

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



SİNOP KIYILARINDA (KARADENİZ) DAĞILIM GÖSTEREN
CYSTOSEIRA (OCROPHYTA)-NEREIDIDAE (POLYCHAETA)
BİRLİKTELİĞİNİN MİKROBİYAL KOMMUNİTESİNİN
ARAŞTIRILMASI

BÜŞRA HAS

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ CUMHUR AVŞAR

II. DANIŞMAN

PROF. DR. GÜLEY KURT COŞKUN

SİNOP- 2025

TEZ KABUL

BÜŞRA HAS tarafından hazırlanan **SİNOP KIYILARINDA (KARADENİZ) DAĞILIM GÖSTEREN CYSTOSEIRA (OCHROPHYTA)-NEREIDIDAE (POLYCHAETA) BİRLİKTELİĞİNİN MİKROBİYAL KOMMUNİTESİNİN ARAŞTIRILMASI** başlıklı bu çalışma 11.07.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak, jürimiz tarafından **YÜKSEK LİSANS tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Doç. Dr. Zeynep YEĞİN Sinop Üniversitesi / Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu	İmza
Üye (Danışman)	Dr. Öğr. Üyesi Cumhur AVŞAR Sinop Üniversitesi / Fen-Edebiyat Fakültesi	İmza
Üye	Doç. Dr. Ekrem BÖLÜKBAŞI Amasya Üniversitesi / Suluova Meslek Yüksekokulu	İmza

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Hüseyin Turan ARAT

.....

ETİK BEYANI

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

Büşra HAS

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİNOP KIYILARINDA (KARADENİZ) DAĞILIM GÖSTEREN *CYSTOSEIRA* (OCHROPHYTA)-NEREIDIDAE (POLYCHAETA) BİRLİKTELİĞİNİN MİKROBİYAL KOMMUNİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

BÜŞRA HAS

SİNOP ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN:DR. ÖĞR. ÜYESİ CUMHUR AVŞAR

II. DANIŞMAN:PROF. DR. GÜLEY KURT COŞKUN

Kahverengi makroalglerden olan *Cystoseira sensu lato (sl)* (Ochrophyta) fasiyesi, Karadeniz’de yaygın bir dağılıma sahip olup poliketler için yaşam ortamı oluşturur. Denizel organizmalarla ilişkili mikrobiyota, deniz ekosistemlerinin dengesi ve biyoçeşitliliğin devamı için kritik rol oynar. Bu tez çalışmasında, bir poliket familyası olan Nereididae’ye ait bireyler ile birliktelik oluşturdukları *Cystoseira sl* fasiyesinin mikrobiyal komunitasinin araştırılması, konak-konakçı arasındaki mikrobiyal ilişkinin anlaşılması, deniz suyu örneklerinin mikrobiyal tespitinin yapılması, istasyonlar arasındaki benzerlik ve farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Sinop kıyısında, örnekleme yapılan üç istasyona ait su, alg ve poliket örnekleri için DNA ekstraksiyonu yapılmış, 16S rRNA geninin V4-V5 bölgesi kullanılarak SSCP yöntemiyle tez çalışması gerçekleştirilmiştir. Poliakrilamid jel üzerinde görüntülenen bantların, sekans analizi yapılarak GenBank-BLAST taraması sonucu yüksek benzerlik gösteren bakteri türleri saptanmıştır. Tüm örneklerde ortak olarak tespit edilen filumlar; Bacterioidetes, Proteobacteria ve Firmicutes şeklinde olup su örneklerinde ise bu filumlara ek olarak Cyanobacteria yer almaktadır. BLAST taraması sonucunda en fazla, kültüre alınmamış denizel bakteri klonları (uncultured marine bacterium clone) tespit edilmiştir. Örnekler arasında kommune yapılarını gözlemek üzere kullanılan UPGMA dendrogramı ve bant profilleri için elde edilen sekans verilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçlar incelendiğinde; su ve alg örnekleri ile aynı zamanda alg ve poliket örnekleri arasında dikkate değer bir yakınlık tespit edilemediği gözlenmiştir. Örnekleme yapılan üç istasyondan birinde konak-konakçı (alg ve poliket) arasında *Bacillus* türlerinin varlığı açısından benzerlik olduğu görülmüştür. Ek olarak, BLAST taraması sonucunda, insan ve hayvan patojeni olan bazı türlerle benzerlik gösteren bakteri örneklerine de rastlanmıştır. Bunun dışında, deniz suyu örneklerinin DNA ekstraksiyonu öncesi filtasyon işlemi için kullanılan karbon ve selüloz filtreler kıyaslanmış ve filtrelerin birbirlerine göre çok sayıda bant ve/veya tür tespitine olanak tanınması bakımından herhangi bir avantajı saptanamamıştır. Çevresel örneklerde bulunması muhtemel olan inhibitör maddeler ve SSCP yönteminde optimizasyonların sağlanabilme gücü, bu tez çalışmasında karşılaşılan zorluklardandır. Bu çalışma; denizel mikrobiyotanın, içerisinde bulundurduğu organizmalarla olan kompleks etkileşimlerine katkı sağlamaktadır.

ANAHTAR KELİMELE:Mikrobiyota; *Cystoseira*; Nereididae; SSCP; 16S rRNA

Temmuz 2025, 75 Sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF MICROBIAL COMMUNITY OF CYSTOSEIRA (OCHROPHYTA)-NEREIDIDAE (POLYCHAETA) ASSOCIATION DISTRIBUTED ALONG THE SINOP COASTS (BLACK SEA)

BÜŞRA HAS

SINOP UNIVERSITY INSTITUTE OF GRADUATE PROGRAMS

DEPARTMENT OF BIOLOGY

SUPERVISOR:ASSIST. PROF. DR. CUMHUR AVŞAR

CO-SUPERVISOR:PROF. DR. GÜLEY KURTCOŞKUN

The brown macroalgae *Cystoseira sensu lato (sl)* (Ochrophyta) facies has a widespread distribution in the Black Sea and provides habitat for polychaetes. The microbiota associated with marine organisms plays a critical role for the balance of marine ecosystems and the maintenance of biodiversity. In this thesis study, it was aimed to investigate the microbial community of *Cystoseira sl* facies in association with individuals belonging to Nereididae, a polychaete family, to understand the microbial relationship between host and host, to determine the microbial determination of seawater samples, and to determine the similarities and differences between the stations. DNA extraction was performed for water, algae and polychaete samples from three sampling stations on the Sinop coast, and the thesis study was carried out by SSCP method using the V4-V5 region of the 16S rRNA gene. Sequence analysis of the bands visualized on polyacrylamide gel was performed and high similarity bacterial species were identified as a result of GenBank-BLAST search. The phyla common to all samples were Bacteroidetes, Proteobacteria and Firmicutes, and in addition to these phyla, Cyanobacteria were found in water samples. As a result of the BLAST search, uncultured marine bacterium clones were identified the most. When the phylogenetic trees constructed based on the UPGMA dendrogram used to observe the communitie structures among the samples and the sequence data obtained for the band profiles were examined; it was observed that there was no remarkable affinity between water and algae samples, as well as between algae and polychaete samples. In one of the three stations sampled, there was similarity between host and host (algae and polychaete) in terms of the presence of Bacillus species. In addition, the BLAST search revealed bacterial samples that were similar to some human and animal pathogenic species. Furthermore, carbon and cellulose filters used for the filtration of seawater samples prior to DNA extraction were compared and no advantage was found in terms of enabling the detection of multiple bands and/or species. Inhibitory substances that are likely to be present in environmental samples and the difficulty of achieving optimizations in the SSCP method are among the difficulties encountered in this thesis study. This study contributes to the complex interactions of marine microbiota with the organisms it contains.

