes will be performed in spring, summer, autumn and winter at specified locations and classified through microscopic analyses resulting algological profile of the lake. Isolated species will be stored by cryopreservation methods. Nutritional value (total protein, lipid, carbohydrate, chlorophyll, carotenoid, macro and microelement contents and antioxidant capacity) of isolated species will be determined and their physiological adaptation capabilities will be assessed under extreme conditions such as high temperature, high CO₂ ultraviolet radiation and nutrient manipulation. Bioremediation potentials will be tested by growing them in wastewater supplied from some domestic wastewater purification plants.

Accumulated data from this project will contribute to the Turkish microalgal flora records. Besides, a cryopreserved microalgal culture collection will be established for the first time in Turkey. Isolated species will be compared with abundant species to emphasize the biotechnological advantage of our isolates by verified experimental data.

Microalgae library will serve to the research groups in universities and institutes who are working on microalgae and industrial companies that needs microalgal species as their feedstock for the use of commercial purpose.

Keywords: Biotechnology, Cryopreservation, Microalgae, Microalgae Culture Collection, Volcanic Crater Lakes

1. GİRİŞ

Yeryüzündeki bütün canlıların kullandığı enerjinin temel kaynağı güneş enerjisi olup, besin zinciri ökaryot ve prokaryot yapıda olan mikroalgler ve diğer bitkisel organizmaların fotosentez kabiliyetleri sayesinde karbon fiksasyonu ile organik bileşiklerin sentezi ve böylece bu enerjinin değişik kimyasal formlarda diğer canlılara aktarılması ile başlar. Böylece bitkisel organizmalar ve özellikle mikroalgler besin zincirinin temel basamağını oluştururlar. Doğada besin zincirinin ilk halkasını oluşturan mikroalgler güneş ışınlarının ulaştığı her sistemde; denizden tatlı suya, çöl kumlarından sıcak su kaynaklarına, kar ve buza kadar değişen çok sayıda ekosistemde yeterli suyun ve nemin bulunduğu her yerde, hatta bazı bitki ve hayvanların üzerlerinde, taş oyuklarında ve mağara ağızlarında yaşam sürdürebildikleri gibi mantarlarla birlikte farklı iklim koşullarında çok geniş alanlara yayılmış simbiyotik ilişki ürünü olan likenleri oluştururlar (Sasson, 1997). Cyanobacteria (Cyanophyceae), yeşil algler (Chlorophyceae), diatomlar (Bacillariophyceae), sarı yeşil algler (Xanthophyceae), altın sarısı algler (Chrysophyceae), kırmızı algler (Rhodophyceae), kahverengi algler (Phaeophyceae), dinoflagellatlar (Dinophyceae) ve pico-plankton (Prasinophyceae ve Eustimatophyceae) gibi gruplara ayrılmış olan mikroalglerin şimdiye kadar 30000'in üzerinde türü tanımlanmış olup bu rakamdan daha fazla sayıda türe sahip oldukları tahmin edilmektedir (Van den Hoek vd., 1995).

Bazı mikroalgler yüzyıllardır Doğu Asya, Kuzey Amerika ve Orta Afrika'nın bazı bölgelerinde yöresel topluluklar tarafından toplanarak kurutulup besin olarak tüketilmektedir (Spolaore vd., 2006). Bilimsel ilerlemeler ile birlikte ancak 19. yüzyılın sonlarında başlatılan kültüre alınma çalışmaları 1900'lü yılların ilk çeyreği içerisinde meyvelerini vermiş, bugün geniş çapta biyokütle ticareti yapılan *Chlorella*, *Spirulina* ve *Dunaliella* türleri ilk olarak bu tarihlerde kültüre alınmıştır (Mata vd., 2010). Ticari amaçla mikroalg üretimi ilk olarak Japonya'da 1960'ların başlarında *Chlorella* cinsi mikroalgler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunu takiben 1970'li yıllarda Meksika'da *Spirulina* cinsi bazı türlerin ticari üretimi gerçekleştirilmeye başlanmıştır. *Dunaliella* türlerinden özellikle β -karoten kaynağı olarak *D. salina*'nın geniş ölçekli endüstriyel üretimi 1980'li yılların sonlarına doğru ilk olarak Avusturalya'da başlamış ve çok kısa zamanda üçüncü büyük mikroalg endüstrisi haline gelmiştir. Takip eden yıllarda İsrail, Hindistan ve Amerika'da da endüstriyel amaçlı büyük ölçekli *Dunaliella*, *Spirulina* ve *Chlorella* üretimi yapan çok sayıda şirket kurulmuş ve astaksantin bakımından oldukça zengin olan *Haematococcus pluvialis* gibi diğer mikroalg türlerinin de ilavesiyle mikroalg endüstrisi genişlemiştir (Harun vd., 2010). Böylece 30 yıl gibi kısa bir sürede mikroalg endüstrisi çok hızlı bir büyüme ve çeşitlenme göstermiştir. Bu günlerde mikroalg endüstrisi milyarlarca liralık hacmi ile ülkeler için önemli bir ekonomi olma yolunda ilerlemektedir.



Bugüne kadar mikroalglerin kullanım alanları üzerine çok sayıda ve birbirinden değişik öneriler getirilmiştir ve bu konuda bir sınırlama yapmak çok doğru olmaz. Şimdiye kadar tanımlanmış potansiyel kullanım alanları arasında ökaryot ve prokaryot yapıdaki değişik mikroalg türlerinin:

- Gıda olarak; yetersiz ve düzensiz beslenen bireylerin beslenmesinde protein kaynağı,
- Yem katkı maddesi olarak; evcil hayvanlar, kümes ve ahır hayvanların yemlerinde protein ve vitamin kaynağı,
- Su ürünleri yetiştiriciliğinde; yumuşakçalar ve kabuklu deniz hayvanlarının tüm yaşam evrelerinde, eklembacaklı ve balık larvalarının temel besinini oluşturan zooplanktonların üretilmesinde zengin besin kaynağı,
- Yenilenebilir enerji kaynağı olarak; biyometan, biyodizel ve biyohidrojen üretimi için biyokütle ve lipid kaynağı,
- Organik gübre olarak; azot fikse edebilen türlerin yanında kompost halde veya katı gübre olarak biyokütle kaynağı,
- Atıkların biyolojik arıtımında; özellikle sudaki yoğun azot, fosfor ve amonyağın arındırılmasında,
- Ağır metallerin çevreden geri kazanımında; canlı veya kurutulmuş biyokütle kaynağı,
- Küresel ısınmayla mücadelede; yüksek CO₂ seviyelerine toleranslı olan bazı mikroalglerin yoğun CO₂ emisyonunun gerçekleştirildiği endüstriyel bölgelerde ve hatta fabrika bacalarında yetiştirilmesine yönelik biyokütle kaynağı,
- Farmasötik ve terapötik amaçlı; bazı polisakkaritler, lipidler, vitaminler, karotenoidler, enzim ve antibiyotik kaynağı,
- Kimyasal kaynağı olarak; gıda, ilaç ve kozmetik sanayisinde geniş kullanım alanı bulan gliserol, değişik yağ asitleri, vakslar, steroller, hidrokarbonlar, enzim, vitamin ve polisakkarit kaynağı,
- Pigment ve antioksidant kaynağı olarak; gıda, eczacılık, tekstil ve kozmetik sanayiinde kullanılan klorofil a,b,c, β karoten, astaksantin, fikosiyanin, fikoeritrin ve ksantofil gibi bazı organik kökenli pigmentlerin elde edilmesinde biyokütle kaynağı olarak kullanılabilme potansiyelleri ile alakalı değişik araştırmalar rapor edilmiştir (Spolaore vd., 2006, Mata vd., 2010, Pulzo ve Gross., 2004)

Subtropikal kuşakta yer alan ülkemiz coğrafik konumu nedeniyle çeşitli iklim tiplerinin görüldüğü değişik bitki coğrafyası bölgelerinin kesişme noktalarına konumlanmıştır ve bitki çeşitliliği ile endemik türler yönünden dünyanın en zengin ülkeleri

arasında yer almaktadır. Ülkemiz mikroalg türleri bakımından oldukça zengindir ve sularımızda ticari önemi bilinmeyen pek çok tür bulunmaktadır. Ülkemizde şimdiye kadar yapılan çalışmalarda çoğunlukla iç sularımızdaki alglerin teşhisleri ve yoğunluklarındaki mevsimsel değişimler incelenmiş ve bazı ekolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Mikroalglerin biyoteknolojik uygulamalara yönelik kullanımı üzerine yapılan çalışmaların sayısı ülkemizde olması gerekenin çok altındadır. Teknolojideki ilerlemeler sayesinde mikroalglerin kullanım alanlarının daha da genişleyeceği muhakkaktır. Fakat yeryüzünde şimdiye kadar tanımlanmış 30000’i aşkın mikroalg türü bulunmasına rağmen bunların %15 kadarı kültür koleksiyonlarında sürdürülmekte ve ancak 100 kadarından elde edilen bilgiler ışığında yukarıdaki kullanım potansiyelleri belirlenmiştir. Literatür incelendiğinde ticari potansiyel ve ilgi gören bu mikroalglerin çoğunun özel alanlardan izole edilen ırklar olduğu göze çarpar. Örneğin biyodizel üretiminde kullanıma potansiyeli yüksek bir tür olan *Neochloris oleoabundance* türü Suudi arabistanda çöl kumlarından izole edilmiştir (Harun vd., 2010). Yine biyodizel eldesinde kullanılmaya elverişli olan *Botryococcus braunii* türünün yabancıl ırkı tatlı sularda veya fosfat içeriği yüksek sularda geniş bir yayılım özelliği gösterir. Ancak volkanik bir gölden izole edilen bu türün – L ırkı (*B. braunii* –L) ırkı diğer *Botryococcus* türlerinden farklı yağ içeriğine sahiptir ve bu türden ucuz jet yakıtı eldesinde faydalanılabileceği rapor edilmiştir (Frenz vd., 1989). Dolayısıyla bu araştırma projesinde işlendiği gibi farklı bölgelerden mikroalglerin yeni tür ve soylarının izolasyonu, kültüre alınması ve biyoteknolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlı yapılacak araştırmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Türkiye tarım, orman, dağ, step, sulak alan, kıyı ve deniz ekosistemlerine ve bu ekosistemlerin farklı formlarına ve farklı kombinasyonlarına sahiptir. Ülkemiz iç su sistemlerinde 178.000 km uzunluğunda 36 adet akarsu, yaklaşık 9.000 km² alanında 200'e yakın doğal göl ve 800'e yakın gölet, ve yaklaşık 3000 km² alanında 610 baraj gölü bulunmaktadır (Orman ve Su İşleri Bakanlığı Ulusal çeşitlilik eylem planı). Böylesine çeşitli su alanları bulunan ülkemiz iklim özellikleri itibarıyla mikroalg türlerinin çeşitliliği açısından oldukça uygun bir coğrafyada bulunur. Oysa ancak 1970'li yılların sonlarında hız kazanan akademik çalışmalarla birlikte 2005 yılına kadar mikroalglerin tanımlanması ile ilgili rapor edilen makale sayısı yalnızca 179 olmasına rağmen bu çalışmalarda toplam 2030 alg sınıfına ait tanımlanan binlerce tür rapor edilmiştir (Aysel V., 2005). Bununla birlikte ülkemizde farklı araştırmacılar tarafından rapor edilen mikroalg türlerinin bir araya getirildiği veritabanları da hazırlanmaktadır (Şen vd., 2006). Ülkemizde fitoplankton kompozisyonu henüz belirlenmemiş çok sayıda su kaynağı bulunmakla birlikte, artarak devam eden iç sularımızın algolojik yapısının çıkarılması çalışmaları doğal göllerimiz, ve özellikle algal populasyon dinamikleri daha hızlı bir değişim gösterdiği için akarsular ve yapay göllerde ağırlıklı olarak yürütülmektedir (Aysel V., 2005, Gönüol vd., 1996). Yine ülkemiz iç sularının algolojik yapılarının çıkarılması ve mikroalglerin izolasyonları ile ilgili değişik araştırma grupları tarafından tamamlanmış ve devam eden araştırma projeleri mevcuttur (Dalay vd., 2004, Atıcı ve Katırcıoğlu, 2003, Yıldız vd., 2007). Bu projede belirlenen çalışma alanlarının algolojik yapısının çıkarılmasıyla ilgili bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Bu yönüyle proje kapsamında elde edilecek olan bulgular Türkiye mikroalg florasına katkıda bulunacaktır. Ayrıca ülkemizde değişik araştırma grupları tarafından doğadan izole edilen mikroalglerin kültüre alınması çalışmaları sürmekte, ancak kültüre alınan mikroalglerin saklanması ve sürdürülmesi belli bir maliyet ve sürekli iş gücü gerektirdiği için üniversitelerimizde kültüre alınan mikroalglerin sayıları oldukça azdır. Bu araştırma ile kültüre alınacak olan mikroalglerin ayrıca kriyoprezervasyon ile saklanması da amaçlanmıştır. Böylece çok sayıda örnek zaman, iş gücü, alan ve maddi tasarrufla saklanabilecek ve uzun yıllar boyunca ülkemiz mikroalg kütüphanesinin oluşturulması adına önemli bir adım atılmıştır.

Biyokütle ve bazı metabolitleri açısından ticari öneme sahip olan mikroalglerin endüstriyel açıdan değerlendirilmeleri ile ilgili olarak 20. yüzyılın ortalarında başlayan akademik araştırmalar artarak devam etmektedir. Mikroalglerden çok çeşitli yenilenebilir biyoyakıtlar elde edilebilir. Bunlar arasında algal biyomasın anaerobik sindirimi ile metan üretimi, mikroalgal yağlardan biyodizel üretimi ve fotobiyolojik hidrojen üretimi en önemlileridir (Demirbaş, 2010). Mikroalglerden biyoyakıt hammaddesi (biyohidrojen, nötral lipid) eldesi

çalışmalarında ortam abiyotik stres faktörlerinin (ortam element yokluğu-bolluğu, sıcaklık, ışık) biyoyakıt hammaddesi üretimini artırdığı belirlenmiştir (Çakmak vd., 2012, Liv d., 2008). Önerilen bu araştırma projesinde incelenmesi planlanan krater gölleri yapıları itibarıyla etrafı yüksek volkanik kayalarla çevrili, kendine has su yapısı ve mikroiklim özelliği sergileyen alanlardır.

Yüksek CO₂ seviyelerine toleranslı olan bazı mikroalg türlerinin yoğun CO₂ çıkışının olduğu sanayi bölgelerinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Brennan ve Owende 2010). Ticari ilgi görmüş olan ve çoğu besleyici özelliği aydınlatılmış olup tablet, toz, kapsül veya sıvı halde insanların tüketimi için satışa sunulan bazı *Spirulina*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Nostoc* ve *Aphanizomenon* türlerinin yanında bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinden kalp hastalıklarına, astım ve migren gibi hastalıklar için kullanılan çoklu doymamış yağ asitleri (DHA, EPA ETA gibi) bakımından zengin olan başlıca bazı *Pavlova*, *Nannochloropsis*, *Muriellopsis*, *Schizochytrium*, *Cryptocodinium* ve *Isochrysis* türlerinin (polaore vd., 2004; Harun vd., 2010; Pulz ve Gross., 2004) çok güçlü bir antioksidan etkiye sahip bir pigment olan astaksatini yüksek miktarda biriktirme özelliğine sahip olan bazı *Haematococcus* türlerinin (Torzillo vd., 2003), vitamin içerikleri bakımından zengin olan bazı *Pavlova*, *Stichococcus* ve *Tetraselmis* türlerinin (Brown vd., 1999) insan ve hayvan beslenmesinde direkt kullanımı, bazı *Botryococcus*, *Scenedesmus* ve *Chlorella* türlerinin (Pulz ve Gross., 2004) atık su arıtımında kullanımı açısından ticari potansiyele sahip oldukları yönünde önemli bulgular rapor edilmiştir. Görüldüğü gibi farklı biyoteknolojik uygulamalar için çok farklı sınıflardan mikroalgler kullanılabileceği gibi aynı cinse ait mikroalgler de birbirinden farklı amaçlarla kullanılabilir. Nitekim yukarıda bahsedilen çoğu cinse ait bazı türlerin ağır metal gideriminden (Monterio vd., 2012) organik pigment eldesine (Singh vd., 2005) kadar çok sayıda kullanım potansiyelleri olduğu bildirilmekte, aynı türler farklı biyoteknolojik özelliklerine göre çalışıldığında ya da aynı biyoteknolojik özellik için farklı mikroalg türleri test edildiğinde mikroalglerin endüstriyel kullanım alanları hem çalışılan mikroalg çeşitliliği ve hem de çalışılan biyoteknolojik özelliklerle birlikte sürekli genişlemektedir. Bu araştırma projesinde, kültüre alınabilecek olan tüm mikroalglerin yöntem kısmında tanımlanan analizlerle biyoteknolojik üstünlükleri belirlenmeye yönelik çalışmalar yürütülmüştür.

Mikroalglerin biyoteknolojik kullanımı ile ilgili ülkemizde yapılan araştırmalar yine geç başlamakla birlikte 2000'li yıllara kadar, Çolak ve Kaya (1988) tarafından yapılan araştırmada olduğu gibi, atık suların arıtılmasında ve ağır metal gideriminde bazı mikroalglerin kullanımı üzerine gerçekleştirilmiştir ki önemli ekonomik potansiyeli olduğundan bu konu ile ilgili çalışmalar halen ülkemizde sürdürülmektedir (Dönmez vd.,

1999; Saçan ve Balcioğlu., 2001; Elmacı vd., 2005; Aslan ve Kapdan., 2006; Şeker vd., 2008). Son 10 yıl içerisinde mikroalg üretimi için fotobiyoreaktör tasarımları (Aslan, 2005; Karagın Yılmaz 2006; Öncel ve Sukan., 2008), ticari değeri yüksek olan bazı *Spirulina*, *Chlorella*, *Haematococcus* ve *Isochrysis* türlerinin ticari üretimi ve besleyici değerleri ile ülkemiz iklim koşullarında yetiştirilmeye uygunluğu (İmamoğlu vd., 2009; Tokuşoğlu ve Ünal., 2003; Dalay vd., 2001; Oğuz vd., 2011), mikroalglerden biyokütle veriminin artırılması ile ilgili olarak farklı besin kaynaklarının kullanılması (Dalay vd., 2007; Göksan ve Gökpınar., 2010), algal antioksidanlar (Gökpınar vd., 2010), mikroalglerden astaksantin ve β -karoten gibi değerli ürünler eldesi (İmamoğlu vd., 2009) ve biyodizel verimliliğinin artırılmasına (Önal, 2010) yönelik önemli çalışmalar rapor edilmiş ve artarak devam etmektedir. Son olarak ülkemiz iç sularından izole edilen değişik mikroalglerin balık ve yumuşakça kültüründe besinsel destek olarak kullanılmaları (Göksan, 2011), uzun zincirli yağ asitlerinin üretiminde (Elibol, 2009), likopen eldesinde (Conk Dalay M, 2010) atık su arıtımı ve biyodizel eldesi (Gürol, 2009; Cirik, 2007; Tekinay, 2010) amacıyla kullanımına yönelik çoğu henüz bitmiş ya da devam eden değişik muhtevada, çoğu TÜBİTAK tarafından desteklenmiş önemli araştırma projeleri mevcuttur. Böylece ülkemizde mikroalgleri konu alan çalışmalar giderek zenginleşmektedir. Bu projenin ülkemizdeki mevcut çalışmalara katacağı katkı, doğadan izole edilerek kültüre alınabilecek türler içerisinde biyoteknoloji çalışmalarında kullanıma uygun olan yeni mikroalg türlerini sunmaktır ve bu kapsamda çalışmalarımız proje sonrasında da yoğunlukla sürecektir. Dolayısıyla mevcut proje ile başlayan çalışmalarımızı ekonomik getiri sağlayacak çıktılar elde ederek sürdürmek bu proje kapsamında benimsenen temel prensibimizdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanlarının Tanımlanması

3.1.1. Nemrut Kalderası Gölleri (Bitlis)

Bir volkanın üst kısmı büyük bir gaz patlaması sonucunda havaya uçar ya da bacanın içine çökerse geride kalan büyük çukura “kaldera” ya da “patlama kazanı” denir. Van gölünün batısında, yakın zamana kadar volkanik faaliyetini sürdürmüş olan (en son 1441 yılında püskürmüştür) Nemrut stratovolkanının doruk noktası deniz seviyesinden 2935 metre yüksekliktedir. Bu volkanın tepesinde bulunan ve büyük bir patlama ile meydana gelen, ortalama 680 m derinliğinde ve yaklaşık 40 km²'lik bir yüzölçümüne sahip olan Nemrut Kalderası 42° 15' 25" - 42° 24' 48" kuzey enlemleri +38° 31' 11" - 38° 36' 12" doğu boylamları arasında bulunur ve ülkemizin volkanizma faaliyetleri açısından en karakteristik ve orjinal yeryüzü şekillerinden birisidir (Şekil 1). Bu kaldera, içerisinde yer alan büyüklü küçüklü 5 göl, çok sayıda lav çıkış merkezi, lav hunisi, sıçratma konisi, sıcak su kaynakları, orjinal fauna ve florası ve kendine has mikroiklim özellikleri ile tam bir tabiat harikasıdır. Nemrut dağındaki orman örtüsü, kalderanın iç duvarlarında 2900 m'ye kadar çıkmaktadır ki bu da yer yer 650 m derinliği olan kalderanın kendi mikroiklim özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Nemrut kalderası 2003 yılında “tabiat anıtı” olarak ilan edilmiştir.

Türkiye'nin en büyük krater gölü olan Nemrut Gölü bu kalderanın batı kesiminde, tabanda bulunur. Bir hilal şeklinde ve yaklaşık 15 km² lik bir yüz ölçümüne sahip Nemrut Gölü'nün yüzeyi, deniz seviyesinden 2247 m, Van Gölü'nden ise 600 m yüksekliktedir. Yüzey akımları, cılız pınarlar ve Ilıgöl'ün suları ile beslenen Nemrut gölü tatlı su özelliğindedir ve su derinliği ortalama 100m'dir. Nemrut gölünde bir takım belirgin olmayan sıcak buhar çıkışları ve gaz boşlukları bulunmaktadır. Az miktarda gaz çıkışı kaldera tabanında aktiftir. Gölde sonradan konulan ve hızla üreyen sazan balıkları yaşamaktadır.

Nemrut kalderasının kuzeydogu kısmına ise Nemrut jeotermal kaynaklarıyla beslenen ve yaklaşık 120 hektarlık bir alanı kaplayan Ilıgöl yerleşmiştir. Göl 600 m uzunlukta ve 500 m genişliktedir. Ilıgölün su sıcaklığı kış aylarında ortalama 15-20°C, yaz aylarında ise 45-50°C dolaylarındadır. Ilıgölü besleyen sıcak su kaynakları bikarbonat ve sodyumlu sulardır, bol miktarda karbondioksit (CO₂) de ihtiva etmektedir. Kaynak sularının total mineralizasyonları ise litrede 1 gramın üzerinde ve pH değeri 6,2 dir. Kıyılarında seyrek bitki örtüsü bulunan Nemrut Gölü'nün aksine, sıcak su kaynaklarıyla beslenen Ilıgöl çevresinde bir miktar sazlık görülür. Su yüzeyi kış aylarında çoğunlukla donan Nemrut gölüne kıyasla Ilıgölün suları hiç bir zaman donmaz.

Nemrut kalderasının doğu kısmında mevsimsel olarak oluşan 3 göl daha bulunur. Bu göllerin suları da tatlı su özelliğindedir ve yağmur ve kar suları ile beslenir. Bitki örtüsünün nispeten daha zengin olduğu bu alanlarda da örnekleme yapılmıştır.



Şekil 1. Nemrut Kalderası ve göllerinin yer bulduru haritası

3.1.2. Süphan Aygır Gölü (Bitlis):

Van gölünün kuzey kesmine yerleşmiş, 4058 m'lik doruğuyla ülkemizin üçüncü yüksek dağı olan Süphan volkanik Dağı'nın güney eteklerinde 1950 m seviyesinde tüfler içinde bulunan ve 350 hektarlık alanı kaplayan Aygır gölü bir krater gölüdür. Süphan Dağından gelen kar suları ve dipten kaynaklayan yeraltı suları ile beslenen bu göl 30 m derinliğindedir. Krater gölü Bitlis iline bağlı Adilcevaz ilçesi sınırları içerisinde, 42° 48' 8"-42° 51' 1" kuzey enlemleri ve 38° 47' 31"-38° 47' 31" doğu boylamları arasında yer alır (Şekil 2). Su ürünleri için belirlenen su kalite kriterleri açısından uygun durumdadır. Gölde aynalı sazan ve dört farklı alabalık çeşidi yetiştirilmektedir (25 ton/yıl).



Şekil 2. Süphan Aygır Gölü'nün yer bulduru haritası

3.1.3. Meke Gölü ve Acıgöl (Konya):

İç Anadolu Bölgesi'nde Meke gölü Konya ilinin 94 km doğusunda kalan Karapınar ilçesinde, Konya'ya 101, Karapınar ilçe merkezine 8 km uzaklıkta güneydoğuda 37° 40' 32"- 37° 41' 33" kuzey enlemleri ve 33° 38' 36" - 33° 38' 61" doğu boylamları arasında bulunmaktadır (Şekil 3). Meke gölü ve çevresi 1989 yılında "1. Derece doğal sit alanı" olarak ilan edilmiştir. Meke gölü ayrıca Özel Kuş Alanı statüsündedir. Sönmüş bir volkan kraterinin suyla dolmasıyla oluşan ve ortasında adacıklar bulunan, dünyada nadir bulunur özellikle bir oluşuma sahip olan Meke Gölü iç içe iki krater gölünü barındırır. Göl ve birincil krater çukurunun uzunluğu 800 m, genişliği 500 m dir. Meke Gölü deniz seviyesinden 981 m yükseklikte ve 12 metre derinliğindedir. Ana Meke'nin ortasında bulunan ve su seviyesinden 50 m yükseklikte içinde ikinci bir göl bulunan volkan konisi 25 m derinliktedir suyu tuzludur. Göl kar suları, mevsimsel oluşan küçük akıntılar, ve magnezyum ve sodyum sülfat bakımından zengin yeraltı suyu ile beslenir.

Konya ilinde, şehir merkezine 102 km uzaklıkta olan Acıgöl, Karapınar ilçesinin 9 km kadar doğusunda, 37° 42' 25" – 37° 43' 45" kuzey enlemleri ve 33° 39' 18" – 33° 40' 30" doğu boylamları arasında bulunmaktadır (Şekil 3). Yaklaşık 120 hektarlık bir alanı dolduran göl elips şeklindedir ve kuzeybatı-güneydoğu doğrultusundaki Uzun eksenini 1750 m, kısa eksenini ise 1250 metre olup kıyı uzunluğu yaklaşık 5700 metredir (Şekil 3). 1. Derece doğal sit alanıdır. Göl yeryüzü seviyesinden 70 m aşağıda olup doğusu sığdır. Suyu sülfatlı tuzlar bakımından zengindir ve yer altı suları ile beslenir.



Şekil 3. Meke Gölü ve Acıgöl'ün yer bulduru haritası

Meke gölü ve Acıgöl orta iklim kuşağında yer alır ve bölgede karasal iklim görülür, sıcaklık farkı büyüktür. Yıllık sıcaklık ortalaması 10,9°C olup en sıcak ay ortalaması (Temmuz) 22,6°C iken en soğuk ay ortalaması (Ocak) 0,4 °C dir. Gölün ortalama su sıcaklığı 11,6/yıl olmakla birlikte temmuz (22,1/ay) ve ağustos (23,1/ay) aylarında en yüksek düzeylerde, kış aylarında ise en düşük düzeylerde seyrederek. Yıllık yağış ortalaması 281 mm² dir. Türkiye'nin tek çölü Meke gölü ve acı gölün bulunduğu Karapınar ovasında bulunmaktadır. Bu yönüyle de çalışma alanı özeldir.

3.1.4. Acıgöl (Narlıgöl) (Niğde):

Niğde'nin 75 km doğusunda bulunan Çiftlik ilçesinde 38° 20' 50" kuzey enlemleri ve 34° 29' 28" doğu boylamları arasında yer alır (Şekil 4). Çapı 500 m olan bir krater gölüdür. Suyu acı ve tuzludur, yağış ve yer altı suları ile beslenir. Dibinden gazların da çıktığı su kaynakları vardır. Kraterin derinliği 50 m kadardır. 1993 yılında 1. Derece sit alanı ilan edilerek koruma altına alınmıştır. Acıgölün içinde bulunduğu acıgöl maarı duvarlarının maar göl tabanından yüksekliği 62m dir. Gölün deniz seviyesinden yüksekliği 1246 m dir. Yarı kurak bir iklimin hüküm sürdüğü bu yörede ortalama yağış miktarı 389 mm / yıldır. Yaz günlerinin ortalama sıcaklığı 29.5°C, kışın ise 10.9°C dir.



Şekil 4. Acıgöl'ün yer bulduru haritası

3.1.5. Gölcük Krater Gölü (Isparta):

Gölcük krater gölü Akdeniz Bölgesi'nde Isparta İli Merkez İlçe sınırları içerisinde yer almaktadır. Gölcük Gölü, Güneybatı Anadolu'nun tek kaldera gölüdür. Çalışma alanı Isparta kent merkezine 12 km uzaklıktadır ve kentin güney batısında, 37° 41' 04" - 37° 45' 03" kuzey enlemleri ve 30° 27' 40" - 30° 35' 33" doğu boylamları arasındadır (Şekil 5). Gölcük gölü ve çevresi 1991 yılında "Tabiat Parkı", 1992 yılında "1. Derece doğal sita alanı" ilan edilmiştir. Gölcük Kalderası ve bu kalderanın tabanındaki Gölcük Gölü, Göller Yöresi göllerinden her yönü ile farklıdır. Küçük bir krater gölü olan Gölcük Gölü çapı yaklaşık 2200 m çapında ve 1390 m taban yüksekliği olan kaldera tabanının kuzey kısmında 76 hektarlık bir alanı kapsar. Gölcük Kaldera tabanı ile çevresi arasında 200 m'den fazla yükselti farkı vardır. Göl, yağışlı mevsimlerde yüzeysel akışa geçen mevsimsel derelerden, göl yüzeyine doğrudan düşen yağışlardan ve dipten gelen kaynaklarla beslenmektedir. Gölcük gölü ve çevresinde tipik akdeniz iklimi hüküm sürmekte olup gölün ortalama su sıcaklıkları 12,1/yıl olmakla birlikte Temmuz (23,2/ay) ve Ağustos (22,9/ay) aylarında en yüksek düzeylerde, Ocak (1,7/ay) ve Şubat (2,8/ay) aylarında ise en düşük düzeylerde seyredir. Çalışma alanındaki yıllık yağış ortalaması 558,7 mm/yıl düzeyinde, buharlaşma değerleri ise 363,5 mm/yıl düzeyindedir.



Şekil 5. Isparta Gölcük krater gölü yer bulduru haritası.

3.2. Arazi Çalışmaları ve Örneklemeler

Bu araştırma projesi ile çalışılması planan volkanik krater göllerinde belirlenen örneklemeler istasyonlarından ilk 1 yıl boyunca dört mevsimin karakteristik özelliklerinin görüldüğü 1 Temmuz-15 Ağustos; 1 Ekim-15 Kasım; 1 Ocak-15 Şubat; 1 Nisan-15 Mayıs tarihleri arasında örneklemeler yapılmıştır. Çalışma alanlarında örneklemeler;

- Fitoplanktonik komünitelerin örneklenmesi için göl suyundan (fitoplankton kepçesi ile),
- Epipelik komünitelerin örneklenmesi için gölün kenar kısmında güneş ışınlarının ulaşabildiği derinlikte bulunan dip kısmındaki sedimanlardan ve kumlardan (0,8 cm çapında, 100-150 cm uzunluğunda cam çubuklar yardımıyla ışınal yönlerde taramalar yaparak),
- Epilimik komünitelerin örneklenmesi için göl kenarında bulunan su içerisindeki taşlardan,
- Epifitik komünitelerin örneklenmesi için gölde veya göl kenarında bulunan bitkilerden örnekler alınmıştır.

Fitoplanktonik örnekler, 45 mikrometre por çapına sahip fitoplankton kepçesi yardımıyla dikey, yatay ve kıvrımlama çekim yöntemleriyle toplanmıştır. Ayrıca, suyun fiziksel kimyasal analizleri ve klorofil a tayini için 2'şer litrelik kavanozlarla da göl suyundan örneklemeler yapılmıştır. Laboratuvara ulaştırmada çabukluk, örneklerin canlı kalmasında önem arzettiğinden bu hususa dikkat edilmiştir. Her bir istasyondan toplanan fitoplanktonik örnekler ikiye bölünüp bir kısmı tür teşhisi amacıyla %4'lük formaldehit çözeltisi bulunan plastik kavanozlarda ayrı bir şekilde ağzı kapalı olarak laboratuvara ulaştırılmıştır. Diğer kısmı ise bir miktar göl suyu ile ayrı kavanozlara alınıp, kavanozlardaki örnekler eğer +3-4 °C sabit bir sıcaklıkta tutularak konsantre edilmeden hızlıca laboratuvara ulaştırılmaya çalışılmıştır.

Bağlı yaşayan alg örnekleri, her istasyondan su içinde bulunan taşlar ve canlı bitki veya suya düşen bitki parçaları üzerinden kazınarak %4'lük formaldehit içerisinde (tanımlama için) veya bir miktar göl suyu içerisinde taş ve bitki parçaları ile birlikte (izolasyon için) laboratuvara taşınmıştır. Göl suyuna konulan örnekler, içinde bulunan alg türlerinin devamlılığını sağlarken; formaldehitte bulunan örnekler mikroskop analizi ve tür sınıflandırması için kullanılmıştır. Ayrıca çamur ve sediman örnekleri kavanoz içerisinde iyice çalkalanacak, bir süre karanlıkta bekletilerek çöktürülecek, çökeltinin üzerindeki sıvı uzaklaştırılacak, çökelti petri kaplarına alınarak, üzerlerine 22x22 mm'lik lameller kapatılıp bir süre gün ışığında bekletildikten sonra kenarda biriken sıvı uzaklaştırılmış; lamellere fototaksi yolu ile yapışan algler için lamellerin bir kısmı izolasyon için sıvı besiyerinde

yıkanmış, diğer lameller ise gliserin kullanarak geçici preparatlar haline getirilip alglerin teşhisi için kullanılmıştır. *Bacillariophyta* üyeleri kalıcı preparatlar hazırlanarak (Round, 1984), diğer mikroalgler için ise geçici preparatlar hazırlanarak tanımlanmışlardır. Örneklenen mikroalglerden diatomların (Niels, 1980; Round 1984) ve diatom dışı alglerin (Prescott, 1979) sınıflandırılmasında ve alglerin teşhisinde konu ile ilgili kaynaklardan yararlanılmıştır (Guiry ve Dhoncha, 2003; Hou vd., 1999).

Bunun yanında, göl sularının dinamik kimyasını yansıtan sıcaklık, pH, bulanıklık, tuzluluk, iletkenlik, çözülmüş oksijen, toplam çözülmüş katı derişimi, nitrat ve amonyum yoğunlukları proje kapsamında aldığımız YSI Professional multiparametre okuyucu ile sahada ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Yine göl suyundaki makro ve mikro element konsantrasyonları, Bilkent-UNAM laboratuvarlarında bulunan ICP-MS cihazıyla belirlenmiştir.

3.3. Mikroalg ve siyanobakterilerin izolasyonu, saflaştırılması, kültüre alınması ve canlılıklarının test edilmesi

Numunelerin mikroskop ile yapılan tespitlerine göre kendilerine uygun ön zenginleştirme besi ortamlarına (Tablo 1) alınacak ve oda sıcaklığında 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde kültürlerin tekrar mikroskopik incelemeleri yapılmış ve tür tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Kültüre alınan türler sürekli olarak agar ortamında ve sıvı ortamda inkübe edilerek mikroskopta inceleme ile saflıkları ve canlılıkları takip edilmiştir.

Tablo 1. Mikroalglerin saflaştırılmasında ve kültüre alınmasında kullanılan zenginleştirilmiş besiyerleri.

Kullanılan zenginleştirilmiş mikroalg besiyeri ortamları	Büyümesi beklenen alg sınıfları
CHU-10	BA, C,CR, CY, R
Bold Basal Medium	C,CR, CY, R
Ag diatom	BA
TAP	C
Modifiye DYIII	CR
Allen, FW, BG-11	CY
Modiyife Allen Ortamı	R
BA=Bacillariophyceae, C=Chlorophyceae, CR=Chrysophyceae, CY=Cyanophyceae, R=Rhodophyceae	



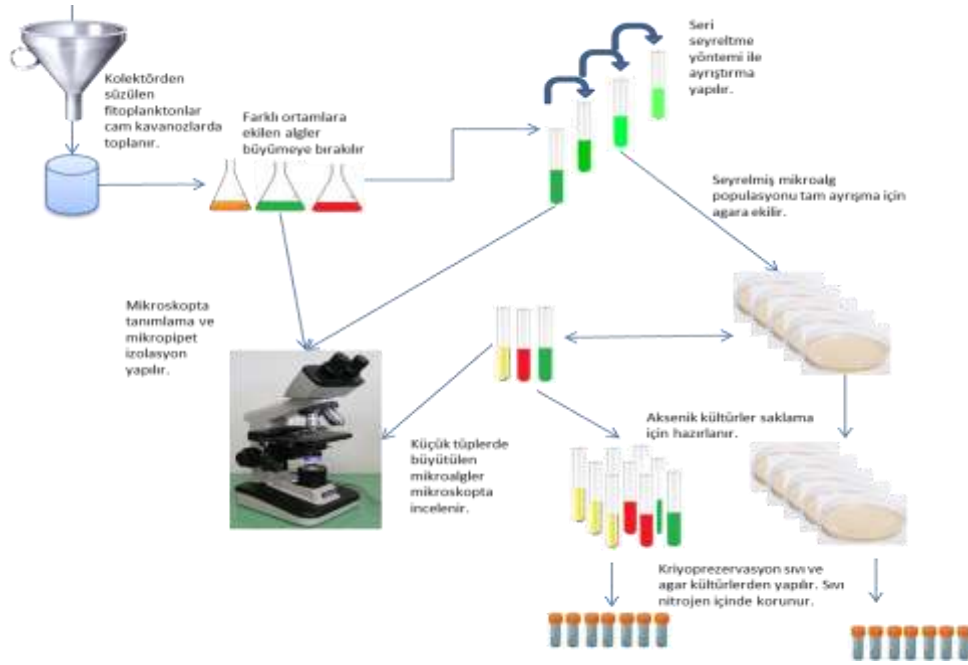
Kültürlerin izolasyonunda mikromanipulasyon, gravite santrifüj ve seyreltme yöntemleri olmak üzere üç ayrı yöntem kullanılmıştır (Marcilla vd., 1998).

Mikromanipulasyon tekniğinde; 3 damla steril besi ortamı bir lam üzerine alınmış, zenginleştirilmiş besi ortamındaki karışık kültür birinci damlaya bir mikro pipet yardımıyla konulup, mikroskop altında izole edilmek istenilen hücre veya hücre grupları mikropipet yardımıyla alınmıştır. Alınan bu sıvıdan ikinci ve üçüncü damlalara geçilmiştir. Üçüncü yıkamadan sonra bu damla steril sıvı ve katı besi ortamlarına alınıp, uygun sıcaklık ve ışıktaki inkübasyona bırakılmıştır.