KEYWORDS:Microbiota; *Cystoseira*; Nereididae; SSCP; 16S rRNA

July 2025, 75 Page

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanması aşamasında bilgi, yardım ve motivasyonlarını esirgemeyen, tecrübeleriyle bana yol gösteren danışman hocalarım Prof. Dr. Sayın Güley KURT COŞKUN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Sayın Cumhuriyet AVŞAR'a, bu süreçte manevi olarak bana destek olan ailem ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Sinop Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi tarafından FEF-1901-24-002 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Büşra HAS

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ KABUL	ii
ETİK BEYANI.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Canlılar için Mikrobiyotanın Önemi.....	4
2.2. <i>Cystoseira</i> (Ochrophyta) Fasiyesinin Genel Özellikleri.....	5
2.3. Nereididae (Polychaeta) Familyasının Genel Özellikleri	6
2.4. Denizel Ekosistemde Bakteriler.....	7
2.5. Çevresel Örneklerde Mikrobiyal Kommünite Yapısının Belirlenmesi İçin Kullanılan Moleküler Yöntemler	7
2.6. Literatür Özeti.....	10
3. MATERYAL METOT	16
3.1. Deneysel Tasarım	16
3.2. Materyal.....	16
3.2.1. Örneklerin toplanması.....	16
3.3. Metot.....	18
3.3.1. Su örneklerinin filtrasyonu	18
3.3.2. DNA ekstraksiyonu/izolasyonu	19
3.3.3. PCR ile amplifikasyonu yapılan 16S rRNA bölgelerinin SSCP analizi.....	21
3.3.3.1 DNA pürifikasyonu.....	22
3.3.3.2 Poliakrilamid jelden DNA eldesi ve seçilen bantların sekans analizi	25
4. BULGULAR	28
4.1. Deniz Suyu Örneklerinin Fizikokimyasal Analizine İlişkin Bulgular.....	28

4.2. 16S rRNA Dizi Analiz Sonuçları ve Filogenetik Dağılımları	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	40
KAYNAKLAR	45
EK	54
ÖZGEÇMİŞ	64



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1 Örnekleme yapılan istasyonların koordinantları (Google Maps, 2024)	17
Tablo 3.2 Modifiye primer ile yapılan PCR bileşenlerinin konsantrasyonları	21
Tablo 3.3 Primer baz dizileri	22
Tablo 3.4 Modifiye primer ile yapılan PCR protokolü.....	22
Tablo 3.5 Pürifiye edilmiş DNA örneklerinin lambda ekzonükleaz ile kesimi.....	23
Tablo 3.6 Yükleme çözeltisi bileşenleri	23
Tablo 3.7 MDE jel bileşenlerinin konsantrasyonları	24
Tablo 3.8 Gümüş boyama uygulama basamakları	25
Tablo 3.9 Elüsyon sıvısı bileşenlerinin konsantrasyonları	26
Tablo 3.10 PCR bileşenleri	26
Tablo 3.11 PCR protokolü	27
Tablo 4.1 Örnekleme yapılan istasyonlara ait fizikokimyasal veriler	28
Tablo 4.2 DNA izolasyonu sonrası agaroz jelde yürütülmüş örneklerin numaralandırılması	28
Tablo 4.3 Bant profillerine ait numara, istasyon ve DNA kaynak bilgileri.....	30
Tablo 4.4 SSCP bantlarının, NCBI GenBank veritabanında BLAST taraması ile tespiti (150 baz dizisinden uzun olan bantların tespiti)	34
Tablo 4.5 SSCP bantlarının, NCBI GenBank veritabanında BLAST taraması ile tespiti (150 baz dizisinden kısa olan bantların tespiti)	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 <i>Cystoseira sensu lato</i> (Fotoğraf: Büşra HAS)	5
Şekil 2.2 Nereididae bireyinin genel görünüşü (Fotoğraf: Güley KURT COŞKUN)	6
Şekil 2.3 Çevresel örneklerden DNA'yı çıkarmak ve saflaştırmak için uygulanan prosedürlerin aşamaları (Uçarlı, 2022'den değiştirilerek alınmıştır.)	9
Şekil 3.1 Tez çalışmasının şematik deneysel tasarımı	16
Şekil 3.2 Araştırma bölgesi (A: Taş ocağı K: Karakum S: Stad) (Google Maps, 2024)	17
Şekil 3.3 İstasyonların genel görüntüsü (a: Taş ocağı b: Karakum c: Stad)	18
Şekil 3.4 a. Su örneklerinin filtrasyonu b. Su filtrasyonunda karbon filtre kullanımı	19
Şekil 3.5 a. İstasyonlardan toplanan <i>Cystoseira sl</i> örnekleri b. <i>Cystoseira sl</i> örneklerinin ayıklanması c. <i>Cystoseira sl</i> fasiyesinden ayıklanan poliket örneği	19
Şekil 3.6 a. DNA izolasyon protokolüne başlamadan önce poliket örneği b. DNA izolasyon adımlarında vorteksleme işlemi	21
Şekil 3.7 Poliakrilamid jelde DNA örneklerinin yürütülmesi	24
Şekil 3.8 Poliakrilamid jelde bistüri ile kesilen bantlar	25
Şekil 4.1 20 adet örneğe ait DNA izolasyonu sonrası agaroz jel görüntüsü	28
Şekil 4.2 Sekans analizi için gönderilecek örneklerin, PCR aşaması sonrası agaroz jel görüntüsü	30
Şekil 4.3 a. Örneklerle ait SSCP bant profilleri b. 1-73 örneklere ait bantların numaralandırılması	31
Şekil 4.4 Bakteriyel komünitelerin SSCP profillerinin UPGMA dendrogram analizleri (UPGMA dendrogram analizi GelJ programı kullanılarak oluşturulmuştur.)	32
Şekil 4.5 Neighbor-Joining metodu (16S rRNA gen bölgesine ait oluşturulan moleküler filogenetik ağaçlar)	37
Şekil 4.6 Maximum Likelihood metodu (16S rRNA gen bölgesine ait oluşturulan moleküler filogenetik ağaçlar)	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Mg⁺²	: Magnezyum
MgCl₂	: Magnezyum klorür
AgNO₃	: Gümüş nitrat
NaOH	: Sodyum hidroksit
M	: Molarite
μM	: Mikromolar
mM	: Milimolar
L	: Litre
μl	: Mikrolitre
V	: Volt
mA	: Miliamper
W	: Watt
°C	: Santigrad
dH₂O	: Distile su

Kısaltmalar

RNA	: Ribonükleik asit
rRNA	: Ribozomal RNA
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
TBE	: Tris-Borat-EDTA
TEMED	: N,N,N',N'-Tetrametiletildiamin
APS	: Amonyum persülfat
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
CTAB	: Setyiltrimetilamonyum bromür

1. GİRİŞ

Karadeniz, 40°55' ve 46°32' kuzey enlemleri ile 27°27' ve 41°42' doğu boylamları arasında yer alan yarı kapalı bir iç denizdir. Karadeniz'in yüzey alanı 423000 km² ve toplam hacmi 547000 km³ olarak hesaplanmıştır. Karadeniz havzasının, ortalama derinliği 1300 m, maksimum derinliği ise 2212 m'dir (Bat vd., 2018). Türkiye, Bulgaristan, Romanya, Ukrayna, Rusya ve Gürcistan, Karadeniz'e kıyısı olan ülkelerdir. Karadeniz, yaklaşık 150 m derinliğe kadar oksijen içermekte olup bu derinlikten sonra ise hidrojen sülfür barındırmaktadır. Tuzluluk bakımından diğer denizlerimize göre daha düşük tuzluluğa sahip olan Karadeniz, yaklaşık ‰18 tuzluluğa sahiptir (Özsoy ve Ünlüata, 1997). Bu sebepten dolayı Karadeniz'deki tür sayısı diğer denizlerimize kıyasla düşüktür (Geldiay ve Kocataş, 2014). Bu durum türler arası rekabetin az olmasına ve popülasyonlardaki birey sayısının artmasına olanak tanımaktadır.

Deniz ekosistemlerinde bakteriler, besin döngüsünde kritik bir rol oynayan temel unsurlardandır. Ortamda bulunan ve çözünmeyen birçok bileşik, bakteriler sayesinde diğer organizmaların kullanabileceği farklı formlara dönüştürülür. Çevresel faktörlere bağlı olarak bakteri popülasyonlarında ortaya çıkan değişiklikler ekosistem ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilir (Çiftçi Türetken, 2014).

Denizel ekosistemde makroalglerin farklı ekolojik rolleri vardır. Bu organizmalar sadece oksijen üretmekle kalmayıp başta omurgasız hayvanlar olmak üzere birçok canlıya habitat sağlar (Menaar, 2020). Makroalg yüzeyleri, bakteriler tarafından kolonize edilir. Makroalglerle ilişkili olan bakteriler, bu organizmalarla yaklaşık 1,6 milyar yıldır süren bir evrimsel birliktelik içindedir (Lu vd., 2023). Denizel organizmalarla ilişkili olan bakteri toplulukları bağışıklık, metabolizma ve fizyolojik olaylarda önemli rol oynamaktadır. Denizel omurgasızlarla beraber yaşayan bakteriler, konakçılarının ekolojisi, gelişimi ve evrimi üzerinde etkilidir (Menabit vd., 2024).