Gravite santrifüj yönteminde orta hızda santrifüjle kirli sıvı örnek katmanlarına ayrılır ve her bir katman ayrı ayrı kültürlerle koyulur. Fitoplanktonlar ve siyanobakterler dönme kuvvetine bağlı olarak çoğunlukla orta ve üst kısımda yer alırlar. Alt kısımda toprak ve taş parçaları ve zooplanktonlar yer alırken üst kısımda bakteri ve virüsler çoğunlukludur. Böylece santrifüjlenme ile ayrılacak örnekler mikroskopla incelenerek uygun zenginleştirilmiş besiyerlerine aktarılacak ve seyreltme yöntemi ile saf kültürlerin eldesi sağlanmaya çalışılmıştır.

Seyreltme yöntemleri genellikle besi yeri ortamında iyi büyüeyebilen mikroalglerin izolasyonunda başarılı bir yöntemdir. Fakat aksenik kültürlerin eldesi için bakteri kontaminasyonundan kurtulmaya yeterli değildir. Bunun için antibiyotik uygulaması gibi yöntemler de kullanılmıştır. Seri seyreltmede mikroskobik incelemelerle belirlenecek olan türler için seyreltme yapılmıştır. Genel hatları ile seyreltme yönteminde uygulanan yol şu şekilde özetlenebilir:

- a) İçlerinde steril 8 ml besiyeri çözeltisi bulunan 10 deney tüpünden ilkinde 2 ml zenginleştirilmiş numuneden konulup iyice karıştırılmıştır.
- b) Daha sonra bu tüpten aseptik koşullarda 2 ml alınarak bir sonraki tüpe aktarılmıştır. Bu işlem 10. Tüpe kadar tekrar edilmiştir.
- c) Uygun sıcaklık ve ışıktaki bu tüpler inkübasyona bırakılmış ve 15 gün sonra dilüsyon tüplerinden mikroskobik çalışma yapılmıştır.
- d) Tüplere düşen tek hücreler katı ve sıvı ortamlara alınarak saf kültürler üretilmiştir.
- e) İzolasyon yöntemleri çoğu zaman belirli bir metodu izlemez, gözlem ve kantitatif analizler sonucu duyulan ihtiyaca göre en uygun metoda karar verilir ve uygulanır. Bu yüzden net bir metot akış şeması çıkarmak oldukça karmaşıktır. İzolasyon için uyguladığımız deneysel akış şeması basit haliyle Şekil 6'da resmedilmiştir.



Şekil 6: Mikroalg örneklerinin saflaştırılması ve kültüre alınmasını ana hatlarıyla gösteren şema.

Saflaştırılan ve tanımlanan mikroalgler için literatür taraması yapılarak hazırlanmış olan uygun besiyeri ortamlarına alınmış ve uygun sıcaklık ve ışık altında saf kültürleri sürdürülmüştür. Kültürü başarılı örneklerin kesin tür teşhisleri sekans analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla türlerin genomik DNA'ları izole edilmiş ve mikroalg ve siyanobakteriler için sırasıyla 18S ve 16S rRNA'sını kodlayan gen sekansını ve 5.8S ile 28S rRNA arasındaki bölgeyi kodlayan sekansı amplifiye edebilecek primerler tasarlanmış ve izole edilen mikroalg türlerinin çoğunluğunun sekanslama ve filogenetik analiz yapılmıştır. Amplifiye edebilecek primerler literatür taraması yapılarak belirlenmiş ve farklı primerler kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin listesi tablo 2'de sunulmuştur. Proje kapsamında kültüre alınan siyanobakteriler için genomik DNA izolasyonunda daha önce çok sayıda siyanobakteri türünde etkili izolasyon sağladığımız bir ticari kit (ZYMO plant/seed DNA izolasyon kiti) kullanılmış, ökaryotik yapıda olan mikroalgler için ise proje kapsamında başarıyla uyguladığımız ve (Winneppenninckx B. vd. 1993, Aljanabi ve Martinez, 1997) yayınlarından modifiye ederek kullandığımız CTAB metodu takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. Çalışmalarda kullanılmış olan primerler ve sekansları

Primer Adı	Oryantasyon	Primer sekansı (5'-3')	Hedef	Uygulama
18S rRNA	Forward	TGATCCTTCYGCAGGTTAC	Eukaryota	PCR
	Reverse	ACCTGGTTGATCCTGCCAG		PCR
18S rRNA	Forward	ATTGGAGGGCAAGTCTGGT	Eukaryota	Sekans
	Reverse	ACTAAGAACGGCCATGCAC		Sekans
18S SSU	Forward	TGGTTGATCCTGCCAGTAG	Chlorophyta	PCR+Sekans
	Reverse	TGATCCTTCCGCAGGTTAC		PCR+Sekans
Plastid primerleri	Forward	CGWATTTTCCDAGATATGGGC	Chlorophyta +Rhodophyta	PCR+Sekans
	Reverse	ATGTATGCKTTTTAGATCGT		PCR+Sekans
Plastid primerleri	Forward	ACTTCHGGTGCHAGHGAWATAATT	Chlorophyta +Rhodophyta	PCR+Sekans
	Reverse	GAAACHCGDATGGGDTCKGG		PCR+Sekans
rbcLa	Forward	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	Chlorophyta	PCR+Sekans
	Reverse	GTAAAATCAAGTCCACCRCG		PCR+Sekans
27F	Forward	AGAGTTTGATCMTGGCTC	Cyanophyta	PCR+Sekans
	Reverse	TTGGGCGTAAAGCGTAG		PCR+Sekans
27F 809R	Forward	AGAGTTTGATCMTGGCTC	Cyanophyta	PCR+Sekans
	Reverse	GCTTCGGCACGGCTCGGGTCGATA		PCR+Sekans
PCβF PCαR	Forward	GGCTGCTTGTTCACGCGACA	Cyanophyta	PCR+Sekans
	Reverse	CCAGTACCACCAGCAACTAA		PCR+Sekans
cpc_ar	Forward	TCGAAGATCGTTGCTTGAACG	Cyanophyta	PCR+Sekans
	Reverse	TTAGGTCCCTGCATTTGGGTG		PCR+Sekans
CYA359	Forward	GGGGAATCTTCCGCAATGGG	Cyanophyta	PCR+Sekans
	Reverse	GACTACAGGGGTATCTAATCC		PCR+Sekans
16S	Forward	CTATGACGGGTATCCGGC	Cyanophyta	PCR+Sekans
	Reverse	ATTCCACCTACCTCTCCCA		PCR+Sekans
URP1	Forward	GAATCTTTATTTACATGWGG	Rhodophyta	PCR+Sekans
	Reverse	AGAAGAAGGWGGAAGACAT		PCR+Sekans

3.4. Kriyoprezervasyonla mikroalg kütüphanesi oluşturulması

Saflaştırılan mikroalglerin katı veya sıvı olarak hazırlanmış uygun besiyeri ortamlarında sürekli olarak yenilenmesi sayesinde mikroalg kültürleri sürdürülebilir. Yine 10% ile 1% arasında değişen ışık konsantrasyonları ve normalden 5 ila 10 °C daha düşük sıcaklıklarda sıvı ya da konsantre agar ortamda mikroalg türlerinin çoğu aylarca korunabilir. Fakat iş gücü, zaman, ve maddi külfet bir yana, bu yöntemlerin kültürleri ne kadar zarar verdiği (özellikle genetik sürüklenme) tartışma konusudur. Çok uzun süreli saklama konusunda en güvenilir metod kriyoprezervasyon (dondurarak saklama) metodudur. Dünyada bir çok mikroalg koleksiyon merkezinde mikroalgler artık çoğunlukla kriyoprezervasyonla saklanmaktadır. Bu araştırmada kriyoprezervasyon amaçlı takip edilecek yöntem daha önce UTEX (Teksas Üniversitesi Mikroalg Koleksiyon Merkezi) laboratuvarlarında denenmiş ve başarılı bir şekilde 700'e yakın mikroalg türü kriyoprezervasyonla saklanmaktadır (<http://www.sbs.utexas.edu/utex>). Kriyoprezervasyon için kullanılacak mikroalgler durağan büyüme evresinde iken alınmışlardır.

Deneyden bir gün önce kriyoprezervasyon için kullanılan özel kutulara %15 yoğunlukta DMSO konup 1 dereceye kadar soğutulmuştur. Yine kullanımdan birkaç saat önce, kriyovialleri tutacak olan kriyovial saklama kabı sıvı azot içerisinde tutularak soğutulmuştur. 1,5 ml sıvı mikroalg kültürü kriyovial tüplerine alınarak içerisine 500 ul %20'lik metanol çözeltisi bulunan büyüme ortamı eklenmiştir. Kriyovial tüpler yavaşça çalkalanmış ve içinde izopropanol içeren özel kutulara alınarak -80 °C'de 2 saat süreyle tutulmuştur. Daha sonra çıkarılan kriyovial tüpler saklama kabına alınarak sıvı azot içerisine bırakılarak saklanmıştır (Day vd Brand., 2006).

Kriyoprezervasyon için izlenen bir diğer yol da; Kryoprotektan olarak %10 gliserol, %15 DMSO veya bazı durumlarda %8 derişimde Polyvinylpyrrolidone ve trehaloz karışımı kullanılmıştır. Çoğu durumda %10 gliserol veya %15 DMSO istikrarlı sonuçlar vermiştir. Ekspansiyal büyüme evresini tamamlamış olan mikroalg ve siyanobakteri örneklerinden 100ul alınarak içerisinde 500ul %10 derişide gliserol bulunan kriyotüplere aktarılmış ve tüpler, kontrollü soğutucu da dakikada 1°C düşüş ile 45-50 dk içerisinde sıcaklık -30°C'ye gelene kadar bekletilmiş, daha sonra doğrudan sıvı azot içerisine alınarak saklanmıştır (Day, 2007).

Kriyoprezervasyonla saklanan mikroalglerin canlılıkları belli sürelerde test edilmiştir. Bu amaçla, enzim aktivitesinin maksimum olduğu sıcaklığa getirilmiş saf suya sıvı azottan çıkarılan mikroalg çabucak konulmuştur. Kriyovialdeki tüm buzlar eriyinceye kadar (yaklaşık 2 dk) hafifçe çalkalanmış ve hemen orta süratte santrifüj ile mikroalgler çöktürülmüştür. Kroyoprotektan içeren saklama besi yeri ortamı nazikçe uzaklaştırılmış ve

zengin besi yeri ortamı eklenerek bir süre bırakılmıştır. Bu işlem bir kez daha tekrarlandıktan sonra örnekler uygun besiyeri bulunan erlen mayerler içerisinde uygun sıcaklık ve ışık altında inkübasyona alınarak büyüme takip edilmiştir (Day, 2007; Elsey vd., 2007).

3.5. Mikroalglerin genel besinsel özelliklerinin belirlenmesine yönelik analizler

Bu amaçla kültüre alınan mikroalglerin *büyüme hızları, toplam lipid, nişasta, protein, toplam klorofil ve karotenoid içerikleri ve mikro ve makroelement içerikleri* belirlenmiştir. Büyüme hızı, nötral lipid ve karbonhidrat tayini için canlı, diğer ölçümler için santrifüjlenerek sıvı azotta dondurulup -80°C de muhafaza edilen örnekler kullanılmıştır.

3.5.1. Saf mikroalg kültürlerinin büyüme değerleri

Proje kapsamında toplam 43 farklı türün ikiye katlanma süreleri ile spesifik büyüme hızları sunulmuştur. Mikroalg ve siyanobakterilerin büyüme değerlerinin belirlenmesi için tek hücreli mikroalglerin büyüme eğrisinin çıkarılmasında katı ortamdan sıvı ortama ekilerek 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmış sıvı hücre kültüründen hücreler Neubauer sayma kamarası kullanılarak sayılmış ve yeni kültür 250ml lik erlen mayer'lerde 3×10^4 hücre ile toplam 125 ml hacimde olmak üzere ilgili büyüme ortamları kullanılarak başlatılmıştır. İnkübasyonun 1., 3., 5., 7., 10., 15., 20., 30., günlerinde 3 ml mikroalg örneği alınarak 680 ve 720 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri yapılmış ve değerler kaydedilmiştir. İki dalga boyundan daha iyi absorbans değerleri kaydedilen veriler kullanılmıştır. Böylece tek hücreli mikroalg ve siyanobakterler için büyüme eğrileri çıkarılmıştır. İpliksi yapıda siyanobakterlerin büyüme değerlerinin belirlenmesinde ise stok kültürden alınan 10mg mikroalg örneği katı ortama ekilmiş, ekimden sonra 10., 20., ve 30., günlerde ağırlık ölçümleri yapılarak ipliksi mikroalglerin ikiye katlanma süreleri ağırlık esas alınarak hesaplanmıştır. Ölçümler ile elde edilen absorbans veya ağırlığa dayalı veriler aşağıdaki formülasyonda kullanılarak ikiye katlanma süreleri ve spesifik büyüme hızları (günlük büyüme hızı) hesaplanmıştır (Lim vd. 2012).

$$\text{İkiye katlanma süresi} = (t_y - t_x) / \log_2 (N_y / N_x)$$

$$\text{Büyüme oranı } (\mu) = (\ln N_y - \ln N_x) / (t_y - t_x)$$

$$\text{Bölünme hızı} = \mu / \ln(2)$$

*Formülde N_y ve N_x ; absorbans değerleri; t_y ve t_x ise ölçümün alındığı son ve ilk zamanı gösterir

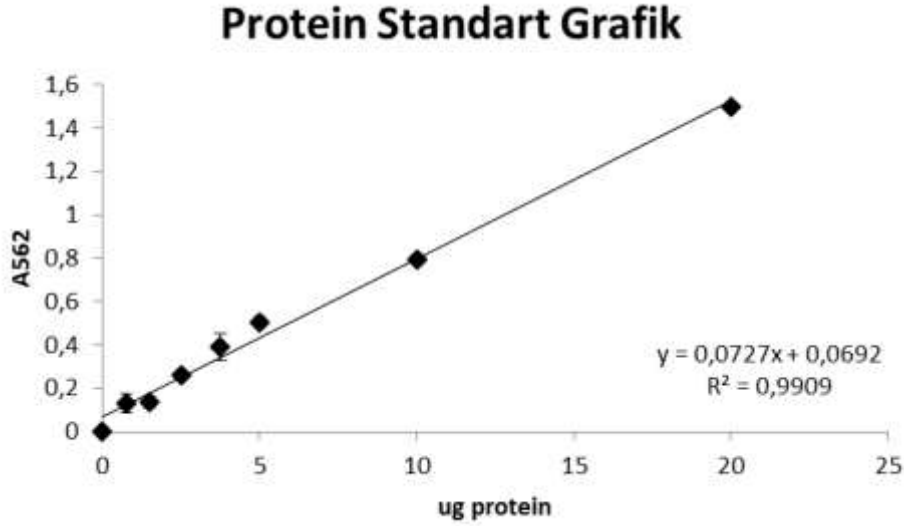
Mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri, büyüme oranları ve bölünme hızlarının belirlenmesi amacıyla net olarak en yüksek büyüme hızının görüldüğü iki dar zaman aralığında alınan değerleri kullanmak yerine eksponensiyal büyümenin görüldüğü 3-10. günlerde alınan veriler kullanılmıştır. Böylece genel olarak eksponensiyal evrede meydana gelen büyüme değişimleri daha açık sunulmuştur.

3.5.2. Toplam Protein Tayini

Örneklerdeki protein miktarı Bradford metodu kullanılarak bazı modifikasyonlar ile belirlenmiştir (Bradford, 1976; Cynthia vd., 2010). Metod proteindeki peptid bağlarının CuSO_4 çözeltisindeki Cu^{+2} iyonlarının Cu^{+1} iyonlarına indirgenmesi ve Cu^{+2} iyonlarının indirgenmesiyle paralel olarak meydana gelen renk değişiminin spektrofotometrede okunması esasına dayanır.

1. Protein ekstraksiyonu için lizis tamponunda önce sıvı azot içerisinde dondurulduktan sonra dondurucuya kaldırılmış olan mikroalg örnekleri oda sıcaklığında bir süre tutularak erimesi sağlanmıştır.
2. Daha sonra örnekler 5 dk sonikasyona maruz bırakılmıştır.
3. Sonrasında örnekler tekrar sıvı azot içerisinde 1 dk bekletilmiş ve oda sıcaklığında çözülmeleri beklenmiştir.
4. Bir sonraki basamakta örnekler vortekslenmiş ve 3 dk süre ile tekrar sonikasyon banyosunda bekletilmişlerdir.
5. Daha sonra örnekler $13000 \times g$ 'de $+4^\circ\text{C}$ 'de 20dk santrifüj edildiler.
6. Her bir örneğin üzerinden 200 μl süpernatant yeni etiketlenen eppendorf tüplerinin içine pipetlendi ve geriye kalan örneklerin pelletleri atıldı.
7. En son sıvı azotta dondurularak -80°C 'e kondular.
8. Protein tayini öncesi ısı fırını 60°C 'ye ayarlandı.
9. Çalışma solüsyonu karışımı: 1 kat %4 bakır sülfat / 50 kat Bicinchoninic asit solüsyonu (Sigma) oda sıcaklığında karanlıkta saklandı.
10. Standartlar hazırlandı. Standart için 0,5 mg/ml Bovin Serum Albumin çözeltisinden kuyucuklara sırasıyla 0, 1.5, 3, 5, 7.5 ve 10 μl ilave edilerek son hacim saf suyla 10 μl 'ye tamamlandı. Daha sonra esas çalışma için mikroalg ekstraktlarından 5 μl alınarak 96 kuyucuklu mikropalakaya aktarıldı ve son hacim 10 μl 'ye tamamlandı.
11. Daha sonra hazırlanmış olan çalışma solüsyonundan 190 μl alınarak örnekler ve standartların üzerine ilave edildi.

12. İçerisinde standart ve örnekler bulunan 96 kuyucuklu mikrolapka 60°C de 30 dk boyunca inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda örnekler 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve meydana gelen renk değişimi 562 nm de okunmuştur.
13. Elde edilen değerler, bovin serum albumin ile hazırlanmış olan standart grafikten yola çıkılarak mg protein/gr örnek olacak şekilde hesaplanmıştır.



Şekil 7. Protein tayini için hazırlanmış standart grafik

3.5.3. Toplam nişasta tayini

Sıvı kültürden toplanarak santrifüjlenmiş ve 80°C de 48 saat kurutulmuş olan mikroalg örneklerinden 100 mg tartılarak alınmış nişasta izolasyonu için örnekler üzerine 10 kat hacimde %80 etanol ilave edilerek 90°C'ye ayarlanmış su banyosu içerisinde, inkübasyon süreleri değişmekle birlikte örnekler tümüyle homojenize oluğ, mikroalg/etanol çözeltisi tümüyle renksiz bir hal alınca kadar inkübe edilmiştir (süre örneğe göre 10 dk ile 70 dk arasında değişmiştir). İnkübasyondan sonra eşit hacimde %35'lik perklorik asit ilave edilmiş, 5 dk vortekslenildikten sonra 2 ml H₂SO₄ ilave edilerek 3 dk daha karıştırılan örnekler süzülerek 625 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen değerler glukoz standartları kullanılarak % nişasta % kuru ağırlık olarak sunulmuştur (Nielsen, 2010).

3.5.4. Toplam lipid tayini

Mikroalglerin içerdikleri toplam lipid miktarı Bligh ve Dyer (1959)'a göre yapılmıştır. İzlenen deneysel yol aşağıda detaylandırılmıştır.

1. Farklı ortamlarda inkübasyona bırakılan mikroalglerden farklı hacimlerde mikroalg örnekleri, ağırlığı önceden tartılarak kaydedilmiş olan falkon tüpüne alınarak 5000 rpm devir hızında 3 dk santrifüjlendi, sıvı atıldı ve tüp tartıldı. Tüp içerisinde 1g mikroalg örneği oluncaya kadar aynı şekilde mikroalg örnekleri tüp içerisine alınarak santrifüjlendi ve süpernatant atıldı.
2. Tüp içerisinde bulunan mikroalgler ddH₂O ile iki kez yıkandı
3. Tüp içerisine 10 ml metanol ilave edildi ve 30 sn vortekslendi
4. Daha sonra 5 ml kloroform ve 1 ml ddH₂O ilave edilip 30 sn vortekslendi
5. Tüpler 3500 g devir hızında, 20 °C sıcaklıkta 15 dk boyunca santrifüjlendiler
6. Üst kısımda bulunan metanol/su tabakası uzaklaştırıldı
7. Alt kısımda bulunan metanol/kloroform tabakası bir pastör pipeti yardımı ile önceden tartılmış temiz bir tüpe aktarıldı
8. Arta kalan katılar 4-7. basamaklar tekrar uygulanarak katılarda bulunan lipidler de alınmış oldu
9. Elde edilen lipid sıvısı Whatmann no 1 filtre kağıdı kullanılarak filtrelendi ve rotary evaporator kullanılarak (40°C sıcaklık ve düşük basınç altında) metanol ve kloroformun buharlaştırılması sağlandı.
10. Tüpler tekrar tartılarak lipid miktarı ağırlıksal olarak hesaplandı. Örnekte bulunan lipid miktarının yüzde olarak hesaplanmasında ise aşağıdaki formül kullanıldı
$$\text{Lipid yüzdesi} = (\text{ekstrakt edilen lipid miktarı (gr)} / \text{mikroalg örnek ağırlığı (g)}) \times 100$$

3.5.5. Mikroalglerin içerdikleri makro- ve mikroelement kompozisyonlarının belirlenmesi

Göl suyunda ve mikroalglerin yapısında bulunan diğer makro ve mikroelementlerin miktarsal tayini ICP-MS cihazı kullanarak gerçekleştirilmiştir. Göl suyunun analizi için su orta hızla santrifüjlenerek üstte kalan kısım Whatmann no 1 filtre kağıdından iki kez süzülecek ve analiz için cihaza verilmiştir. Mikroalgler ise kül fırınında 450 °C'de 48 saat boyunca yakılmış, daha sonra derişik nitrik asit içerisinde sıvılaştırılacak olan kül seyreltilerek Whatmann no 1 filtre kağıdından iki kez süzölmüş ve analiz için cihaza verilerek elde edilecek olan değerler kaydedilmiştir.

Mikroalglerin içerdikleri element konsantrasyonlarında meydana gelen değışimlerin belirlenmesinde aşağıdaki yol takip edilmiştir.

- a. Ölçüm için her gruptan -80°C 'de saklanan mikroalgler (30mg/kuru ağırlık) oda şartlarına alınmış ve çift deiyonize su ile vorteksledikten sonra 5000 rpm devir hızında 5 dk santrifüjlemek suretiyle yıkanmıştır. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır.
- b. Daha sonra mikroalgler kül fırınına alınmak üzere krozeler içerisine aktarılmış ve 450°C 'ye ayarlanmış kül fırını içerisinde 48 saat bekletilmiştir.
- c. Kül fırınından çıkarılan örnekler 1 ml saf nitrik asit içerisinde 24 saat boyunca bekletilmiş, daha sonra $0.22\mu\text{m}$ 'lik filtreden geçirilen örnekler ddH₂O ile 50 kat seyreltildikten sonra (%2 nitrik asit) ICP-MS tüplerine aktarılmış ve analiz gerçekleştirilmiştir.

Örneklenen mikroalglerin yapılarında bulunan N ve S elementlerinin konsantrasyonlarında meydana gelen değişimlerin belirlenmesi ICP-MS analizi ile mümkün değildir. Bu sebeple bu elementlerin ölçümü için Thermo Scientific Flash 2000 Series Elemental Analiz Cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz, $950-1000^{\circ}\text{C}$ deki yüksek sıcaklıkta yaklaşık 2 mg olarak tartılan katı veya sıvı organik bileşiği yakma yoluyla örnekteki element yüzdelere tayin etmektedir. Cihazda taşıyıcı gaz olarak Helyum gazı (He), yakıcı gaz olarak ise Oksijen gazı kullanılmaktadır. Katı, sıvı veya gaz örneklerde bulunan anorganik ve organik maddelerin yapısında bulunan N ve S 'ün aynı anda tayinine yönelik bir cihazdır (<http://www.istanbul.edu.tr/merkezler/itl/CihazElemental.html>).

- a. Ölçüm için ilk aşamada 8-10 mg arası Vanadium oksit tartılmış ve darası alınmıştır.
- b. Üzerine kurutulmuş mikroalg örneğinden 3.6-3.8 mg arasında olacak şekilde numune, kalay bir kapsüle konuldu ve daha sonra yakılarak yükseltgenmesi sağlandı.
- c. Sonuçta oluşan gaz karışımı, taşıyıcı inert bir gaz (He) ile bir kromatografi kolonuna gönderilir. Burada oksijen gazı ile yakılarak oluşan ve ayrılan karışım gazları bir termokondüktif dedektöre yönlendirilerek ayrılan her bir gazın miktarı ile orantılı bir elektrik sinyali elde edilir. Bu elektrik sinyali daha sonra spektrumda elde edilen eğri alanlarıyla orantılı olarak örneğin elementel bileşim yüzdesini verir. Kantitatif yanma işlemini tam olarak yapmak için yanma gaz karışımı bir yükseltgen katalizör bölgesine gönderilir (CuO). Daha sonra Bakır (Cu)'ın bulunduğu bir indirgenme bölgesinde azot oksitler ve SO₃ indirgenir. Böylece N₂, CO₂, H₂O ve SO₂ karışımı bir TCD detektörle tek tek tespit edilir. Böylece elde edilen değerler excell ortamında değerlendirilerek mikroalglerdeki N ve S elementlerinin miktarlarında meydana gelen değişimler değerlendirilmiştir (Tarozzi vd., 2004).

Mikroalglerin toplam klorofil ve karotenoid içerikleri mikroalg örneklerinin %90 aseton içerisinde 15 dk inkübe edildikten sonra 14000g devir hızında 5 dk boyunca

santrifüjlenerek süpernatantın 470, 630, 647, 664 ve 750 nm dalga boylarında verdikleri absorbans değerlerinden yararlanılarak ölçülmüştür (Jeffrey ve Humphrey, 1975).

3.6. Mikroalglerin abiyotik stres şartlarına verdikleri genel cevapların tanımlanmasına yönelik analizler

Mikroalg ve siyanobakterilerin değişik abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdikleri büyüme davranışlarının analizi amacı ile mikroalgler değişik sıcaklık, pH, CO₂, ve makroelement açlığı ile bolluğu ortamlarında kültüre alınmışlardır.

Kültüre alınan mikroalg ve siyanobakterilerin büyümeleri üzerine sıcaklık değişimi (15°C ve 35°C), pH (pH=4 ve pH=12) ve CO₂ (%2 ve %5) yoğunluğundaki değişimin etkilerini araştırmak için mikroalgler kendilerine özgü besin çözeltilerinde kontrol (kontrol grubundaki hücrelerin pH değerleri genelde 6-8 arasında değişmektedir ve kontrol grubu mikroalgler 25°C sabit sıcaklıkta kültüre alınmıştır) grubuna karşı bahsedilen ortamlarda mikroalgler daha önce bahsedildiği şekilde (3×10^4 hücre/ml başlangıç yoğunluğu ve 30 günlük inkübasyonun 1., 3., 5., 7., 10., 15., 20., 30.günlerinde alınan A680 ve A720 absorbans değerleri alınarak büyüme eğrisinin çıkarılması) başlatılmış ve ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır. Tek hücreli mikroalg ve siyanobakterilerin büyüme değerlerinin belirlenmesinde absorbans, ipliksi yapıda siyanobakterilerin büyüme özelliklerinin belirlenmesinde ise ağırlık ölçümü dikkate alınmıştır.

Mikroalg ve siyanobakterilerin CO₂ kullanma etkinliklerinin belirlenmesi için laboratuvarımızda bulunan çoklu kültüratör sistemi kullanılmıştır. Sıcaklık ve pH uygulamalarının yapıldığı grupların büyümeleri 30 gün boyunca takip edilmiş, zaman ve tekrar sayısı sebebi ile CO₂ uygulaması için ise 7 günlük bir inkübasyon süresi tutulmuştur. CO₂ uygulaması için kullandığımız çoklu kültüratör sistemi 8 kanallıdır, dolayısıyla aynı zamanda 8 örneğin ölçülmesine olanak sağlar. Bu sebeple diğer gruplardan elde edilen veriler en az 3 tekrarlı olsa da CO₂ kullanım etkinliği için kullanılan veriler 2 biyolojik tekrardan elde edilen verileri yansıtmaktadır. Bunun yanında, diğer gruplar 3×10^4 hücre/ml ile başlatılmış iken CO₂ uygulamasında eksponensiyal evreyi yansıtan 3×10^5 hücre/ml ile başlatılmış 2-7. günlerde alınan büyüme verileri baz alınarak ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır.

Diğer gruplarda ise 30 günlük inkübasyonun 3-10. günlerinde elde edilen veriler kullanılarak eksponensiyal ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır. Yapılan uygulamaların genel olarak eksponensiyal büyüme evresinde meydana getirdiği değişikliklerin



belirlenmesi amaçlanmış, en yüksek büyümenin görüldüğü 1 gün gibi dar bir zaman aralığı yerine bu aralık daha geniş tutulmuştur.

3.7. Mikroalglerin atık su arıtımı ve ağır metal gideriminde kullanılabilirliklerinin tanımlanmasına yönelik analizler:

Bu amaçla İstanbul'da Tuzla Biyolojik atık su arıtma tesislerinden sağlanmış olan drenaj atık suyu kullanılarak mikroalgler üç hafta süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İyi büyüme gösterdiği belirlenen bazı türler için çalışma tekrarlanmış ve üç haftalık inkübasyon periyodu boyunca her hafta alınan su örneklerinin nitrat ve fosfat içeriklerindeki değişim ve mikroalglerin büyüme hızları belirlenmiştir. Pozitif sonuç gözlemlenen mikroalglerin element içerikleri ve toplam nötral lipid içerikleri de analiz edilmiştir.

Mikroalglerin ağır metal gideriminde kullanılabilirliklerini test etmek amacıyla büyütme ortamlarında literatürde o ağır metal için belirlenen yüksek konsantrasyonlarda ağır metal (bakır, çinko, civa, kadminyum, nikel, kurşun) bulunan ortamlarda 10 gün süre ile inkübasyona bırakılmış ve büyüme grafikleri çıkarılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu proje ile ülkemizde dört mevsim varlığını sürdüren, çoğunlukla yer altı suları ile beslenen, özel koruma alanları olarak belirlenmiş, jeolojik oluşumu, iklimsel özellikleri ve su yapısı yönünden birbirinden farklı özellikler sergileyen volkanik krater gölleri olan Nemrut kalderası (Bitlis) gölleri, Süphan Aygır (Bitlis), Meke (Konya), Acıgöl (Konya), Narlıgöl (Niğde) maar gölleri ve Gölcük (Isparta) krater gölünün; Mikroalgal çeşitliliğinin belirlenmesi, saflaştırılarak kültüre alınabilen mikroalglerden bir mikroalg kütüphanesi oluşturulması ve kriyoprezervasyonla saklanması ve kültüre alınan türlerin genel biyoteknolojik üstünlüklerinin belirlenmesi çalışmaları yürütülmüştür.

4.1. Volkanik göllerin mikroalgal çeşitliliklerinin belirlenmesi ve mikroalg kütüphanesi oluşturulmasına yönelik elde edilen bulgular

Ülkemizdeki volkanik göllerin mikroalgal çeşitliliğinin tespitine yönelik yapılan çalışmalar projenin ilk yarısı içerisinde tamamlanmıştır. Hem çalışılan göllerin göl sularının dinamik özellikleri, hem de mikroalgal çeşitliliği belirlenmiştir. Bu kapsamda yapılan arazi ve laboratuvar çalışmalarında proje kapsamında çalışılan göllerden kış, ilkbahar ve yaz dönemlerinde yapılan örneklemeler sonucunda 226 farklı takson mikroskobik inceleme ile tanımlanmış ve 102 tür saflaştırılmıştır.

Proje kapsamındaki altı gölün büyüklükleri ve sahip oldukları farklı habitat özellikleri de dikkate alınarak istasyonlar belirlenmiş ve dört mevsim boyunca yapılan örneklemelerde aynı istasyonlardan örnekler alınmıştır. Plankton, epipelon, epifiton ve epilimon'dan alınan numunelerdeki algler, sistematik açıdan incelenmiştir.

Çalışılan göllerin genel su özelliklerini yansıtan; sıcaklık, tuzluluk, pH, çözünmüş oksijen, spesifik iletkenlik, toplam çözünmüş katı oranı, amonyum ve nitrat iyonu yoğunlukları değerleri dört mevsim boyunca çoklu parametre okuyucu cihazı kullanılarak arazi çalışması sırasında ölçülmüştür. Elde edilen veriler Tablo 3'de sunulmuştur.

Bu araştırma projesine konu olan göller volkanik göller olma özelliklerinin yanı sıra göl sularının yapılarının da birbirinden farklı özellikler sergilediği belirlenmiştir. Konya'da bulunan Meke Gölü ile Acıgöl tuzlu su özelliğinde, Nemrut Gölü, Gölcük ve Aygır Gölleri de tatlı su özelliğindedir. Diğer taraftan Niğde'de bulunan Narlıgöl çok tuzlu olmamakla birlikte Nemrut ve Aygır göllerinden yaklaşık olarak 8 kat, Gölcük gölünden ise 16 kat daha yüksek tuz içeriğine sahiptir. Bunun yanında Konya'da bulunan Meke gölü ve Acıgöl

Narlıgölden sırasıyla ortalama 76 kat ve 32 kat daha fazla tuz yoğunluğuna sahiptir (Tablo 3).

Yıl boyunca her mevsim yapılan ölçümlerde göllerdeki tuz konsantrasyonunun fazla değişmediği anlaşılmıştır. Yalnızca Meke gölü bu duruma istisna bir değişim sergilemiştir. Konya'da bulunan Meke gölü suyundaki çözünmüş tuz konsantrasyonu kış ve ilkbahar dönemlerinde ortalama 173 ppt iken bu değer yazın 141,5 ppt ve sonbahar döneminde de 89,8 ppt olarak ölçülmüştür. Bu durum elbette yağmur suları ile beslenen Meke gölünde sıcak yaz aylarında meydana gelen su buharlaşmasının sonucudur. Dahası Ekim ayı sonunda yapılan arazi çalışmasında suyun önemli oranda azaldığı, tuz öbeklerinin olduğu görülmüştür. Dolayısı ile göldeki su miktarının azalması ile birlikte çözünmüş tuz konsantrasyonunda da önemli düşüşler kaydedilmiştir. Bununla birlikte kış ve ilkbahar döneminde hafif bazik olan Meke gölünün suyu sonbahar döneminde hafif asidik olmuş, çözünmüş oksijen konsantrasyonu ilkbahar ile kıyaslandığında sonbaharda yaklaşık olarak 4.7 kat düşmüştür.

Yine baskın azot formu amonyum olmakla birlikte çalışılan göller içerisinde amonyum konsantrasyonunun en yüksek değer olarak kaydedildiği göl Meke gölüdür. Ancak göldeki amonyum ve nitrat konsantrasyonları da önemli mevsimsel değişiklikler sergilemiştir (Tablo 3). Bu durum göldeki mikroalg çeşitliliğini de etkilemektedir.

Tablo 3. Çalışılan göllerin dinamik su kimyası. Projenin ilk yılı içerisinde arazi çalışması yapılan göllerdeki (a) sıcaklık, tuzluluk, (b) çözünmüş oksijen, pH, (c) toplam çözünmüş katı oranı, spesifik iletkenlik, (d) amonyum ve nitrat yoğunluklarında meydana gelen değişimler. Aynı dönem içinde diğer göllerle kıyaslandığında en yüksek olduğu belirlenen değerler koyu olarak işaretlenmiştir. Kış döneminde Nemrut gölüne, yola çığ düşmesi nedeniyle, ulaşılamadığından kış dönemi için ölçüm alınamamıştır.

(a)	Sıcaklık (C)				Tuzluluk (ppt)			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	4,1	13,5	21,6	11,6	0,17	0,23	0,2	0,21
Gölcük Gölü	6,7	17,8	24,8	14,3	0,12	0,12	0,11	0,11
Meke Gölü	7,6	24,3	30,4	15,6	170,1	176	141,5	89,8
Acıgöl	6,5	20,5	23,2	12,5	60,3	60	61	62
Narlıgöl (gölet)	18,6	21,4	44,6	33,7	1,4	1,94	1,47	1,35
Narlıgöl	5,1	18,8	25	14,2	1,9	1,86	1,84	1,93
Nemrut Gölü		10,6	20,4	10,9		0,25	0,25	0,23
Nemrut-İlisu		13,3	24,7	16,6		0,62	0,68	0,71
(b)	Çözünmüş oksijen (mg/L)				pH			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	11,5	8,9	4,9	5,1	7,8	7,76	8,36	7,92
Gölcük Gölü	10,344	8,12	4,51	8,96	8,06	8,5	8,6	9,05
Meke Gölü	3,248	3,6	0,83	0,77	7,713	7,73	7,24	6,81
Acıgöl	6,3913	9,05	2,26	4,5	7,82125	8,16	8,13	8,28
Narlıgöl (gölet)	10,24	6,3	1,03	2,53	8,66	6,67	6,72	6,66
Narlıgöl	8,6433	9,8	5,07	7,9	7,35833	8,12	7,9	7,84
Nemrut Gölü		10,7	10,23	9,85		8,13	8,64	8,4
Nemrut-İlisu		7,31	7,36	7,65		8,1	7,9	8,1
(c)	Toplam çöz. katı oranı (g/L)				Spesifik iletkenlik (uS/cm)			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	243	304	271	289	223,6	468	417	395
Gölcük Gölü	161	161	154	156	248,509	247	237	241
Meke Gölü	129837	131710	110955	77674	199759	201560	170710	119487
Acıgöl	56655	55185	56030	57200	87158,8	84925	86428	88000
Narlıgöl (gölet)	1748	2392	1898	1729	2694	3680	2930	2665
Narlıgöl	2395	2284	2276	2366	3684,83	3515	3508	3668
Nemrut Gölü		330	338	345		509	524	545
Nemrut-İlisu		799	884	964		1230	1356	1450
(d)	NH4 (mg/L)				NO3 (mg/L)			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	3,11	0,04	0,04	0,06	0,29	1,62	0,8	0,8
Gölcük Gölü	4,67	0,14	0,08	0,07	0,66	2,25	1,1	0,9
Meke Gölü	193	8,2	28,6	45,9	32,3	51,8	62,5	58,2
Acıgöl	81,2	4,2	3,82	12,6	68,2	21,4	22,8	23,5
Narlıgöl (gölet)	18,4	0,51	0,44	0,93	9,83	39,22	18,2	15,5
Narlıgöl	5,59	0,74	1,01	2,12	2,91	45,9	25,9	18,4
Nemrut Gölü		0,39	0,32	0,35		1,16	1,1	1,4
Nemrut-İlisu		0,47	0,2	0,42		1,56	1,3	1,2

Göllerin dinamik su özelliklerini belirten fiziksel parametreler belirlendikten sonra göllerde bulunan ve mikroalgler tarafından mikrobesein elementi olarak kullanılabilen bazı metallerin (Boron (B), Mangan (Mn) Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Molibden (Mo)) yanında yaşamları için düşük miktarlarda dahi toksik olan Krom (Cr), Arsenik (As), Kadminyum (Cd) ve Kurşun (Pb) gibi bazı metal iyonlarının yoğunluklarını belirlemek üzere göl sularının ICP-MS aletinden faydalanılmıştır (Tablo 4). Farklı zamanlarda (kış, ilkbahar, yaz ve sonbahar) yapılan ICP-MS ölçümlerinde bazı elementler için elde edilen değerler (özellikle Bor, Demir ve Molibden) birbirinden oldukça farklı çıkmıştır. Bu durum ölçüm için farklı zamanlarda kullanılan standart çözeltilerden kaynaklanabilir. Diğer taraftan element analizi için kullanılan su numuneleri atılmamış, 4oC'de saklanmıştır. Bu dönemde tek bir standart çözelti kullanılarak tüm mevsimlere ait örnekler tekrar analiz edilecek ve mevcut sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte, farklı zamanlarda yapılan ölçümler kendi içinde kıyaslandığında göllerde bulunan element yoğunluğunun kıyaslanması ile kalitatif sonuçlara ulaşmak mümkündür. Elde edilen verilere göre tatlı su özelliği gösteren Aygır gölü ve Gölcük göllerinde metal iyonları genel olarak nispeten düşük konsantrasyonlarda bulunmuş olsa da Nemrut Gölünde önemli oranda Cr birikiminin olduğu kaydedilmiştir. Tuzluluk özelliği ön plana çıkan diğer göllerde metal iyonları konsantrasyonları yüksek değerlerde bulunmuştur. Tuzluluk içeriği en yüksek düzeyde olduğu belirlenen Meke Gölünde B, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Mo ve Cd değerleri en yüksek düzeyde bulunmuştur. Bir önceki rapor döneminde sunulan kış, ilkbahar ve yaz dönemleri için elde edilen veriler genel olarak sonbahar döneminde yapılan ölçümlerle uyumlu çıkmış, genel sonuçları değiştirebilen önemli veriler ölçülmemiştir.

Tablo 4. Çalışma'ya konu olan göllerde bulunan metal değerleri. En yüksek konsantrasyonda bulunan değerler koyu olarak işaretlenmiştir. Kış, ilkbahar ve yaz dönemlerinde alınan su örneklerinden elde edilen sonuçlar verilmiştir. Bir önceki rapor döneminde sunulmayan sonbahar dönemi örnekleme sonuçları da tabloya eklenmiştir.

	11B				52Cr			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	6,314	5,78	6,71	6,1	0,083	1,82	1,718	0,9
Gölcük Gölü	0,294	1,02	1,3	0,8	0,275	0,15	0,671	0,4
Meke Gölü	4596	3856	3410	2265	2,4	1,95	2,092	1,85
Acıgöl	1014	1244	1785	1921	0,9	0,74	1,35	0,8
Narlıgöl (gölet)	210,5	155	243	215	0,2	0,51	0,535	0,4
Narlıgöl	442,1	232	385	326	0,2	0,07	0,002	0,1
Nemrut Gölü		19,54	18,6	21		3,65	7,317	5,6
Nemrut-İlisu		49,1	56,4	62		2,1	1,504	2,2
	55Mn				57Fe			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	0,812	7,96	6,415	5,6	4,213	3,23	1,635	2,9
Gölcük Gölü	2,1	2	0,354	2,3	5,96	12,3	6,6	5,8
Meke Gölü	7,427	53,2	27,43	35,2	81,18	4350	1054	1215
Acıgöl	6,432	5,21	3,56	4,9	37,54	31,2	24,27	28,9
Narlıgöl (gölet)	1,757	2,48	2,28	2,2	37,18	88,3	21,1	71,4
Narlıgöl	1,2	0,79	0,375	0,9	140,7	551,5	68,1	79,2
Nemrut Gölü		1,36	0,79	1,1		104,7	1,658	6,5
Nemrut-İlisu		2,18	0,39	0,8		200,5	3,382	12,2
	65Cu				66Zn			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	0,071	5,57	1,635	1,1	BN	0,21	0,848	0,3
Gölcük Gölü	0,158	BN	65,98	36,6	BN	0,65	2,484	2,1
Meke Gölü	0,574	62,5	1054	71,4	BN	3,24	12,21	6,7
Acıgöl	0,34	3,25	24,27	18,2	BN	0,71	0,699	0,9
Narlıgöl (gölet)	0,309	4,18	2,053	3,2	BN	0,48	0,903	0,9
Narlıgöl	0,18	6,51	6,839	1,5	BN	1,1	4,365	2,3
Nemrut Gölü		BN	1,658	2,2		0,56	2,96	2,5
Nemrut-İlisu		8,86	3,382	4,2		1,34	4,174	1,7
	75As				95Mo			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	BN	BN	2,58	0,07	0,037	3,02	6,776	5,1
Gölcük Gölü	BN	BN	1,6	0,12	0,062	17,39	0,916	2,6
Meke Gölü	8,644	11,2	6,429	9,6	7,798	8,6	1,457	6,9
Acıgöl	BN	1,82	6,16	3,8	0,321	0,81	1,403	1,1
Narlıgöl (gölet)	BN	3,41	2,147	2,9	0,037	2,18	1,569	1,9
Narlıgöl	BN	2,25	1,884	2,1	0,027	0,77	0,918	0,9
Nemrut Gölü		1,15	1,627	1,8		6,74	3,527	3,1
Nemrut-İlisu		2,13	2,267	1,9		3,92	6,82	4,1
	111Cd				208Pb			
	01.13	04.13	07.13	10.13	01.13	04.13	07.13	10.13
Aygır Gölü	0,009	BN	0,027	0,01	0,022	0,27	0,135	0,03
Gölcük Gölü	0,009	BN	0,006	0,02	0,045	2,45	0,021	0,01
Meke Gölü	0,088	0,04	0,034	0,02	0,085	1,1	0,077	0,3
Acıgöl	0,011	0,02	0,026	0,01	0,065	0,01	0,075	0,04
Narlıgöl (gölet)	0,003	0,02	0,002	0,01	0,023	BN	0,002	0,01
Narlıgöl	0,001	0,02	0,022	0,001	0,021	BN	0,253	0,02
Nemrut Gölü		0,02	0,01	0,03		BN	0,17	0,02
Nemrut-İlisu		0,02	0,021	0,01		0,35	0,132	0,06

Yapılan arazi çalışmaları sonucunda toplam 229 takson tespit edilmiş; bunların 117'si Bacillariophyta, 5'i Miozoa, 8'i Euglenophyta, 39'u Chlorophyta, 13'ü Charophyta ve 46'sı Cyanophyta ve 1 tür de Orchophyta filumlarına aittir. Bacillariophyta'ya ait 15, Miozoa'ya 2, Euglenophyta'ya 1, Chlorophyta'ya 6, Charophyta'ya 2, Cyanophyta'ya 5 ve Orchophyta'ya ait 1 ordo tespit edilmiştir. Türlerin istasyonlara göre dağılımı Tablo 3'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre Meke Tuzlası'nda 47, Gölcük Gölünde 88, Narlıgöl de 93, Aygır Gölünde 102, Acıgölde 33 ve Nemrut Gölünde ise 82 alg taksonu teşhis edilmiştir.

Aulacoseira granulata, *Cyclotella meneghiniana*, *Ulnaria ulna*, *Cymbella affinis*, *Amphora ovalis*, *Chlorella* sp. *Chlorella vulgaris*, *Euglena* sp. taksonları çalışılan tüm göllerde gözlenmiştir. Göllerin tuzluluk ve elektriksel iletkenlik değerleri göz önünde bulundurulduğunda bu türlerin geniş bir toleransa sahip oldukları söylenebilir.

Meke gölünde çalışılan tüm dönemlerde *Dunaliella salina* türü mikroalg baskın durumda iken kış, ilkbahar ve yaz dönemlerinde 14 farklı mikroalg türü saflaştırılmıştır. Saflaştırılmış olan mikroalglardan 9'u sekans analizi ile tanımlanmıştır (*Anabaena affinis*, *Nitzschia palea*, *Nostoc azollae*, *Dunaliella parva*, *Dunaliella salina*, *Dunaliella tertiolecta*, *Phormidium foveolarum*, *Oscillatoria tenius* ve *Chlorella vulgaris*). Bu gölde azot bağlayan siyanobakterlerin de bol miktarda bulunması göldeki amonyum ve nitrat iyon yoğunluğunu desteklemektedir.

Meke gölünün kuzey-batısında yer alan Acıgölde de 10 farklı mikroalg türü saflaştırılmış, bunlardan 6'sı sekans analizi ile tanımlanmıştır (*Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., *Nitzschia linearis*, *Nostoc punctiforme*, *Chlorella vulgaris*, *Aphanocapsa* sp.). Belirtmek istenen bir nokta, yayılmacı türlerden örneğin *Scenedesmus* cinsine ait türlerin çalışılan diğer tüm göllerde varlığı ancak tuzlu su özelliğinde olan Meke ve Acıgölde rastlanamamış olmasıdır. Oysa diğer bir yayılmacı tür olan *Chlorella vulgaris* diğer göllerin yanında Meke gölü ve Acıgölde de tespit edilmiş ve saflaştırılmıştır. Sadece Meke gölünde tespit edilen türlerden *Amphora commutata*, *Dunaliella parva*, *Dunaliella salina*, *Dunaliella tertiolecta* tuzluluk oranı yüksek sularda yayılış gösteren türlerdir.

İsparta'da bulunan Gölcük krater gölü tatlı su özelliğinde hafif bazik pH'ya sahip (8-9), çalışılan göller içerisinde toplam çözünmüş katı oranı en düşük olan göldür. Şimdiye kadar kış, ilkbahar ve yaz dönemlerinde alınan örneklerden saflaştırılan 13 farklı mikroalg türünün 10'u sekans analizi ile tanımlanmıştır (*Oscillatoria princeps*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus obliquus*, *Euglena gracilis*, *Nitzschia palea*, *Gloeocapsa* sp., *Lyngbya bouillonii*, *Oocystis borgei*, *Phacus* sp., *Chlorella vulgaris*).

Niğde il sınırları içinde bulunan Narlıgöl'de 21 farklı mikroalg türü saflaştırılmış, bunlardan 14'ü sekans analizi ile tanımlanmıştır. Tanımlanmış olan türler; *Oocystis eliptica*., *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus dimorphuus*, *Chlorogonium elongatum*, *Haematococcus pluvialis*, *Calothrix parietina*, *Anabaena cylindrica*, *Anabaena affinis*, *Chlamydomonas reinhardtii* CC-125, *C.reinhardtii* CC-503, *C. reinhardtii* CC-425, *C.reinhardtii* C -1690, *Synechocystis* sp., *Nostoc azollae* türleridir.

Bitlis il sınırları içerisinde bulunan Nemrut kalderası içerisindeki Nemrut Gölü ve Ilıgöl'den yapılan örneklemeler ile 22 farklı mikroalg türü saflaştırılarak kültüre alınmış, kültüre alınan türlerin 11'i şimdiye kadar sekans analizi ile tanımlanmıştır. Şimdiye kadar tanımlanmış olan türler; *Scenedesmus acutus*, *Phormidium* sp., *Oscillatoria formosa*, *Chlorella vulgaris* ESP-6, *Chlorella vulgaris* ESP-31, *Chlorella vulgaris* C-27, *Chlorella* sp. ARM0029B, *Uronema belkae*, *Aphanizomenon flosaquae* ve *Spirulina platensis* ve *Tetracystis* sp., türleridir.

Süphan dağının eteğinde bulunan Aygır gölünde yapılan örneklemeler ile 11 farklı mikroalg türü saflaştırılmış, bunlardan 7'si şimdiye kadar sekans analizi ile tanımlanabilmiştir. Bunlar; *Chlorella* sp. ARM0029B, *Chlamydomonas komma*, *Scenedesmus obliquus*, *Merismopedia punctata*, *Euglena viridis*, *Oscillatoria planctonica* ve *Pseudoanabaena* sp. türleridir.

Aşağıda (Tablo 5) verilmiş olan tür listesi kış, ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemlerinde yapılan arazi çalışmaları sonucu ortaya çıkartılmıştır.

Tablo 5. Proje bölgesinde teşhis edilen mikroalg türlerinin sistematik sunumu ve göllere göre dağılımları

	Meke Gölü	Gölcü k Gölü	Narlı Göl	Aygır Gölü	Acı göl	Nemru t Gölü
PHYLUM: BACILLARIOPHYTA						
Class: Coscinodiscophyceae						
Order: Aulacoseirales						
<i>Aulacoseira ambigua</i> (Grunow) Simonsen Bsy. <i>Melosira crenulata</i> var. <i>ambigua</i> Grunow						*
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen Bsy. <i>Gaillonella granulata</i> Ehrenberg Syn. <i>Melosira granulata</i> (Ehrenberg) Ralfs	*	*	*	*	*	*
Order: Melosirales						
<i>Melosira nummuloides</i> C.Agardh				*		
<i>Melosira varians</i> C.Agardh		*		*		
Class: Mediophyceae						
Order: Thalassiosirales						
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kützing Syn.: <i>Cyclotella kützingiana</i> var. <i>meneghiniana</i> (Kützing) Brun	*	*	*	*	*	*
<i>Cyclotella ocellata</i> Pantocsek		*		*		*
<i>Cyclostephanos dubius</i> (Hustedt) Round in Theriot Syn.: <i>Stephanodiscus dubius</i> Hustedt		*				
<i>Cyclostephanos</i> sp.	*			*		
<i>Handmannia comta</i> (Ehrenberg) Kociolek & Khursevich Syn.: <i>Cyclotella comta</i> (Ehrenberg) Kützing		*				
Class: Fragilariophyceae						
Order: Tabellariales						
<i>Asterionella formosa</i> Hassall				*		*
<i>Diatoma moniliformis</i> (Kützing) D.M. Williams Bsy.: <i>Diatoma tenue</i> var. <i>moniliforme</i> Kützing	*					
<i>Diatoma tenue</i> C.Agardh Syn.: <i>Diatoma elongata</i> (Lyngbye) C.Agardh	*	*		*		*
<i>Diatoma vulgaris</i> Bory de Saint-Vincent Syn.: <i>Diatoma vulgaris</i> var. <i>producta</i> Grunow			*			
<i>Meridion circulare</i> (Greville) C.Agardh						*
Order: Licmophorales						
<i>Ctenophora pulchella</i> (Ralfs ex Kützing) D.M. Williams & Round Bsy.: <i>Synedra pulchella</i> (Ralfs ex Kützing) Kützing Syn.: <i>Fragilaria pulchella</i> (Ralfs ex Kützing) Lange-				*		

Bertalot						
<i>Hannaea arcus</i> (Ehrenberg) R.M.Patrick Syn.: <i>Ceratoneis arcus</i> (Ehrenberg) Kützing, <i>Fragilaria arcus</i> (Ehrenberg) Cleve				*		*
<i>Tabularia fasciculata</i> (C.Agardh) D.M.Williams & Round Syn.: <i>Diatoma fasciculata</i> C.A.Agardh					*	
<i>Ulnaria capitata</i> (Ehrenberg) P.Compère Syn.: <i>Fragilaria dilatata</i> (Brébisson) Lange- Bertalot, <i>Fragilaria capitata</i> (Ehrenberg) Lange- Bertalot	*		*	*		*
<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) P.Compère Bsy.: <i>Bacillaria ulna</i> Nitzsch Syn.: <i>Fragilaria ulna</i> (Nitzsch) Lange- Bertalot	*	*	*	*	*	*
Order: Fragilariales						
<i>Fragilaria acus</i> (Kützing) Lange-Bertalot in Krammer & Lange-Bertalot Syn.: <i>Fragilaria ulna</i> var. <i>acus</i> (Kützing) Lange-Bertalot	*					
<i>Fragilaria brevistriata</i> Grunow				*		
<i>Fragilaria capucina</i> Desmazieres Syn.: <i>Fragilaria capucina</i> var. <i>lanceolata</i> Grunow			*	*		
<i>Fragilaria crotonensis</i> Kitton Syn.: <i>Synedra crotonensis</i> (Kitton) Cleve & Möller	*			*		*
<i>Pseudostaurosira parasitica</i> (W.Smith) Morales Syn.: <i>Fragilaria parasitica</i> (W.Smith) Grunow		*				
<i>Staurosira construens</i> Ehrenberg Syn.: <i>Fragilaria construens</i> (Ehrenberg) Grunow		*		*	*	
<i>Staurosirella pinnata</i> (Ehrenberg) D.M.Williams & Round Syn.: <i>Fragilaria pinnata</i> Ehrenberg		*		*		
Class: Bacillariophyceae						
Order: Cocconeidales						
<i>Achnantheidium minutissimum</i> (Kützing) Czarnecki Bsy.: <i>Achnanthes minutissima</i> Kützing			*			
<i>Cocconeis pediculus</i> Ehrenberg			*		*	
<i>Cocconeis placentula</i> Ehrenberg		*			*	*
<i>Cocconeis</i> <i>placentula</i> var. <i>euglypta</i> (Ehrenberg) Grunow	*					
<i>Planothidium delicatulum</i> (Kützing) Round & Bukhtiyarova Bsy.: <i>Achnantheidium delicatulum</i> Kützing			*			
<i>Planothidium lanceolatum</i> (Brébisson ex Kützing) Bukhtiyarova Bsy.: <i>Achnantheidium lanceolatum</i> Brébisson ex Kützing		*	*	*	*	*



Order: Eunotiales						
<i>Eunotia bidentula</i> W.Smith						*
<i>Eunotia bilunaris</i> (Ehrenberg) Schaarschmid Bsy.: <i>Synedra bilunaris</i> Ehrenberg						*
Order: Naviculales						
<i>Amphipleura pellucida</i> (Kützing) Kützing Bsy.: <i>Frustulia pellucida</i> Kützing		*				
<i>Caloneis alpestris</i> (Grunow) Cleve Bsy.: <i>Navicula alpestris</i> Grunow			*	*		*
<i>Caloneis amphisbaena</i> (Bory) Cleve Bsy.: <i>Navicula amphisbaena</i> Bory		*				
<i>Caloneis bacillum</i> (Grunow) Cleve Bsy.: <i>Stauroneis bacillum</i> Grunow Syn.: <i>Pinnularia fasciata</i> (Lagerstedt) Hustedt		*			*	
<i>Caloneis silicula</i> (Ehrenberg) Cleve Bsy.: <i>Navicula silicula</i> Ehrenberg			*			
<i>Caloneis ventricosa</i> (Ehrenberg) F.Meister Bsy.: <i>Navicula ventricosa</i> Ehrenberg Syn.: <i>Caloneis silicula</i> var. <i>ventricosa</i> (Ehrenberg) (Donkin) Cleve			*			
<i>Craticula cuspidata</i> (Kützing) D.G.Mann Bsy.: <i>Frustulia cuspidata</i> Kützing Syn.: <i>Navicula cuspidata</i> (Kützing) Kützing		*	*	*		*
<i>Craticula halophila</i> (Grunow) D.G.Mann Bsy.: <i>Navicula cuspidata</i> var. <i>halophila</i> Grunow Syn.: <i>Navicula halophila</i> (Grunow) Cleve		*				
<i>Diploneis ovalis</i> (Hilse) Cleve Bsy. <i>Pinnularia ovalis</i> Hilse Syn. <i>Diploneis oblongella</i> var. <i>ovalis</i> (Hilse) R.Ross	*	*	*	*		
<i>Fallacia pygmaea</i> (Kützing) A.J.Stickle & D.G.Mann Bsy.: <i>Navicula pygmaea</i> Kützing			*			
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (Kützing) Rabenhorst Bsy.: <i>Frustulia acuminata</i> Kützing Syn.: <i>Gyrosigma kuetzingii</i> (Grunow) Cleve	*	*				*
<i>Halamphora veneta</i> (Kützing) Levkov Bsy.: <i>Amphora veneta</i> Kützing	*			*		
<i>Navicula cincta</i> (Ehrenberg) Ralfs		*		*	*	*
<i>Navicula cryptocephala</i> Kützing		*				
<i>Navicula cryptotenella</i> Lange-Bertalot Syn.: <i>Navicula radiosa</i> var. <i>tenella</i> (Brébisson) Van Heurck			*			
<i>Navicula digito-radiata</i> (Gregory) Ralfs in Prichard Bsy.: <i>Pinnularia digitoradiata</i> Gregory				*		
<i>Navicula radiosa</i> Kützing Syn.: <i>Navicula gracilis</i> var. <i>radiosa</i> (Kützing) Rabenhorst			*	*	*	*



<i>Navicula</i> sp.	*	*		*		*
<i>Navicula tripunctata</i> (O.F.Müller) Bory				*		
<i>Navicula trivialis</i> Lange-Bertalot				*		*
<i>Neidium affine</i> (Ehrenberg) Pfizer Bsy.: <i>Navicula affinis</i> Ehrenberg				*		*
<i>Neidium dubium</i> (Ehrenberg) Cleve Bsy.: <i>Navicula dubia</i> Ehrenberg Syn.: <i>Neidium affine</i> var. <i>dubia</i> (Ehrenberg) Frenguelli		*		*		
<i>Pinnularia biceps</i> W.Gregory Syn.: <i>Pinnularia interrupta</i> W.Smith, <i>Navicula mesolepta</i> (W.Smith) Grunow		*				
<i>Pinnularia gibba</i> Ehrenberg Syn.: <i>Navicula gibba</i> (Ehrenberg) Kützing		*		*		*
<i>Pinnularia microstauron</i> (Ehrenberg) Cleve Bsy.: <i>Stauroptera microstauron</i> Ehrenberg Syn.: <i>Navicula microstauron</i> (Ehrenberg) Héribaud			*			
<i>Pinnularia</i> sp.			*			
<i>Pinnularia viridis</i> (Nitzsch) Ehrenberg Bsy.: <i>Bacillaria viridis</i> Nitzsch Syn.: <i>Navicula viridis</i> (Nitzsch) Ehrenberg		*	*			*
<i>Sellaphora bacillum</i> (Ehrenberg) D.G.Mann Bsy.: <i>Navicula bacillum</i> Ehrenberg				*		
<i>Sellaphora pupula</i> (Kützing) Mereschkovsky Syn.: <i>Navicula pupula</i> Kützing				*		*
Order: Cymbellales						
<i>Anomoeoneis costata</i> (Kützing) Hustedt Syn.: <i>Anomoeoneis sphaerophora</i> f. <i>costata</i> (Kützing) A.-M.Schmid		*				
<i>Anomoeoneis sphaerophora</i> E.Pfitzer		*	*			
<i>Brebissonia lanceolata</i> (C.Agardh) Mahoney & Reimer Bsy.: <i>Gomphonema lanceolatum</i> C.Agardh Syn.: <i>Cymbella lanceolata</i> (C.Agardh) Kirchner						*
<i>Cymbella affinis</i> Kützing Syn.: <i>Cymbella tumidula</i> Grunow	*	*	*	*	*	*
<i>Cymbella cistula</i> (Ehrenberg) O.Kirchner Bsy.: <i>Bacillaria cistula</i> Ehrenberg		*	*			
<i>Cymbella helvetica</i> Kützing		*		*		
<i>Cymbella turgidula</i> Grunow		*				
<i>Cymbopleura amphicephala</i> (Nägeli) Krammer Bsy.: <i>Cymbella amphicephala</i> Nägeli		*	*			
<i>Encyonema ventricosum</i> (C.Agardh) Grunow Bsy.: <i>Frustulia ventricosa</i> C.Agardh Syn.: <i>Cymbella ventricosa</i> (C.Agardh) C.Agardh				*		



<i>Gomphonema acuminatum</i> Ehrenberg	*					
<i>Gomphonema augur</i> Ehrenberg Syn.: <i>Gomphonema apiculatum</i> Ehrenberg				*		
<i>Gomphonema gracile</i> Ehrenberg		*				
<i>Gomphonema intricatum</i> Kützing Syn.: <i>Gomphonema vibrio</i> var. <i>intricatum</i> (Kützing) R.Ross	*		*		*	
<i>Gomphonema olivaceum</i> (Hornemann) Brébisson				*		*
<i>Gomphonema parvulum</i> Kützing		*		*		*
<i>Gomphonema truncatum</i> Ehrenberg Syn.: <i>Gomphonema constrictum</i> Ehrenberg, <i>Gomphonema constrictum</i> var. <i>truncatum</i> (Ehrenberg) Gutwinski			*	*		*
<i>Rhoicosphenia abbreviata</i> (C.Agardh) Lange-Bertalot Syn.: <i>Rhoicosphenia curvata</i> (Kützing) Grunow			*			*
Order: Thalassiophysales						
<i>Amphora commutata</i> Grunow	*					
<i>Amphora lybica</i> Ehrenberg				*	*	
<i>Amphora ovalis</i> (Kützing) Kützing Bsy.: <i>Frustulia ovalis</i> Kützing	*	*	*	*	*	*
<i>Amphora pediculus</i> (Kützing) Grunow ex A.Schmidt Bsy.: <i>Cymbella pediculus</i> Kützing Syn.: <i>Amphora ovalis</i> var. <i>pediculus</i> Kützing				*	*	
Order: Rhopalodiales						
<i>Entomoneis alata</i> (Ehrenberg) Ehrenberg			*			
<i>Entomoneis paludosa</i> var. <i>subsalina</i> (Cleve) Krammer Bsy.: <i>Amphiprora paludosa</i> var. <i>subsalina</i> Cleve			*			
<i>Epithemia adnata</i> (Kützing) Brébisson Bsy.: <i>Frustulia adnata</i> Kützing				*		
<i>Epithemia argus</i> (Ehrenberg) Kützing Bsy.: <i>Eunotia argus</i> Ehrenberg Syn.: <i>Epithemia argus</i> var. <i>ocellata</i> (Ehrenberg) F.Fricke			*	*	*	*
<i>Epithemia sores</i> Kützing Syn.: <i>Eunotia sores</i> (Kützing) G.L.Rabenhorst		*	*		*	
<i>Epithemia turgida</i> (Ehrenberg) Kützing Bsy.: <i>Navicula turgida</i> Ehrenberg Syn.: <i>Cymbella turgida</i> (Ehrenberg) Hassall	*	*		*		
<i>Rhopalodia brebissonii</i> Krammer						*
<i>Rhopalodia constricta</i> (W.Smith) Krammer Bsy.: <i>Epithemia constricta</i> W.Smith Syn.: <i>Rhopalodia gibberula</i> var. <i>constricta</i> (W.Smith)		*				



Cleve-Euler						
<i>Rhopalodia gibba</i> (Ehrenberg) Otto Müller Bsy.: <i>Navicula gibba</i> Ehrenberg Syn.: <i>Epithemia gibba</i> (Ehrenberg) Kützing			*	*		
<i>Rhopalodia gibberula</i> (Ehrenberg) Otto Müller Bsy.: <i>Eunotia gibberula</i> Ehrenberg Syn.: <i>Epithemia gibberula</i> (Ehrenberg) Kützing		*	*			*
Order: Bacillariales						
<i>Denticula elegans</i> Kützing						*
<i>Denticula kuetzingii</i> Grunow Syn.: <i>Nitzschia denticula</i> Grunow	*					
<i>Hantzschia amphioxys</i> (Ehrenberg) Grunow Bsy.: <i>Eunotia amphioxys</i> Ehrenberg	*		*	*		
<i>Nitzschia acicularis</i> (Kützing) W. Smith Bsy.: <i>Synedra acicularis</i> Kützing			*	*		
<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow Syn.: <i>Bacillaria amphibia</i> (Grunow) Elmore			*			
<i>Nitzschia dissipata</i> var. <i>media</i> (Hantzsch) Grunow Bsy.: <i>Nitzschia media</i> Hantzsch Syn.: <i>Nitzschia tenuis</i> var. <i>media</i> (Hantzsch) Rabenhorst						*
<i>Nitzschia fonticola</i> (Grunow) Grunow	*					
<i>Nitzschia geitleri</i> Hustedt	*					
<i>Nitzschia hantzschiana</i> Rabenhorst Syn.: <i>Nitzschia frustulum</i> var. <i>hantzschiana</i> (Rabenhorst) Comber	*					
<i>Nitzschia linearis</i> (C. Agardh) W. Smith Syn.: <i>Frustulia linearis</i> C. Agardh				*		
<i>Nitzschia obtusa</i> W. Smith Syn.: <i>Nitzschia arcus</i> Bulnheim	*				*	
<i>Nitzschia palea</i> (Kützing) W. Smith Bsy.: <i>Synedra palea</i> Kützing		*				
<i>Nitzschia recta</i> Hantzsch ex Rabenhorst Syn.: <i>Nitzschia vitrea</i> var. <i>recta</i> (Hantzsch; Grunow) van Heurck		*	*	*		
<i>Nitzschia sigmoidea</i> (Nitzsch) W. Smith Bsy.: <i>Bacillaria sigmoidea</i> Nitzsch Syn.: <i>Nitzschia elongata</i> Hassal	*		*	*	*	*
<i>Nitzschia</i> sp.	*	*		*		*
Order: Surirellales						
<i>Cymatopleura elliptica</i> (Brébisson) W. Smith Bsy.: <i>Surirella elliptica</i> Brébisson ex Kützing		*				
<i>Cymatopleura solea</i> (Brébisson) W. Smith Bsy.: <i>Cymbella solea</i> Brébisson Syn.: <i>Surirella solea</i> (Brébisson) Brébisson		*			*	
<i>Surirella biseriata</i> Brébisson		*				
<i>Surirella ovalis</i> Brébisson Syn.: <i>Surirella ovata</i> var. <i>ovalis</i>		*			*	



(Brébisson) Kirchner						
<i>Surirella peisonis</i> Pantocsek				*		
<i>Surirella</i> sp.			*	*		*
Order: Mastogloiales						
<i>Mastogloia recta</i> Hustedt		*	*	*		
<i>Mastogloia smithii</i> Thwaites ex W.Smith	*			*		*
PHYLUM: MIOZOA						
Subphylum: Myxozoa						
Class: Dinophyceae						
Order: Gonyaulacales						
<i>Ceratium hirundinella</i> (O.F.Müller) Dujardin		*	*			
Order: Peridiniales						
<i>Glenodinium</i> sp.				*		*
<i>Peridinium cinctum</i> (O.F.Müller) Ehrenberg Syn.: <i>Peridinium tuberosum</i> Meunier			*	*		
<i>Peridinium</i> <i>cinctum</i> var. <i>tuberosum</i> (Meunier) Lindemann				*		
<i>Peridinium</i> sp.		*	*	*		
PHYLUM: EUGLENOPHYTA (EUGLENOZOA)						
Class: Euglenophyceae						
Order: Euglenales						
<i>Euglena granulata</i> (Klebs) F.Schmitz Syn.: <i>Euglena polymorpha</i> P.A.Dangeard			*			*
<i>Euglena</i> sp.	*	*	*	*	*	*
<i>Euglena viridis</i> (O.F.Müller) Ehrenberg			*	*		
<i>Phacus acuminatus</i> Stokes			*			
<i>Phacus</i> sp.		*	*	*		
<i>Strombomonas fluviatilis</i> (Lemmermann) Deflandre Bsy.: <i>Trachelomonas fluvialis</i> Lemmermann		*		*		
<i>Trachelomonas oblonga</i> Lemmermann			*			
<i>Trachelomonas</i> sp.		*				
PHYLUM: CHLOROPHYTA						
Class: Chlorophyceae						
Order: Chlamydomonadales						
<i>Chlamydomonas agloëformis</i> Pascher			*			
<i>Chlamydomonas</i> <i>elongatum</i> (P.C.A.Dangeard) J.N.F.Wille			*			
<i>Chlamydomonas komma</i> Pascher				*		
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> P.A.Dangeard CC-125		*	*	*		*
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> P.A.Dangeard CC-503 cw92			*			
<i>Dunaliella parva</i> W.Lerche	*					
<i>Dunaliella salina</i> (Dunal) Teodoresco	*					



Bsy.: <i>Protococcus salinus</i> Dunal Syn.: <i>Haematococcus salinus</i> Dunal, <i>Chlamydomonas dunalii</i> (Joly) F.J.Cohn						
<i>Dunaliella tertiolecta</i> Butcher	*					
<i>Pteromonas spinosa</i> Nygaard					*	
Order: Sphaeropleales						
<i>Acutodesmus acuminatus</i> (Lagerheim) P.M.Tsarenko Bsy.: <i>Selenastrum acuminatum</i> Lagerheim Syn.: <i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerheim) Chodat		*				
<i>Acutodesmus obliquus</i> (Turpin) Hegewald & Hanagata Syn.: <i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing, <i>Scenedesmus acutus</i> Meyen, <i>Scenedesmus bijugatus</i> Kützing		*		*		*
<i>Acutodesmus raciborskii</i> (Woloszynska) Tsarenko & D.M.John Bsy.: <i>Scenedesmus raciborskii</i> Woloszynska			*			
<i>Desmodesmus communis</i> (E.Hegewald) E.Hegewald Bsy.: <i>Scenedesmus communis</i> E. Hegewald Syn.: <i>Scenedesmus caudata</i> Corda, <i>Scenedesmus quadricauda</i> Chodat		*	*	*		
<i>Microspora stagnorum</i> (Kützing) Lagerheim				*		
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thuret) Komárková-Legnerová Bsy.: <i>Ankistrodesmus contortus</i> Thuret						*
<i>Monoraphidium fontinale</i> Hindák		*		*		
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková-Legnerová Bsy.: <i>Rhaphidium minutum</i> Nägeli Syn.: <i>Ankistrodesmus minutissimus</i> Korshikov			*			*
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen Syn.: <i>Pediastrum duplex</i> var. <i>clathratum</i> (A.Braun) Lagerheim		*		*		
<i>Pseudopediastrum boryanum</i> (Turpin) E.Hegewald Syn.: <i>Pediastrum boryanum</i> (Turpin) Meneghini	*			*		
<i>Pseudoschroederia robusta</i> (Korshikov) E.Hegewald & E.Schnepf Bsy.: <i>Schroederia robusta</i> Korshikov	*					
<i>Scenedesmus deserticola</i> L.A.Lewis & V.R.Flechtner BCP-EM2VF3				*		
<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen Syn.: <i>Scenedesmus alternans</i> Reinsch						*
<i>Scenedesmus</i> sp.		*	*	*		*
<i>Tetraedron minimum</i> (A.Braun) Hansgirg Syn.: <i>Tetraedron quadratum</i> (Reinsch) Hansgirg			*			



Order: Chaetophorales						
<i>Uronema belkæ</i> (Mattox & Bold) O'Kelly & Floyd Bsy.: <i>Ulothrix belkæ</i> K.R.Mattox & H.C.Bold						*
Order: Oedogoniales						
<i>Oedogonium</i> sp.				*		
Class: Trebouxiophyceae						
Order: Chlorellales						
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B				*		*
<i>Chlorella variabilis</i> I.Shihira & R.W.Krauss			*			*
<i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck [Beijerinck]	*	*	*	*	*	*
<i>Chlorella vulgaris</i> strain ESP-31				*		*
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27						*
<i>Closteriopsis acicularis</i> (Chodat) J.H.Belcher & Swale Syn.: <i>Closteriopsis longissima</i> var. <i>acicularis</i> G.M.Smith		*				*
<i>Dictyosphaerium granulatum</i> Hindák						*
<i>Lagerheimia genevensis</i> (Chodat) Chodat			*			
<i>Oocystis apiculata</i> West				*		
<i>Oocystis borgei</i> J.W.Snow		*	*	*		
<i>Oocystis elliptica</i> West			*			
<i>Oocystis</i> sp.			*			
Class: Ulvophyceae						
Order: Ulotrichales						
<i>Ulothrix tenerrima</i> (Kützinger) Kützinger Bsy.: <i>Conferva tenerrima</i> Kützinger Syn.: <i>Ulothrix variabilis</i> Kützinger						*
PHYLUM: CHAROPHYTA						
Class: Conjugatophyceae (Zygnematophyceae)						
Order: Zygnematales						
<i>Mougeotia</i> sp.		*	*	*	*	*
<i>Spirogyra</i> sp. (1)		*	*	*		*
<i>Spirogyra</i> sp. (2)			*			
<i>Zygnema</i> sp.						*
<i>Zygnema pectinatum</i> (Vaucher) C.Agardh		*				
<i>Zygnema stellinum</i> (O.F.Müller) C.Agardh						*
Order: Desmidiiales						
<i>Actinotaenium cucurbita</i> (Brébisson ex Ralfs) Teiling Bsy.: <i>Cosmarium cucurbita</i> Brébisson ex Ralfs				*		*
<i>Cosmarium boergesenii</i> Grönblad			*			
<i>Cosmarium</i> sp.		*	*	*		



<i>Cosmarium subtumidum</i> Nordstedt			*			
<i>Cosmarium wembaerense</i> Schmidle Syn.: <i>Cosmarium laeve</i> var. <i>tumidum</i> Grönblad			*			
<i>Staurostrum crenulatum</i> (Nägeli) Delponte				*		
<i>Staurostrum cyclacanthum</i> West & G.S. Wes				*		
PHYLUM: CYANOBACTERIA						
Class: Cyanophyceae						
Order: Chroococcales						
<i>Chroococcus turgidus</i> (Kützing) Nägeli Syn.: <i>Gloeocapsa turgida</i> (Kützing) Hollerbach		*		*	*	
<i>Gomphosphaeria aponina</i> Kützing	*					
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing			*			
<i>Microcystis</i> sp.			*			
Order: Synechococcales						
<i>Aphanocapsa</i> sp.					*	
<i>Leibleinia epiphytica</i> (Hieronymus) Compère Bsy.: <i>Lyngbya epiphytica</i> Hieronymus			*			
<i>Leptolyngbya foveolarum</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek Bsy.: <i>Phormidium foveolarum</i> Gomont Syn.: <i>Oscillatoria foveolarum</i> (Montagne) Hansgirg ex Hansgirg				*		
<i>Limnothrix planctonica</i> (Woloszynska) Meffert		*				*
<i>Limnothrix redekei</i> (van Goor) M.E. Meffert Bsy.: <i>Oscillatoria redeckeii</i> Goor	*	*				*
<i>Merismopedia glauca</i> (Ehrenberg) Kützing		*	*			
<i>Merismopedia punctata</i> Meyen			*	*		
<i>Phormidesmis molle</i> (Gomont) Turicchia, Ventura, Komárková & Komárek Bsy.: <i>Phormidium molle</i> Gomont Syn.: <i>Anabaena mollis</i> Kützing			*			
<i>Pseudoanabaena catenata</i> Lauterborn					*	
<i>Pseudanabaena limnetica</i> (Lemmermann) Komárek Bsy.: <i>Oscillatoria limnetica</i> Lemmermann		*		*		*
<i>Pseudanabaena mucicola</i> (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe Bsy.: <i>Phormidium mucicola</i> Nauman & Huber-Pestalozzi		*				
<i>Pseudoanabaena</i> sp.				*		*
<i>Synechocystis endobiotica</i> (Elenkin & Hollerbach) Elenkin Syn.: <i>Aphanocapsa endophytica</i> G.M. Smith, <i>Synechocystis endophytica</i> (G.M. Smith) Joosten			*		*	
<i>Synechocystis</i> sp.		*	*			
Order: Oscillatoriales						



<i>Arthrospira platensis</i> Gomont Syn.: <i>Oscillatoria platensis</i> (Gomont) Bourrelly	*					
<i>Gloeotrichia natans</i> Rabenhorst ex Bornet & Flahault		*				
<i>Moorea bouillonii</i> (L.R.Hoffmann & Demoulin) Engene, Rottacker, Kastovsky, Byrum, Hy.Choi, Ellisman, Komárek & Gerwick Bsy.: <i>Lyngbya bouillonii</i> L.Hoffmann & V.Demoulin		*		*		
<i>Kamptonema formosum</i> (Bory de Saint-Vincent) Strunec, Komárek & J.Smarda Bsy.: <i>Oscillatoria formosa</i> Bory de Saint-Vincent			*	*		*
<i>Oscillatoria princeps</i> Vaucher ex Gomont Syn.: <i>Lyngbya princeps</i> (Vaucher ex Gomont) Hansgirg		*		*		
<i>Oscillatoria planctonica</i> Woloszyńska				*		
<i>Oscillatoria</i> sp. 1	*	*	*	*		*
<i>Oscillatoria</i> sp. 2		*	*			
<i>Oscillatoria tenuis</i> C.Agardh ex Gomont	*		*			*
<i>Phormidium</i> sp.	*	*	*	*		*
<i>Phormidium lucidum</i> Kützinger ex Gomont Syn.: <i>Lyngbya lucida</i> (Kützinger ex Gomont) Hansgirg		*				
<i>Phormidium thwaitesii</i> I.Umezaki & M.Watanabe Syn.: <i>Oscillatoria subuliformis</i> Kützinger ex Gomont, <i>Phormidium subuliforme</i> (Thwaites ex Gomont) Anagnostidis & Komárek						*
<i>Planktothrix agardhii</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek Bsy.: <i>Oscillatoria agardhii</i> Gomont						*
Order: Spirulinales						
<i>Spirulina major</i> Kützinger ex Gomont Syn.: <i>Arthrospira major</i> (Kützinger ex Gomont) W.B.Crow				*		*
<i>Spirulina</i> sp.	*					
Order: Nostocales						
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> Ralfs ex Bornet & Flahault			*			*
<i>Aphanizomenon</i> sp.		*				*
<i>Calothrix</i> sp.			*			*
<i>Calothrix parietina</i> Thuret ex Bornet & Flahault		*				
<i>Calothrix pulvinata</i> C.Agardh ex Bornet & Flahault						*
<i>Dolichospermum affine</i> (Lemmermann) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek Bsy.: <i>Anabaena affinis</i> Lemmermann	*	*	*	*		*
<i>Nodularia armoricana</i> Thuret ex Bornet & Flahault	*			*		



<i>Nodularia quadrata</i> F.E.Fritsch		*				
<i>Nostoc microscopicum</i> Carmichael ex Bornet & Flahault Syn.: <i>Nostoc macrosporum</i> Meneghini ex Bornet & Flahault			*			
<i>Nostoc punctiforme</i> Hariot					*	
<i>Nostoc</i> sp.	*		*		*	*
<i>Trichormus azollae</i> (Strasburger) Komárek & Anagnostidis Bsy.: <i>Anabaena azollae</i> Strasburger			*			
PHYLUM: OCHROPHYTA						
Class: Chrysophyceae						
Order: Chromulinales						
<i>Dinobryon divergens</i> O.E.Imhof				*		
Bsy.: Basionym, Syn.: Synonym						

Kültüre alınan türlerin büyük çoğunluğunun kriyoprezervasyonu başarılmıştır. Metod kısmında belirtildiği gibi kriyoprotektan olarak %10 gliserol, %15 DMSO veya bazı durumlarda %8 derişimde Polyvinylpyrrolidone ve trehaloz karışımı kullanılmıştır. Çoğu durumda %10 gliserol veya %15 DMSO istikrarlı sonuçlar vermiştir. Proje kapsamında kriyoprezervasyonla saklanan bir mikroalg kütüphanesi oluşturulmuştur. Dolayısıyla proje kapsamında amaçlanan hedefe ulaşılmıştır.