Kahverengi makroalglerden olan *Cystoseira sensu lato (sl)* (Ochrophyta) fasiyesi Karadeniz'de yaygın dağılıma sahiptir. Temiz suların indikatörü olduğu bilinen bu makroalgin tallusları omurgasız hayvanların yaşaması için uygun ortam oluşturur (Kuş, 2015). Ülkemiz kıyılarında dağılım gösteren *Cystoseira sl* ve bu cinsin oluşturduğu fasiyes üzerinde yapılmış çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (Çulha vd., 2010; Okudan vd., 2016; Karaçuha ve Okudan, 2017). Sinop kıyılarında dağılım gösteren *Cystoseira sl* fasiyesinin poliket (Polychaeta: Annelida) faunası mevsimsel olarak incelenmiş olup bu fasiyes ile birliktelik oluşturan türler bildirilmiştir (Kuş ve Kurt-Şahin, 2016).

Bu tezin konusunu oluşturan Nereididae familyası üyeleri de temiz suların indikatörü olan bu makroalg (*Cystoseira sl*) üzerinde yaygın olarak dağılım göstermektedir (Kuş ve Kurt-Şahin, 2016). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda Polychaeta içinde sınıflandırılan Nereididae familyasına ait 550 civarında tür tanımlanmıştır (WoRMS, 2025). Nereididae bireylerinin çok azı tatlısularda, çoğunluğu ise denizlerde ve okyanuslarda yüksek gelgitlerin olduğu mediolittoral bölgede dağılım gösterir. Bununla beraber bu familya sığ sulardan abissal düzlüklere kadar olan bölgelerde çeşitli substratumlarda yaşamlarını sürdüren geniş bir tuzluluk toleransına sahip kozmopolit türleri içermektedir (Bakken ve Wilson 2005; Wilson vd., 2023).

Bu familyanın da üyesi olduğu Polychaeta türleri denizel bentik organizmaların önemli bir bölümünü oluşturmaları, sedimanın biyotürbasyonunu sağlamaları hem larval hem de ergin olduğu dönemlerde balıklara besin kaynağı olmaları, besin ve madde döngüsündeki rolleri ve sportif avcılıkta, akuakültür uygulamalarında tercih edilmeleri sebebiyle önemlidir (Ağırbaş, 2006; Martins ve Barros, 2022). Birçok biyoindikatör türü içeren poliketler, hem denizel ekolojik kaliteyi belirlemek için kullanılan biyotik indekslerde, hem de sedimente direkt temas etmelerinden dolayı ekotoksikoloji ve ağır metal izleme çalışmalarında kullanılmaktadır (Reish ve Lemay, 1991).

Küresel olarak nüfus artışı, sanayileşme gibi antropojenik etkiler sebebiyle ortaya çıkan iklim değişikliği, küresel ısınma, deniz asidifikasyonu, ötrofikasyon ve kirlilik denizel ekosistemleri olumsuz yönde etkilemektedir. İklim değişikliği ve küresel ısınma nedeniyle Türkiye denizlerinde su parametreleri ve su kalitesinde değişkenlik görülmektedir (Sehna vd., 2021; Öncü vd., 2021; Bat vd., 2024). Mikrobiyal topluluklar, kirleticilerden etkilenen denizel ekosistem sağlığının önemli göstergesidir (Yi vd., 2020). Denizel organizmalar ile ilişkili olan mikrobiyal komünite su kalitesinin incelenmesi açısından kritik bir önem taşır (Sehna vd., 2021).

Deniz bakterilerinin çeşitliliği, ekosistem fonksiyonlarının anlaşılması, kirliliğin karakterize edilmesi ve biyoteknolojik yenilikler için kaynak sağlanması açısından kritik bir rol oynar. Bu nedenle, bu alandaki araştırmalar dünyada giderek daha fazla ilgi görmektedir (Altuğ, 2016).

Bu tez çalışmasında, Nereididae familyasına ait bireyler ile birliktelik oluşturdıkları *Cystoseira sl* fasiyesinin mikrobiyal komünitesi araştırılarak, örnekleme yapılan üç istasyon arasında benzerlik ve farklılıklar saptanmaya çalışılmıştır. Ülkemizde denizel organizmaların içinde veya üzerinde yaşayan ve su içerisinde serbest olarak bulunan mikrobiyal flora üzerinde yapılmış çalışmaların kısıtlı olması sebebiyle bu tez çalışması

yerel mikrobiyal çeşitliliğin saptanmasına, mikrobiyal ekolojinin temel mekanizmalarının aydınlatılmasına ve biyolojik çeşitliliğin korunmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Canlılar İçin Mikrobiyotanın Önemi

Belirli bir çevrede veya konak organizmanın üzerinde/içerisinde yaşayan mikroorganizma toplulukları mikrobiyota olarak tanımlanır. Bu mikroorganizmaların taşıdığı genetik materyalin tamamını tanımlamak için ise mikrobiyom terimi kullanılır (Lyra vd., 2017; Diker, 2017; Ayer, 2023). Mikrobiyota ve mikrobiyom terimleri sıklıkla birbirinin yerine kullanılmaktadır (Kurtaran, 2021).

Mikrobiyota ile ilgili yapılmış olan çalışmalar insan sağlığı üzerine odaklanmıştır. İnsan bağırsak mikrobiyotası ile çeşitli hastalıklar ilişkilendirilmiş, immün sistem fonksiyonu üzerine olumlu etkileri bilimsel çalışmalarla ortaya konmuştur (Flint, 2012; Ferranti vd., 2014; Belizário ve Faintuch, 2018; Kalip ve Atak, 2018).

Mikrobiyota çalışmalarının insan odaklı yaklaşımının yanı sıra bitkisel ve hayvansal organizmalarla ilgili araştırmaların önemi giderek artmaktadır.

Hayvan mikrobiyomunu oluşturan bakteriler, virüsler, mantarlar ve ökaryotlar, sağlık ve beslenme için hayati önem taşır. Bu konuda literatüre katkı sağlayan birçok araştırma yapılmakta, örneğin; mercanlarla ilişkili mikroorganizmalar, mercan biyolojisi için kritik öneme sahip birçok işlevi yerine getirdiği (Peixoto vd., 2021); bunun dışında zebra balıkları, tavuklar gibi birçok omurgalıda, eklembacaklılar gibi bazı omurgasız hayvan türlerinde de mikrobiyom çalışmaları literatüre kazandırılmıştır (Esposti ve Romero, 2017; Rychlik, 2020; Li vd., 2022; Maritan vd., 2024).

Omurgalı ve omurgasız hayvanların yanı sıra karasal bitkiler, deniz çayırları ve makroalgler, mikroorganizmalarla yakın ilişki içerisindedir. Mikroorganizmalar, makrofitler için hormon, vitamin, mineral gibi birçok madde temin ederek makrofitlerin büyümesinde ve bağışıklığında rol oynar (Fitzpatrick vd., 2020; Chen vd., 2022).

Denizel organizmalarla etkileşim içerisinde olan mikrobiyal topluluklar ile ilgili yapılan çalışmalar; ekosistem dengesinin korunmasında, kirlilikle mücadelede, konak organizmaların sağlığı ve gelişimi gibi konularda yeni bulgular ortaya koyacaktır.

Mikrobiyomun yapı ve işlevini anlamada evrimsel sürecin önemi tam olarak anlaşılmamıştır. Mikrobiyom biyolojisini, sağlık üzerine etkilerini analiz etmek ve karmaşıklığını çözmek için evrimsel bakış açısı geniş bir perspektif sunar (Foster, 2017).

2.2. *Cystoseira* (Ochrophyta) Fasiyesinin Genel Özellikleri

Fucales ve Laminariales takımlarında yer alan kahverengi algler, dünyanın soğuk ve ılıman bölgelerindeki kayalık resiflerde bulunan üretken ve biyolojik çeşitlilik açısından zengin habitatları oluşturur (Mancuso vd., 2024). *Cystoseira sl* topluluklarını oluşturan bireyler Fucales takımının Sargassaceae familyasında yer alır ve Akdeniz kıyılarında, doğu Atlantik Okyanusu'nda ayrıca Karadeniz'de yaygın olarak bulunur (Trica vd., 2019; AlgaeBase, 2025) (Şekil 2.1). *Cystoseira sl* ormanları; balıklar, omurgasızlar ve diğer alg türlerini destekleyerek ekosistemin sağlıklı işleyişine katkıda bulunur (Mancuso vd., 2024). Tallus yapıları hem sesil hem de vagil organizmaların kolonizasyonu için uygun bir substratum işlevi görür (Fraschetti vd., 2002).

Cystoseira sl toplulukları biyoindikatör rolleri sebebiyle kirlilik çalışmalarında tercih edilirler. *Cystoseira*'nın baskın olduğu alanlar, yüksek su kalitesine sahiptir. Karadeniz için ekonomik öneme sahip olan bu makroalg, endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerde değerli bir hammadde kaynağı olarak kabul edilmektedir (Manev vd., 2013).



Şekil 2.1 *Cystoseira sensu lato* (Fotoğraf: Büşra HAS)

2.3. Nereididae (Polychaeta) Familyasının Genel Özellikleri

Annelida şubesi, geleneksel taksonomik sınıflandırmada Polychaeta ve Clitellata olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır (Struct vd., 2011). Polychaeta, annelidlerin çeşitliliğinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Parapodyum adı verilen hareket organlarından çıkan kitin yapıda kıllar (seta) ile karakterize edilir (Weigert ve Bleidorn, 2016).

Poliketler içinde sınıflandırılan Nereididae türleri hem deniz hem de acı su ekosistemlerinde bentik gruplar arasında çok çeşitlilik gösteren ve bol bulunan taksonlar arasındadır (Şekil 2.2). Nereididler bulundukları ekosistemdeki enerji transferinde önemli rol oynar. Bitkiler ve küçük omurgasızlar ile beslenerek onların tüketicisi konumunda bulunurken birçok bentik organizma için av olarak da besin kaynağı haline gelirler. Bu şekilde, ekosistemdeki enerji akışında hem tüketici hem de aktarıcı rolü üstlenirler (Çınar ve Ergen, 2001).

Farink üzerinde bulunan paragnatlar, parapodial loplar ve sirriler, parapodların taşıdıkları setaların tipleri Nereididae familyasındaki türlerin tanımlanmasında önemli rol oynar (Kurt vd., 2021; Mazurkiewichz, 2009). Familyaya ait bireylerde metamerik segmentasyon belirgindir. Serbest yaşamlı olan hareketli canlılardır. Nereididlerin bir diğer karakteristik özelliği, prostomiumun ters T formunda olmasıdır; bu özellik çoğu türde gözlemlenir (Fauchald ve Rouse, 1997).



Şekil 2.2 Nereididae bireyinin genel görünüşü (Fotoğraf: Güley KURT COŞKUN)

2.4. Denizel Ekosistemde Bakteriler

Denizel bakteriyel kommuniteler, organik madde döngüsü ve besin ağlarındaki kritik rolleriyle ekosistemin sürdürülebilirliğine katkı sağlarken, bazı türleri hem akuatik organizmalar hem de insanlar için potansiyel sağlık riskleri oluşturabilir.

Deniz Bakteriyolojisi; başlangıçta halk sağlığı odaklı bir disiplin iken, zamanla bakteri popülasyonlarının doğal dinamiklerindeki değişimlerin ekosistem sağlığı üzerindeki etkilerini inceleyen çevresel bakış açısına sahip bir alan haline gelmiştir (Altuğ vd., 2020).

Su kirliliği, insan refahını tehdit eden ve deniz ile tatlı su ekosistemlerine zarar veren küresel bir sorundur. Halk sağlığı açısından; deniz sularında fekal kaynaklı bakterilerin bulunması, yüzme gibi rekreasyonel aktiviteler yoluyla insanlara bulaşarak gastrointestinal, dermatolojik ve solunum yolu enfeksiyonlarına yol açabilir (Avşar, 2013). Fekal kirliliğin izlenmesinde *Escherichia coli* ve enterokoklar indikatör olarak yaygın kullanılmakla birlikte *Clostridium perfringens* ve *Klebsiella* türleri de indikatör bakteriler arasındadır. *Shigella*, *Salmonella* ve *Vibrio* genuslarında bulunan bazı türler, fekal-oral yol ile kontamine su kaynakları aracılığıyla bulaşan önemli enfeksiyon etkenleridir (WHO, 2003). *Pseudomonas* cinsinin bazı türleri insan ve diğer organizmalar için patojen olsa da aynı genusa ait diğer türler biyoremediasyon ve biyokontrol gibi süreçleri gerçekleştirerek ekosistem için fayda sağlar (Uğur vd., 2012). Okyanuslarda ubikitöz bir dağılım gösteren mikroorganizmalar, organik maddenin parçalanması ve besinlerin yeniden kullanılabilir forma dönüştürülmesiyle biyokimyasal döngüleri yönetir. Bu süreçler, denizel üretkenliğin ve küresel iklim dengelerinin korunmasında hayati öneme sahiptir. Okyanuslarda en yaygın olan Alphaproteobacteria sınıfı olmakla birlikte ikinci sırada Gammaproteobacteria yer alır. Sonrasında ise oksijen üretiminde rol oynayan Cyanobacteria bulunur. Bakteri gruplarının bolluğu denizel zonlara göre değişkenlik gösterebilir (Sunagawa vd., 2015).

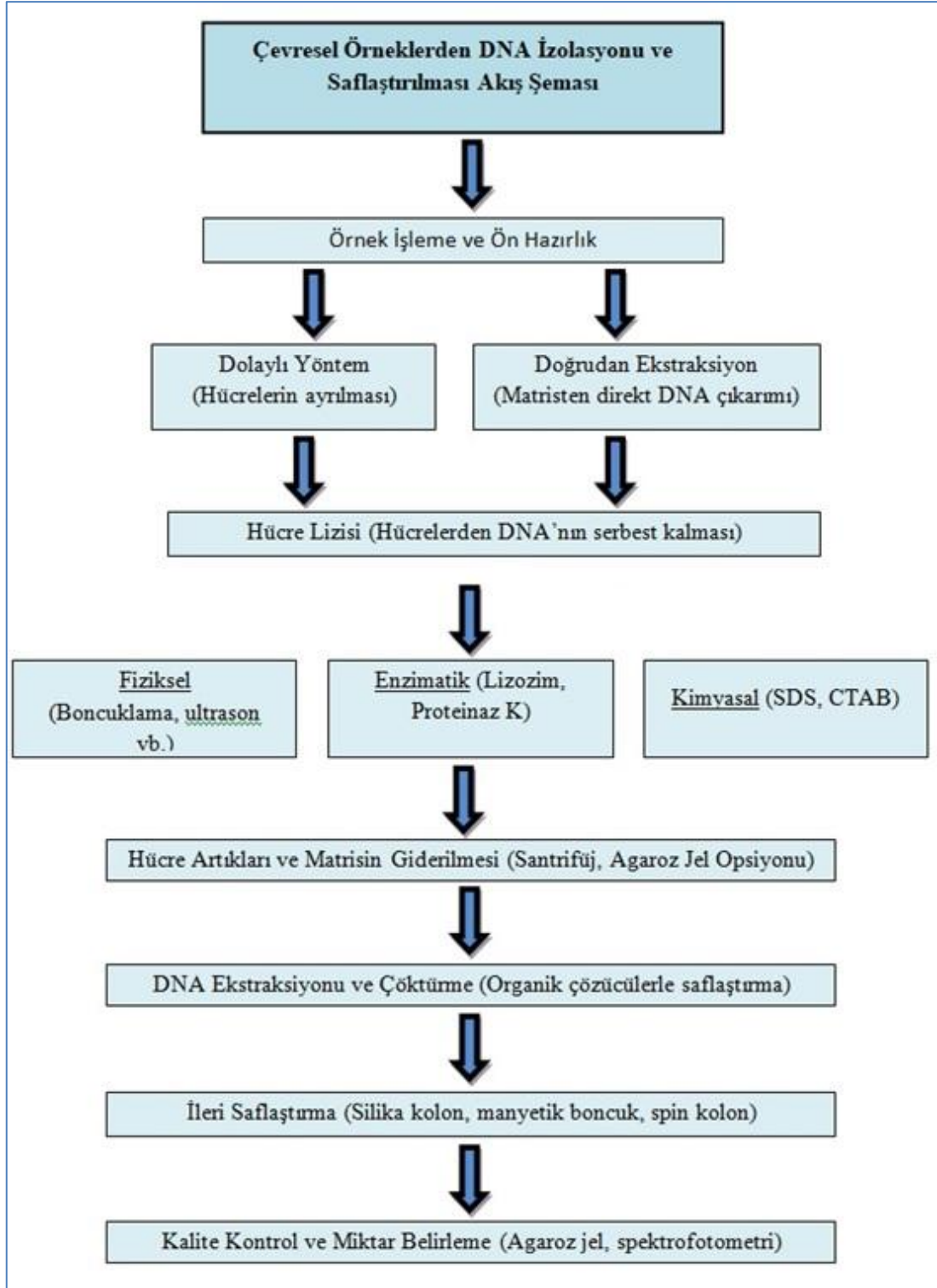
2.5. Çevresel Örneklerde Mikrobiyal Kommünite Yapısının Belirlenmesi İçin Kullanılan Moleküler Yöntemler