Diğer taraftan proje yazıldığında bildirilmemiş olsa da proje çalışmalarının sonuna yaklaştıkça proje kapsamında bir eksik olarak farkettiğimiz, proje kapsamında kültüre aldığımız mikroalg ve siyanobakteri türleri ile oluşturduğumuz mikroalg kütüphanesi (İMU-MACC) için web sitesi hazırlama ve bu proje kapsamında oluşturduğumuz mikroalg kütüphanesini Dünya Kültür Koleksiyonu Federasyonuna (WFCC) kayıt ettirmeyi son rapor döneminde yeni bir durum olarak bildirmiştik. Ancak türlerin kriyoprezervasyonla saklanması için sürekli sıvı azota ve kriyoviyal, kriyoprotektan gibi sürekli sarflara ihtiyaç vardır. Üstelik kryoprezervasyonda, her 6 ayda bir organizmaların canlılıklarının test edilmesi durumu düşünülünce yine sürekli kimyasal ve sarf malzemelere ihtiyaç duymaktadır. Böylece, gerekli olan uzun vadede maddi destek göz önünde bulundurulduğunda profesyonel manada, kültür koleksiyonunu tüm türlerin gen düzeyinde teşhis edildiği ve sekans bilgilerinin de sunulduğu, kriyoprezervasyonla saklanan bir mikroalg kütüphanesinin sürdürülmesi için yeni bir proje hazırlanmış ve üniversite-BAP projesiyle şimdilik sürdürülecek olan bu kütüphanenin ileride sürekli destek alan bir birim haline getirilmesi için çalışmalar başlatılmıştır. Bu sebeple proje kapsamında taahhüt edilmemiş olsa da şüphesiz kültür koleksiyonumuzda bulunan türler Dünya kültür koleksiyonuna (WFCC) kayıt edilerek kültür koleksiyonunun sürekliliği sağlanacaktır. Koleksiyonun paylaşıma açık, profesyonel bir yapıda olması açısından hazırlanan yeni proje kapsamında önerildiğinden bu proje sonucu olarak kültüre alınan türler WFCC'ye henüz kayıt ettirilmemiştir.

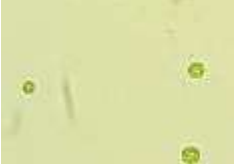


Şekil 8. Kültüre alınan izolatlar. Kültüre alınan mikroalgler kriyoprezervasyonun yanında katı agarda da sürekli olarak her ay yenilenerek sürdürülmüştür. Kriyoprezervasyon ile saklanan türler de her 6 ayda bir sıvı azot ortamından çözülerek, metodolojide belirtilen teknikle sıvı büyüme ortamına inoküle edilmiş, canlılık ve saflıkları, agarda ve sıvı ortamda büyüme etkinlikleri ve sonrasında mikroskop incelemesi ile tespit ve kontrol edilmiştir.

Kriyoprezervasyonu büyük ölçüde başarılı ve tür teşhisi yapılmış olan izolatların tam listesi aşağıdaki tabloda (Tablo 6) sunulmuştur.

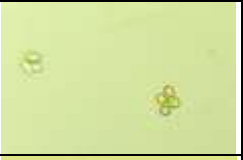


Tablo 6. Proje kapsamında genel biyoteknolojik özellikleri değerlendirilmiş olan türlerin listesi.

Divizyo	Sınıf	Cins	Tür	Büyütme ortamı	Alındığı yer	İzolasyon tarih	Kryop rezerve	Canlı	Sekans Bilgisi	Giriş #	M.B. 40x40
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Chlamydomonas</i>	<i>reinhardtii</i> CC-125	TAP	Narlıgöl	03.07.13	+	+	+	KP259886	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Chlamydomonas</i>	<i>reinhardtii</i> CC503	TAP	Narlıgöl	03.07.13	+	+	+	KP259887	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Chlamydomonas</i>	<i>komma</i> (debaryana)	TAP	Aygır G.	10.04.13	-	+	+	KP259882	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Chlamydomonas</i>	<i>reinhardtii</i> CC425	TAP	Narlıgöl	05.10.13	+	+	+	KP259876	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Chlamydomonas</i>	<i>reinhardtii</i> CC1690	TAP	Narlıgöl	03.07.13	+	+	+	KP259875	

Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Chlorella</i>	sp. ARM0029B	BG11	Aygır G	12.10.13	+	+	+	KP259879	
Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Chlorella</i>	<i>vulgaris</i> ESP-6	BG11	Nemrut	12.10.13	+	+	+	KP259880	
Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Chlorella</i>	<i>vulgaris</i> ESP-31	BG11	Nemrut	12.10.13	+	+	+	KP259881	
Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Chlorella</i>	<i>variabilis</i>	BG11	Narlıgöl	05.04.13	+	+	+	KP259883	
Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Chlorella</i>	<i>vulgaris</i> C-27	BG11	Nemrut	10.04.13	+	+	+	KP259884	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Chlorogonium</i>	<i>elongatum</i>	TAP	Narlıgöl	15.01.13	-	+	+	KP259889	

Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Uronema</i>	<i>belkae</i>	Bristol	Nemrut	10.04.13	-	+	+	KP259888	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Scenedesmus</i>	<i>quadricauda</i>	BBM	Gölcük	05.04.13	+	+	+	KP259872	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Scenedesmus</i>	<i>obliquus</i>	BBM	Gölcük	14.01.13	+	+	+	KP259873	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Scenedesmus</i>	<i>acutus</i>	BBM	Narlıgöl	05.04.13	+	+	+	KP259874	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Scenedesmus</i>	<i>dimorphuus</i>	BBM	Narlıgöl	05.04.13	+	+	+	KP259871	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Dunaliella</i>	<i>tertiolecta</i>	JM	Meke	05.10.13	+	+	+	KP259870	

										KP259868	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Dunaliella</i>	<i>parva</i>	JM	Meke	03.07.13	-	+	+		
										KP259869	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Dunaliella</i>	<i>salina</i>	JM	Meke	05.10.13	+	+	+		
										KP259901	
Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Oocystis</i>	<i>borgei</i>	BBM	Gölcük	03.07.13	+	+	+		
										KP259902	
Chlorophyta	Trebouxiophyceae	<i>Oocystis</i>	<i>elliptica</i>	BBM	Narlıgöl	05.10.13	+	+	+		
										KP259903	
Euglenophyta	Euglenophyceae	<i>Euglena</i>	<i>gracilis</i>	Euglena	Gölcük	02.07.13	-	+	+		
										KP259904	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Synechocystis</i>	sp.	BG11	Acıgöl	15.01.13	+	+	+		
										KP259905	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Synechococcus</i>	sp.	BG11	Acıgöl	15.01.13	+	+	+		

										KP259906	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Chroococcus</i>	<i>turgidus</i>	BG11	Acıgöl	03.07.13	+	+	+		
										KP259907	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Spirulina</i>	<i>platensis</i>	Zarrouck	Nemrut	10.07.13	+	+	+		
										KP259908	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Merismopedia</i>	<i>punctata</i>	BG11	Aygır	10.04.13	+	+	+		
Heterokontophyta	Bacillariophyceae	<i>Nitzschia</i>	<i>palea</i>	f/2	Gölcük	04.04.13	-	+	+	KP259931	
										KP259932	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Haematococcus</i>	<i>pluvialis</i>	BG11	Narlıgöl	05.04.13	+	+	+		
Heterokontophyta	Bacillariophyceae	<i>Phaeodactylum</i>	<i>tricornutum</i>	F2	Acıgöl	03.07.13	+	+	+	KP259933	

Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Anabaena</i>	<i>cylindrica</i>	BG11	Narlıgöl	03.07.13	+	+	+	KP259951	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Anabaena</i>	<i>affinis</i>	BG11	Narlıgöl	03.07.13	-	+	+	KP259952	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Phormidium</i>	<i>foveolarum</i>	FW	Meke	15.01.13	-	+	+	KP259953	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Oscillatoria</i>	<i>tenuis</i>	FW	Meke	15.01.13	+	+	+	KP259954	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Oscillatoria</i>	<i>planctonica</i>	FW	Aygır	23.01.13	-	+	+	KP259955	
Heterokontophyta	Eustigmatophyceae	<i>Nannochloropsis</i>	<i>occulata</i>	F2	Acıgöl	05.04.13	+	+	+	KP259956	

Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Nostoc</i>	<i>azollae</i>	FW	Narlıgöl	05.04.13	+	+	+	KP259958	
Chlorophyta	Chlorodendrophyceae	<i>Tetraselmis</i>	<i>chui</i>	F2	Acıgöl	03.07.13	-	+	+	KP259961	
Chlorophyta	Chlorodendrophyceae	<i>Tetraselmis</i>	<i>saueica</i>	F2	Acıgöl	03.07.13	-	+	+	KP259962	
Chlorophyta	Chlorophyceae	<i>Tetracystis</i>	sp.	BBM	Nemrut	10.04.13	-	+	+	KP259963	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Pseudoanabaena</i>	sp.	BG11	Aygır	23.01.13	-	+	+	KP259964	
Cyanobacteria	Cyanophyceae	<i>Gloeocapsa</i>	sp.	B3N	Gölcük	02.07.13	+	+	+	KP259965	



4.2. Kültüre alınan türlerin genel biyoteknolojik üstünlüklerinin belirlenmesine yönelik elde edilen bulgular

4.2.1. İzolatların İkiye katlanma süreleri

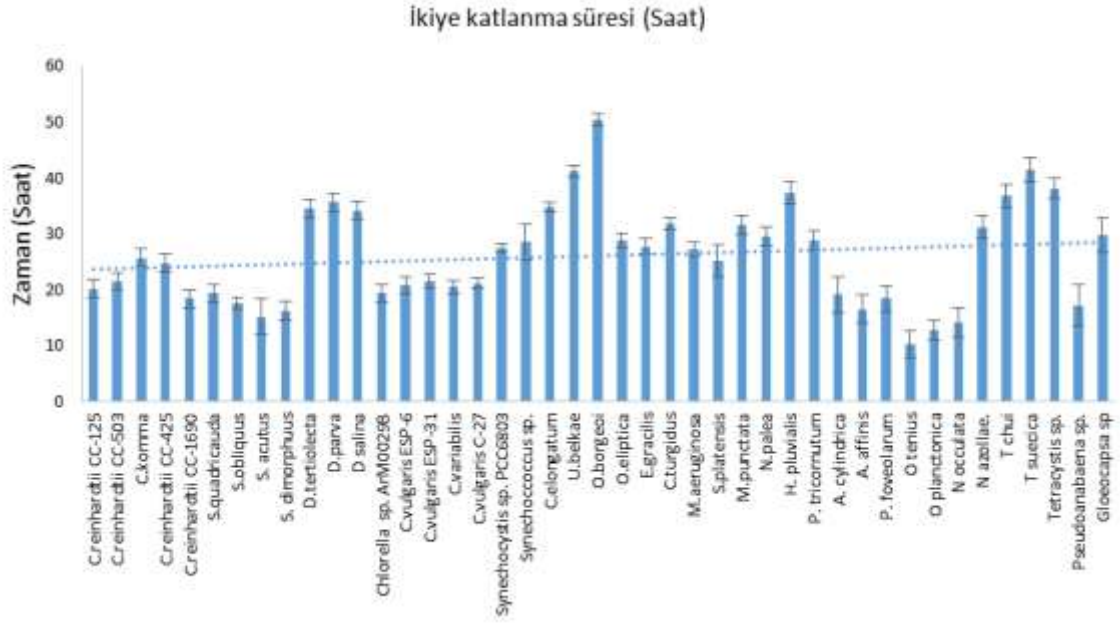
Mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri, büyüme oranları ve bölünme hızlarının belirlenmesi amacıyla net olarak en yüksek büyüme hızının görüldüğü iki dar zaman aralığında alınan değerleri kullanmak yerine eksponensiyal büyümenin görüldüğü 3-10. günlerde alınan veriler kullanılmıştır. Böylece genel olarak eksponensiyal evrede meydana gelen büyüme değişimleri daha açık sunulmuştur.

Mikroalglerin ikiye katlanma süreleri, büyüme oranı ve bölünme hızları Tablo 7’de sunulmuştur.

Tablo 7. Kültüre alınan mikroalglerin ikiye katlanma süresi, büyüme oranı ve bölünme hızları.

Türler	İkiye Katlanma Süresi (Saat)	Büyüme oranı (μ)	Bölünme hızı/gün
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-125	20,2	0,77	1,11
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-503 cw92	21,4	0,73	1,05
<i>Chlamydomonas komma</i>	25,7	0,54	0,82
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-425	24,8	0,49	0,70
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	18,4	0,85	1,22
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	19,3	0,74	1,07
<i>Scenedesmus obliquus</i>	17,5	0,76	1,10
<i>Scenedesmus acutus</i>	15,1	1,03	1,49
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	16,2	0,91	1,34
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	34,5	0,48	0,70
<i>Dunaliella parva</i>	35,6	0,47	0,67
<i>Dunaliella salina</i>	34,2	0,45	0,66
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	19,3	0,79	1,13
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	20,8	0,76	1,10
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	21,5	0,75	1,08
<i>Chlorella variabilis</i>	20,5	0,76	1,10
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	21,1	0,74	1,07
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	27,4	0,60	0,86
<i>Synechococcus</i> sp.	28,5	0,58	0,84
<i>Chlorogonium elongatum</i>	34,8	0,48	0,69
<i>Uronema belkae</i>	41,3	0,40	0,58
<i>Oocystis borgei</i>	50,4	0,33	0,48
<i>Oocystis elliptica</i>	28,9	0,43	0,61
<i>Euglena gracilis</i>	27,7	0,50	0,73
<i>Chroococcus turgidus</i>	31,8	0,49	0,70
<i>Microcystis aeruginosa</i>	27,2	0,61	0,88
<i>Spirulina platensis</i>	25,1	0,66	0,96
<i>Merismopedia punctata</i>	31,5	0,53	0,76
<i>Nitzschia palea</i>	29,5	0,56	0,81
<i>Haematococcus pluvialis</i>	37,2	0,41	0,66
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	28,9	0,62	0,84
<i>Anabaena cylindrica</i>	19,1	0,81	1,17
<i>Anabaena.affinis</i>	16,5	0,94	1,36
<i>Phormidium foveolarum</i>	18,4	0,85	1,22
<i>Oscillatoria tenuis</i>	10,2	1,52	2,20
<i>Oscillatoria planctonica</i>	12,8	1,22	1,75
<i>Nannochloropsis oculata</i>	14,1	1,10	1,59
<i>Nostoc azollae</i>	31,2	0,50	0,72
<i>Tetraselmis chui</i>	36,8	0,42	0,61
<i>Tetraselmis sauceica</i>	41,4	0,38	0,54
<i>Tetracystis</i> sp.	38,1	0,41	0,59
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	17,2	0,90	1,30
<i>Gloeocapsa</i> sp.	29,7	0,54	0,79

Kültüre alınan türlerin büyüme hızlarının daha iyi ifade edilebilmesi için ikiye katlanma süreleri figürize edilmiştir. Şekil 9'da gösterildiği gibi kültüre alınan türlerin büyük çoğunluğunun ikiye katlanma süreleri 24 saatin altındadır. Analiz edilen türler içerisinde en yüksek büyüme hızını 10.2 saatlik ikiye katlanma süresi ve 2.2 kat/gün bölünme hızı ile ipliksi bir siyanobakteri olan *Oscillatoria tenius* gösterirken en düşük büyüme hızını 50.5 saat ile *Oocystis borgei* göstermiştir.



Şekil 9. Kültüre alınan izolatların ikiye katlanma süreleri

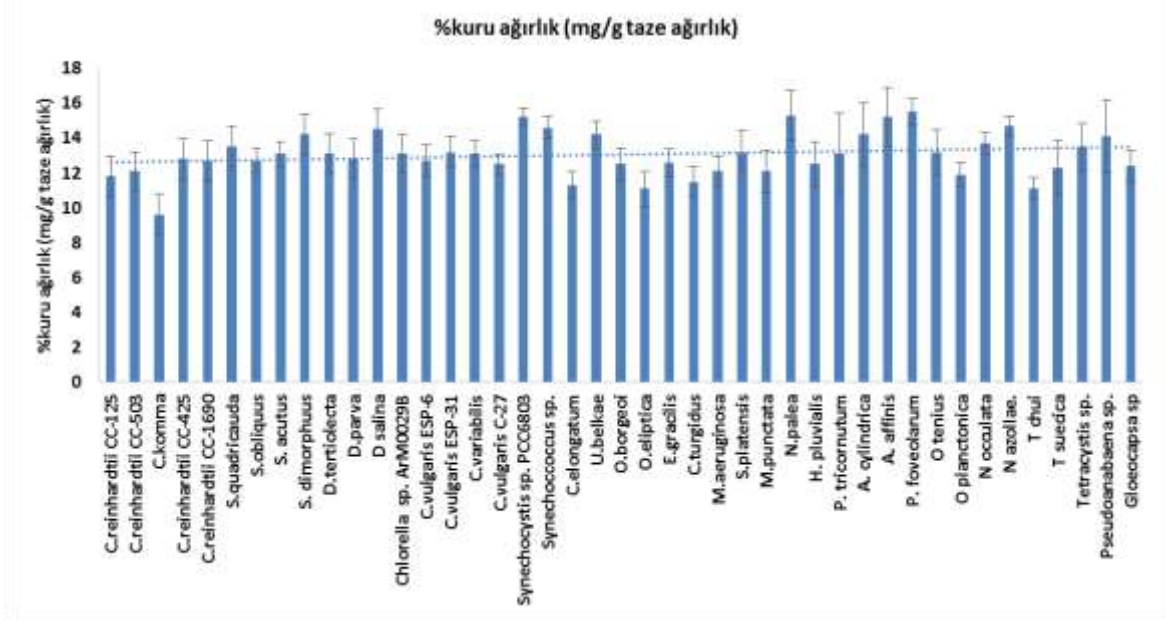
4.2.2. Kültüre alınan mikroalglerin kuru ağırlık, protein, nişasta ve lipid içerikleri

Mikroalglerin kuru ağırlıklarının belirlenmesinde türe göre farklılık göstermek üzere inkübasyonun 5. gününde sıvı kültürden santrifüjlenerek elde edilen 1gr yaş mikroalg örneğinin 80°C'de 48 saat kurutulması sonrası elde edilen tartım değerleri belirlenerek hesaplanmış, her örnek için en az üç tekrar olmak üzere toplamda en az 9 tekrar ile elde edilen sonuçların ortalaması olarak alınan değerler sunulmuştur. Daha önce ifade edildiği gibi izolatların protein içerikleri protein ve nişasta içerikleri spektrofotometrik yolla, toplam lipid içerikleri de analitik yolla (Bligh Dyer, 1952) ölçülmüştür. Örneklerin kuru ağırlık bazında yüzde olarak sunulan nişasta ve lipid içeriklerinin belirlenmesinde de aynı örnekler kullanılmış, hesaplama da ortalama kuru ağırlığa göre yapılmıştır. Çalışılan mikroalg ve siyanobakterilerin nisbi kuru ağırlıkları, protein, nişasta ve lipid içeriklerinin bildirildiği veriler Tablo 8'de sunulmuştur.

Tablo 8. Çalışılan mikroalglerin %kuru ağırlık, protein, nişasta ve lipid içerikleri (en az 3 farklı ölçümden elde edilen ortalamalar sunulmuş, tabloyu sadeleştirmek amacıyla $\pm$ SD değerleri verilmemiştir)

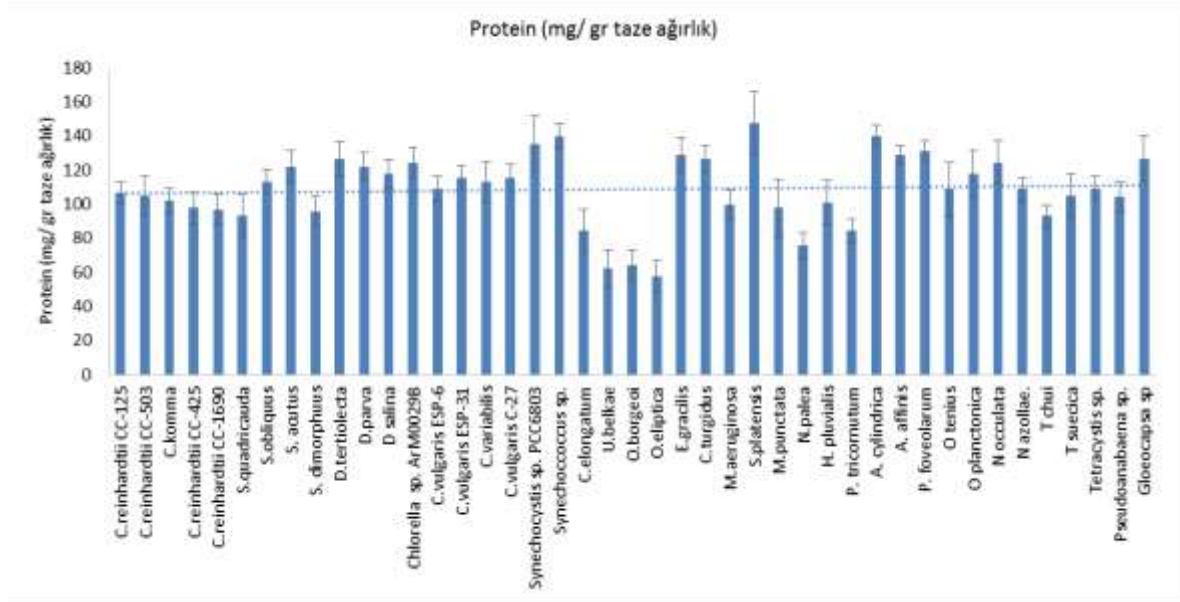
Türler	%kuru ağırlık (mg/g taze ağırlık)	Protein (mg/ gr taze ağırlık)	Nişasta (%kuru ağırlık)	Lipid (% kuru ağırlık)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-125	11,8	106,6	3,1	21,5
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-503cw92	12,1	105,2	3,1	16,6
<i>Chlamydomonas komma</i>	9,6	102,1	3,2	18,6
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC-425	12,8	97,7	3,1	20,5
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	12,7	96,6	2,6	17,6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	13,5	93,2	2,8	12,4
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12,7	113,2	3,1	28,3
<i>Scenedesmus acutus</i>	13,1	122,1	4,3	23,2
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	14,2	95,8	4,1	11,3
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	13,1	126,5	4,3	39,2
<i>Dunaliella parva</i>	12,8	122,1	3,9	33,2
<i>Dunaliella salina</i>	14,5	117,7	2,3	11,8
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	13,1	124,3	3,0	36,1
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	12,7	108,8	3,1	27,4
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	13,2	115,4	2,4	32,2
<i>Chlorella variabilis</i>	13,1	113,2	3,0	23,4
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	12,5	115,4	2,6	26,4
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	15,2	135,4	2,8	15,6
<i>Synechococcus</i> sp.	14,6	139,9	2,8	8,8
<i>Chlorogonium elongatum</i>	11,3	84,4	3,6	15,6
<i>Uronema belkæ</i>	14,2	62,2	4,2	9,8
<i>Oocystis borgei</i>	12,5	64,4	4,1	9,9
<i>Oocystis elliptica</i>	11,1	57,7	3,5	10,7
<i>Euglena gracilis</i>	12,6	128,8	3,0	15,6
<i>Chroococcus turgidus</i>	11,5	126,5	2,1	10,7
<i>Microcystis aeruginosa</i>	12,1	99,9	2,3	14,7
<i>Spirulina platensis</i>	13,2	147,6	2,2	9,3
<i>Merismopedia punctata</i>	12,1	97,7	2,7	12,7
<i>Nitzschia palea</i>	15,3	75,8	4,6	11,4
<i>Haematococcus pluvialis</i>	12,5	101,0	2,0	12,8
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	13,1	84,3	3,5	17,8
<i>Anabaena cylindrica</i>	14,2	139,9	1,4	10,7
<i>Anabaena.affinis</i>	15,2	128,8	4,1	12,7
<i>Phormidium foveolarum</i>	15,5	131,0	2,8	8,8
<i>Oscillatoria tenius</i>	13,2	108,8	3,1	13,7
<i>Oscillatoria planctonica</i>	11,9	117,7	3,3	12,7
<i>Nannochloropsis oculata</i>	13,7	124,3	3,6	12,9
<i>Nostoc azollae</i>	14,7	108,8	1,8	11,7
<i>Tetraselmis chui</i>	11,1	93,2	2,8	12,4
<i>Tetraselmis saueica</i>	12,3	105,2	3,1	16,9
<i>Tetracystis</i> sp.	13,5	109,2	3,2	17,0
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	14,1	104,3	3,0	26,1
<i>Gloeocapsa</i>	12,4	126,5	3,4	27,1

Yapılan ölçümlere göre mikroalglerin kuru ağırlıkları genellikle %10-15 arasında değişmiş, kuru ağırlığı %15'in üzerinde olan *Synechocystis* sp. PCC6803 ve *Nitzschia palea* mikroalglerinde en fazla, %10'un altında olan *Chlamydomonas komma*'nın kuru biomass miktarı da en düşük değerde bulunmuştur (Şekil 10). Mikroalglerin kuru ağırlıkları, içerebilecekleri katma değeri yüksek ürün bakımından önemli bulunur.



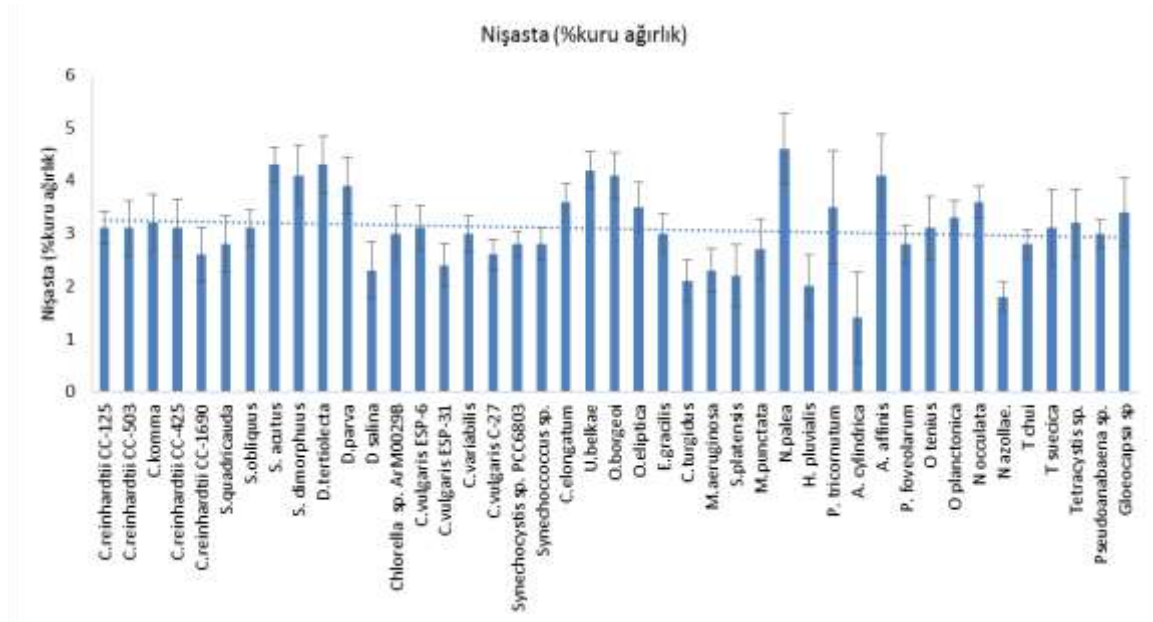
Şekil 10. İzolatların nisbi kuru ağırlıkları (%).

Mikroalglerin içerdikleri protein, nişasta ve lipid miktarlarının bilinmesi, herhangi bir stres durumunda depo materyali olarak bu üç temel öğeden hangisini öncelikli olarak biriktirebileceği sorusuna ışık tutabilir. Bu sebeple öncelikli olarak saflaştırılarak kültüre alınmış olan çok sayıda mikroalgin protein, nişasta ve lipid içerikleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmada çalışılan mikroalglerin protein içerikleri ciddi değişiklikler sergilemiş, *O. borgei* ve *O. elliptica* mikroalginde 65 mg/g altında belirlenen protein içerikleri *Synechocystis* sp. PCC6803, *Synechococcus* sp., *A. cylindrica*, *P. foveolarum* ve *S. platensis*, mikroalginde yaklaşık olarak 130 mg/g kuru ağırlık değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan saflaştırılan *Dunaliella* türleri ile diğer çok sayıda siyanobakterin protein içeriklerinin çalışılan diğer mikroalglerle kıyasla yüksek düzeyde olduğu anlaşılmıştır.



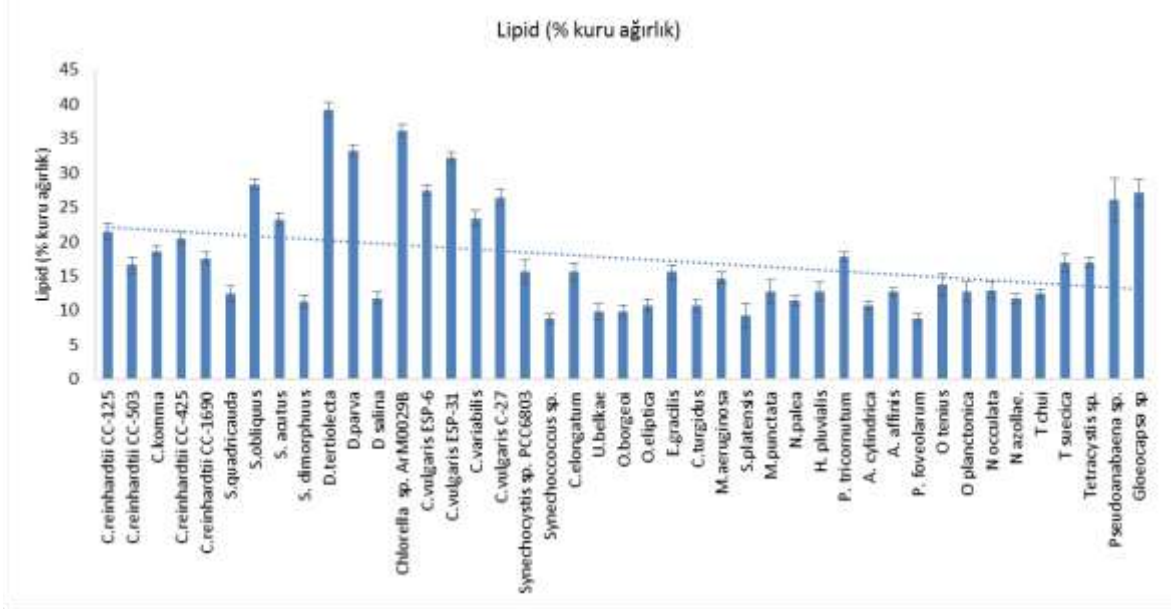
Şekil 11. İzolatların protein içerikleri (mgr/gr taze ağırlık)

Çalışılan türlerin nişasta içerikleri de değişkenlik göstermiştir. Nişasta içeriklerinin belirlenmesinde glukoz referans molekül olarak kullanılmış ve elde edilen standart grafik kullanılarak ölçüm sonuçları elde edilmiştir. *Anabaena cylindrica* ile *Nostoc azollae* siyanobakterlerinde nişasta oranı hücre kuru ağırlığının %2'sinden az bulunmuş, diğer taraftan, *D.tertiolecta*, *U.belgae*, *O.borgei*, *N.palea*, *A. Affinis* ile *S.acutus* mikroalglerinde nişasta oranı %4'ün üzerinde belirlenmiştir. Diğer mikroalg ve siyanobakteri türlerinin nişasta içerikleri kuru ağırlık baz alındığında %2-4 arasında olduğu belirlenmiştir.



Şekil 12. İzolatların nişasta içerikleri (%kuru ağırlık)

Çalışılan mikroalgler içerisinde lipid içeriği %8,8 ile *Synechococcus* sp. türünün en düşük, %39,2 ile *Dunaliella tertiolecta* türünün ise en yüksek oranda lipid içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, *Dunaliella parva*, *Chlorella* sp. ArM0029B, *C. vulgaris* ESP-31 türlerinin de yüksek oranda (%30'un üzerinde) lipid içerdiği kaydedilmiştir.



Şekil 13. İzolatların toplam lipid içerikleri (%kuru ağırlık)

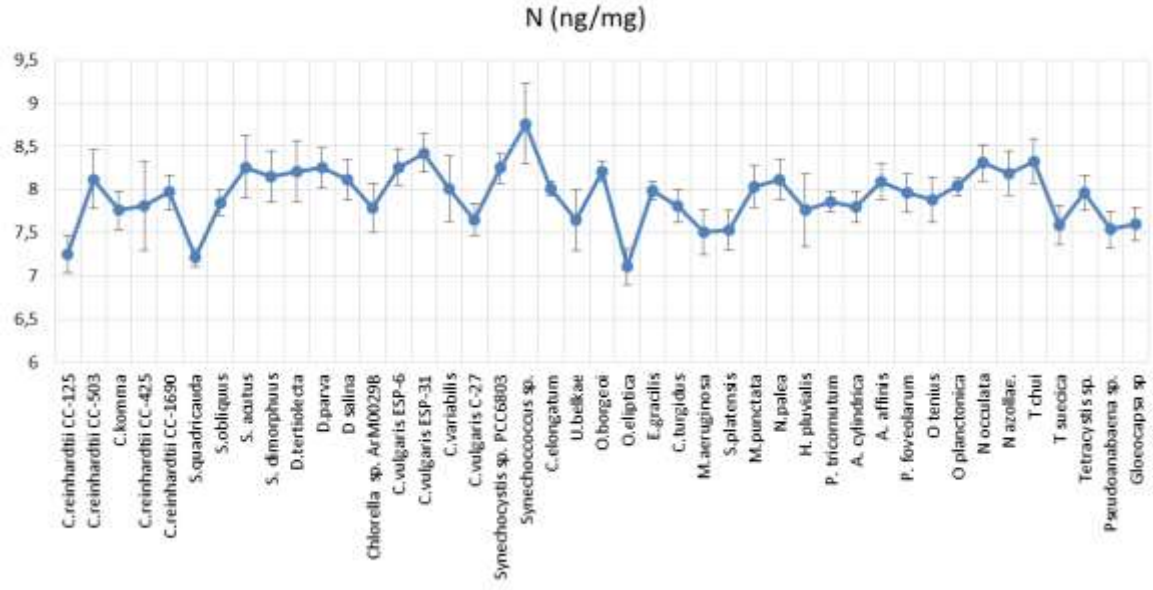
4.2.3. Mikroalglerin makro ve mikroelement kompozisyonları

İzolatların makro ve mikro-element içeriklerinin belirlenmesinde ICP-MS ve CHNSO analizör cihazlarından faydalanılmıştır. Çalışılan mikroalg ve siyanobakterlerin makroelement içerikleri genel olarak birbirinden çok büyük farklılıklar sergilememiştir. Analizi yapılan makroelementler içerisinde mikroalglerin en yapılarında N en yüksek, K elementi de en düşük oranda bulunmuştur. Elde edilen veriler Tablo 9'da sunulmuştur.