Günümüzde çevresel mikrobiyota analizleri, geleneksel kültür temelli yöntemlerin ötesinde yüksek verimli moleküler tekniklerle gerçekleştirilmektedir. Son yıllarda geliştirilen yeni nesil dizileme (NGS) platformları (Illumina MiSeq/HiSeq, Oxford Nanopore), 16S/18S rRNA gen bölgelerinin ampikon dizilemesi gibi metagenomik

yaklaşımlarla; toprak, su ve sediment gibi materyallerdeki mikrobiyal toplulukların tespiti sağlanmaktadır (Klinwort vd.,2013; Goodwin wd., 2016). Şekil 2.3'te çevresel örneklerden DNA izolasyonu ve saflaştırma akış şeması görülmektedir.

Mikrobiyota analizlerinin ilk adımını DNA ekstraksiyonu oluşturmaktadır. Çevresel örneklerden DNA ekstraksiyonu aşamasında kirleticiler sebebiyle çeşitli zorluklarla karşılaşılabilenekte olup humik ve fulvik asitler gibi organik kirleticiler, PCR inhibitörleri olarak görev yaparak ekstraksiyon verimini düşürür (Zhou vd., 1996; Sidstedt vd., 2015). Günümüzde çevresel örnekler için kullanılan ticari DNA izolasyon kitleri, eski yöntemlere kıyasla daha başarılı sonuçlar vermektedir.





Şekil 2.3 Çevresel örneklerden DNA'yı çıkarmak ve saflaştırmak için uygulanan prosedürlerin aşamaları (Uçarlı, 2022'den değiştirilerek alınmıştır.)

DNA ekstraksiyonunun ardından, mikrobiyal toplulukların analizinde DGGE/TGGE, SSCP, RFLP, T-RFLP ve qPCR gibi PCR tabanlı moleküler tekniklerden yararlanılmaktadır (Su vd., 2012). PCR uygulaması denatürasyon (Denaturation),

primerlerin bağlanması (Annealing) ve uzama (Extension) basamakları olarak üç aşamada gerçekleşmektedir. Her PCR döngüsü, kalıp DNA'nın denatürasyonu ile başlar, bu işlem yüksek sıcaklıkta (genellikle 94-95°C) gerçekleşerek DNA'nın çift sarmalını birbirinden ayırır. Ardından, sıcaklık düşürülerek (45-60°C) her bir zincire uygun primerlerin bağlanması sağlanır. Son olarak, polimerazın optimum aktivitesini sağlamak için sıcaklık tekrar yükseltilir (70-72°C) ve primerlerin bağlandığı kalıp zincir üzerinde uzama gerçekleşir (Avşar, 2018).

Bu tez çalışmasında yeni nesil dizileme platformlarına göre ekonomik bir yöntem olması sebebiyle SSCP (Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi) tekniği kullanılarak mikrobiyota analizi gerçekleştirilmiştir. İlk kez Orita ve arkadaşları tarafından kullanılan (Orita vd., 1989) bu teknik, DNA dizisindeki mutasyonların ve polimorfizmlerin tespit edilmesini sağlar. Basit ve ucuz bir yöntem olan SSCP tekniği, tek zincirli DNA'ların, primer dizilerine bağlı olarak intramoleküler etkileşimlerle stabilize olan özgün konformasyonlar meydana getirmesi prensibine dayanır. Denatüre olmayan koşullarda, tek bir baz değişikliği bile konformasyonel bir değişime yol açabilir, bu da DNA molekülünün jeldeki hareketliliğinin değişmesiyle tespit edilebilir (Sunnucks vd., 2000; Kakavas, 2021).

2.6. Literatür Özeti

Denizel ortamda bakteriler, madde döngülerine katkı sağlar ve enerji akışında yer alır. Bakteriler, okyanusların biyojeokimyasal süreçlerini düzenler (Azam ve Malfatti, 2007). Biyoremediasyon süreçlerinde petrol ve plastiklerin oluşturduğu kirliliğin azaltılmasında rol oynayan bakteri türleri vardır (Ceyhan ve Esmeray, 2012; Özden, 2021).

Denizel ekosistemlerde bulunan bazı bakteri türleri sucul organizmalar ve insan türü için patojendir. Kırmızı algler arasında yer alan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex PCSilva, 1996 türünün bireylerinde hastalık yapan fırsatçı *Vibrio* türleri bulunur (Belkin ve Colwell, 2005). *Vibrio tapetis*, istiridyelerde iç kabukta anormal kalınlaşma ve madde birikimine (Allam vd., 2002); *Aerococcus viridans* var. *homari*, ıstakozlarda görülen gaffkemia hastalığına (Clark vd., 2013); *Spiroplasma eriocheiris*, yengeçlerde titreme hastalığına (Tremor Disease, TD) neden olur (Hou vd., 2017). *Rickettsia*, karides gibi kabuklularda hastalık yapan patojen türler içerir (Gollas-Galvan vd., 2013). *Vibrio* türleri, *Aeromonas salmonicida* ssp. *achromogenes* ve *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, balık ölümlerine (Romalde, 2002; Bowden vd., 2017).

Renibacterium salmoninarum, *Mycobacterium marinum* ve *Nocardia* türleri, balıklarda enfeksiyonlara yol açmaktadır (Ucko ve Colorni, 2005; Maekawa vd., 2018; Delghandi vd., 2020). Deniz memelilerinin önemli bakteriyel patojenleri arasında *Brucella* yer alır (Foster vd., 2002). Deniz memelilerinde diğer patojen bakteriler; *Leptospira interrogans*, *Actinobacillus delphinicola*, *Staphylococcus delphini* ve *Mycobacterium* spp.' dir (Higgins, 2000). Ayrıca deniz sedimentinde yaygın olarak bulunan *Vibrio* türleri insan sağlığı için tehlike oluşturur (Harriague vd., 2008). *Vibrio cholerae*, çok sayıda insanın ölümüne neden olan tehlikeli bir patojendir. *Vibrio parahaemolyticus* ve *Vibrio vulnificus*, insan patojeni olan diğer türlerdir (Thompson vd., 2004).

Son yıllarda, moleküler analizler yoluyla belirli bir bölgede hangi mikroorganizmaların bulunduğunu belirlemede büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu bilgilerin çoğu, 16S rRNA genleri gibi birkaç bilgilendirici gen kullanılarak yapılan filogenetik analizlerden elde edilmiştir (Fuhrman vd., 2015).

PCR temelli moleküler tekniklerden olan denatüre edici/sıcaklık gradyan jel elektroforezi (DGGE/TGGE), tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP), restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), terminal restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (T-RFLP) ve kantitatif PCR (qPCR) gibi yöntemler mikrobiyal toplulukları incelemek için kullanılmıştır (Su vd., 2012). SSCP, genetik polimorfizmlerin ve mutasyonların tespiti için kullanılan bir yöntemdir. Bu tekniğin dezavantajı optimizasyonların sağlanmasının güçlüğüdür (Badi vd., 2021). SSCP gibi geleneksel yöntemler genellikle az verimli, zaman alıcı ve yüksek hata oranına sahiptir (Li ve Jiang, 2023).