Tablo 9. İzolatların makroelement içerikleri. (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları sunulmuş, tabloyu sadeleştirmek amacıyla $\pm$ SD değerleri verilmemiştir)

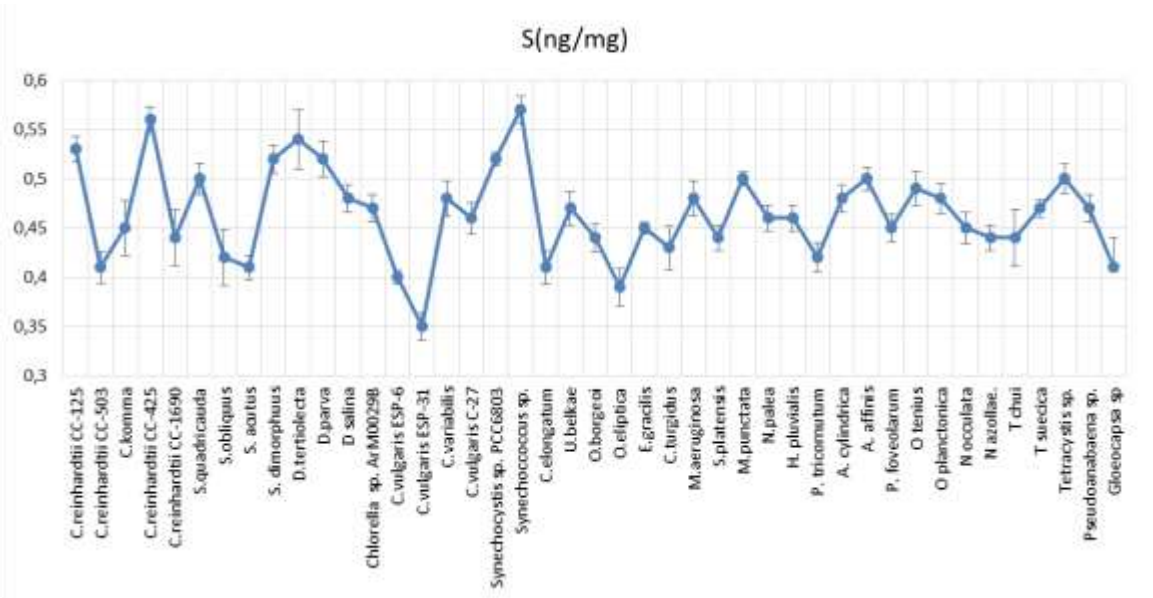
	N (ng/mg)	S(ng/mg)	Mg (ppb)	K (ppb)	Ca (ppb)
<i>C. reinhardtii</i> CC-125	7,25	0,53	325	42,8	811
<i>C. reinhardtii</i> CC-503 cw92	8,12	0,41	387	56,4	996
<i>Chlamydomonas komma</i>	7,76	0,45	347	44,0	844
<i>C. reinhardtii</i> CC-425	7,81	0,56	375	51,2	920
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	7,97	0,44	389	40,3	830
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	7,21	0,50	369	45,1	877
<i>Scenedesmus obliquus</i>	7,85	0,42	363	45,9	843
<i>Scenedesmus acutus</i>	8,26	0,41	373	40,8	797
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	8,15	0,52	326	42,1	801
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	8,21	0,54	382	46,9	877
<i>Dunaliella parva</i>	8,25	0,52	373	47,0	868
<i>Dunaliella salina</i>	8,11	0,48	393	42,6	773
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	7,79	0,47	396	36,2	825
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	8,26	0,40	355	37,4	689
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	8,42	0,35	425	45,6	867
<i>Chlorella variabilis</i>	8,01	0,48	374	38,6	741
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	7,65	0,46	405	43,1	816
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	8,25	0,52	392	39,7	794
<i>Synechococcus</i> sp.	8,76	0,57	385	40,5	766
<i>Chlorogonium elongatum</i>	8,01	0,41	401	42,4	808
<i>Uronema belkae</i>	7,65	0,47	390	40,5	784
<i>Oocystis borgei</i>	8,21	0,44	396	36,2	825
<i>Oocystis elliptica</i>	7,11	0,39	355	37,4	689
<i>Euglena gracilis</i>	7,99	0,45	425	45,6	867
<i>Chroococcus turgidus</i>	7,81	0,43	374	38,6	741
<i>Microcystis aeruginosa</i>	7,51	0,48	405	43,1	816
<i>Spirulina platensis</i>	7,53	0,44	392	39,7	794
<i>Merismopedia punctata</i>	8,03	0,50	385	40,5	766
<i>Nitzschia palea</i>	8,12	0,46	396	36,2	825
<i>Haematococcus pluvialis</i>	7,76	0,46	366	44,8	888
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	7,86	0,42	370	45,9	829
<i>Anabaena cylindrica</i>	7,80	0,48	382	43,8	828
<i>Anabaena.affinis</i>	8,09	0,50	364	42,1	787
<i>Phormidium foveolarum</i>	7,96	0,45	401	41,4	834
<i>Oscillatoria tenius</i>	7,88	0,49	367	40,8	791
<i>Oscillatoria planctonica</i>	8,04	0,48	409	39,5	763
<i>Nannochloropsis occulata</i>	8,31	0,45	374	43,1	829
<i>Nostoc azollae</i>	8,19	0,44	405	38,2	732
<i>Tetraselmis chui</i>	8,33	0,44	396	39,9	802
<i>Tetraselmis sauceica</i>	7,59	0,47	377	40,6	764
<i>Tetracystis</i> sp.	7,96	0,50	407	39,2	806
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	7,54	0,47	409	37,4	798
<i>Gloeocapsa</i>	7,60	0,41	361	34,7	782

İzolatların azot (N) içerikleri 8ng/mg kuru ağırlık dolaylarında belirlenmiştir. Azot içerikleri bakımından değerlendirildiğinde *Synechococcus* sp. türünün en yüksek, *Oocystis elliptica* türünün ise en düşük azot içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.



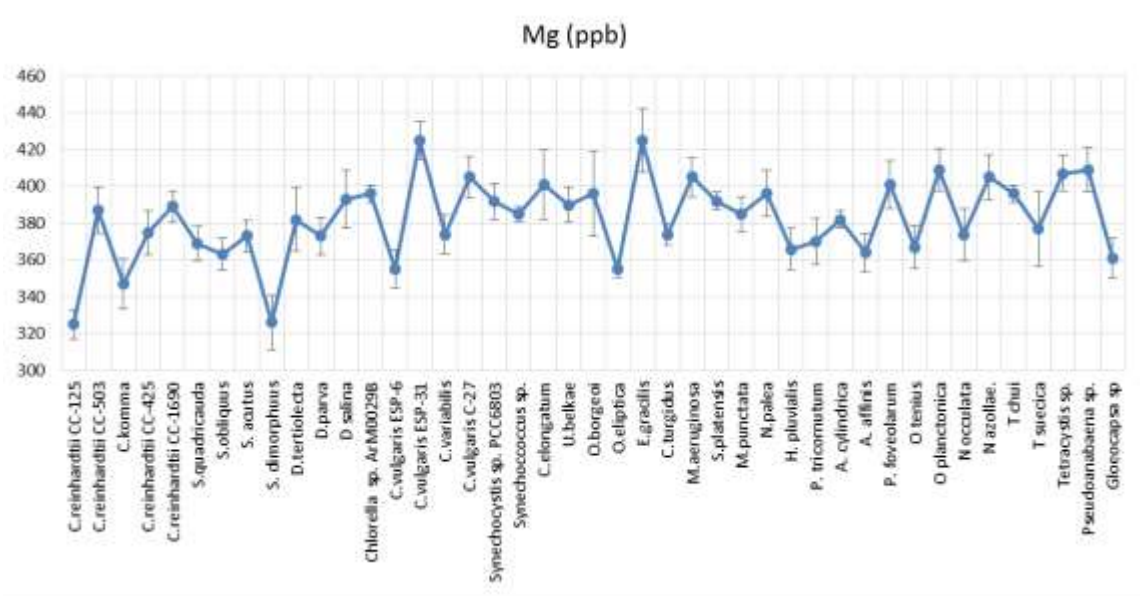
Şekil 14. İzolatların azot (N) içerikleri (%kuru ağırlık)

Mikroalglerin içerdikleri kükürt yoğunlukları 0,4-0,5ng/mg doku düzeylerinde belirlenmiş, N içeriği yüksek olan mikroalglerde genel olarak S içeriğinin de yüksek olduğu kaydedilmiştir. Diğer taraftan bu iki element miktarı yüksek olan mikroalglerde protein içeriğinin de yüksek olması sonuçları yapılan ölçümleri doğrular niteliktedir.



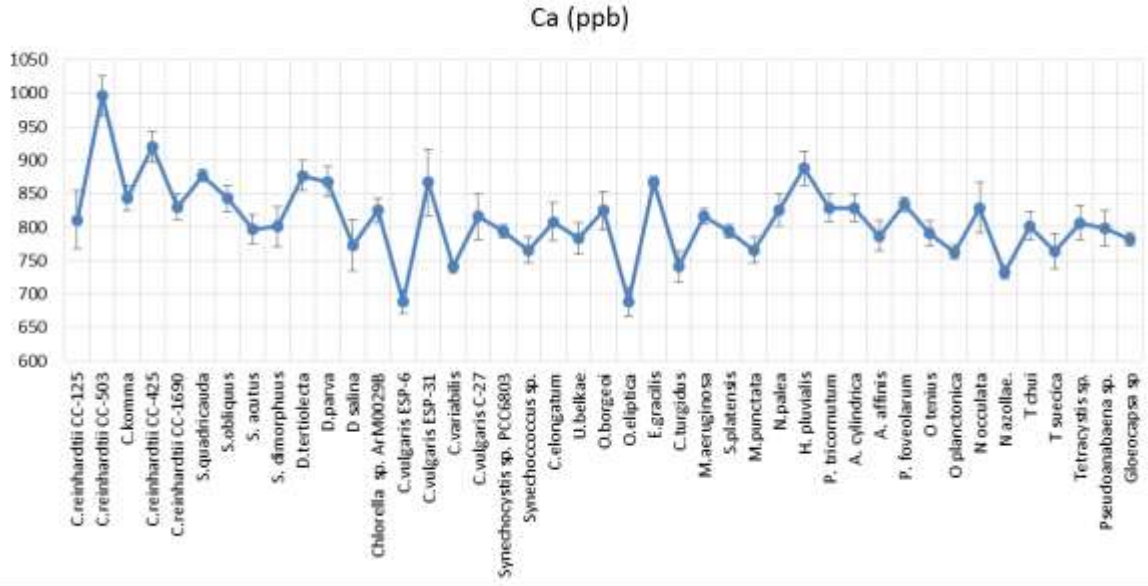
Şekil 15. İzolatların kükürt (S) içerikleri (%kuru ağırlık)

Mikroalglerin içerdikleri Mg element oranları genel olarak 350-400ppb düzeylerinde olsa da *C.reinhardtii* CC-125 izolatında 325ppb ile en düşük, 425ppb ile en yüksek düzeyde belirlenen *C.vulgaris* ESP-31 izolatında Mg düzeyleri diğer türlerden istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir (Şekil 16).



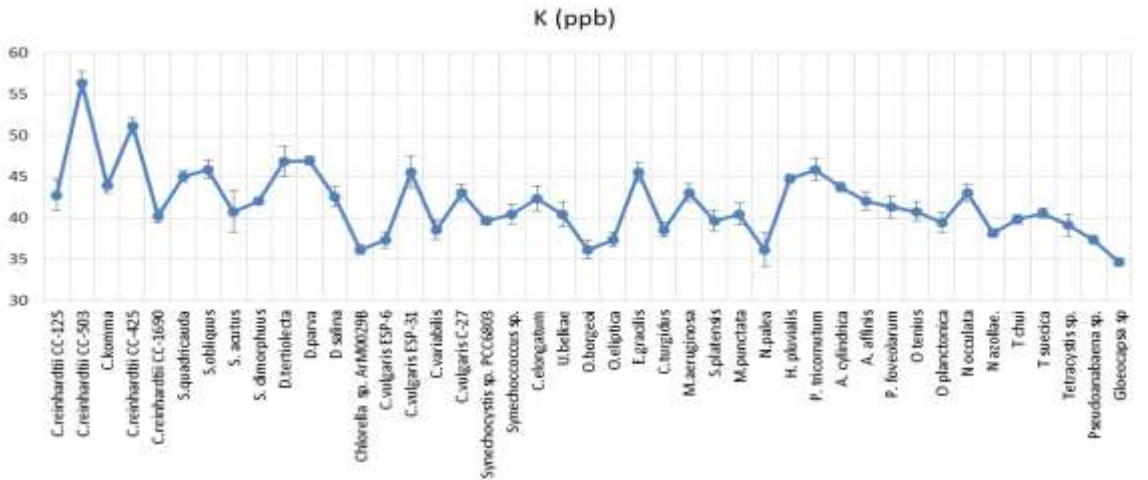
Şekil 16. İzolatların Magnezyum (Mg) içerikleri (%kuru ağırlık)

Kültüre alınan izolatlar içerisinde özellikle *C.reinhardtii* CC-503 soyunda diğer türler ile kıyaslandığında Ca element içeriği önemli düzeyde yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durum bu soyu izole edilen diğer *Chlamydomonas* soylarından da ayırmaktadır. Diğer taraftan *Oocystis eliptica* ve *Chlorella vulgaris* ESP-6 soylarında Ca yaklaşık 700ppb ile en düşük düzeyde belirlenmiştir. Son olarak genel manada izole edilen siyanobakterilerdeki Ca oranlarının diğer ökaryotik yapıli mikroalglerle kıyasla daha düşük düzeyde olduğu not edilmiştir.



Şekil 17. İzolatların Kalsiyum (Ca) içerikleri (%kuru ağırlık)

İzolatların K içerikleri irdelendiğinde Ca içeriği en yüksek olduğu bildirilen *C.reinhardtii* türünde yine en yüksek düzeyde, *Chlorella vulgaris* ESP-6 soyu ile birlikte bir başka *Chlorella* izolatı (ARM0029B), *Oocystis* türlerinde K element içeriği en düşük düzeyde belirlenmiştir. Siyanobakteriler içerisinde de *Gloeocapsa* türünde K düzeyi en düşük değerde belirlenmiştir.



Şekil 18. İzolatların Potasyum (K) içerikleri (%kuru ağırlık)

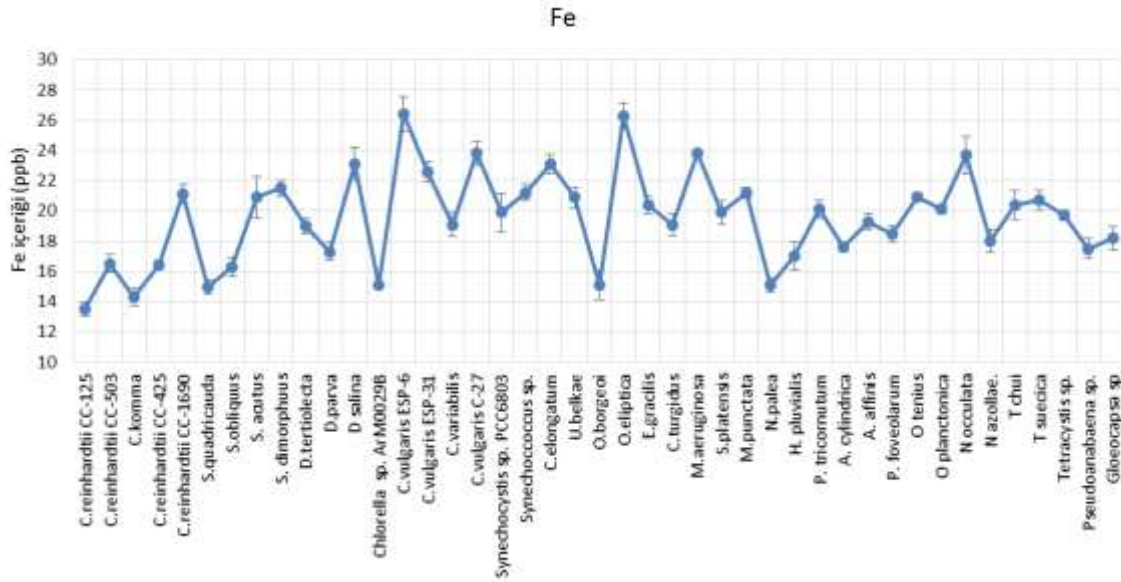
Mikroalglerin mikroelement içerikleri irdelendiğinde, mikroalglerin yapısında en fazla Fe elementinin, yoğunluğu azalan sıraya göre Zn, Cu, Mn, Co ve Mo elementlerinin yer aldığı anlaşılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10. İzolatların mikroelement içerikleri (en az 3 farklı ölçümden elde edilen sonuçların ortalamaları sunulmuş, tabloyu sadeleştirmek amacıyla $\pm$ SD değerleri verilmemiştir)

	Mn (ppb)	Fe (ppb)	Co (ppb)	Cu (ppb)	Zn (ppb)	Mo (ppb)
<i>C. reinhardtii</i> CC-125	2,6	13,5	0,07	8,3	9,5	0,03
<i>C. reinhardtii</i> CC-503 cw92	3,1	16,5	0,05	8,9	9,7	0,03
<i>Chlamydomonas komma</i>	2,7	14,3	0,06	8,1	9,2	0,03
<i>C. reinhardtii</i> CC-425	2,9	16,4	0,06	7,9	9,1	0,03
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	3,17	21,1	0,06	8,6	7,2	0,03
<i>S. quadricauda</i>	2,8	15,0	0,06	8,0	9,0	0,03
<i>Scenedesmus obliquus</i>	2,7	16,3	0,06	8,2	8,1	0,03
<i>Scenedesmus acutus</i>	2,80	20,9	0,07	6,0	8,2	0,03
<i>S. dimorphuus</i>	2,36	21,5	0,06	6,2	8,5	0,03
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	3,2	19,0	0,06	7,9	7,9	0,03
<i>Dunaliella parva</i>	2,9	17,3	0,1	8,2	8,1	0,02
<i>Dunaliella salina</i>	2,57	23,1	0,06	6,5	7,4	0,03
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	2,7	15,1	0,06	5,8	9,7	0,02
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	2,2	26,4	0,07	6,7	7,5	0,03
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	3,9	22,6	0,06	6,6	6,7	0,05
<i>Chlorella variabilis</i>	2,6	19,1	0,07	6,5	7,7	0,03
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	3,4	23,8	0,06	6,6	7,0	0,04
<i>Synechocystis</i> sp.	2,9	19,9	0,06	6,4	8,0	0,03
<i>Synechococcus</i> sp.	2,9	21,2	0,07	6,6	7,3	0,04
<i>Chlorogonium elongatum</i>	3,3	23,1	0,06	6,6	7,1	0,04
<i>Uronema belkæ</i>	3,0	20,9	0,06	6,5	7,6	0,04
<i>Oocystis borgei</i>	2,7	15,1	0,06	5,8	9,7	0,02
<i>Oocystis elliptica</i>	2,2	26,3	0,07	6,7	7,5	0,03
<i>Euglena gracilis</i>	2,6	20,4	0,06	6,6	6,7	0,05
<i>Chroococcus turgidus</i>	3,9	19,1	0,07	6,5	7,7	0,03
<i>Microcystis aeruginosa</i>	3,4	23,8	0,06	6,6	7,0	0,04
<i>Spirulina platensis</i>	2,9	19,9	0,06	6,4	8,0	0,03
<i>Merismopedia punctata</i>	2,9	21,2	0,07	6,6	7,3	0,04
<i>Nitzschia palea</i>	2,7	15,1	0,06	5,8	9,7	0,02
<i>Haematococcus pluvialis</i>	2,87	17,0	0,06	7,5	8,8	0,03
<i>P. tricornutum</i>	2,53	20,1	0,07	7,6	8,9	0,03
<i>Anabaena cylindrica</i>	3,33	17,6	0,06	6,9	9,0	0,04
<i>Anabaena.affinis</i>	2,77	19,3	0,08	7,0	8,2	0,03
<i>Phormidium foveolarum</i>	2,93	18,5	0,06	7,1	7,9	0,03
<i>Oscillatoria tenius</i>	2,77	20,9	0,08	6,3	8,5	0,03
<i>Oscillatoria planctonica</i>	3,23	20,1	0,06	6,6	7,5	0,04
<i>Nannochloropsis oculata</i>	2,87	23,7	0,07	6,3	7,6	0,03
<i>Nostoc azollæ</i>	2,87	18,0	0,06	6,6	8,2	0,04
<i>Tetraselmis chui</i>	3,53	20,4	0,06	6,3	8,2	0,04
<i>Tetraselmis sauceica</i>	2,83	20,7	0,07	6,6	7,2	0,03
<i>Tetracystis</i> sp.	3,00	19,7	0,06	6,6	7,4	0,03
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	3,27	17,5	0,06	6,9	7,2	0,04
<i>Gloeocapsa</i>	3,6	18,2	0,07	6,1	7,2	0,03

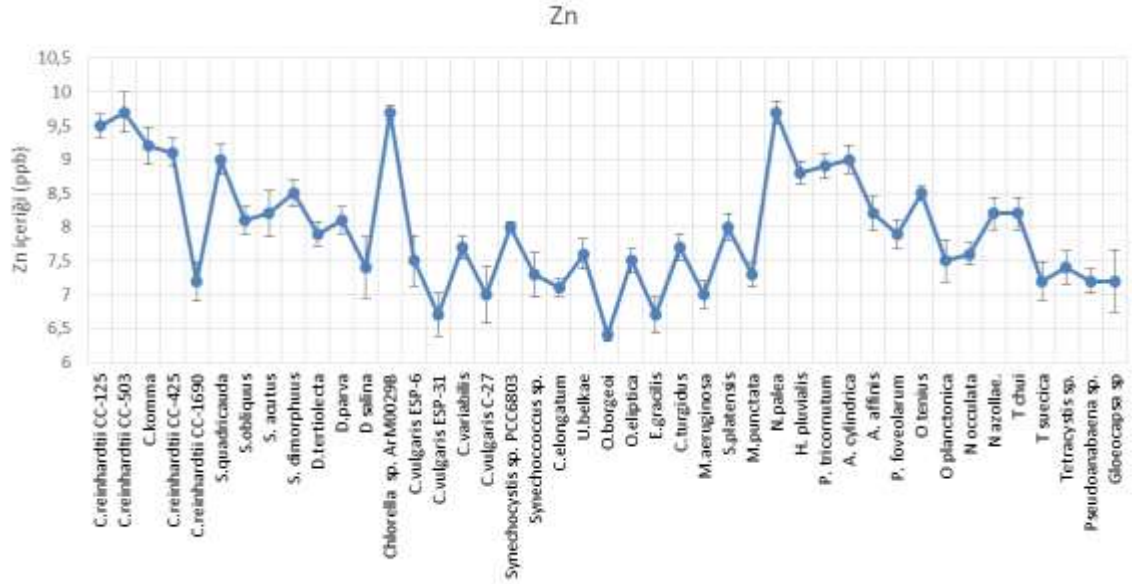
Çalışılan izolatların iz element içeriklerinin çoğunlukla değişkenlik gösterdikleri belirlenmiştir. Bu durum mikroalglerin ağır metal gideriminde kullanılabilirlikleri açısından dikkate değer sonuçlar sunar.

Yapılan analizlerde Fe içeriği belirlenen izolatlar içerisinde *Chlorella vulgaris* ESP-6 soyunda *O.elliptica* türü ile birlikte en yüksek düzeyde Fe içeriği belirlenmiştir. Diğer taraftan *Chlorella* sp. ARM0029B soyu ile *Oocystis borgei* türlerinde de en düşük düzeyde Fe içeriği belirlenmiştir. Her iki tür için de aynı tür olmasına rağmen bir soyun, analiz edilen türler içerisinde en yüksek, diğer soyunda yaklaşık olarak %70 dolaylarında düşük düzeyde Fe içeriğinin belirlenmesi ilginç bir özellik olarak kaydedilmiştir. Büyüme için aynı türün iki soyu arasındaki Fe elementine olan gereksinimdeki bu ciddi farklılık, biyoteknolojik açıdan değerlendirilebilme potansiyelini barındırmaktadır. Dolayısıyla Fe içeriği nispeten yüksek ve düşük olan bu mikroalglerin iki farklı soylarının Fe açlığı ya da bolluğuna cevapta verecekleri metabolik cevaplar dikkate değer biyoteknolojik çıktılar sunabilir.



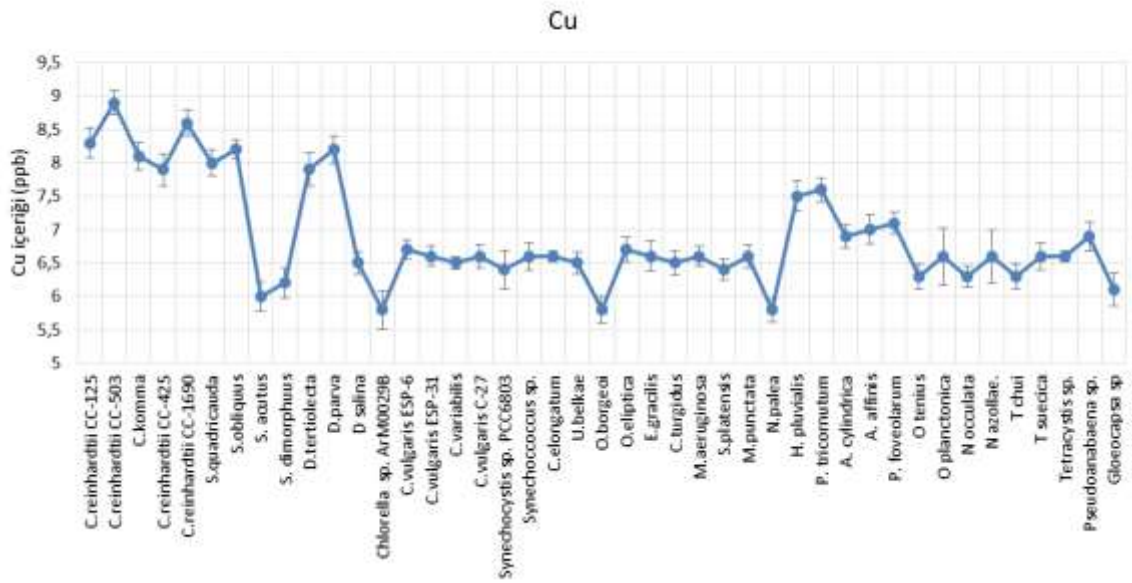
Şekil 19. İzolatların Demir (Fe) içerikleri (%kuru ağırlık)

İzolatların Zn içerikleri incelendiğinde genel olarak *Chlamydomonas* cinsi izolatların Zn içeriklerinin yüksek olduğu anlaşılmıştır. Yine büyüme ortamında Zn elementinin yüksek olduğu durumlarda kültüre alınan mikroalglerin Zn biriktirme potansiyelleri, bu tür mikroalglerin organik tarımda Zn kaynağı olarak kullanılabileceklerini akla getirmektedir.



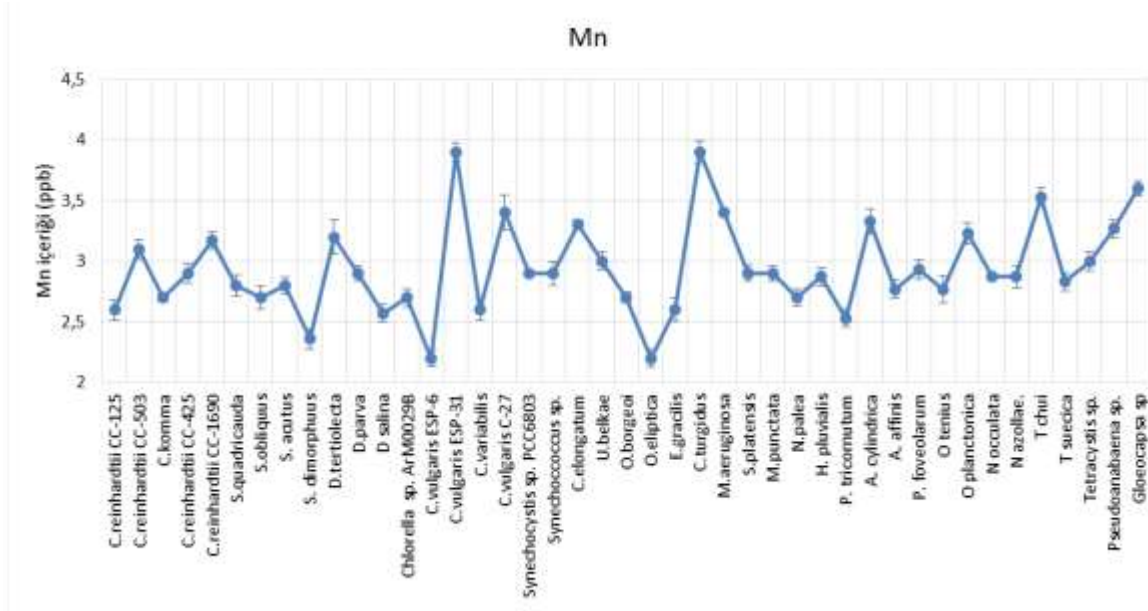
Şekil 20. İzolatların Çinko (Zn) içerikleri (%kuru ağırlık)

Yapılan analizlerde *Chlamydomonas* cinsi izolatların Zn içerikleri olduğu kadar Cu içeriklerinin de diğer mikroalg ve siyanobakterilere kıyasla dikkate değer oranda daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla izole edilen *Chlamydomonas* türlerinin Cu elementinin biyosorbsiyonunda kullanılabilecekleri düşünülebilir. Zira çalışılan diğer tüm türlerin Cu içerikleri ortalama olarak 6.7 ppb düzeylerinde iken, *Chlamydomonas* türlerinde bu değer 8.36 ppb olarak belirlenmiştir.



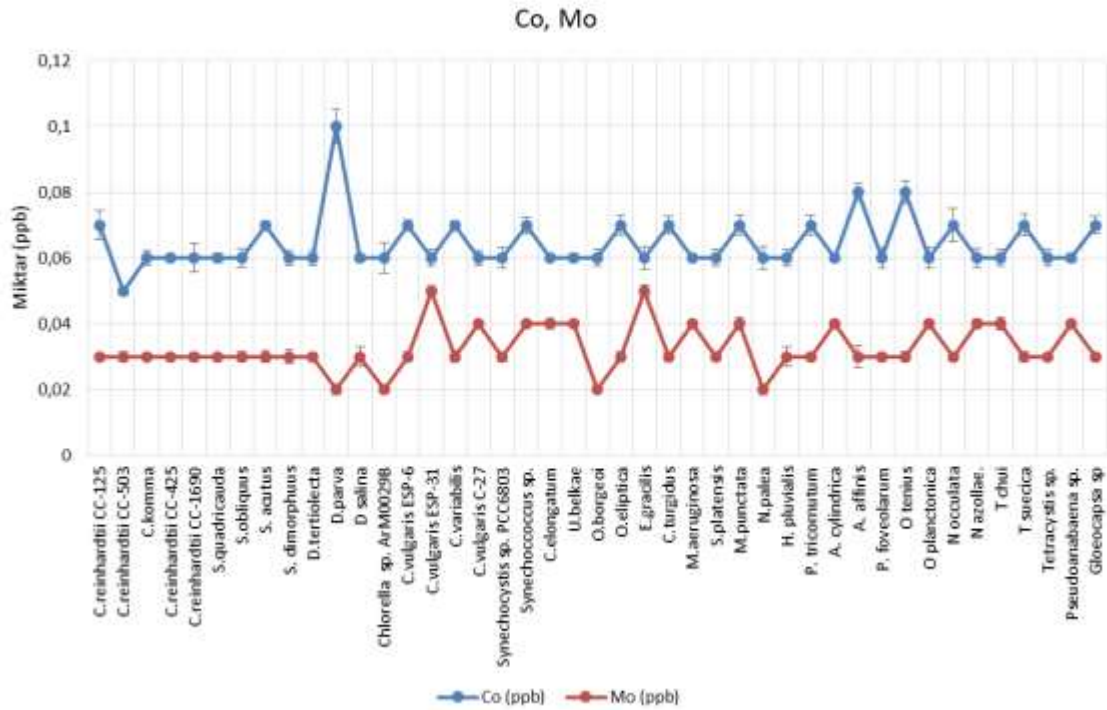
Şekil 21. İzolatların Bakır (Cu) içerikleri (%kuru ağırlık)

İzolatlarda genel olarak Mn içeriği 2,5-3,5 ppb arasında değişse de *Chlorella vulgaris* ESP-31 ve *Chroococcus turgidus* türlerinde 3,9ppb olarak en yüksek düzeyde belirlenmiştir. Diğer taraftan yine bir *Chlorella* soyu, *C.vulgaris* ESP-6 ve *Oocystis eliptica* türlerinin Mn düzeyleri 2,2 ppb ile en düşük düzeylerde belirlenmiştir. Özellikle *Chlorella vulgaris* türüne ait izole edilen iki soyun (ESP-6 ve ESP-31 soyları) Mn içeriklerindeki bu ciddi farklılık dikkate değer bir özellik olarak kaydedilmiştir.



Şekil 22. İzolatların Manganez (Mn) içerikleri (%kuru ağırlık)

İzolatların Co ve Mo içerikleri analiz edilmiştir. Halofit mikroalglerden Meke tuzlasından izole ettiğimiz *Dunaliella parva* türünün Co içeriği ortalamanın oldukça üstünde çıkmış iken yine Mo düzeylerinin de en düşük olarak belirlenen türler içerisinde yer alması kayda değer bir sonuç olarak not edilmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. İzolatların Kobalt (Co) ve Molibden (Mo) içerikleri (%kuru ağırlık)

4.2.4. İzolatların abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdikleri büyüme davranışlarının değerlendirilmesi

Mikroalg ve siyanobakterilerin değişik abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdikleri büyüme davranışlarının analizi amacı ile mikroalgler değişik sıcaklık, pH, CO₂, ve makroelement açlığı ile bolluğu ortamlarında kültüre alınmışlardır.

Kültüre alınan mikroalg ve siyanobakterilerin büyümeleri üzerine sıcaklık değişimi (15°C ve 35°C), pH (pH=4 ve pH=12) ve CO₂ (%2 ve %5) yoğunluğundaki değişimin etkilerini araştırmak için mikroalgler kendilerine özgü besin çözeltilerinde kontrol (kontrol grubundaki hücrelerin pH değerleri genelde 6-8 arasında değişmektedir ve kontrol grubu mikroalgler 25°C sabit sıcaklıkta kültüre alınmıştır) grubuna karşı bahsedilen ortamlarda mikroalgler daha önce bahsedildiği şekilde (3x10⁴ hücre/ml başlangıç yoğunluğu ve 30 günlük inkübasyonun 1., 3., 5., 7., 10., 15., 20., 30.günlerinde alınan A680 ve A720 absorbands değerleri alınarak büyüme eğrisinin çıkarılması) başlatılmış ve ikiye katlanma

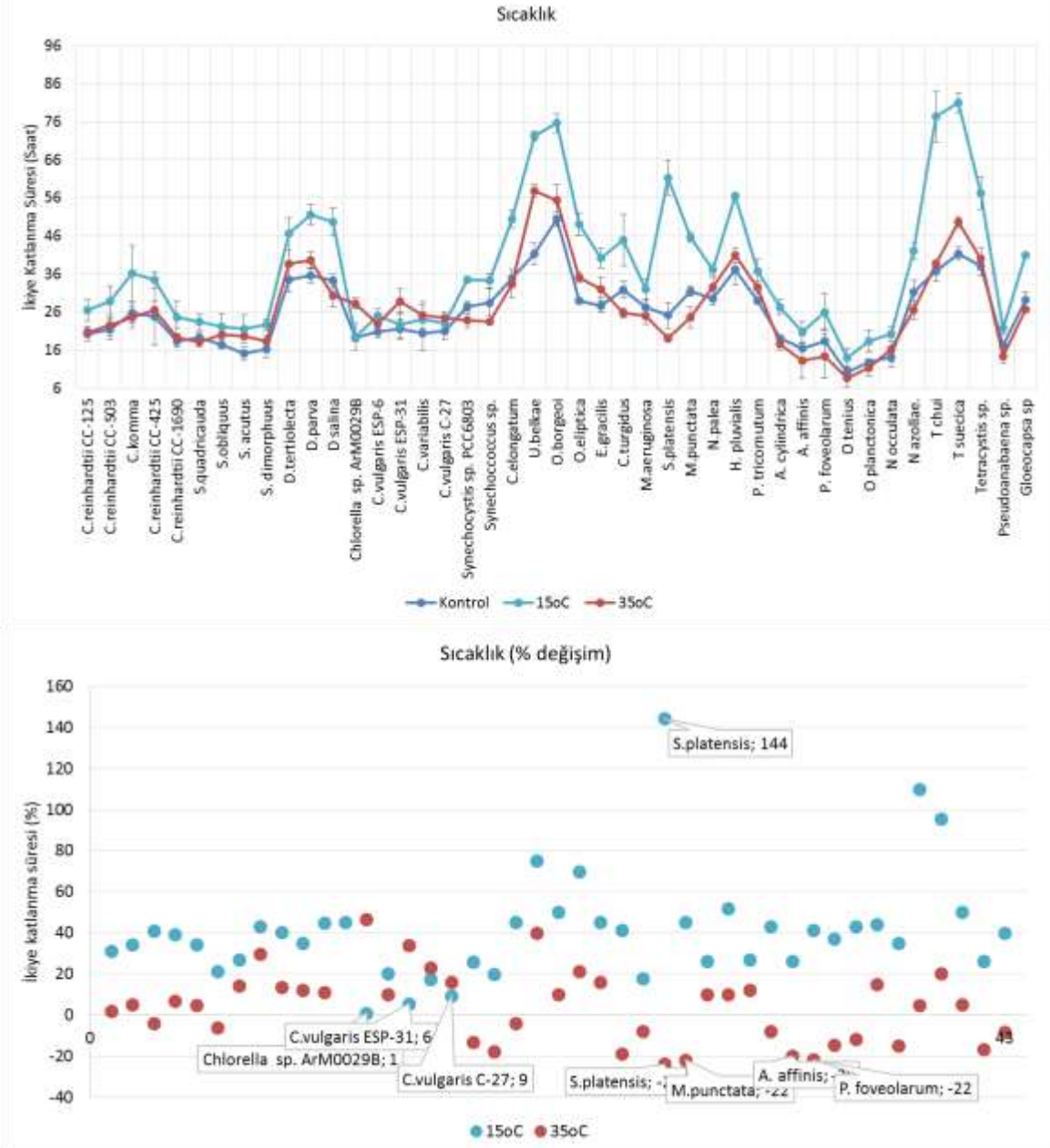
süreleri hesaplanmıştır. Tek hücreli mikroalg ve siyanobakterilerin büyüme değerlerinin belirlenmesinde absorbans, ipliksi yapıda siyanobakterilerin büyüme özelliklerinin belirlenmesinde ise ağırlık ölçümü dikkate alınmıştır. Mikroalg ve siyanobakterilerin CO₂ kullanma etkinliklerinin belirlenmesi için laboratuvarımızda bulunan çoklu kültüratör sistemi kullanılmıştır. Sıcaklık ve pH uygulamalarının yapıldığı grupların büyümeleri 30 gün boyunca takip edilmiş, zaman ve tekrar sayısı sebebi ile CO₂ uygulaması için ise 7 günlük bir inkübasyon süresi tutulmuştur. CO₂ uygulaması için kullandığımız çoklu kültüratör sistemi 8 kanallıdır, dolayısıyla aynı zamanda 8 örneğin ölçülmesine olanak sağlar. Bu sebeple diğer gruplardan elde edilen veriler en az 3 tekrarlı olsa da CO₂ kullanım etkinliği için kullanılan veriler 2 biyolojik tekrardan elde edilen verileri yansıtmaktadır. Bunun yanında, diğer gruplar 3x10⁴ hücre/ml ile başlatılmış iken CO₂ uygulamasında eksponensiyal evreyi yansıtan 3x10⁵ hücre/ml ile başlatılmış 2-7. günlerde alınan büyüme verileri baz alınarak ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır. Diğer gruplarda ise 30 günlük inkübasyonun 3-10. günlerinde elde edilen veriler kullanılarak eksponensiyal ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır. Yapılan uygulamaların genel olarak eksponensiyal büyüme evresinde meydana getirdiği değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmış, en yüksek büyümenin görüldüğü 1 gün gibi dar bir zaman aralığı yerine bu aralık daha geniş tutulmuştur.