Oxford Nanopore Technologies (ONT) tarafından geliştirilen MinION; nanopor dizileme teknolojisini kullanarak DNA ve RNA'nın dizilenmesini sağlar. Küçük fiziksel boyuta sahip olması, hızlı sonuç vermesi ve ultra uzun dizi okumaları yapabilmesi sebebiyle avantajlıdır (Eisenstein, 2012; Mikheyev ve Tin., 2014; Laver vd., 2015). Yüksek verimli yeni nesil dizileme (NGS) yöntemlerinin geniş ölçekli uygulamaları yüksek maliyetleri nedeniyle sınırlıdır. SSCP yöntemi, düşük maliyetli olması sebebiyle yaygın olarak kullanılmıştır (Badi vd., 2021).

Makroalgler, denizel ekosistemlerde birincil üretimin önemli kaynaklarıdır. Ayrıca omurgasız hayvanlar ve balıklar için yaşam alanı sağlayan organizmalardır (Karaçuha ve Yıldız, 2017). Ekolojik önemlerinin yanı sıra gıda, eczacılık, tıp ve kozmetik sektörlerinde kullanılmaktadır (Aktar ve Cebe, 2010).

Denizel makroalgler ve bakteri birliktelikleri üzerine yapılan çalışmalarda makroalg üzerinde bulunan epibiyotik bakterilerin ürettikleri bileşiklerin algi koruduğu saptanmıştır (Armstrong vd., 2001). Denizel makroalglerle ilişkili olan mikrobiyal topluluklar, bu canlıların gelişme, üreme ve savunmasında rol oynar (Wood vd., 2022). Serebryakova ve arkadaşları (2018) kahverengi algler arasında yer alan *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt, 1955 türü ile ilişkili mikrobiyal toplulukların zamansal ve bölgesel değişikliklerini incelemiştir. Mikrobiyal kommunitenin çeşitliliği 16S rDNA'ya ait V5-V7 bölgeleri ile belirlenmiş ve zamansal olarak mikrobiyotada farklılık olduğu gözlemlenmiştir. Eylül-Mart ayları arasında Rhodobacteraceae ve *Loktanella*, yaz aylarında ise *Pirellulales*'in yaygın olduğu tespit edilmiştir. Çeşitlilik, bölgeler arasında ve *S. muticum*'dan alınan farklı doku örnekleri arasında da görülmüştür.

Wood ve arkadaşları (2022) kahverengi algler arasında yer alan *Phyllospora comosa* (Labillardière) C. Agardh, 1839 türünün bireyleri üzerinde yaşayan mikrobiyal toplulukları araştırmıştır. 16S rRNA geninin V3-V4 bölgeleri ile *P. comosa* türünün ilişkili mikrobiyal kommunitenin yapısındaki genel varyasyonun %54'ü açıklanmış ve bu varyasyonun büyük bir kısmının yerel çevre ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Mancuso ve arkadaşları (2016) Akdeniz'de dağılımı olan *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin, 1975 kolonileriyle ilişkili olan bakteri popülasyonlarını analiz etmiştir. Bakteriyel çeşitlilik, 16S rRNA genine ait V1-V3 aşırı değişken bölgelerinin Illumina Miseq dizileri kullanılarak değerlendirilmiştir. *C. compressa* bakteri topluluğuna Proteobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Actinobacteria ve Cyanobacteria, özellikle de Rhodobacteriaceae, Flavobacteriaceae, Saprospiraceae, Verrucomicrobiaceae ve Phyllobacteriaceae ailelerinin dominant olduğu görülmüştür. Deniz suyuna ait örneklerde ise Proteobacteria ve Bacteroidetes, özellikle Candidatus Pelagibacter (SAR11) ve Rhodobacteriaceae aileleri baskındır. Birkaç ortak tür dışında *C. compressa* mikrobiyotasının deniz suyuna göre açıkça farklı olduğu gösterilmiştir.

Avşar ve Gümüş (2024) Sinop kıyılarından aldıkları *Gongolaria barbata* (Stackhouse) Kuntze ve su örneklerini SSCP analizi kullanarak incelemiş epifitik bakteriyel topluluk yapısını tespit etmiştir. 16S rRNA'nın V4-V5 bölgesi kullanılarak gerçekleştirilerek seçilmiş bantların sekans analizi ile bakteriyel topluluk yapısı belirlenmiştir. Makroalg üzerindeki bakteriyel topluluk yapısının, bölgesel olarak değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Gammaproteobacteria sınıfının, SSCP analizinden elde edilen grupların yüzde 84.375'ini oluşturduğu tespit edilmiştir. Farklı noktalardan toplanan bantlardan

Üretilen sekans verilerinin büyük lde *Vibrio* ve *Klebsiella* genuslarına benzediği görülmüştür.

Omurgasız hayvanlar; deneysel avantajları nedeniyle mikrobiyota çalışmaları için ideal sistemlerdir (Newton vd., 2013; Graf, 2016). *Galleria mellonella*, bilimsel araştırmalarda omurgasız model olarak kullanılan türlere örnektir (Allonsius vd., 2019).

Allonsius ve arkadaşları (2019) *G. mellonella* türünün larvalarının farklı vücut bölgelerinde 16S rRNA ampikon dizilimi ile bakteri topluluklarını incelemiştir. Çalışma sonucunda bakteri toplulukları çok az çeşitlilik göstermiş ve çoğunlukla *Enterococcus* taksonu tarafından domine edildiği saptanmıştır.

Lyra ve arkadaşları (2017) birçok iribaş ve sucul omurgasızlardaki (böcekler ve gastropodlar) bağırsak mikrobiyotasını incelemişlerdir. 16S rRNA geninin V4 Illumina ampikon dizilimi ile bakteri çeşitliliğini araştırmışlardır. İncelenen salyangoz bireylerinde bakteriyel çeşitlilik en yüksek, iribaşlarda orta düzeyde ve dört su böceği grubunda en düşük olduğu tespit edilmiştir.

Turon ve arkadaşları (2019) tarafından konak süngerler (*Clathria (Thalysias) reinwardti* Vosmaer, 1880, *Amphimedon paraviridis* Fromont, 1993, *Neofibularia hartmani* Hooper & Lvi, 1993 ve *Aaptos suberitoides* (Brndsted, 1934)) ile simbiyotik ilişkisi olan poliket *Haplosyllis* Langerhans, 1879 genusuna ait bireylerin mikrobiyomları arasında karşılaştırma yapılmıştır. 16S rRNA geninin V4 bölgesi kullanılarak çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, konak sünger türleri ile poliket mikrobiyomları arasında paralellik gözlemlenmiş olup miktar bakımından farklılık tespit edilmiştir. *Haplosyllis* mikrobiyomunun farklı konak sünger türlerinin mikrobiyomları arasındaki benzerlikleri değişkenlik göstermektedir. Poliketlerin, sünger mikrobiyomunu bünyesine katarak zenginleştirebildiği ve poliketlerin konak sngerlerinden beslendiği doğrulanmıştır. Poliket bakteri komunitelerinde en bol bulunan takımlar; Vibrionales (%24,3), Alteromonadales (17,7), Oceanospirillales (%14,3), Burkholderiales (%7,6), Caulobacterales (%4,3) iken süngerlerde Rhodobacterales (%16,29), Oceanospirillales (%14,9), Nitrosononadales (%8,9) ve sınıflandırılmamış (%5,9) şeklinde-dir.

Matsui ve arkadaşları (2004) tarafından iki farklı sediman habitatından toplanan *Diopatra cuprea* (Bosc, 1802) tüplerindeki mikrobiyal kommuniteler incelenmiştir. Kumlu sediman örneğinden alınan tüplerin bakteri topluluğunun, çamurlu sediman örneğinden alınan tüplerden farklı olduğu tespit edilmiştir. 16S rRNA gen dizi analizleri sonucunda dizilerin çoğunluğunun 4 ana bakteriyel filum veya alt bölüme ait olduğu grlmştir. 3 klon Bacteroidetes'e, 5 klon Verromicrobia'ya, 10 klon Gamma-Proteobacteria'ya ve 6

klon Delta-Proteobacteria'daki sülfat indirgeyen bakterilere aittir. Sülfat indirgeyen bakteri klonlarının tümünün Desulfobacteriaceae ailesiyle ilişkili olduğu görülmüştür.

Fuirst ve arkadaşları (2021) tarafından tüp oluşturan poliket türlerinden olan *D. cuprea* tüplerinin ve bulunduğu sedimanın bakteri toplulukları analiz edilmiştir. Yapılan çalışmada antropojenik stres altında olan ve stres seviyeleri farklılık gösteren üç bölgeden örnekleme yapılmıştır. Çalışma, 16S rRNA genlerinin V3-V4 bölgesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyal kommunité kompozisyonunda ve çeşitliliğinde tüp ve sediman arasında farklılık görülmüştür. Bacterioidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Deferribacteres, Latescibacteria ve Lentisphaerae filumları sediman topluluklarına kıyasla tüplerde önemli ölçüde daha bol bulunmuştur. Antropojenik etkiler sebebiyle denizel ekosistemlerde mikrobiyal çeşitliliğin azalması beklenirken çalışma sonucunda yüksek seviyedeki noktasal olmayan kirleticilerin *D. cuprea* tüplerinin mikrobiyal çeşitliliği arttırdığı görülmüştür.

Jang ve arkadaşları (2021) tarafından poliket *Capitella teleta* Blake, Grassle & Eckelbarger, 2009'nın biyotürbasyon süreci sonunda sedimanın mikrobiyal yapısını nasıl etkilediği araştırılmıştır. 16S rRNA genlerinin V5-V6 bölgesini temsil eden DNA dizileri analiz edilmiştir. Ayrıca sedimanın mikrobiyal kommunitésinin yapısı *C. teleta*'nın bağırsak mikrobiyomuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda *C. teleta*'nın sediment mikrobiyal kommunitésini değiştirdiği ve bu poliket türünün bentik ortamlardaki mikrobiyal biyojeokimyasal döngüler üzerinde büyük bir etkiye sahip olma potansiyeli olduğu görülmüştür.

Menabit ve arkadaşları (2024) tarafından bir poliket türü olan *Melinna palmata* Grube, 1870 mikrobiyomunun ilk karakterizasyonu sağlanmıştır. Karadeniz'den (Romanya) toplanan poliket örnekleri ve ilişkili sedimanın mikrobiyal kommunitésini 16S rRNA geninin V3-V4 bölgesi kullanılarak saptanmıştır. *Melinna palmata*'ya ait doku örneklerinden taksonomik olarak 12 filum, 14 sınıf, 26 takım, 26 familya ve 30 cinsin tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Doku kolonizasyonu yapan bakterilere Proteobacteria hâkim olmakla birlikte devamında Actinobacteriota, Cyanobacteria ve Chloroflexi takip etmektedir. Sediman mikrobiyotası; 12 filum, 19 sınıf, 34 takım, 29 familya ve 36 cinsin tanımlanması yapılmıştır. Sediman toplulukları çoğunlukla Actinobacteriota ve Chloroflexi ile temsil edilirken Proteobacteria ve Campylobacterota daha az miktarda bulunmuştur.

Wang ve arkadaşları (2020), Nereididae familyasına ait *Alitta succinea* (Leuckart, 1847)'nin (syn. *Nereis succinea*) bağırsak mikrobiyotasını analiz etmiş ve bağırsak

mikrobiyotasının polisiklik aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, fenoller gibi çeşitli organik kirleticileri parçalama kapasitesini incelemiştir. 16S rRNA geninin V3-V4, V4-V5 ve ITS1 bölgeleri kullanılarak araştırma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda bağırsağın ön, orta ve arka bölümleri arasında mikrobiyal kommunité yapısında değişkenlik olduğu görülmüştür. Taksonomik sınıflandırma Proteobacteria'nın *A. succinea*'nin bağırsağındaki en yaygın filum olduğunu ve toplam bakterilerin %60'ından fazlasını oluşturduğunu ortaya koymuştur. Proteobacteria'ya ek olarak *A. succinea*'nin bağırsağında 14 farklı bakteri filumu ve sınıflandırılmamış bakteriler tespit edilmiş, bunlar arasında Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria ile birlikte bakteri topluluğunun büyük çoğunluğunu oluşturduğu görülmüştür.

Dale ve arkadaşları (2019) tarafından Nereididae familyasına ait *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776)'un sedimenti yutması ile birlikte bağırsak geçişi sırasında bakteri ve arke topluluklarının yapısında ve azot döngüsü taksonlarının bolluğunda oluşabilecek değişiklikler araştırılmıştır. *Hediste diversicolor* bireyleri disekte edildikten sonra DNA izolasyonu yapılarak 16S rRNA geninin V6-V8 bölgeleri kullanılarak DNA dizileri analiz edilmiştir. Arka bağırsak bölümünde bakteri çeşitliliğinin en fazla olduğu görülmüştür. Arkeal bolluk bakteriyel bolluğa kıyasla daha düşüktür. *Hediste diversicolor* bireylerinin yaşadığı sediman topluluklarında Desulfobacterales, Flavobacterales ve Xanthomonadales takımları baskın olmuştur. Bağırsak örneklerinin çoğunluğu Flavobacterales ve Rhodobacterales tarafından domine edilmiştir.

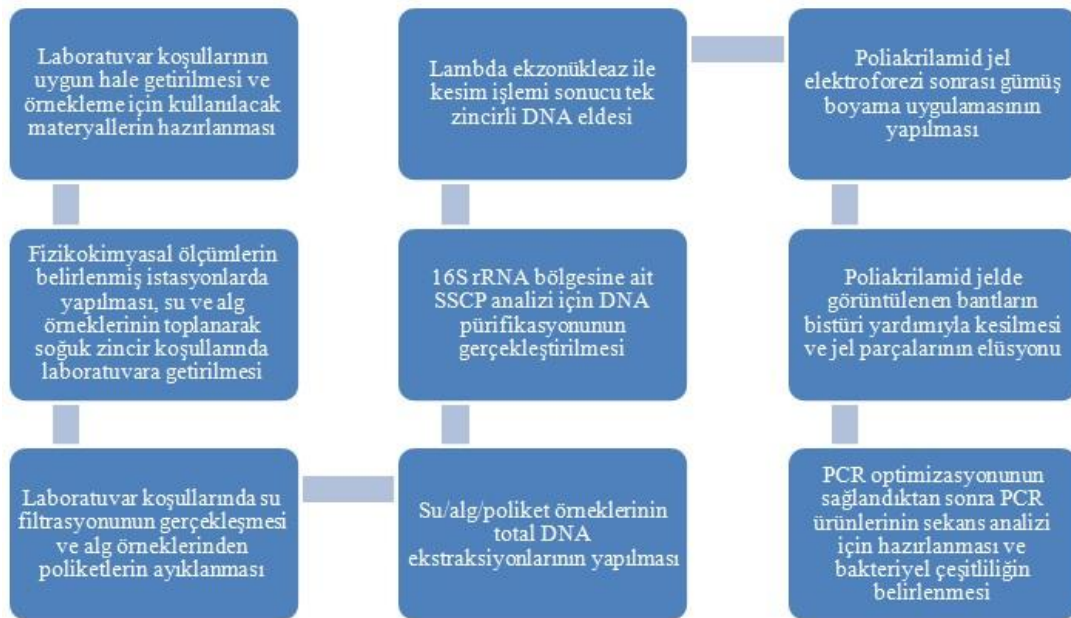
Dale ve arkadaşları (2019) tarafından *Hediste diversicolor*'un ürettiği mukopolisakkaritin mikrobiyal çeşitliliği nasıl etkilediği araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, poliket mukopolisakkariti sedimanın mikrobiyal çeşitliliğini arttırmıştır. *Hediste diversicolor* mukopolisakkaritin nitrifikasyon yapan mikrobiyal grupları uyarak ve besleyerek sediman nitrifikasyon oranlarını arttırdığı görülmektedir.

Markande ve arkadaşları (2014) tarafından kirlilik stresi altındaki Nereididae familyasına ait *Neanthes chilkaensis* (Southern, 1921) türünün bağırsak bakteri topluluğu kültüre bağlı ve bağımsız yaklaşımlar kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca bağırsak bakterilerinin kirleticilerin iyileştirilmesindeki olası rolü de ele alınmıştır. *Neanthes chilkaensis* bağırsak bakteri topluluğunun 16S rRNA geninin V3 bölgeleri çoğaltılarak DNA dizileri analiz edilmiştir. İzolatlar ve klonlar arasında gözlemlenen çeşitlilik; Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria olmak üzere birçok filumu kapsamaktadır.