İzolatlar değişen çevresel faktörlere karşı değişik cevaplar sergilemiştir. Genel olarak çalışmaya konu olan siyanobakterilerin mikroalglerle kıyasla pH değişiminden çok daha fazla etkilendikleri, büyümelerinde önemli yavaşlamalar olduğu belirlenmiştir. Yine ortam sıcaklığı düştüğünde siyanobakteriler genel olarak daha yüksek oranda etkilenmiş, büyümelerindeki yavaşlama daha çarpıcı düzeyde olmuş, ortam sıcaklığı arttığında da büyümede çoğu durumda olumlu artışlar kaydedilmiştir (Tablo 11). Bu kapsamda elde edilen sıcaklık, pH ve CO₂ değişimlerine cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerindeki değişiklikler ayrıca figürlerle daha detaylı olarak sunulmuştur.

Tablo 11. Sıcaklık, pH ve CO₂ değişimlerine cevapta izolatların ikiye katlanma süreleri. (Kontrol grubu mikroalgler 25°C sıcaklık, pH=6-8 arası, ve büyüme ortamına CO₂ verilmemiştir).

	Kontrol	15°C	35°C	pH=4	pH=12	%2 CO ₂	%5 CO ₂
<i>C. reinhardtii</i> CC-125	20,2	26,5	20,6	28,3	34,3	21,2	22,6
<i>C. reinhardtii</i> CC-503 cw92	21,4	28,7	22,5	27,8	38,5	24,6	25,9
<i>Chlamydomonas komma</i>	25,7	36,2	24,7	43,7	41,1	25,7	30,1
<i>C. reinhardtii</i> CC-425	24,8	34,5	26,5	29,8	38,2	27,8	25,3
<i>C. reinhardtii</i> CC-1690	18,4	24,7	19,3	25,8	31,3	18,4	21,5
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	19,3	23,4	18,1	84,0	32,8	21,4	23,5
<i>Scenedesmus obliquus</i>	17,5	22,2	20,0	19,6	24,5	16,6	15,9
<i>Scenedesmus acutus</i>	15,1	21,6	19,6	16,6	24,2	16,6	19,6
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	16,2	22,7	18,4	18,1	17,8	16,4	17,9
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	34,5	46,6	38,7	34,2	43,7	29,7	38,0
<i>Dunaliella parva</i>	35,6	51,6	39,6	42,4	46,1	40,6	39,2
<i>Dunaliella salina</i>	34,2	49,6	30,4	40,4	41,4	32,4	37,6
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	19,3	19,5	24,3	104,2	22,5	17,8	19,5
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	20,8	25,0	22,9	30,2	33,3	22,9	27,0
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	21,5	23,4	22,8	21,7	31,6	18,2	20,5
<i>Chlorella variabilis</i>	20,5	24,1	25,2	114,8	20,7	23,6	28,7
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	21,1	21,1	24,5	24,7	30,8	16,5	19,6
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	27,4	34,5	23,8	71,2	42,7	31,5	36,7
<i>Synechococcus</i> sp.	28,5	34,2	23,4	82,7	45,6	29,9	33,6
<i>Chlorogonium elongatum</i>	34,8	50,5	33,4	87,0	50,5	45,2	66,1
<i>Uronema belkai</i>	41,3	72,3	57,8	144,6	86,7	66,1	57,8
<i>Oocystis borgei</i>	50,4	75,6	55,4	110,9	176,4	58,0	70,6
<i>Oocystis elliptica</i>	28,9	49,1	35,0	63,6	62,3	44,8	50,4
<i>Euglena gracilis</i>	27,7	40,2	32,1	32,4	40,2	36,0	52,6
<i>Chroococcus turgidus</i>	31,8	44,9	25,8	199,1	283,0	25,8	39,1
<i>Microcystis aeruginosa</i>	27,2	32,0	25,0	224,7	214,9	22,0	28,0
<i>Spirulina platensis</i>	25,1	65,3	19,1	56,7	72,8	20,3	27,6
<i>Merismopedia punctata</i>	31,5	45,7	24,6	102,7	59,9	36,9	40,7
<i>Nitzschia palea</i>	29,5	37,2	32,5	42,8	43,4	27,1	29,9
<i>Haematococcus pluvialis</i>	37,2	56,5	40,9	43,5	53,9	29,0	41,0
<i>Phaeodactylo tricornutum</i>	28,9	36,7	32,4	34,7	37,6	24,3	25,7
<i>Anabaena cylindrica</i>	19,1	27,3	17,6	19,5	93,6	17,4	21,0
<i>Anabaena affinis</i>	16,5	20,8	13,2	141,0	97,4	12,2	19,0
<i>Phormidium foveolarum</i>	18,4	26,0	14,4	133,6	90,2	14,5	20,8
<i>Oscillatoria tenius</i>	10,2	14,0	8,7	33,3	67,3	8,9	9,9
<i>Oscillatoria planctonica</i>	12,8	18,3	11,3	54,5	75,5	10,5	13,4
<i>Nannochloropsis oculata</i>	14,1	20,3	16,2	77,6	31,9	14,2	18,3
<i>Nostoc azollae</i>	31,2	42,1	26,5	162,1	152,9	28,4	38,4
<i>Tetraselmis chui</i>	36,8	77,3	38,6	84,6	77,3	42,3	54,1
<i>Tetraselmis saueica</i>	41,4	81,0	49,7	95,2	98,6	46,0	70,4
<i>Tetracystis</i> sp.	38,1	57,2	40,0	53,3	79,2	38,5	49,5
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	17,2	21,7	14,3	58,5	20,6	13,1	15,7
<i>Gloeocapsa</i>	29,2	40,9	22,8	169,8	213,0	20,8	32,1

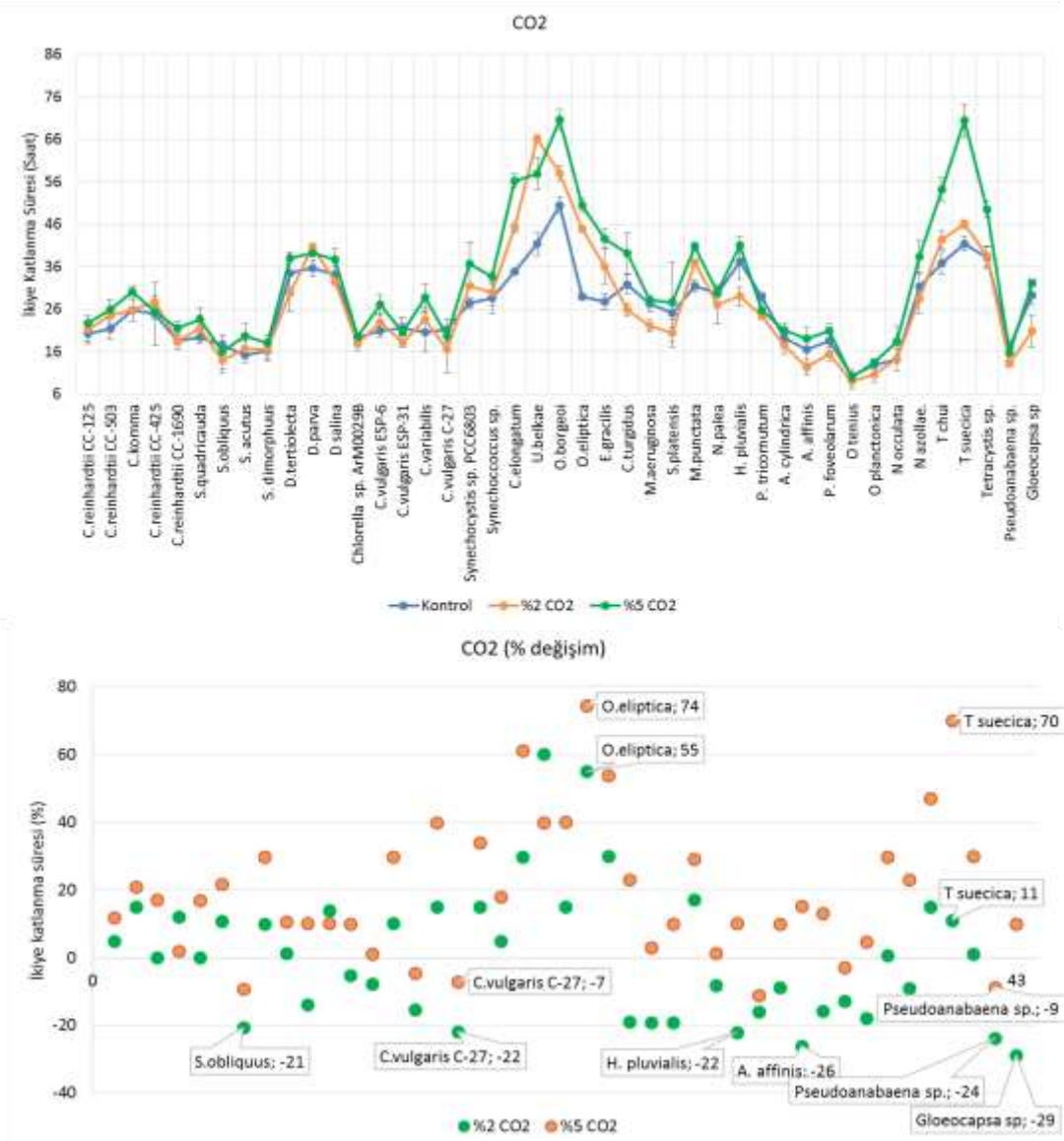
Kültüre alınan mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri sıcaklık değişimine cevapta değişkenlik sergilemiştir. Ortam sıcaklığındaki 10°C'lik düşüşe cevapta genel olarak *Chlorella* cinsine ait mikroalglerin büyümelerinde diğer izolatlarla kıyasla daha yavaş bir düşüş belirlenmiştir. Özellikle *Chlorella sp* ARM0029B türü bu sıcaklık düşüşünden neredeyse hiç etkilenmemiş, *C.vulgaris* ESP-31 ve *C.vulgaris* C-27 türlerinin büyümeleri de sembolik oranlarda (sırasıyla %6 ve %9) düşüş göstermiştir. Oysa ortam sıcaklığı 10°C artırıldığında *Chlorella sp* ARM0029B ve *C.vulgaris* ESP-31 türleri sırasıyla %46 ve %31 oranlarında baskılanırken *C.vulgaris* C-27 türünün büyümesinde yalnızca %16 oranında baskılanma olmuştur (Şekil 24). Öte yandan sıcaklıktaki 10 °C düşüş *Chlamudomonas* ve *Scenedesmus* cinsi mikroalglerde büyümede dikkate değer oranda baskılanmaya sebep olsa da sıcaklığın 35°C ye çıktığı durumda genel olarak büyümede çok dramatik değişiklikler belirlenmemiştir. Son olarak, izole edilmiş olan siyanobakterilerin neredeyse tümünün ikiye katlanma süreleri ortam sıcaklığı artırıldığında düşmüş, ortam sıcaklığındaki düşüş ile ters orantılı olarak önemli oranda gecikme göstermiştir. Ortam sıcaklığındaki 10°C düşüşten en fazla bilindik bir tür, *Spirulina platensis* etkilenmiştir. Bu türün ikiye katlanma süresi 2.44 kat gecikmiş, ortam sıcaklığı artırıldığında ise ikiye katlanma süresi %24 oranında kısalmıştır.



Şekil 24. Sıcaklık değişimine karşı izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim (Gerçek değerler üstte; Kontrole kıyasla meydana gelen %değişim alttaki şekilde sunulmuştur)

Kültüre alınan izolatlar ortam başlangıç pH'sındaki dramatik farklılığa cevapta değişik büyüme oranları sergilemişlerdir. Genel olarak büyümedeki baskılanma %40'ın altında olan türler, inkübasyon periyodunun sonunda ortam pH sını 8-9 düzeylerine getirebilmeyi başarmış olan türlerdir. Özellikle *D. tertiolecta*, *S. obliquus*, *S. acutus* ve *C. vulgaris* ESP-31 türleri asidik pH'ya cevapta büyümelerinde önemli bir değişim kaydedilmemiştir. İnkübasyonun sonunda bu türlerin bulunduğu asidik ortamların pH değerlerinin yine 7-8,5 düzeylerinde olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu türler ortam pH'sını düzenleyebilme yeteneğindedirler ve asidik atık suların pH'sının düzenlenmesinde organik bir çözüm

Mikroalg ve siyanobakterilerin CO₂'yi kullanma etkinlikleri, bu organizmaları biyoteknolojik açıdan önemli kılan bir başka özellikleridir. Yapılan çalışmada *C. vulgaris* C-27, *S.obliquus*, *H. pluvialis*, *A.affinis* ve *Pseudoanabaena* sp. ile *Gloeocapsa* sp. türlerinin artan CO₂ yoğunluklarına cevapta büyümelerinde önemli artışlar olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin ikiye katlanma süreleri büyüme ortamına %2 oranında CO₂ ilave edildiğinde yaklaşık %20'nin üzerinde kısalmıştır. Diğer taraftan bu türler içerisinde *C. vulgaris* C-27, *S.obliquus*, *Pseudoanabaena* sp. türlerinin ikiye katlanma süreleri ortam CO₂ yoğunluğu %5 olduğunda %11 civarında kısalmış, *H. pluvialis*, *A. affinis* ve *Gloeocapsa* türlerinin büyümeleri ise %10-15 düzeylerinde uzamıştır.



Şekil 26. CO₂ ilavesine karşı izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim (Gerçek değerler üstte; Kontrole kıyasla meydana gelen %değişim alttaki şekilde sunulmuştur.

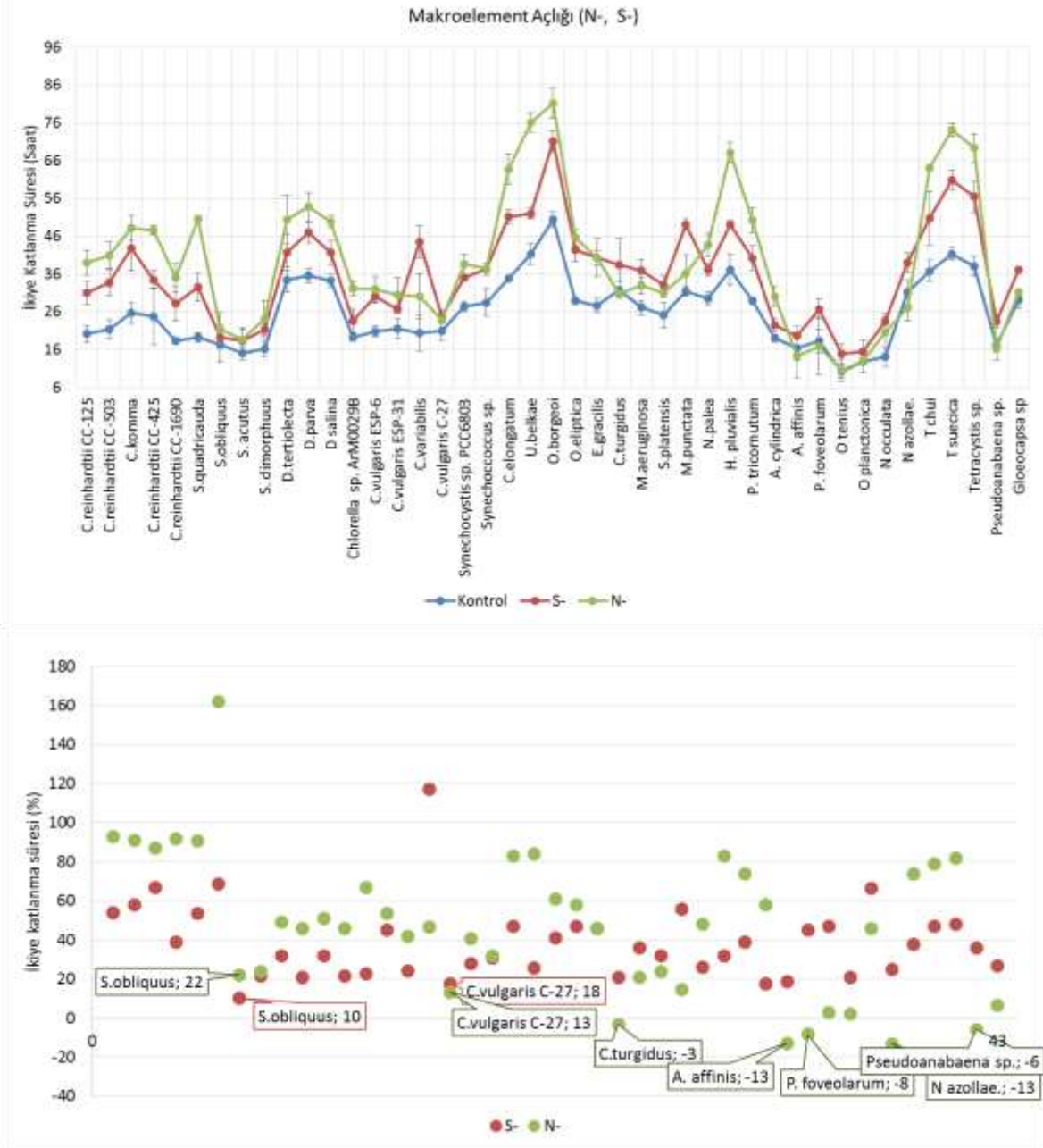
4.2.5. İzolatların ortam element manipölasyonuna cevapta büyümelerinde meydana gelen değışimler

Költüre alınan mikroalg ve siyanobakterilerin büyüme ortamlarında azot(N), fosfor (P), Kükürt (S) ve Mg elementlerinin hiç bulunmadığı ya da N veya P elementinin normalden 5 kat fazla bulunduğu durumda izolatların büyümelerindeki değışim 30 gün boyunca kaydedilmiş, genel olarak element manipölasyonunu takiben 1-10. günler arasında elde edilen büyüme verileri göz önünde bulundurularak ikiye katlanma süreleri hesaplanmıştır. Ortam element manipölasyonuna cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerindeki değışim tablo halinde sunulmuştur (Tablo 12).

Tablo 12. Büyüme ortamlarındaki N,S,P ve Mg elementlerinin açlığı ve N,P elementlerinin normalden 5 kat fazla bulunduğu duruma cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerindeki değişimler.

	Kontrol	S-	N-	P-	Mg-	N+	P+
<i>C. reinhardtii</i> CC-125	20,2	31,1	39	33,9	29,7	22	22,8
<i>C. reinhardtii</i> CC-503 cw92	21,4	33,8	40,9	34,7	32,5	24,4	21
<i>Chlamydomonas komma</i>	25,7	42,9	48,1	38,8	40,9	28,8	30,1
<i>C. reinhardtii</i> CC-425	24,8	34,5	47,6	42,4	40,4	29,3	30,3
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	18,4	28,3	35,1	30,9	28	21,9	20,6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	19,3	32,6	50,6	19,6	20	20,7	21,6
<i>Scenedesmus obliquus</i>	17,5	19,3	21,4	37,1	29,4	20,1	21,2
<i>Scenedesmus acutus</i>	15,1	18,4	18,7	18,7	20,7	16,9	18,1
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	16,2	21,4	24,2	20,9	20,1	16,9	17,5
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	34,5	41,7	50,4	42,1	59,3	36,2	42,8
<i>Dunaliella parva</i>	35,6	47	53,8	45,2	58,7	40,2	41,7
<i>Dunaliella salina</i>	34,2	41,7	49,9	43,1	48,2	39,7	41,7
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	19,3	23,7	32,2	20,6	28	22	23,5
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	20,8	30,2	32	25,2	27,7	23,9	24,3
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	21,5	26,7	30,5	25,2	26,2	24,2	24,5
<i>Chlorella variabilis</i>	20,5	44,5	30,1	25	37,5	23	24
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	21,1	24,8	23,9	22,8	40,7	24,3	23,8
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	27,4	35,1	38,6	32,3	37,3	31,2	30,7
<i>Synechococcus</i> sp.	28,5	37,3	37,6	34,5	41,9	33,1	31,6
<i>Chlorogonium elongatum</i>	34,8	51,2	63,7	47,7	51,9	40	43,2
<i>Uronema belkæ</i>	41,3	52	76	69	69,8	50,8	51,6
<i>Oocystis borgei</i>	50,4	71,1	81,1	75,1	75,1	66	63,5
<i>Oocystis elliptica</i>	28,9	42,5	45,7	40,7	38,1	33,5	34,1
<i>Euglena gracilis</i>	27,7	40,4	40,4	39,1	37,9	34,9	33,5
<i>Chroococcus turgidus</i>	31,8	38,5	30,8	43,2	55,7	35,6	36,3
<i>Microcystis aeruginosa</i>	27,2	37	32,9	42,7	38,4	31,3	31,3
<i>Spirulina platensis</i>	25,1	33,1	31,1	35,6	40,9	28	29,9
<i>Merismopedia punctata</i>	31,5	49,1	36,2	43,2	50,4	37,3	38,1
<i>Nitzschia palea</i>	29,5	37,2	43,7	44,5	38,9	34,5	38,9
<i>Haematococcus pluvialis</i>	37,2	49,1	68,1	58	54,7	42,4	41,3
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	28,9	40,2	50,3	41	45,7	31,2	36,4
<i>Anabaena cylindrica</i>	19,1	22,5	30,2	24,8	19,3	20,4	21,4
<i>Anabaena.affinis</i>	16,5	19,6	14,4	24,3	23,8	17,8	19,3
<i>Phormidium foveolarum</i>	18,4	26,7	16,9	22,6	25	21,5	24,1
<i>Oscillatoria tenius</i>	10,2	15	10,5	15,2	15,5	11	10,9
<i>Oscillatoria planctonica</i>	12,8	14	13,1	17,5	16,8	15,6	14,3
<i>Nannochloropsis oculata</i>	14,1	23,5	20,6	18	17,8	16,2	16,1
<i>Nostoc azollae</i>	31,2	39	27,1	47,4	40,6	36,5	38,1
<i>Tetraselmis chui</i>	36,8	50,8	64	54,5	49,7	44,5	42,7
<i>Tetraselmis sauceica</i>	41,4	60,9	74,1	64,6	60,4	48,9	51,3
<i>Tetracystis</i> sp.	38,1	56,4	69,3	49,9	53,7	43,1	43,4
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	17,2	23,4	16,2	24,3	26	20,6	18,7
<i>Gloeocapsa</i>	29,2	37,1	31,2	36,5	36,2	32,4	35,5

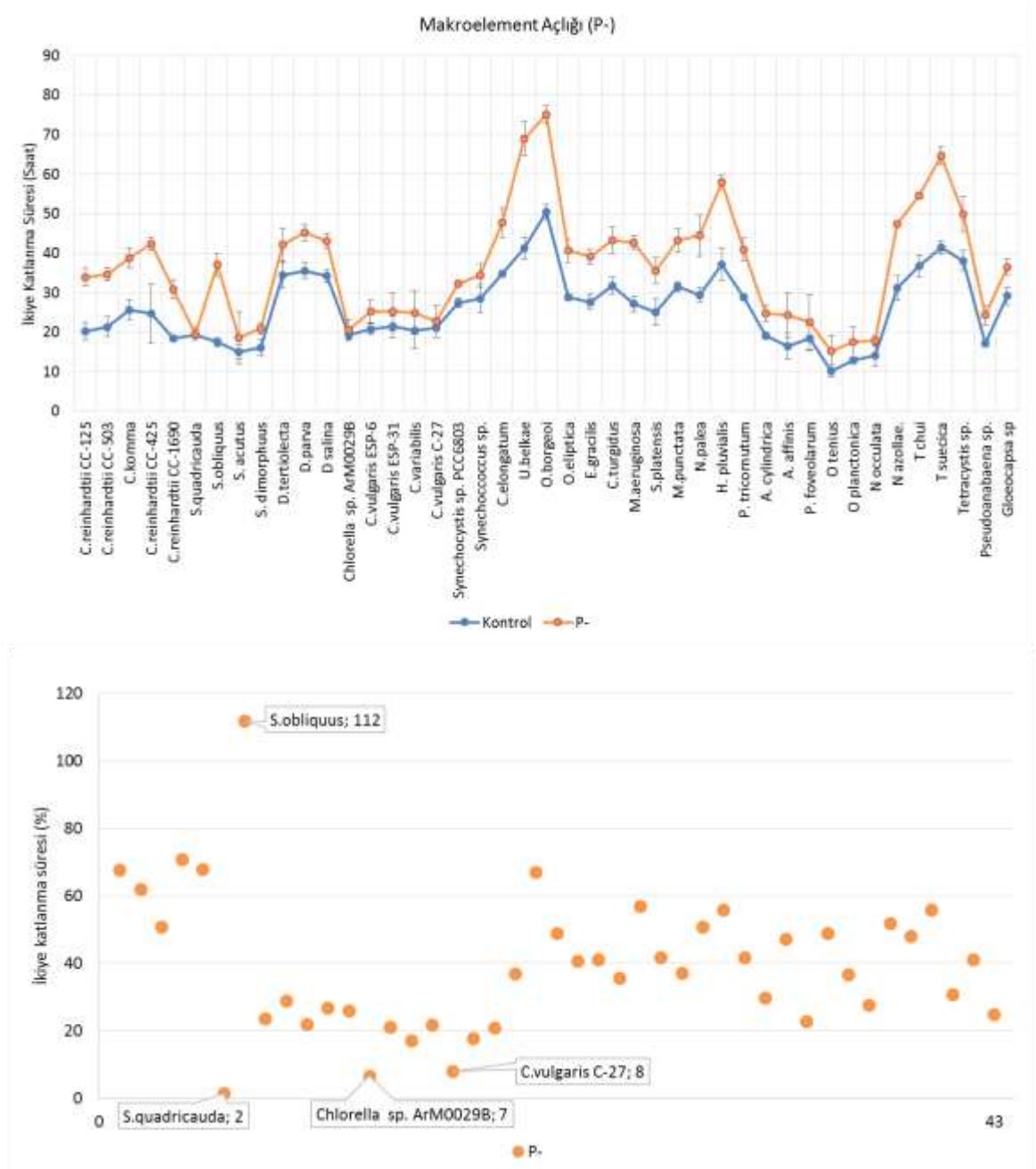
Proje kapsamında izole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri genel olarak makroelement açlığına cevapta uzamıştır. Genel olarak izole edilen ipliksi yapıda siyanobakterilerin büyüme değerlerinin azot açlığına cevapta önemli oranda değişmediği anlaşılmıştır. Bu siyanobakterilerin diazotrofik türler olduğundan havanın serbest azotunu fikse edebilme yetenekleri ile ön plana çıktıklarını görüyoruz. Örneğin izolatlar içerisinde *C.turgidus*, *A.affinis*, *N. Azollae*, *P foveolarum* ve *Pseudoanabaena* sp. türlerinin ikiye katlanma süreleri azot açlığına cevapta sırasıyla %3, %13, %13, %8 ve %6 oranında kısalmıştır (Şekil 27). Diğer taraftan ökaryotik yapıda mikroalglerden *S.obliquus* ve *C. vulgaris* C-27 türlerinin büyümesi inkübasyonun ilk 10 gününde N açlığına cevapta yalnızca sırasıyla %22 ve %13 düşüş göstermiş olması kaydedeğer bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Diğer mikroalglerin büyümelerinde gözlemlenen önemli baskılanma otofaji mekanizmalarını akla getirirken, bu iki türün N-asimilasyon stratejileri dikkate değer bir araştırma konusu olarak kaydedilmiştir. Yine diğer çok sayıda mikroalg ve siyanobakterinin aksine bu iki türün büyüme değerleri S açlığına cevapta yalnızca *S.obliquus* için %10 ve *C. vulgaris* C-27 soyu için ise %18 değerinde bir yavaşlama kaydedilmiştir. (Şekil 27). Mikroalg çalışmalarında model organizma olarak kullanılan *Chlamydomonas* türlerinde N ve S açlığına cevapta büyümede görülen ortalama %90 ve %60 düzeyindeki baskılanma göz önüne alındığında bu iki türün gösterdikleri büyüme etkinliği her iki türün de hem N ve hem de S asimilasyon stratejilerinin dikkate değer bir araştırma konusu olduğunu düşünüyoruz.



Şekil 27. Azot ve Kükürt açlığına cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler. Üstteki şekilde kontrol ile birlikte diğer grupların gerçek değerleri, alttaki şekilde ise kontrole kıyasla ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim % olarak verilmiştir.

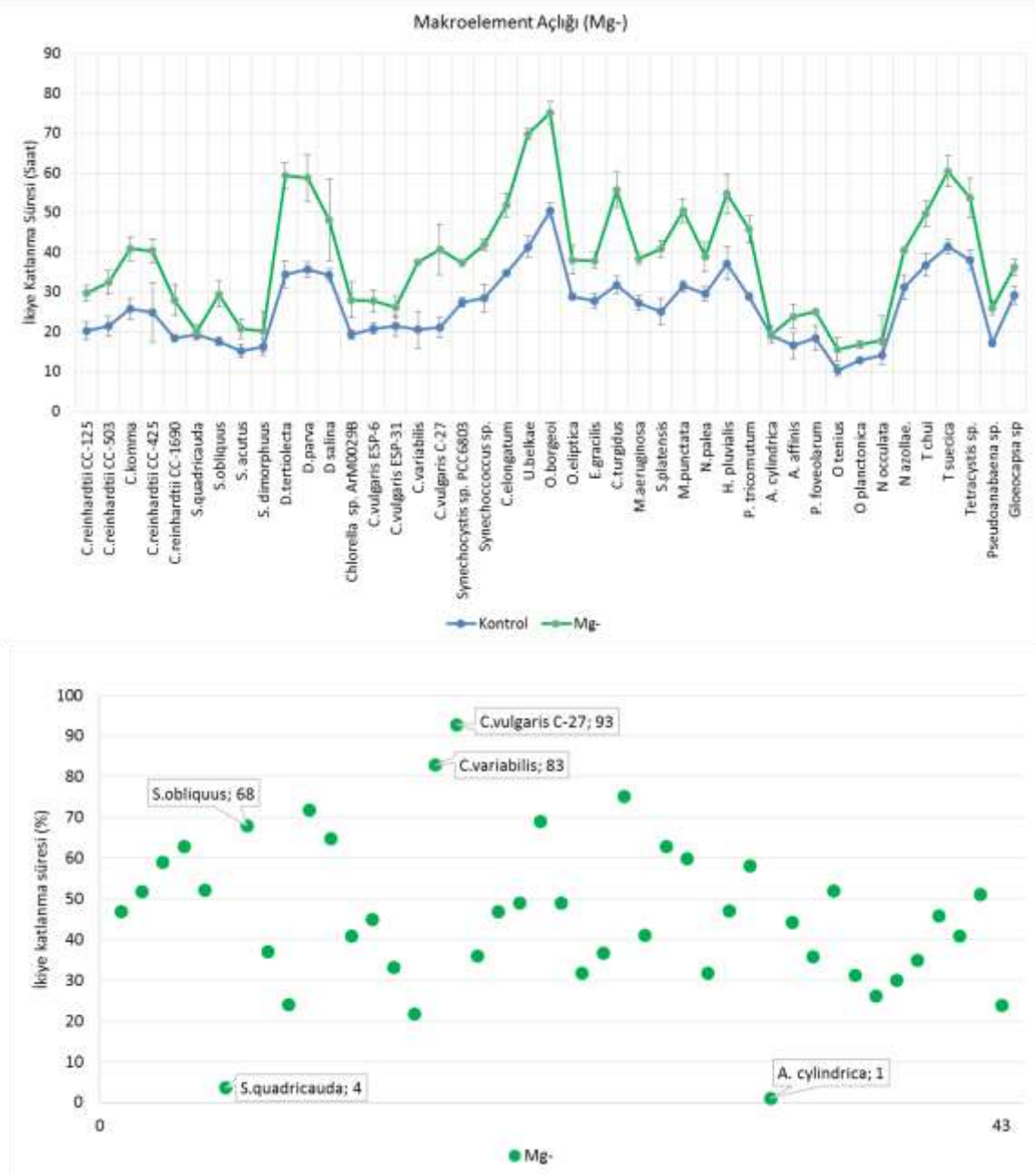
Fosfor elementi de nükleik asitler, ATP ve çok sayıda sekonder metabolitin yapısında bulunan önemli bir makroelementtir. Element açlığında mikroalglerin büyümelerindeki baskılanma ile birlikte biyoteknolojik önemi olan lipid, karbonhidrat ve bazı durumlarda protein biriktirmeleri durumları bir yana ilgili makroelementin bulunmadığı durumda büyümedeki baskılanmanın düşük düzeyde olması da yine metabolik düzenlemeyi gerektirir. Dolayısıyla mikroalg ve siyanobakterilerden primer ya da sekonder metabolit üretimi için yapılan uygulamaya cevapta büyümedeki baskılanmanın en düşük düzeyde

olması beklenir. P elementin büyüme ortamında bulunmadığı durumda çoğu mikroalg ve siyanobakterinin büyümeleri %20-70 oranında baskılanmıştır. Diğer taraftan, *S.quadricauda*, *Chlorella* sp ARM0029B ve *C.vulgaris* C-27 izolatlarının ikiye katlanma süreleri P alığına cevapta önemli bir değişim sergilememiştir (büyümedeki baskılanma sırasıyla yaklaşık olarak %2, %7 ve %8 olarak belirlenmiştir) (Şekil 28). Fosfor açlığına cevapta büyüme üzerine belirlenen en dramatik baskılama *Scenedesmus obliquus* türünde belirlenmiştir. Bu türün büyüme hızı yaklaşık olarak 2.1 kat yavaşlamıştır.



Şekil 28. Fosfor (P) açlığına cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler. Üstteki şekilde kontrol ile birlikte diğer grupların gerçek değerleri, alttaki şekilde ise kontrole kıyasla ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim % olarak verilmiştir.

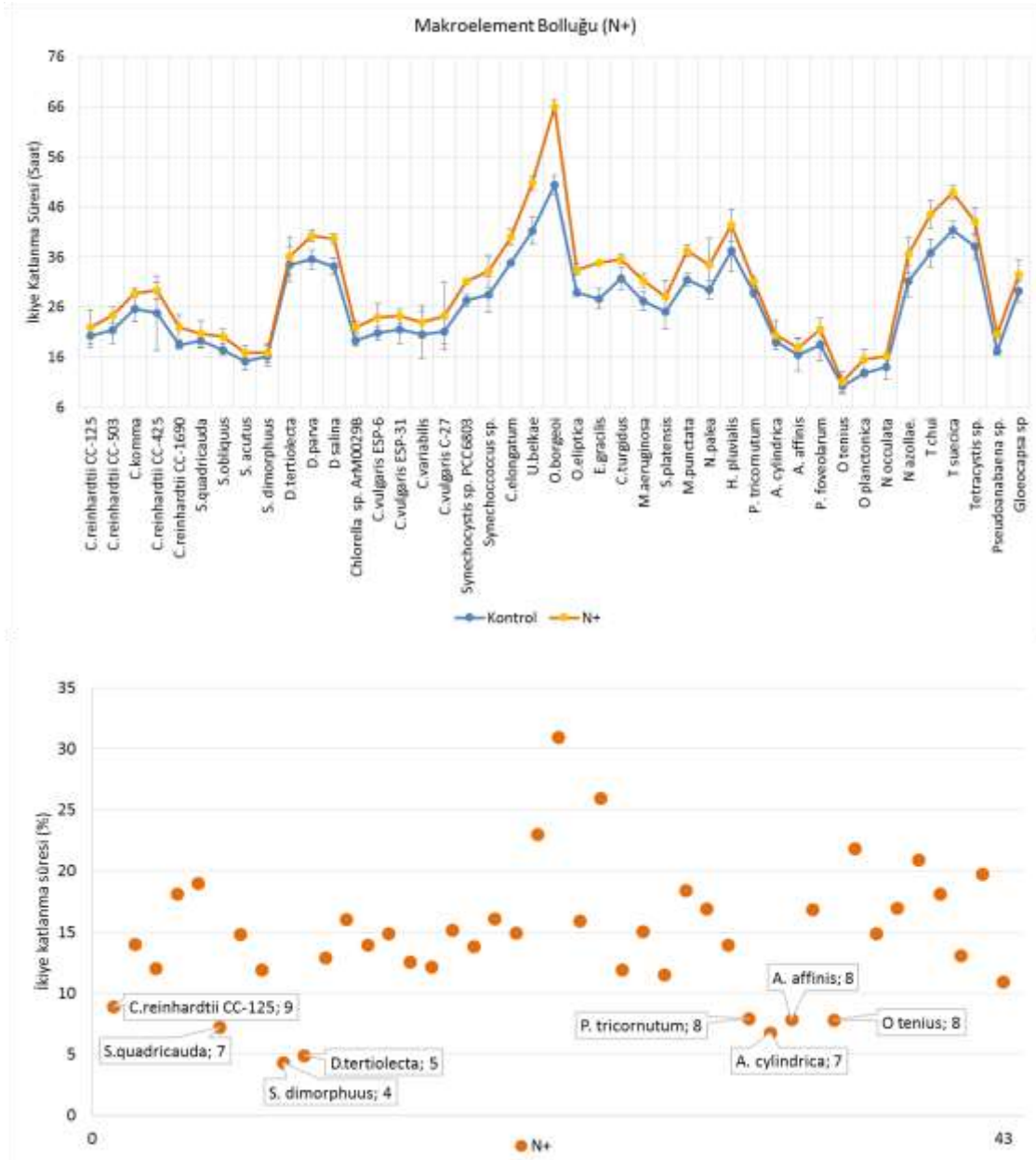
Magnezyum elementi klorofil üretiminde, aminoasit ve hücre proteini sentezinde büyük bir rol oynar. Bu elementin büyüme ortamında bulunmadığı durumlarda izole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin büyümeleri genel olarak %30-70 oranında baskılanmıştır. Özellikle P ve N açlığına cevapta büyümesinde önemli bir değişimin belirlenmediği *C. vulgaris* C-27 mikroalginin Mg açlığına cevapta büyümesinin %93 oranında baskılanması karşılaştırmalı araştırmaya değer bir konudur. Yine, *S. quadricauda* ile birlikte *A. cylindrica* türlerinin ikiye katlanma süreleri Mg açlığına cevapta önemli bir değişim sergilememiştir (Şekil 29). *S. quadricauda* ile kıyaslandığında, bu türün büyümesi P açlığında da önemli bir değişim göstermezken *A. cylindrica* türünün büyümesi P açlığına cevapta %30'un üzerinde azalmıştı. Bununla birlikte *S. obliquus* türünün hem P hem de Mg açlığına cevapta büyümesindeki dramatik baskılanma ve *S. quadricauda* nın büyümesinde önemli bir değişim belirlenmemesi bu iki soyun element manipülasyonları çalışmalarında karşılaştırmalı materyal olarak kullanılabileceğini akla getiriyor. Zira *S. obliquus* türü N ve S açlığına cevapta nispeten iyi büyüme göstermiş, *S. quadricauda* türünün büyümesi ise N ve S açlığına cevapta dramatik bir şekilde düşmüştür.



Şekil 29. Magnezyum (Mg) açlığına cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler. Üstteki figürde kontrol ile birlikte diğer grupların gerçek değerleri, alttaki figürde ise kontrole kıyasla ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim % olarak verilmiştir.

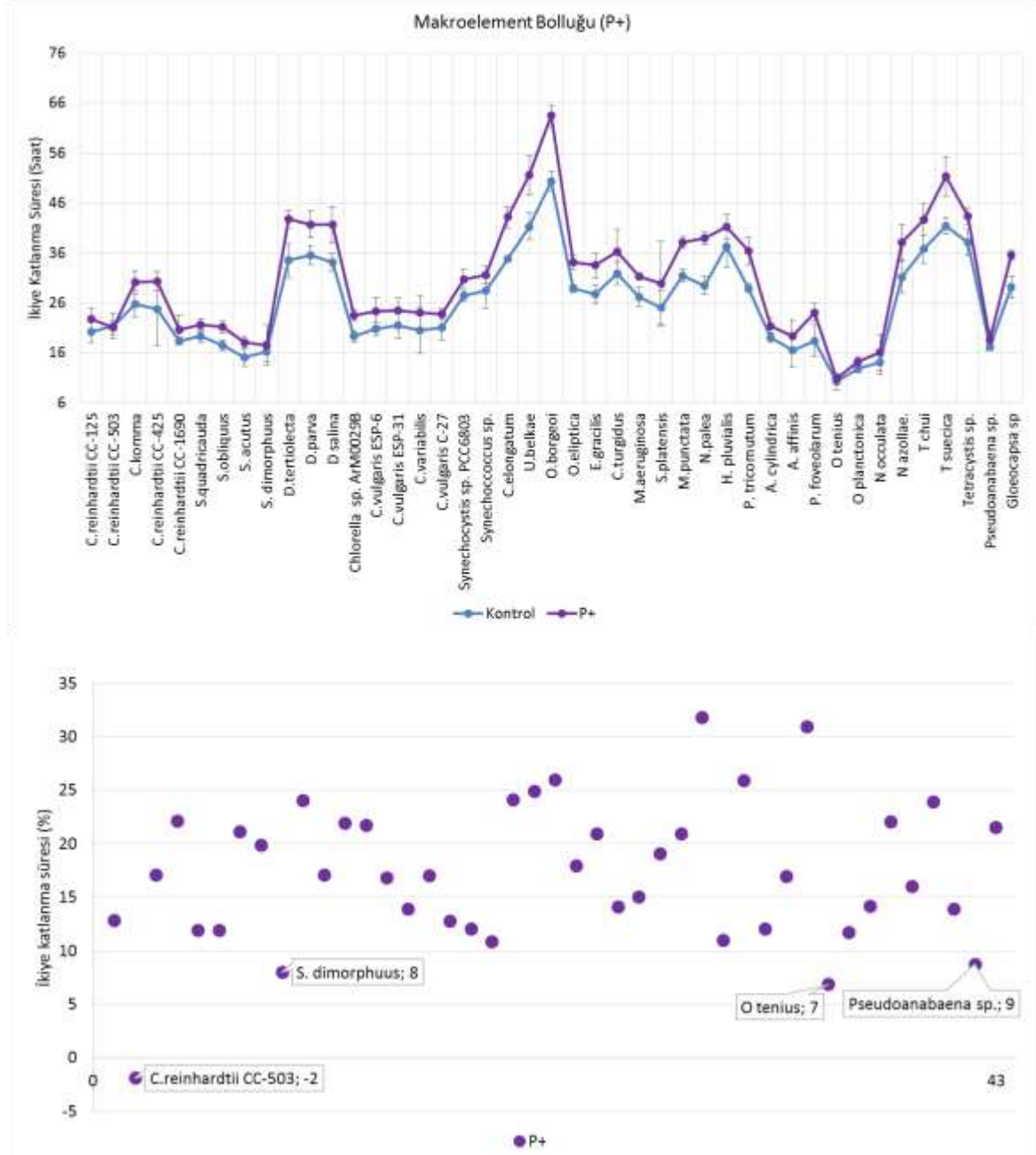
Özellikle evsel atık sulardan fosfor ve azotun geri kazanımı ve bu amaçla uygun fotosentetik mikroorganizmaların belirlenmesi, bakterilerin aksine mikroalg ve siyanobakterilerin biyokütlelerinin de ziraatte ve katma değeri yüksek ürün elde edilebilmesine imkan tanınması açısından önemlidir. İzole ettiğimiz türlerin bu açıdan değerlendirilmesi amacıyla izolatların büyüme ortamlarında normalden 5 kat daha yüksek oranda N ve P bulunduğu durumda büyümelerinde meydana gelen değişimler kaydedilmiştir (Şekil 30). N bolluğu durumunda genel olarak mikroalg ve siyanobakterilerin büyümeleri %10-30 oranında baskılanmış, *C.reinhardtii* CC-125,

S.quadricauda, *D.tertiolecta*, *P.tricornutum*, *A.cylindrica* ve *O.tenius* türlerinin büyümeleri %10'un altında baskılanmıştır. Genel olarak, izole edilmiş olan diğer diazotrofik siyanobakterin büyümeleri ortam azot yoğunluğu arttığında baskılanırken *O.tenius* türünün ikiye katlanma süresinin N varlığında ya da yokluğunda önemli oranda etkilenmemesi kaydadeğer bir sonuç olarak öne çıkmıştır. Öte yandan N açlığında ikiye katlanma süresi 2.62 kat yavaşlayan *S.quadricauda* mikroalginin N bolluğuna cevapta önemli bir değişim sergilememesi, bu mikroalgin atık sulardan N geri kazanımı için uygun bir aday olabileceğini önermektedir.



Şekil 30. Büyütme N yoğunluğu normalden 5 kat fazla olduğu durumda izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler. Üstteki figürde kontrol ile birlikte diğer grupların gerçek değerleri, alttaki figürde ise kontrole kıyasla ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim % olarak verilmiştir

Ortam P elementi normalden 5 kat fazla bulunduğu durumda kültüre alınan izolatların ikiye katlanma süreleri genel olarak %15-30 arasında baskılanmıştır. Öte yandan *O.tenius* ve *Pseudoanabaena* sp. türlerinin büyümeleri P bolluğuna cevapta %10'un altında olduğu kaydedilmiştir. Fosfor bolluğuna cevapta en iyi büyüme gösteren tür *C.reinhardtii* CC-503 straini olarak belirlenmiştir. Bu tür, diğer *Chlamydomonas* türlerinin aksine P bolluğuna cevapta büyümesinde dikkate değer bir değişiklik olmamıştır (Şekil 31).



Şekil 31. Büyütme P yoğunluğu normalden 5 kat fazla olduğu durumda izolatların ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimler. Üstteki figürde kontrol ile birlikte diğer grupların gerçek değerleri, alttaki figürde ise kontrole kıyasla ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim % olarak verilmiştir.

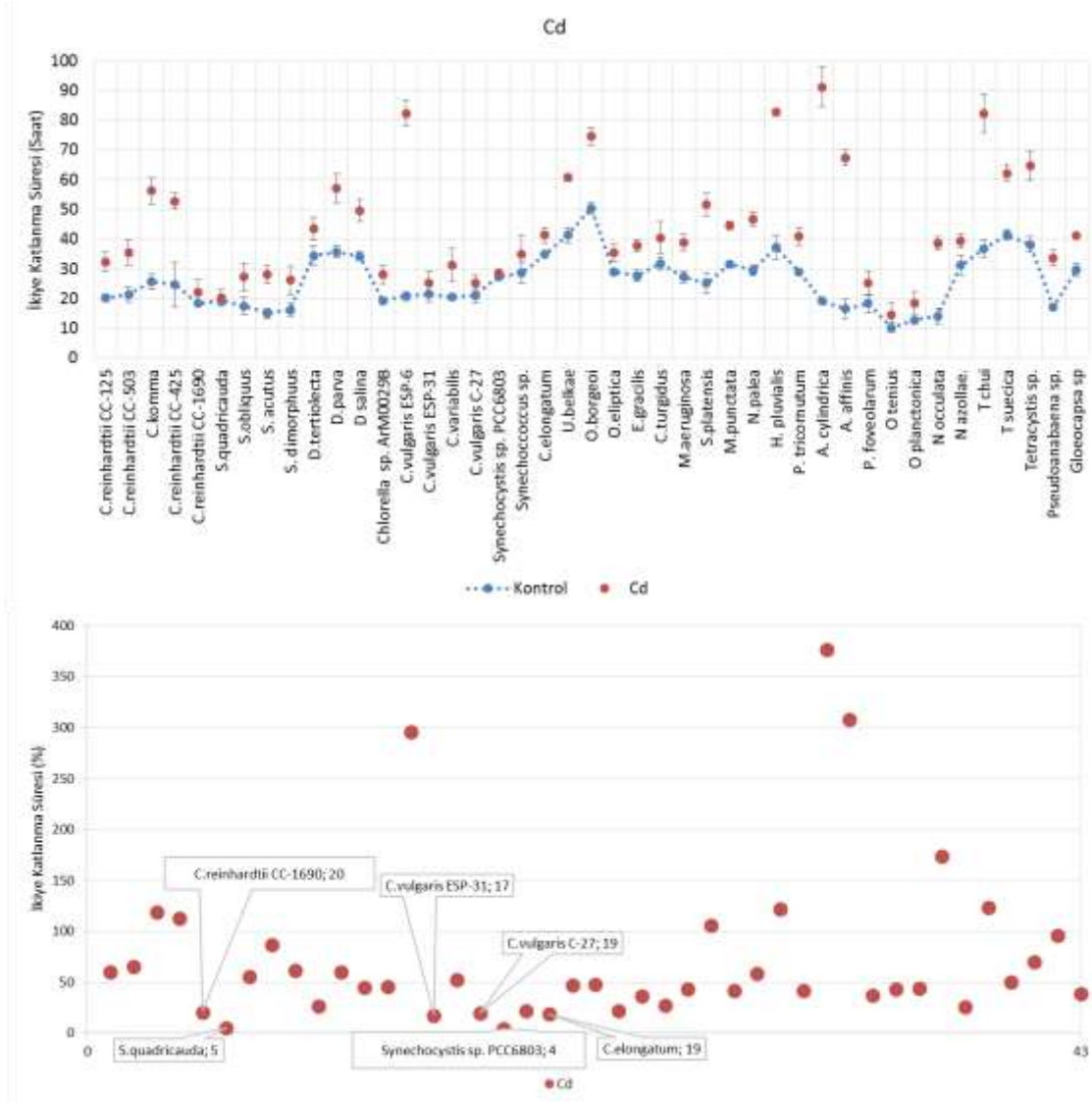
4.2.6. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin ağır metal stresine cevapta büyüme davranışlarında meydana gelen değişim

Çalışmaya konu olan mikroalg ve siyanobakterilerin ağır metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişimin belirlenmesi amacı ile mikroalgler içerisinde sırasıyla; 10, 10, 8, 10 ve 6mg/L yoğunluğunda Kadminyum (Cd), Bakır (Cu), Kurşun (Pb), Çinko (Zn) ve Civa (Hg) bulunan büyüme çözeltilerinde 30 gün boyunca 25oC sıcaklık ve 100PAR sürekli ışık altında inkübasyona bırakılmıştır. Çalışma 100ml'lik erlenler içerisinde 50ml büyüme çözeltilerinde 1×10^5 hücre/ml başlangıç hücre yoğunluğu ile başlatılmıştır. Büyüme 30 gün boyunca 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30. günlerde kaydedilmiş, 3-10.günler arasında elde edilen veriler eksponensiyal ikiye katlanma süresinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Belirlenen ağır metal yoğunlukları literatür taraması yapılarak çalışılmış olan yoğunluklar içerisinde ortalamanın üzerindeki değerler dikkate alınarak belirlenmiştir (Tablo 13). Civa stresine cevapta çoğu mikroalg ve siyanobakteri hiç büyüme göstermemiş, yalnızca *A.cylindrica* siyanobakterisinin büyümesi 2 katın üzerinde baskılanmış olmasına rağmen belirlenen bu büyüme oranı dikkate değer bir veri olarak kaydedilmiştir (Tablo 13).

Tablo 13. Ağır metal stresine cevapta izolatların ikiye katlanma sürelerindeki değişimler. (---, büyüme yok)

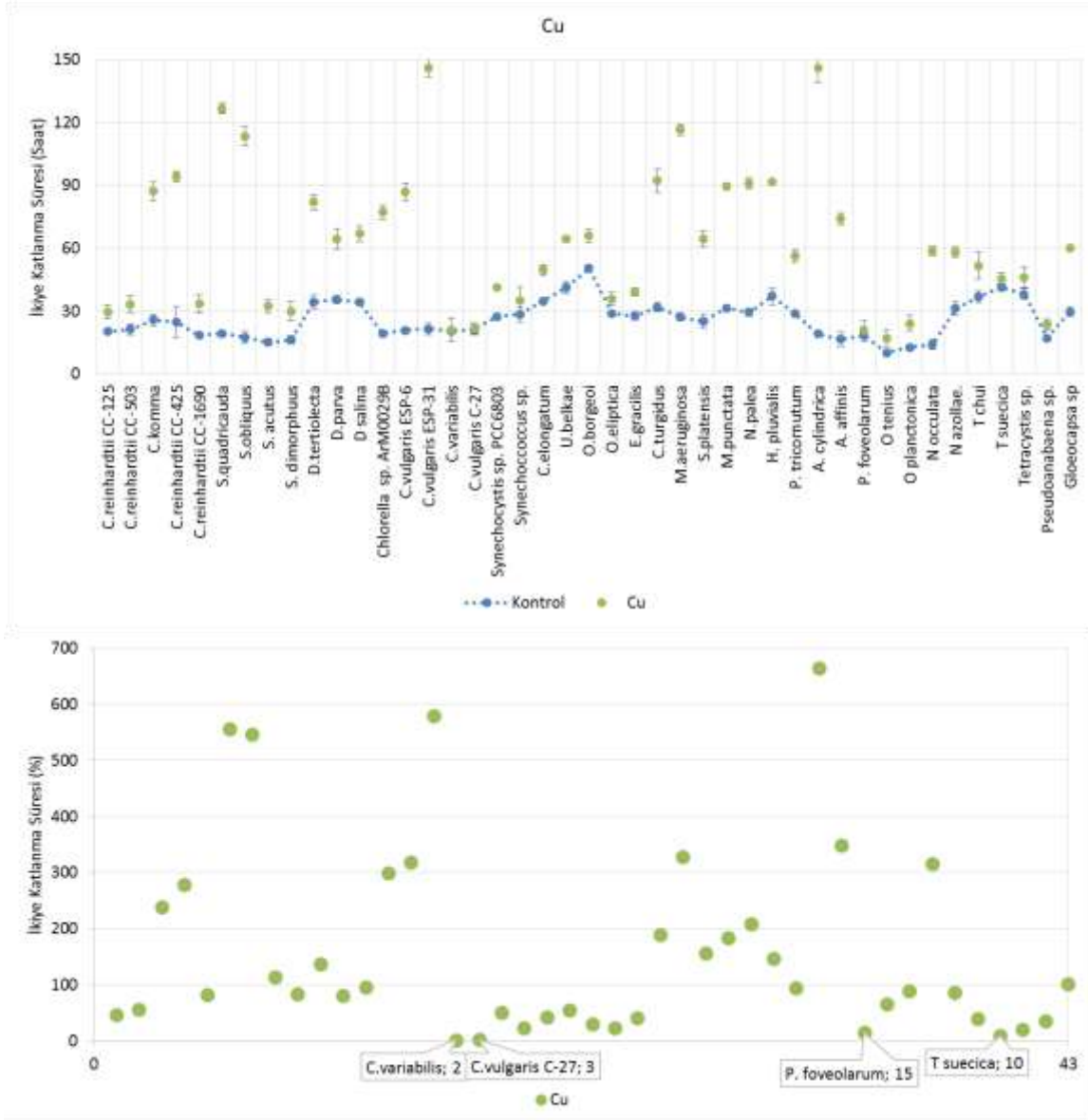
	Kontrol	Cd	Cu	Pb	Zn	Hg
<i>C. reinhardtii</i> CC-125	20,2	32,3	29,7	41,2	28,4	--
<i>C. reinhardtii</i> CC-503 cw92	21,4	35,4	33,4	39,0	42,1	--
<i>Chlamydomonas komma</i>	25,7	56,2	87,2	62,5	45,6	--
<i>C. reinhardtii</i> CC-425	24,8	52,7	94,1	76,0	64,3	--
<i>C.reinhardtii</i> CC-1690	18,4	22,1	33,5	53,4	29,4	--
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	19,3	20,3	126,7	30,4	24,8	164,2
<i>Scenedesmus obliquus</i>	17,5	27,2	113,2	25,2	23,6	75,9
<i>Scenedesmus acutus</i>	15,1	28,2	32,4	38,0	31,4	--
<i>Scenedesmus dimorphuus</i>	16,2	26,2	29,9	38,2	32,6	--
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	34,5	43,5	82,0	76,3	45,2	82,6
<i>Dunaliella parva</i>	35,6	57,0	64,6	81,3	87,5	--
<i>Dunaliella salina</i>	34,2	49,6	67,0	85,5	49,6	--
<i>Chlorella</i> sp. ArM0029B	19,3	28,0	77,2	86,0	69,4	--
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-6	20,8	82,3	87,0	89,2	97,5	--
<i>Chlorella vulgaris</i> ESP-31	21,5	25,2	--	29,0	22,4	--
<i>Chlorella variabilis</i>	20,5	31,3	21,0	20,9	21,3	--
<i>Chlorella vulgaris</i> C-27	21,1	25,2	21,8	29,1	30,6	202,7
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	27,4	28,5	41,3	53,9	33,6	--
<i>Synechococcus</i> sp.	28,5	34,8	35,2	50,8	96,8	--
<i>Chlorogonium elongatum</i>	34,8	41,3	49,6	45,4	59,9	--
<i>Uronema belkæ</i>	41,3	60,7	64,4	73,9	60,3	--
<i>Oocystis borgei</i>	50,4	74,6	66,0	91,7	71,1	--
<i>Oocystis elliptica</i>	28,9	35,3	35,8	35,8	39,6	--
<i>Euglena gracilis</i>	27,7	37,7	39,1	53,7	41,8	--
<i>Chroococcus turgidus</i>	31,8	40,4	92,3	96,8	86,2	--
<i>Microcystis aeruginosa</i>	27,2	38,9	116,5	87,2	77,3	--
<i>Spirulina platensis</i>	25,1	51,6	64,3	119,2	66,0	--
<i>Merismopedia punctata</i>	31,5	44,5	89,5	114,2	89,2	--
<i>Nitzschia palea</i>	29,5	46,7	91,0	106,5	98,5	--
<i>Haematococcus pluvialis</i>	37,2	82,6	91,8	84,1	108,0	--
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	28,9	41,0	56,2	101,9	96,0	--
<i>Anabaena cylindrica</i>	19,1	91,1	--	20,6	24,4	39,2
<i>Anabaena.affinis</i>	16,5	67,3	74,0	82,1	51,0	--
<i>Phormidium foveolarum</i>	18,4	25,2	23,8	41,2	49,2	--
<i>Oscillatoria tenius</i>	10,2	14,6	17,0	20,3	25,4	45,2
<i>Oscillatoria planctonica</i>	12,8	18,4	24,2	28,0	19,8	--
<i>Nannochloropsis occulata</i>	14,1	38,6	58,7	15,2	16,8	87,4
<i>Nostoc azollae</i>	31,2	39,3	58,3	81,1	48,7	--
<i>Tetraselmis chui</i>	36,8	82,3	51,5	98,8	77,3	--
<i>Tetraselmis sauceica</i>	41,4	62,1	45,5	91,1	101,2	--
<i>Tetracystis</i> sp.	38,1	64,8	46,1	83,8	95,3	--
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	17,2	33,7	23,5	29,2	36,2	--
<i>Gloeocapsa</i>	29,7	41,2	60,1	66,2	51,5	---

Cd stresine cevapta genel olarak çalışılan mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri 1,6-3 kat arasında değişmiştir. Bununla birlikte bazı türler Cd stresine cevapta büyüme değerlerinde kabul edilebilir oranda azalma belirlenmiştir. Bu türler içerisinde *C.reinhardtii* CC-690, *C.vulgaris* ESP-31, *C.vulgaris* C-27 ve *C. elongatum* türleri sırasıyla %20, %17, %19 ve %19 oranlarında yavaşlama göstermiştir. Diğer taraftan *S.quadricauda* ile *Synechocystis* sp. PCC6803 izolatlarının ikiye katlanma süreleri Cd stresine cevapta yalnızca sırasıyla %5 ve %4'lük bir gecikme sergilemiştir (Şekil 32).



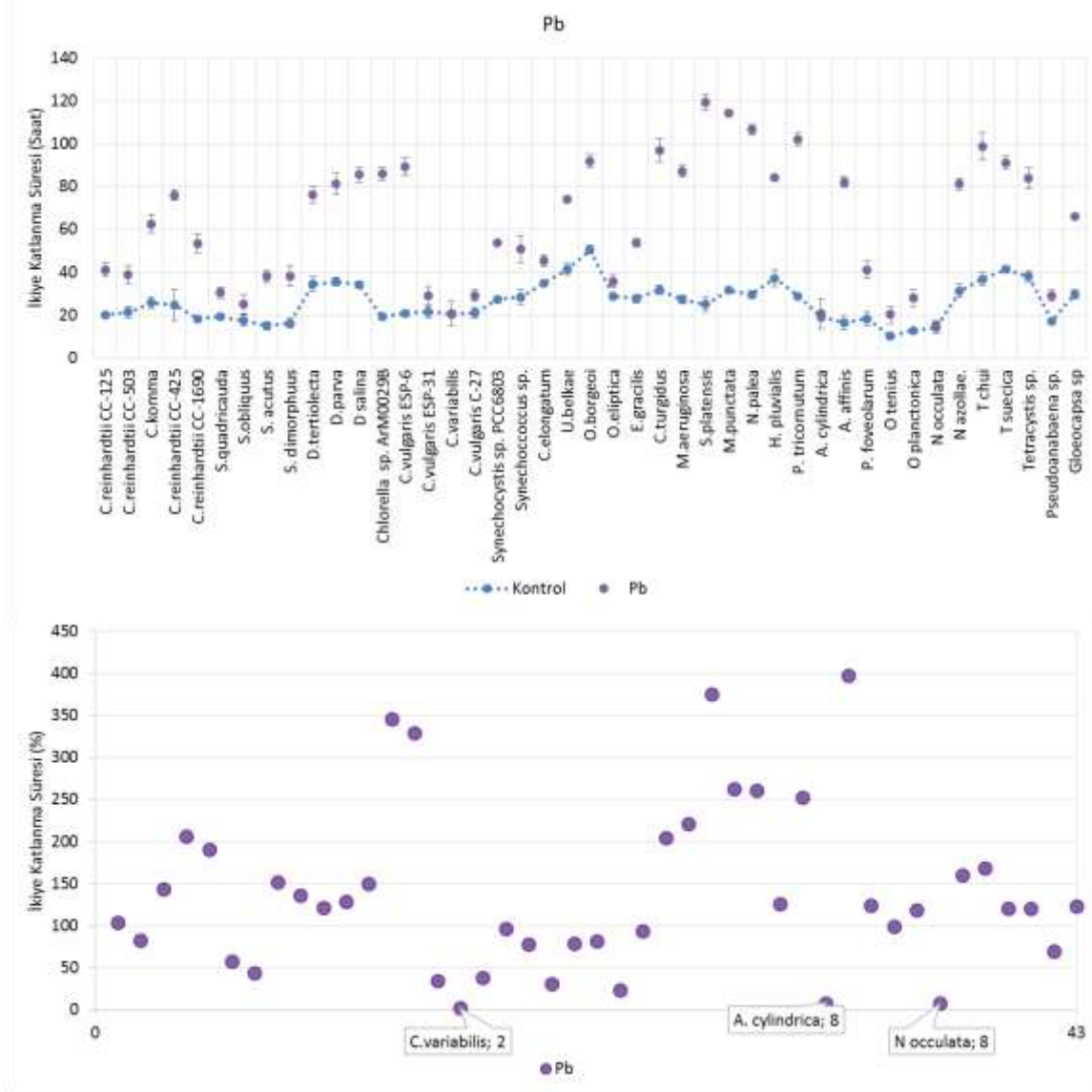
Şekil 32. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Cd metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.

Bakır stresine cevapta mikroalg ve siyanobakterilerin ikiye katlanma süreleri ortalama olarak 1,5-4 kat baskılanmıştır. Cd ve Pb stresine cevapta büyümenin en az baskılandığı türlerden biri olan *S.quadricauda* ile birlikte çalışılan diğer *Scenedesmus* türleri olan *S.obliquus* ve *S. acutus* türlerinin büyümelerinde Cu stresi sırasıyla 6.6, 6.3 ve 4.5 kat baskılanmaya sebep olmuştur. Öte yandan *C.variabilis*, *C.vulgaris* C-27 izolatlarında büyüme neredeyse hiç baskılanmazken, *T.suecica* ve *P.foveolarum* türlerinin ikiye katlanma süreleri Cu stresine cevapta sırasıyla yalnızca %10 ve %15 düzeylerinde uzamıştır (Tablo 13, Şekil 33).



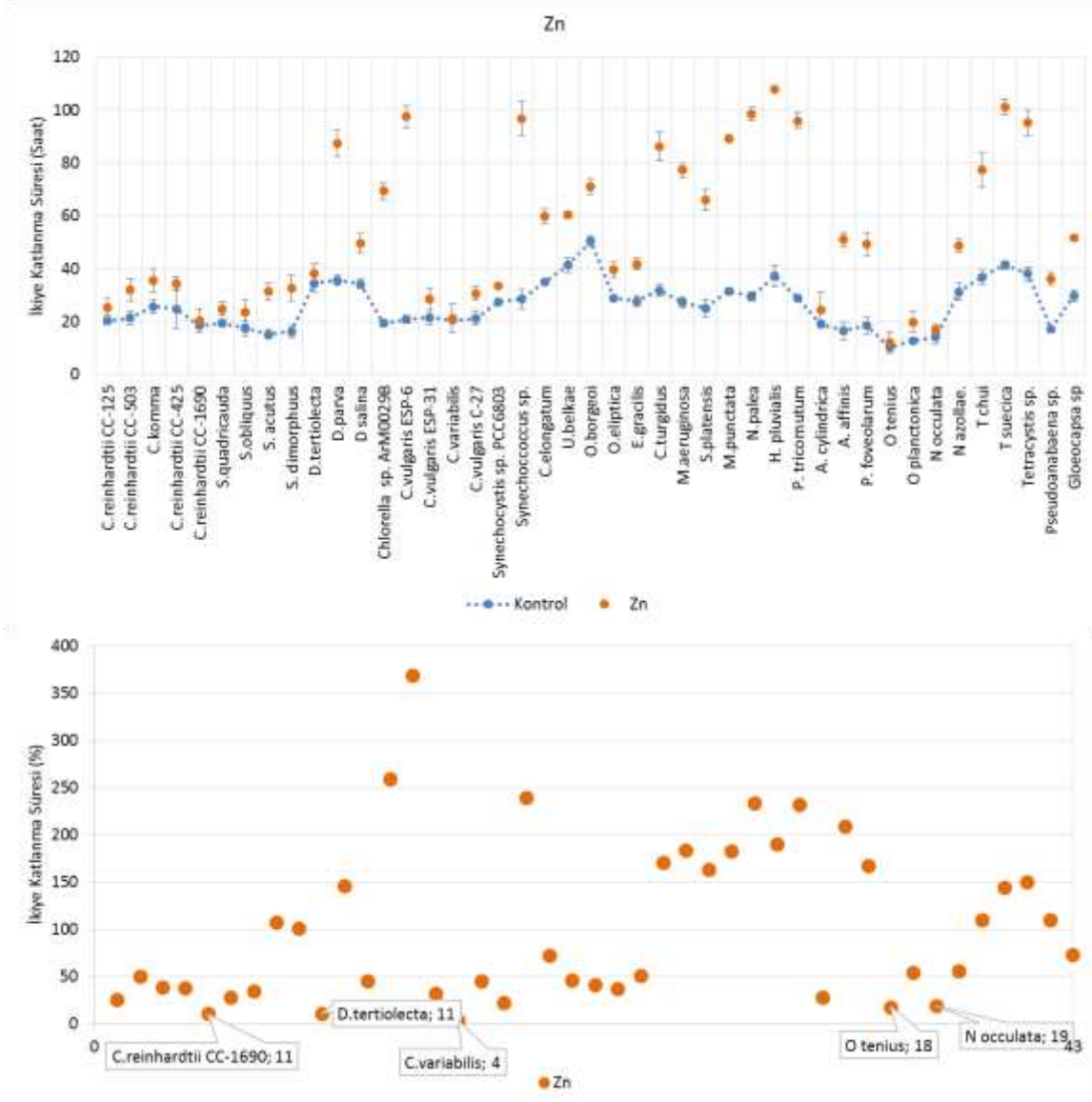
Şekil 33. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Cu metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.

Kurşun stresine cevapta *C.variabilis*, *A.cylindrica*, ve *N.occulata* türlerinin büyümelerinde önemli bir değişim gözlemlenmemiş, diğer çoğu türün büyümeleri 1.5-3.5 kat azalmıştır (Tablo 13, Şekil 34).



Şekil 34. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Pb metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.

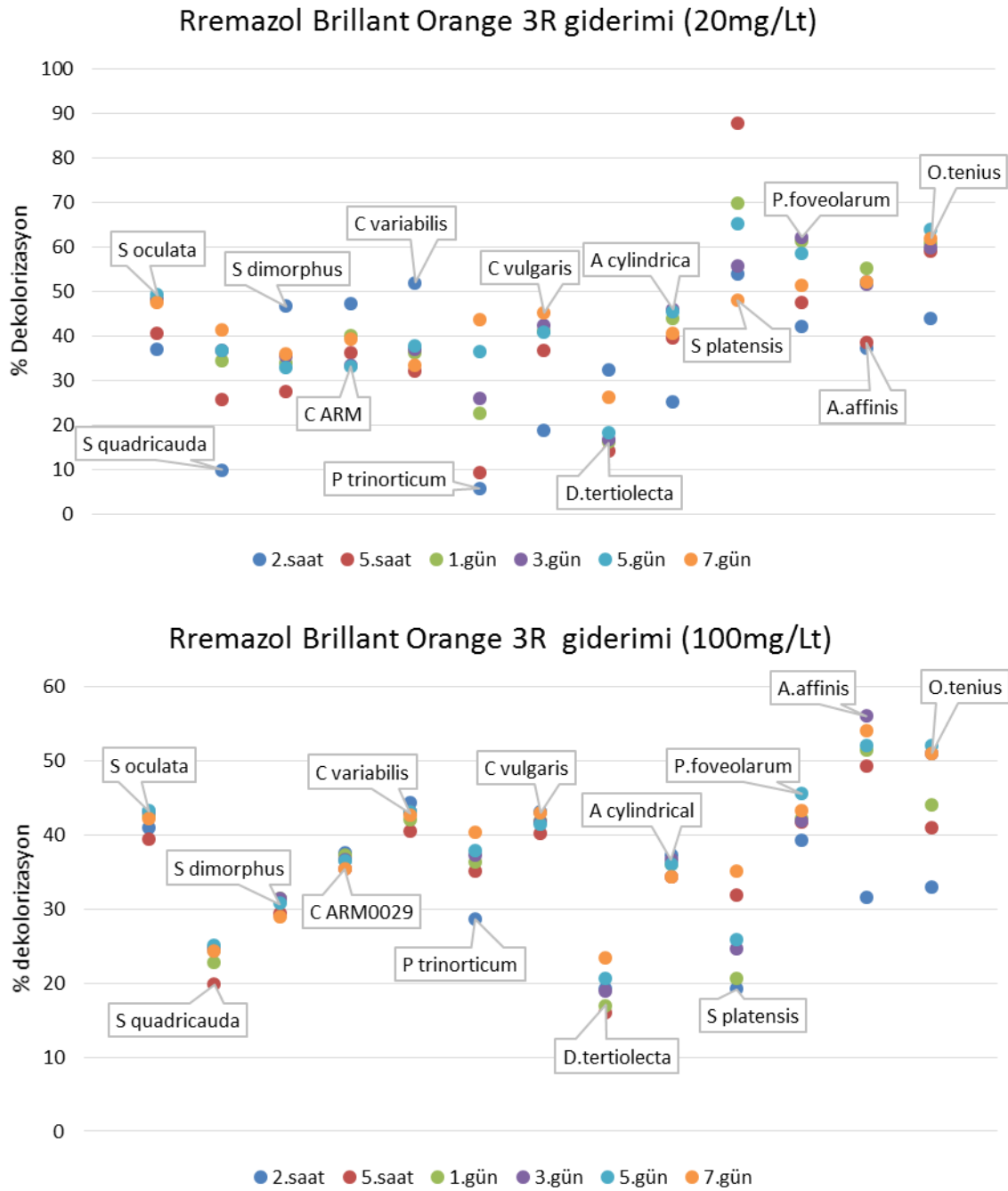
Son olarak Zn stresine cevapta genel olarak izolatların büyümeleri 1.5-3 kat azalmıştır. Bununla birlikte izolatlar içerisinde özellikle *Chlorella variabilis* türünün büyümesinde Zn stresine cevapta neredeyse hiç değişim belirlenememiştir; *Chlamydomonas reinhardtii* CC-1690, *D.tertiolecta*, *Oscillatoria tenius* ve *N.occulata* türlerinin büyümeleri yalnızca yaklaşık olarak sırasıyla %11, %11, %18, %19 düzeylerinde bir yavaşlama sergilemiştir.



Şekil 35. İzole edilen mikroalg ve siyanobakterilerin Pb metal stresine cevapta ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.

4.2.7. İzolatların endüstriyel boya giderimi ve atık su arıtımında kullanılabilme potansiyelleri üzerine elde edilen bulgular

İzole edilen türlerin endüstriyel boya gideriminde kullanımlarına yönelik analiz edilebilmesi amacı ile ülkemizde de yasaklanmış olmasına rağmen tekstilde sıklıkla kullanıldığı bilinen Remazol Brilliant Orange 3R boyasının 20mg ve 100mg/L yoğunluklarda bulunduğu ortamda 7 gün boyunca mikroalglerin boyayı absorbe edebilme özellikleri ölçülmüştür. Bu amaçla 1×10^6 hücre/ml sayıda hücre ile içerisinde 20 ve 100mg/L boya bulunan 100ml hacimli erlenlerde sürekli ışık altında 25°C sıcaklık ve 120rpm devirde dönen çalkalayıcılarda 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmış, inkübasyonun 2 ve 8. saatleri ile 1, 3, 5 ve 7. günlerinde her erlenden 2ml örnek alınmış, hücreleri çöktürmek için 7000rpm devirde 3dk boyunca santrifüjlenmiş ve süpernatantın absorbanı 560nm dalga boyunda okunmuştur. İçerisinde izolat bulunmayan kör numune örnekleri de belirlenen günlerde ayrıca ölçülerek kaydedilmiş, absorbanstaki değişime göre elde edilen veriler % dekolorizasyon olarak belirtilmiştir.

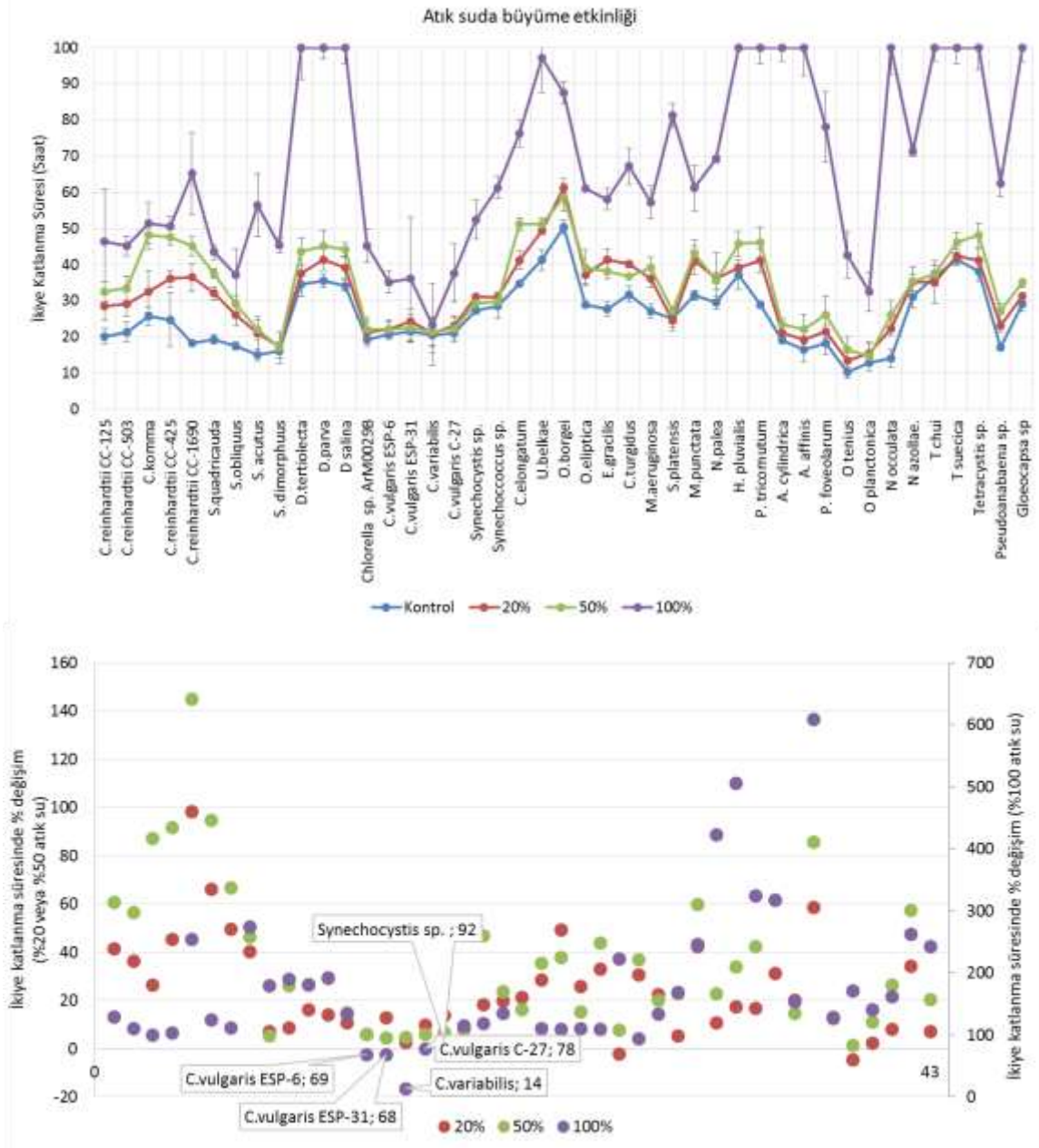


Şekil 36. Çalışılan izolatların Rremazol Brilliant Orange 3R giderim etkinlikleri. %20'nin altında dekolorizasyon sağlayan türler dahil edilmemiştir.

Çalışılan türler içerisinde Remazol Brilliant Orange 3R boyası 20mg/L yoğunlukta kullanıldığında *S.platensis*, *P.foveolarum*, *A.affinis* ve *O.tenius* siyanobakterileri %60'ın üzerinde dekolorizasyon sağlarken boya yoğunluğu 100mg/L'ye çıkarıldığında Ancak *O.tenius* ve *A.affinis* %50'nin üzerinde dekolorizasyona sebep olabilmıştır. *S.platensis* türü 20mg/L boya yoğunluğunda ilk 5 saat içerisinde %88'e kadar dekolorizasyonu teşvik etmiş, ilerleyen sürede absorbans yoğunluğu artmış, bu da *S.platensis*'in ilk 5 saat içerisinde boyayı çok iyi tuttuğunu, ancak ilerleyen süreçte bırakmaya yöneldiğini

gösteriyor. Diğer taraftan ortam boya yoğunluğu 100mg/L olduğunda *S.platensis*'in dekolorizasyon etkinliği düşmüştür, dekolorizasyon oranı yine ilk 5 saat içerisinde %32 dolaylarında iken daha sonra düşüş göstermiştir. 7.gündeki %35'lik değerin dışında bir artış görülmemiştir. Öte yandan *P.foveolarum*, *A.affinis* ve *O.tenius* siyanobakterilerinin her iki durumda da %50'nin üzerinde boya giderimine katkıda bulundukları anlaşılmıştır. Ancak bakterilerle %100 boya gideriminin kısa sürede tamamlandığı düşünüldüğünde elde edilen verilerin pratikte kullanım için bakterilere kıyasla daha büyük bir avantaj sağlamayacağı düşünülmektedir. Diğer taraftan, özellikle *S.platensis* mikroalginin ilk 5 saat içerisinde gösterdiği yüksek dekolorizasyon hızı incelemeye değer bir veri olarak kaydedilmiştir.

Kültüre alınan mikroalg ve siyanobakterilerin atık su arıtımında kullanılabilmelerine yönelik olarak Tuzla Biyolojik atık su arıtma tesislerinden sağlanan drenaj atık suyu otoklavlanıp filtrelendikten sonra izolatların büyüme ortamına %20, %50 oranda karıştırılmış veya %100 drenaj suyunda kültüre alınmış ve türlerin ikiye katlanma süreleri takip edilmiştir. Yapılan çalışmada özellikle *Chlorella* cinsi mikroalglerin yüksek büyüme özellikleri gösterdiği belirlenmiştir. *Chlorella* cinsi mikroalglerden *C. vulgaris* türünün farklı soyları; *C.vulgaris* ESP-6, ESP-31 ve C-27 soylarının büyümeleri, %20 ve %50 oranlarında atık suyun karıştırıldığı durumda çok fazla değişmemiş, tümüyle atık suda kültüre alındıklarında da büyüme sırasıyla, %69, %68, %78 oranında azalmıştır. Benzer şekilde, siyanobakterilerden *Synechocystis* sp. soyunun büyümesi %20 ve %50 oranlarında atık suyun karıştırıldığı durumda çok fazla değişmemiş, tümüyle atık suda kültüre alındığında da büyüme yaklaşık olarak %92 oranında azalmıştır. Özellikle *Chlorella variabilis* türünün büyüme ortamına %20 veya %50 oranında filtrelenmiş atık su ilave edildiğinde büyümede önemli bir değişim kaydedilmemiş, hatta bu tür yalnızca drenaj suyunda yetiştirildiğinde kontrol grubuna kıyasla büyümesi yalnızca %14 oranında baskılanmıştır. Dolayısıyla izole ettiğimiz *Chlorella variabilis* türü mikroalgin evsel atık su arıtımında kullanılabile potansiyelinde olduğu not edilmiştir.



Şekil 37. İzolatların %20, %50 ve %100 oranında atık su bulunan büyüme ortamlarında ikiye katlanma sürelerinde meydana gelen değişim.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu proje ile ülkemizdeki dört mevsim varlığını sürdüren, farklı iklim kuşaklarında bulunan, su özellikleri bakımından farklılık gösteren ve kendine özgü mikroiklim özellikleri sergileyen volkanik krater gölleri olan Nemrut kalderası gölleri, Isparta gölcük krater gölü, Meke gölü (Konya), Acıgöl (Konya), Narlıgöl (Nevşehir) ve Süphan Aygır (Bitlis) maar göllerinin mikroalgal tür çeşitliliği belgelenmiş, laboratuvarında kültüre alınan mikroalg örneklerinin kriyoprezervasyonu ile mikroalg kütüphanesi oluşturulmuş ve kültüre alınan türlerin genel biyoteknolojik özellikleri proje kapsamında belirlenmiştir.

Proje kapsamında yapılan çalışmalar ile sonuç raporuna kadar 2 adet uluslararası makale yayımlanmış, 3 makale uluslararası dergilere gönderilmiş, bunlardan biri için revizyon gönderilmiş ve diğer ikisi için cevap beklenmektedir. Proje kapsamında 4 farklı uluslararası sempozyumda toplam 8 poster ve sözlü sunum yapılmış, bunlardan biri tam metin basılmıştır. Yine bir ulusal projede iki sunum yapılmıştır. Son olarak proje kapsamında yaptığı çalışmalarla bir yüksek lisans tezi tamamlanmıştır. Bahsedilen tüm yayınlarda proje desteği belirtilmiştir. Sonuç raporunu takip eden süre içerisinde proje kapsamında elde edilen verilerden yola çıkarak yapılmış çalışmalar yayınlanacaktır, dolayısıyla proje yürütücüsünün kariyer projesi olarak üstlendiği bu araştırma projesi yürütücünün kariyer gelişimine önemli katkılar sağlamıştır.

Bu çalışmada örnekleme yapılan göllerin, volkanik göller olma özelliklerinin yanı sıra göl sularının fiziksel ve kimyasal yapıları da birbirinden farklı özellikler sergilemektedir. Konya'da bulunan Meke Gölü ile Acıgöl tuzlu su özelliğinde, Nemrut Gölü, Gölcük ve Aygır Gölleri de tatlı su özelliğindedir. Diğer taraftan Niğde'de bulunan Narlıgöl çok tuzlu olmamakla birlikte Nemrut ve Aygır göllerinden yaklaşık olarak 8 kat, Gölcük gölünden ise 16 kat daha yüksek tuz içeriğine sahiptir. Bunun yanında Konya'da bulunan Meke gölü ve Acıgöl Narlıgölden sırasıyla ortalama 76 kat ve 32 kat daha fazla tuz yoğunluğuna sahiptir (Table 1). Dolayısıyla Meke gölü ve acıgölde denizel bazı türlerinde izole edilmiş olması şaşırtıcı bulunmamıştır.

Çalışılan göller içerisinde amonyum konsantrasyonunun en yüksek değer olarak kaydedildiği göl Meke gölüdür. Mevsimlere göre değişiklik gösterse de $\text{NH}_4\text{-N}$ ve $\text{NO}_3\text{-N}$ konsantrasyonlarının en düşük ve en yüksek değerleri göz önünde bulundurulduğunda bu göl suyu Orman ve Su işleri bakanlığı tarafından yayınlanan "Yüzeysel su kalitesi yönetimi yönetmeliğine" göre 4. Sınıf Su kalite sınıfına girmektedir. Diğer taraftan Nemrut Gölü, Gölcük ve Aygır Göllerinde suyun ölçülen fiziksel kimyasal özelliklerinde mevsimsel olarak belirgin değişimler sergilememiş olup, daha sabit bir yapıdadır. Suyun $\text{NH}_4\text{-N}$ ve $\text{NO}_3\text{-N}$

değerleri açısından su kalite yönetmeliğine göre bu göller sırasıyla 2. ve 1. Su kalite sınıfına girmektedirler.

Göllerin toplam alg kompozisyonunda 229 takson tespit edilmiş; bunların 117'si Bacillariophyta, 5'i Miozoa, 8'i Euglenophyta, 39'u Chlorophyta, 13'ü Charophyta ve 46'sı Cyanophyta ve 1 tür de Ochrophyta filumlarına aittir. Bacillariophyta'ya ait 15, Miozoa'ya 2, Euglenophyta'ya 1, Chlorophyta'ya 6, Charophyta'ya 2, Cyanophyta'ya 5 ve Ochrophyta'ya ait 1 ordo tespit edilmiştir. Türlerin istasyonlara göre dağılımı Tablo 5'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre Meke Gölünde 47, Acıgölde 33, Nemrut Gölünde ise 82, Gölcük Gölünde 88, Narlıgöl de 93, Aygır Gölünde 102 takson teşhis edilmiştir.

Kültüre alınan türlerin yaklaşık %75'lik kısmının kriyoprezervasyonu başarılmıştır. Proje kapsamında kriyoprezervasyonla saklanan bir mikroalg kütüphanesi oluşturulmuştur. Dolayısıyla proje kapsamında amaçlanan hedefe ulaşılmıştır. Diğer taraftan proje yazıldığında bildirilmemiş olsa da proje çalışmalarının sonuna yaklaştıkça proje kapsamında bir eksik olarak farkettiğimiz, proje kapsamında kültüre aldığımız mikroalg ve siyanobakteri türleri ile oluşturduğumuz mikroalg kütüphanesi (İMU-MACC) için web sitesi hazırlama ve bu proje kapsamında oluşturduğumuz mikroalg kütüphanesini Dünya Kültür Koleksiyonu Federasyonuna (WFCC) kayıt ettirmeyi son rapor döneminde yeni bir durum olarak bildirmiştir. Ancak türlerin kriyoprezervasyonla saklanması için sürekli sıvı azota ve kriyoviyal, kriyoprotektan gibi sürekli sarflara ihtiyaç vardır. Üstelik kriyoprezervasyonda, her 6 ayda bir organizmaların canlılıklarının test edilmesi durumu düşünülünce yine sürekli kimyasal ve sarf malzemelere ihtiyaç duymaktadır. Böylece, gerekli olan uzun vadede maddi destek göz önünde bulundurulduğunda profesyonel manada, kültür koleksiyonunu tüm türlerin gen düzeyinde teşhis edildiği ve sekans bilgilerinin de sunulduğu, kriyoprezervasyonla saklanan bir mikroalg kütüphanesinin sürdürülmesi için yeni bir proje hazırlanmış ve üniversite-BAP projesiyle şimdilik sürdürülecek olan bu kütüphanenin ileride sürekli destek alan bir birim haline getirilmesi için çalışmalar başlatılmıştır. Bu sebeple proje kapsamında taahhüt edilmemiş olsa da şüphesiz kültür koleksiyonumuzda bulunan türler Dünya kültür koleksiyonuna (WFCC) kayıt edilerek kültür koleksiyonunun sürekliliği sağlanacaktır. Koleksiyonun paylaşımına açık, profesyonel bir yapıda olması açısından hazırlanan yeni proje kapsamında önerildiğinden bu proje sonucu olarak kültüre alınan türler WFCC'ye henüz kayıt ettirilmemiştir.

Kültüre alınan türlerin endüstriyel kullanım potansiyellerinin belirlenmesine yönelik olarak tanımlanan 42 izolatin besinsel özelliklerini yansıtan *büyüme hızları, toplam lipid, nişasta, protein, toplam klorofil ve karotenoid içerikleri ve mikro ve makroelement içerikleri*

belirlenmiştir. Yine kültüre alınan mikroalg ve siyanobakterilerin değişik abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdikleri büyüme davranışlarının analizi amacı ile mikroalgler değişik sıcaklık, pH, CO₂, ve makroelement açlığı ile bolluğu ortamlarında büyümelerinde meydana gelen değişimler değerlendirilmiştir.

Kültüre alınan izolatların besinsel değerleri incelendiğinde bu organizmaların belli oranlarda karıştırılarak belli amaçlara yönelik besin katkı maddesi olarak tüketilebileceği düşünülmektedir. Elbette bu proje kapsamında elde edilen genel değerlere dayanarak bir teşhis, ürün önerisinde bulunmak bilimsel olmaz, ancak kompozisyon mühendisliği yaklaşımı benimsenerek değerlendirildiğinde; Örneğin yüksek karbohidrat içeriği ve kuru madde oranı göz önünde bulundurularak *S.acutus* ve *N.palea*, yüksek protein içeriği sebebiyle *S. platensis* ve *A.cylindrica* ve son olarak yüksek lipid içeriği sebebiyle *Chlorella* sp. ARM0029B ve *C.vulgaris* ESP-31 türlerinin bir arada bulundukları bir karışım, besleyici değeri yüksek bir besin takviyesi olarak değerlendirilebilir. Yine element değerleri incelendiğinde, örneğin yüksek N ve S içeriğinden dolayı *Synechococcus* sp., yüksek Mg ve Fe içeriğinden dolayı *C.vulgaris* ESP-31, yüksek Ca içeriğinden dolayı *C.reinhardtii* CC-503 türlerinin bir arada bulundukları besin tabletleri oluşturulabilir. Doğrusu bu araştırma projesi kapsamında temeli atılan yeni bir çalışma olarak, literatür bilgileri de göz önünde bulundurularak ülkemiz ekonomisine kazandırılacak farklı kompozisyonda mikroalg ve siyanobakterilerden oluşacak olan besin tabletleri ya da besin katkı paketlerinin geliştirilmesi üzerine araştırma projesi üretilmiştir. Doğal olarak türlerin biyoyararlılıkları ve toksik özellikleri gibi değerleri göz önünde bulundurularak hazırlanacak çalışmada besin takviyesi olarak yeni gıda kompozisyonlarının üretilmesi bu temel proje kapsamında geliştirilen yeni bir motivasyon olmuştur.

Proje kapsamında izole edilen *Chlorella* türleri, *Chlorella* sp. ARM0029B, *C. vulgaris* C-27, *C.vulgaris* ESP-6, *C.vulgaris* ESP-31 ve *C.variabilis* türleri biyodizel hammaddesi olarak kullanılan triaçilgliserol üretim potansiyelleri açısından detaylı olarak irdelenmiştir. Proje kapsamında genel ölçümler planlanmış olduğundan bu kapsamda elde edilen veriler proje raporlarında sunulmamış ancak hazırlanmış olan yüksek lisans tezi proje çıktısı olarak sonuç raporunda sunulmuştur ve bu kapsamda elde edilen verilerden iki farklı makale yakın zamanda yayınlanacaktır. Yapılan çalışmada *Chlorella* sp. ARM0029B, *C. vulgaris* C-27, *C.vulgaris* ESP-31 türleri potansiyel olarak triaçilgliserol üretiminde kullanılabilir türler olarak belirlenmiştir. Zira bu türler yüksek lipid içeriklerinin yanında ikiye katlanma süreleri de N, S veya P açlığına cevapta nispeten düşük oranda baskılanmıştır. Yine bu türlerin büyümeleri Tuzla biyolojik atık su arıtma tesislerinden sağlanan drenaj suyu kullanıldığında büyümelerindeki baskılanma yine düşük düzeyde gerçekleşti (Şekil 37).

Dolayısıyla bu üç *Chlorella* türü atık sularda biyoyakıt hammaddesi üretiminde kullanılabilme potansiyelleri kaydadeğer bir bulgu olarak kaydedilmiştir. Proje kapsamında biyoteknolojik özellikleri değerlendirilen türler içerisinde literatürde oldukça yeni bir tür olan *Chlorella* sp. ARM0029B türü düşük sıcaklıklarda etkili büyüme göstermesi ve yüksek lipid içeriği sebebi ile özel bir tür olarak ortaya çıkmıştır. Bu tür ortam sıcaklığındaki 10°C'lik düşüğe cevapta büyümesi neredeyse hiç baskılanmamış, oysa yüksek sıcaklığa cevapta önemli bir baskılanma göstermiştir. Bu tür hem Süphan Aygır gölünde ve hem de yakınındaki Nemrut gölünden sonbahar döneminde izole edilmiştir. Bu arktik türün ülkemiz iklim koşullarında dış ortamda kitlesel üretiminin yapılabileceğine yönelik hipotez oluşmuş ve bu türün ülkemiz endüstrisine kazandırılması yönünde çalışmalarımız yeni projeler ile sürdürülecektir.

Proje kapsamında öne çıkan bir diğer türler asidik pH (pH=4) değerlerinde ikiye katlanma sürelerinde önemli bir değişim gözlemlenmemiş olan *D.tertiolecta*, *S.obliquus*, *S. acutus* ve *C.vulgaris* ESP-31 türleri olmuştur. Bu türler içerisinde özellikle *S.acutus* türünün ortam pH'sını etkili bir şekilde dinamik olarak ayarlayabilme özelliğinde olduğu belirlenmiştir. Bu tür öncelikli olarak başlangıç yoğunluğuna göre bir süre büyüme özellikleri göstermeden fotosentez hızını artırarak ve solunum hızındaki yavaşlama ile birlikte ortam asitliğini düşürmekte ve ortam pH'sı 6 dolaylarına geldiğinde kontrole kıyasla yüksek hızla büyüme sergilemekte ve 14 günlük inkübasyon sonunda ortam pH'sını 8-9 dolaylarına çıkarmaktadır. Özellikle bu türün, örneğin zeytin karasuyunun drenaj suyunun asitliğinin giderilmesinde ve zirai uygulamaya kazandırılabilmesinde etkili bir tür olarak kullanılabileceğine yönelik çalışmalarımız yine bu proje kapsamında başlatılmıştır, yaptığımız detaylı çalışmalar yayına hazırlanmaktadır ve bu ancak proje amaçları çerçevesinde işlenmediğinden raporda bildirilmemiştir, zira bu kapsamda yeni proje çalışmalarının da bu projeden yola çıkarak hazırlanması planlanmıştır.

Biyoteknoloji endüstrisinde mikroalg ve siyanobakterilerin kullanılması, bu fotosentetik ürünlerin biyoteknolojide kullanıldıktan sonra arta kalan posanın da biyogaz üretimi veya biyogübre olarak değerlendirilmesi özelliğinde olduğundan desteklenmektedir. Dolayısıyla bu fotosentetik mikroorganizmaların yüksek CO₂ kullanma etkinlikleri bu canlılara katma değer sağlayan bir başka önemli unsurdur. Bu araştırma projesi kapsamında izole edilen türler içerisinde *C. vulgaris* C-27, *S.obliquus*, *Pseudoanabaena* sp. türlerinin ikiye katlanma süreleri ortam CO₂ yoğunluğu %5 olduğunda dahi yüksek büyüme göstermişlerdir. Bu türler içinde özellikle *C.vulgaris* C-27 türü biyoyakıt üretiminde, *S.obliquus* mikroalgi de asidik suların iyileştirilmesinde kullanılma potansiyeli taşımaktadır.

Özellikle evsel atık sulardan fosfor ve azotun geri kazanımı ve bu amaçla uygun fotosentetik mikroorganizmaların belirlenmesi, bakterilerin aksine mikroalg ve siyanobakterilerin biyokütlelerinin de ziraatte ve katma değeri yüksek ürün elde edilebilmesine imkan tanınması açısından önemlidir. Proje kapsamında değerlendirilen mikroalg ve siyanobakteriler içerisinde büyüme ortamında normalden 5 kat fazla oranda azot bulunduğu durumda *C.reinhardtii* CC-125, *S.quadricauda*, *D.tertiolecta*, *P.tricornutum*, *A.cylindrica* ve *O.tenius* türleri, fosfor bolluğuna cevapta da *C. reinhardtii* CC-503 türlerinin büyümeleri önemli bir değişim sergilememiştir (Tablo 12). Oysa proje kapsamında biyodizel hammaddesi üretiminde kullanılabilme potansiyelleri vurgulanmış olan *Chlorella* sp ARM0029B ile *C.vulgaris* türünün ESP-6, ESP-31 ve C-27 soylarının büyümeleri %50 oranda atık su karıştırılmış ortamda neredeyse değişmemiştir. Hatta bir diğer *Chlorella* türü, *C. variabilis* tümüyle drenaj atık suyunda kültüre alındığında büyümesi yalnızca %14 oranında baskılanmıştır. Dolayısıyla kontrollü ortamda tek başına bir element yoğunluğunun yüksek olduğu durumda elde edilen bulgular bu türlerin atık sularda kullanılabileceği anlamına gelmiyor ancak proje kapsamında bu özellikleri belirlenen bu aday türlerin atık su arıtımında kullanılabilirliklerine yönelik yeni araştırma projeleri ve laboratuvar çalışmaları bu proje kapsamında şimdiye kadar elde edilen veriler ışığında sürdürülecektir.

Son olarak proje kapsamında biyoteknolojik özellikleri değerlendirilen türler içerisinde siyanobakteriler ve mikroalglerden ağır metal gideriminde öne çıkan türler belirlenmiştir. Literatür taraması ile elde edilen yüksek yoğunluklarda uygulanarak sağlanan Cd stresine cevapta *Synechocystis* sp. ve *S.quadricauda*, Cu stresine cevapta *P.foveolarum* ve *C.variabilis* türleri ile Pb stresine cevapta *A.cylindrica* türlerinin büyümelerinde önemli bir değişim gözlemlenmemiştir. Dolayısıyla elde edilen bulgular bu türlerin bahsedilen ağır metal gideriminde kullanılabilmeye uygun olduklarına işaret edebilir. Elbette bu metallerin emiliminde etkili olup olmadıkları yönünde araştırmalara ihtiyaç vardır. Ancak proje çalışmalarında bu kapsamda elde edilen bulgulardan çok daha heyecan verici olan bulgu Zn stresine cevapta *C.reinhardtii* CC-1690 ve *D.tertiolecta* türlerinin önemli dayanım göstermeleri olmuştur. Ülkemiz zirai topraklarının genellikle çinko fakiri olduğu göz önünde bulundurulduğunda bu iki türün zirai topraklarda organik çinko kaynağı biyogübre olarak kullanımına yönelik değerlendirmede bulunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Andersen, R. A. 2005. Sayfa 27. Algal Culturing Techniques, Editör: Andersen, R. A. USA: West Boothbay Harbor, ME.
- Anonymous. 1998. Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater (20. Basım). Editör: APHA. AWWA: Washington.
- Anonim. "Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Stratejisi ve Eylem Planı".www.ormansu.gov.tr, Son erişim tarihi: 15 Ekim 2014
- Aslan, Ş. 2005."Nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater using algal photobioreactor system, (Yüksek lisans tezi), Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Aslan, S., Kapdan, I. 2006. "Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae", Ecological Engineering, 28(1), 64-70.
- Atıcı, T., Katircioğlu, H. "İç Anadolu bölgesi tatlısu rezervlerinden izole edilen mikroalglerin laboratuvar ortamında üretilmesi ve kültür koleksiyonları", Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir, Proje no: GEF 04/2003-17.
- Aysel, V. 2005. "Check-list of the freshwater algae of Turkey", J. Black Sea/Mediterranean Environment, 11, 1-124.
- Baykal, T. 1998. "Çamlıdere baraj gölü kıyı bölgesi alglerinin mevsimsel değişimi", (Doktora tezi), Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enst., Ankara.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. "A rapid method for total lipid extraction and purification", Can.J.Biochem.Physiol., 37,911-91.
- Bradford, M.M. 1976. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", Anal Biochem., 72, 248-54.
- Brennan, L., Owende, P. 2010. "Biofuels from microalgae- A Review Technologies for Production: Processing and Extractions of Biofuels and Coproducts", Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, 557-577.
- Brown, M.R., Mular, M., Miller, I., Farmer, C., Trenerry, C. 1999. "The vitamin content of microalgae used in aquaculture", J Appl.Phycol., 11, 247-255.
- Cirik, S. "Mikroalglerden Yenilenebilir Temiz Bir Enerji Kaynağı Olan Biyodizelin Elde Edilmesi", TÜBİTAK (ÇAYDAG), Proje no: 107Y013.
- Conk Dalay, M., Cirik, S., Kor, E. 2001. "Türkiye Ege Bölgesi İklim Koşullarında Açık Hava Kültürleri İçin Uygun Spirulina platensis (Stiz.) Geitl, 1930 Suşunun Tespiti", Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 18(3), 523-528.
- Conk Dalay, M., Cirik, S., Özdemir, G., Koru, E. 2004. "İç sularda bulunan bazı mikroalglerin kültür koleksiyonu", TÜBİTAK (ÇAYDAG) tarafından desteklenmiştir, Proje no: 101-Y-052.
- Conk Dalay, M., İmamoglu, E., Demirel, Z. 2007. "Agricultural fertilizers as economical alternative for cultivation of Haematococcus pluvialis", Journal of Microbiology and Biotechnology, 17, 393-397.

Conk Dalay, M. 2010. "Mikroalg Kaynaklı Likopen Üretimi ve Verim Artırımı İçin Uygun Yöntem Geliştirilmesi", TAGEM.

Cynthia, V., Garcia, C., Chisti, Y., Sevilla, J. 2010. "Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass", Bioresource Technology, 101, 7587–7591.

Çakmak, T., Angun, P., Demiray, Y. E., Özkan, A. D., Elibol Z., Tekinay T. 2012. "Differential effects of nitrogen and sulfur deprivation on biodiesel feedstock production of *Chlamydomonas reinhardtii*", Biotechnology and Bioengineering, 109(8), 1947-57.

Çelekli, A., Dönmez, G. 2006. "Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and beta-carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp.", World journal of Microbiology & Biotechnology, 22, 183-189.

Çolak, Ö., Kaya, Z. 1988. "Alglerin atık suların biyolojik arıtılmasında kullanımları", Doğa Bilim Dergisi, 12 (1), 18-29.

Day, J.G., Brand, J.J. 2006. "Cryopreservation Methods for Maintaining Microalgal Cultures, in Algal Culturing Techniques". Editör: Andersen, R. A. Amsterdam: Elsevier.

Day, J.G. 2007. "Cryopreservation of microalgae and cyanobacteria", Methods in Molecular Biology, 368, 141-151.

Demirbaş, A. 2010. "Use of algae as biofuel sources", Energy Conversion and Management, 51(12), 2738–2749.

Dönmez, G., Aksu, Z., Öztürk, A., Kutsal, T. 1999. "A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae", Process Biochemistry, 34, 885-892.

Dönmez, G., Aksu, Z. 2002. "Removal of Cr(IV) from saline wastewaters by *Dunaliella* species", Process Biochemistry, 38, 751-762.

Elibol, M., "Heterotrofik Mikroalglerle Uzun Zincirli yağ Asitlerinin Üretim Prosesinin Optimizasyonu", TÜBİTAK (MAG), Proje no: 109M227.

Elmacı, A., Yonar, T., Özengin, N., Türkoğlu, H. 2005. "Zn(II), Cd(II), Co(II) ve Remazol Turkish Blue-G Boyar Maddesinin Sulu Çözeltilerinde Kurutulmuş *Cladophora* sp. ve *Chlorella* sp. Türleri ile Biyosorpsiyonun Araştırılması", Ekoloji, 14(55), 24-31.

Else, D., Jameson, D., Raleigh, B., Cooney, M.J. 2007. "Fluorescent measurement of microalgal neutral lipids", J. Microbiol. Methods ,68(3),639-42.

Frenz, J., Largeau, C., Casadevall, E., Kollerup, F., Daugilis, J. 1989. "Hydrocarbon Recovery and Biocompatibility of Solvents for Extraction from Cultures of *Botryococcus braunii*". Biotechnology and Bioengineering. 34 (6), 755–762.

Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Durmaz, Y. 2006. "Algal Antioksidanlar", Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23, 85-89.

Göksan, T., Ak, I., Gökpinar, S. 2010. "An Alternative Approach to the Traditional Mixotrophic Cultures of *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlorophyceae)", Journal of Microbiology and Biotechnology, 20, 1276-1282.

Göksan, T. 2011. “Balık ve Yumuşakça Kültüründe Besinsel Destek Olarak Yağ ve Karotenoidler Bakımından Zengin Mikroalgler”, TÜBİTAK (TOVAG), Proje no: 111O054.

Gönüol, A., Öztürk, M., Öztürk, M. 1996. “A Check-list of the Freshwater Algae of Turkey (Türkiye Tatlısu Algleri)”, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fen Dergisi, 7(1), 8-46.

Guiry, M.D., Dhoncha, E.N. 2003. “Algae Base Version 2.0 World-Wide Electronic Publication”, National University of Ireland.

Gürol, M. “Mikroalglerden Biyodizel Üretiminde Yenilikçi Yaklaşımlar”, TÜBİTAK (ÇAYDAG), Proje no: 109Y296.

Harun, R., Singh, M., Forde, G.M., Danquah, M.K. 2010. “Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products”, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, 1037–1047.

Hou, X., Li, C., Ding, W., Qian, Q., Chai, C. 1999. “Determination of 24 elements in four algae reference materials by neutron activation analysis and inductively coupled plasma mass spectrometry”, Fresenius Journal Of Analytical Chemistry, 360(3), 423-426.

İmamoglu, E., Conk Dalay, M., Vardar Sukan, F. 2009. “Semi-continuous Cultivation of *Haematococcus pluvialis* for Commercial Production”, Appl. Biochem. Biotechnol., 160(3), 764-772.

İmamoglu, E., Conk Dalay, M., Vardar Sukan, F. 2009. “Influences of Different Stress Media and High Light Intensities on Accumulation of Astaxanthin in the Green Alga *Haematococcus pluvialis*”, New Biotechnology, 26(3), 199-204.

Jeffrey, S., Humphrey, G.F. 1975. “New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton”, Biochem. Physiol. Pflanz, 167, 191-194.

Kaçka, A., Dönmez, G. 2008. “Isolation of *Dunaliella* spp. from a hypersaline lake and their ability to accumulate glycerol”, Bioresource Technology, 99, 17, 8348-8352.

Kargın Yılmaz, H. 2006. “Mikroalg Üretimi İçin Fotobiyoreaktör Tasarımları”, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23, 327-332.

Katırcıoğlu, H., Aslım, B., Rehber Türker, A., Beyatlı, Y. 2008. “Removal of Cadmium (II) Ion Aqueous System by Dried Biomass, Immobilized Live and heat-inactivated *Oscillatoria* sp. Isolated Freshwater (Mogan Lake)”, Bioresource Technology, 17964143(17964143).

Klut, M.E., Stockner, J., Bisalputra, T. 1989. “Further use of fluorochromes in the cytochemical characterization of phytoplankton”, Histochem. J., 21(11), 645-50.

Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q., Dubois-Calero, N. 2008. “Biofuels from Microalgae, Biotechnology Progress”, 24(4), 815–820.

Marcillaa, A., Gómez-Siuranaa, A., Gomisb, C., Chápulib, E., Cataláa, C., Valdés, F.J. 2009. “Characterization of microalgal species through TGA/FTIR analysis: Application to *Nannochloropsis* sp.”, Thermochimica Acta., 484(1), 41–47.



- Monteiro, C.M., Castro, P.M.L., Xavier Malcata, F. 2012. "Metal uptake by microalgae: Underlying mechanisms and practical applications", Wiley Online Library, 10.1002/btpr.1504.
- Mutanda, T., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S., Anandraj, A., Bux, F. 2011. "Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production", Bioresour Technol., 102(1), 57-70.
- Niels, F. 1980. Diatoms in Egypt. Nova Hedwigia, 33, 629.
- Nielsen, S. 2010. Sayfa 152. "Total Carbohydrate: Phenol-Sulfuric Acid Method". Chapter 10: Carbohydrate Analysis: In: Food Analysis. Springer Publication.
- Oğuz, H., Işık, O., Hızarcı Uslu, L., Sayın, S., Kargin Yılmaz, H. 2011. "Çukurova bölgesi (Adana-Türkiye) iklim koşullarının *Spirulina platensis* (Cyanophyta)'nın C-Fikosiyanın miktarına etkisi", Journal of Fisheries Sciences, 5(2), 146-152.
- Önal T., 2010. "Bazı mikroalglerin yağ içeriğine etki eden faktörlerin belirlenmesi", (Yüksek lisans tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Öncel, S., Vardar-Sukan, F. 2008. "Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*)", Bioresource Technology, 99, 4755-4760.
- Prescott, G.W. 1979. Sayfa 293. Freshwater Algae. Dubugue, Lawa: Brown Comp. Pub.
- Pulz, O., Gross, W. 2004. "Valuable products from biotechnology of microalgae", Appl. Microbiol. Biotechnol., 65, 635-648.
- Round, F. E. 1984. Sayfa 653. The Ecology of Algae. Cambridge University Press.
- Saçan, M.T., Balcioğlu, I.A. 2001. "Bioaccumulation of aluminium in *Dunaliella tertiolecta* in natural seawater: aluminium-metal (Cu, Pb, Se) interactions and influence of Ph", Bull Environ Contam Toxicol., 66, 214-21.
- Singh, S., Kate, B.N., Banerjee, U.C. 2005. "Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae", An Overview, Critical Reviews in Biotechnology, 25(3), 73-95.
- Şeker, A., Shahwan, T., Eroğlu, A. E., Yılmaz, S., Demirel, Z., Conk Dalay, M. 2008. "Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies for the biosorption of aqueous lead(II), cadmium(II) and nickel(II) ions on *Spirulina platensis*", Journal of hazardous materials, 154, 973-980.
- Şen B., Tahir, Alp, M., Sönmez, F., Aykulu, G., Yıldız, K. 2006. "A Computerized Database for Freshwater Algae Recorded in Turkey", Turk. J. Bot., 30, 483-485.
- Tarozzi, A., Marchesi, A., Cantelli-Forti, G., Hrelia, P. 2004. "Cold-storage affects antioxidant properties of apples in Caco-2 cells", American Society for Nutritional Science, 134(5), 1105-1109.
- Tekinay, T. 2010. "Genetik Mühendisliği Kullanarak Biyodizel Üretimine Yönelik Verimi Arttırılmış Yeni Nesil Mikroalg Geliştirilmesi", TAGEM.



Tokuşoğlu, Ö., Ünal, M.K. 2003. "Biomass Nutrient Profiles of Three Microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Isochrysis galbana*", Journal of Food Science, 68 (4), 1144-1148.

Torzillo, G., Goksan, T., Faraloni, C., Kopecky, J., Masojídek, J. 2003. "Interplay between photochemical activities and pigment composition in *Haematococcus pluvialis* during the shift from the green to red stage", Journal of Applied Phycology, 15, 127-136.

Weis, V.M., Verde, E.A., Reynolds, W.S. 2002. "Characterization of a short form peridinin chlorophyll protein (pcp) cDNA and protein from the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium muscatinei* (dinophyceae) from the sea anemone *Anthopleura elegantissima* (Cnidaria)", Journal of phycology, 38(1), 157-163.

Yıldız, K., Şen, B., Baykal, T., Akbulut, A., Açıköz, İ., Udoh, A. U., Alp, M.T., Canpolat, Ö. 2007. "Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Önemli Sulakalanların Alg Florasının Sistemik Olarak İncelenmesi (Dicle Havzası)", TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir, Proje no: TBAG-2436 (104T045).

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. TURGAY ÇAKMAK
Proje No:	112Y029
Proje Başlığı:	Türkiye'deki Volkanik Krater Göllerinin Algolojik Yapısının Belirlenmesi, Mikroalg Kütüphanesi Oluşturulması ve Kültüre Alınan Mikroalglerin Endüstriyel Potansiyellerinin Değerlendirilmesi
Proje Türü:	3501 - Kariyer
Proje Süresi:	36
Araştırmacılar:	İLKAY AÇIKGÖZ ERKAYA, TURGAY TEKİNAY, AYDIN AKBULUT
Danışmanlar:	KAZIM YILDIZ, SEMRA CİRİK
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	İSTANBUL MEDENİYET Ü. FEN F. MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/11/2012 - 01/11/2015
Onaylanan Bütçe:	318066.0
Harcanan Bütçe:	261086.28
Öz:	Üç farklı biyoiklim tipi ve biyocoğrafik bölgeyi içinde bulunduran, ve böylece biyolojik çeşitlilik açısından küçük bir kıta özelliği gösteren ülkemiz mikroalg türleri bakımından oldukça zengindir ve sularımızda ticari önemi bilinmeyen çok sayıda tür bulunmaktadır. Bu proje ile ülkemizde dört mevsim varlığını sürdüren, çoğunlukla yer altı suları ile beslenen, özel koruma alanları olarak belirlenmiş, jeolojik oluşumu, iklimsel özellikleri ve su yapısı yönünden birbirinden farklı özellikler sergileyen volkanik krater gölleri olan Nemrut kalderası (Bitlis) gölleri, Gölcük (Isparta) krater gölü, Meke (Konya), Acıgöl (Konya), Narlıgöl (Niğde) ve Süphan Aygır (Bitlis) maar göllerinin algolojik yapılarını belirlenmiş, yapılan örneklemelerle proje kapsamında sekans analizi ile tanımlanmış 57 tür ve morfolojik olarak farklı türler olduğu belirlenen toplam 91 mikroalg ve siyanobakteri türünden oluşan ve proje kapsamında hem kriyoprezervasyonla ve hem de katı agar ortamında saklanan bir mikroalg kütüphanesi oluşturulmuş, kütüphanede bulunan mikroalg ve siyanobakterilerin genel biyoteknolojik üstünlükleri değerlendirilmiştir. Proje kapsamında yapılan çalışmalar ile sonuç raporuna kadar 2 adet uluslararası makale yayımlanmış, 3 makale uluslararası dergilere gönderilmiş, bunlardan biri için revizyon gönderilmiş ve diğer ikisi için cevap beklenmektedir. Proje kapsamında 4 farklı uluslararası sempozyumda toplam 9 poster ve sözlü sunum yapılmış, bunlardan biri tam metin basılmıştır. Yine bir ulusal projede iki sunum yapılmıştır. Son olarak proje kapsamında yaptığı çalışmalarla bir yüksek lisans tezi tamamlanmıştır. Bahsedilen tüm yayınlarda proje desteği belirtilmiştir. Sonuç raporunu takip eden süre içerisinde proje kapsamında elde edilen verilerden yola çıkarak yapılmış çalışmalar yayınlanacaktır, dolayısıyla proje yürütücüsünün kariyer projesi olarak üstlendiği bu araştırma projesi yürütücünün kariyer gelişimine önemli katkılar sağlamıştır.
Anahtar Kelimeler:	Biyoteknoloji, Kriyoprezervasyon, Mikroalg, Mikroalg kütüphanesi, Volkanik göller
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır

Proje Den Yapılan Yayınlar:	1- Induction Of Triacylglycerol Production In Chlamydomonas Reinhardtii: Comparative Analysis Of Different Element Regimes (Makale - Diğer Hakemli Makale), 2- Karapınar ovasında çölleşme: mikroalgler çözüm sunabilir mi? (Bildiri - Ulusal Bildiri - Poster Sunum), 3- Zeytin karasuyunun değerlendirilebilmesine yardımcı organik yaklaşım: mikroalgler (Bildiri - Ulusal Bildiri - Poster Sunum), 4- Dissection of triacylglycerol production in Chlamydomonas reinhardtii grown under different element regimes (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum), 5- Chlamydomonas Species Isolated from Lake Narlıgöl (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum), 6- Chlorella Arm 0029B, an arctic microalgae for neutral lipid production: Isolation, identification and Characterization (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum), 7- Sequence Based Identification of Chlorella Species Isolated from Lake Narlıgöl (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum), 8- Evaluation of an Indigenous Dunaliella Strain for β-Caroten and Neutral Lipid Production as a Response to Cobalt Deprivation (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum), 9- In Silico Structural Determination of Metabolic Enzymes of lipid biosynthesis for Biofuel Production in Microalgae (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum), 10- TÜRKİYE'DEKİ FARKLI VOLKANİK GÖLLERDEN İZOLE EDİLMİŞ BEŞ CHLORELLA TÜRÜNÜN BİYODİZEL HAMMADDESİ ÜRETİM VERİMLİLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ (Tez (Araştırmacı Yetiştirilmesi) - Yüksek Lisans Tezi), 11- Antioxidant response of C.reinhardtii grown under different element regimes (Makale - Diğer Hakemli Makale), 12- Antioxidant response of C.reinhardtii grown under different element regimes (Makale - Diğer Hakemli Makale), 13- Oxygen evolution as a key factor controlling neutral lipid production in Chlorella vulgaris C-27 (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum), 14- Seasonal changes in microalgal flora of volcanic lakes in Turkey (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Poster Sunum), 15- Production of Silver Nanoparticles From Spirulina platensis (Bildiri - Uluslararası Bildiri - Sözlü Sunum),
-----------------------------	--