3. MATERYAL METOT

3.1. Deneysel Tasarım

Laboratuvar koşulları, örnekleme sonrası yapılacak deneyler için uygun hale getirilmiştir. Örnekleme sırasında kullanılan plastik bidonlar, hazırlık aşamasında alkol ile muamele edildikten sonra distile su ile temizlenip kapakları kapatılmıştır. Su örneklerinin konması için 1500 mL’lik plastik şişeler hazırlanmıştır. Ayrıca su örneklerinin fizikokimyasal analizinin yapılması için HACH HQd model portatif çok fonksiyonlu ölçüm cihazı hazır hale getirilmiştir. İlgili prosedür Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1 Tez çalışmasının şematik deneysel tasarımı

3.2. Materyal

3.2.1. Örneklerin toplanması

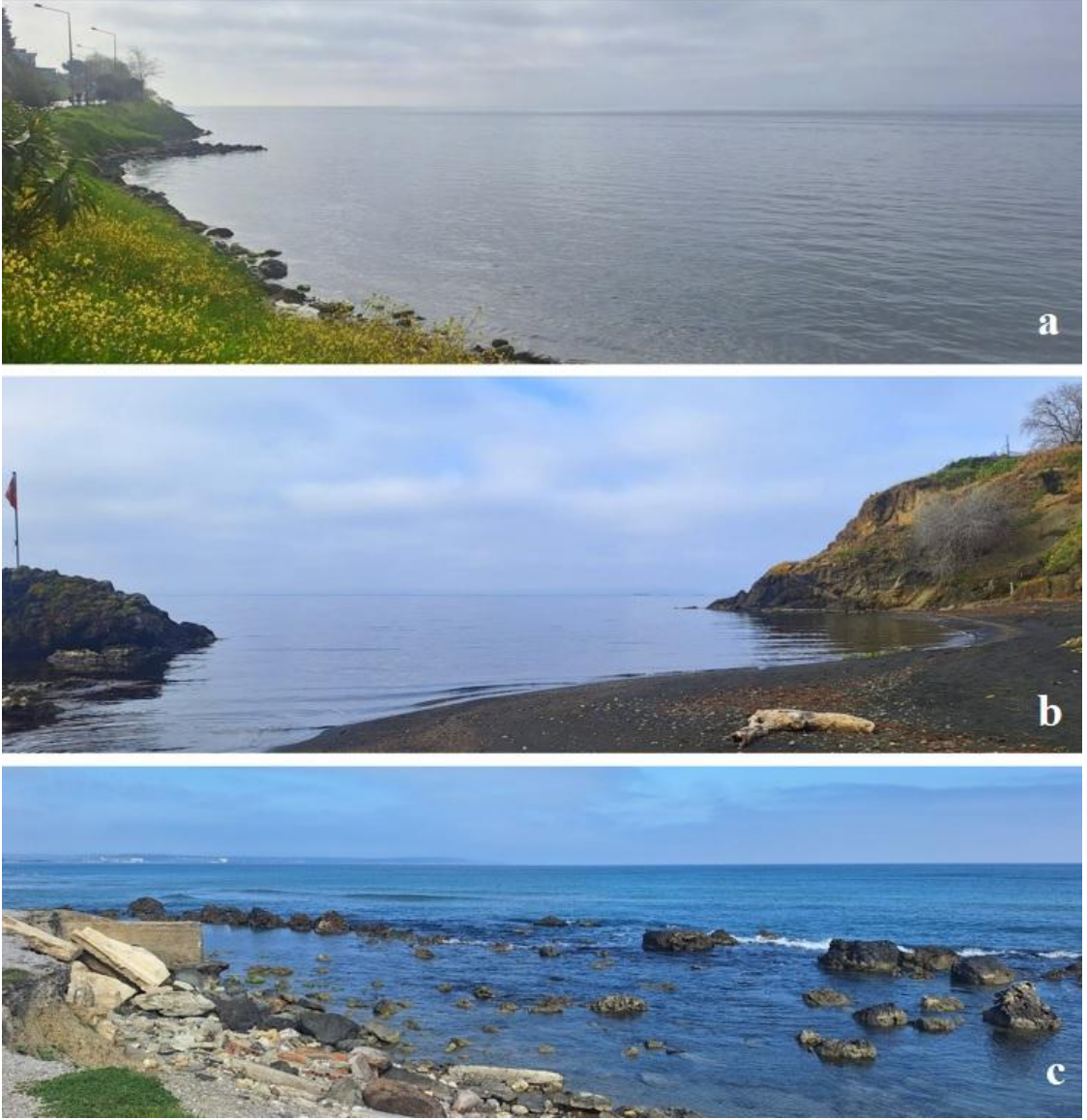
Örnekleme Sinop kıyı şeridi boyunca seçilen Taş Ocağı (A), Karakum (K) ve Stad (S) istasyonlarından yapılmıştır (Şekil 3.2, Şekil 3.3). Bu noktaların her birinden, *Cystoseira sl* ve deniz suyu örnekleri toplanarak soğuk zincir koşullarında 3 saat içerisinde laboratuvara getirilmiştir. İstasyonların koordinatları Tablo 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.2 Araştırma bölgesi (A: Taş ocağı K: Karakum S: Stad) (Google Maps, 2024)

Tablo 3.1 Örnekleme yapılan istasyonların koordinantları (Google Maps, 2024)

İSTASYONLAR	KOORDİNANTLAR
Taş ocağı istasyonu (A)	42°01'07"N 35°09'52"E
Karakum istasyonu (K)	42°00'56"N 35°11'32"E
Stad istasyonu (S)	42°01'23"N 35°06'44"E



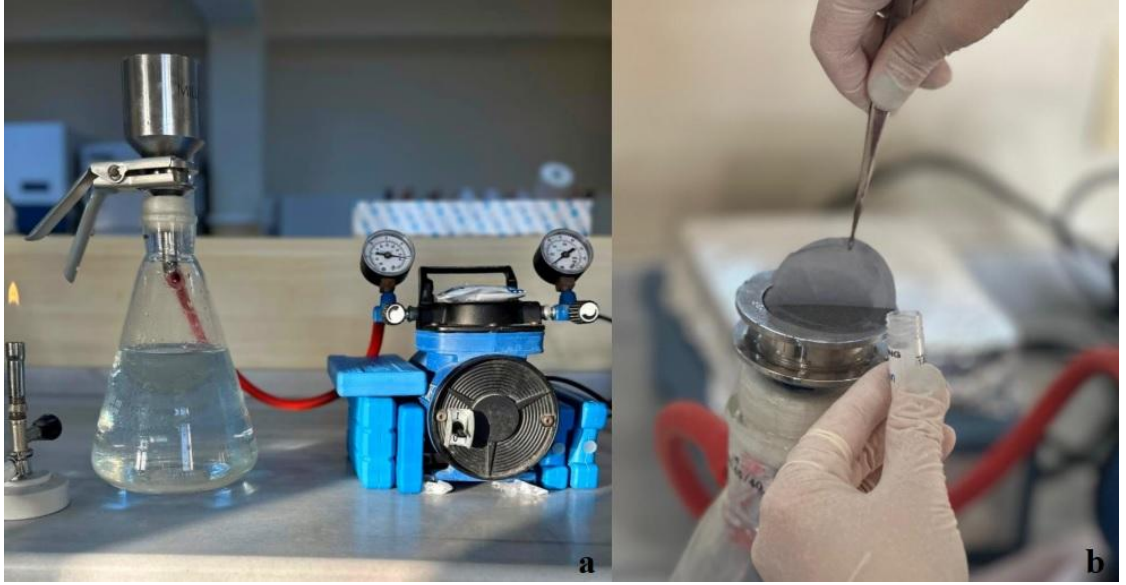
Şekil 3.3 İstasyonların genel görüntüsü (a: Taş ocağı b: Karakum c: Stad)

3.3. Metot

3.3.1. Su örneklerinin filtrasyonu

Her istasyondan 2 adet 1500 mL şişe içerisine alınan deniz suyu örneği 0,2 µm karbon ve 0,2 µm selüloz filtreden geçirilerek filtrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Filtrasyon işlemi için GVS North America-Polycarbonate Track Etched Membrane Filter (Karbon filtre) ve Sartorius-Selüloz Nitrat Membrane Filter (Selüloz filtre) kullanılmıştır (Şekil 3.4).

İşlem tamamlandıktan sonra filtreler pens yardımıyla parçalara ayrılarak DNA ekstraksiyonu için elverişli hale getirilmiştir.



Şekil 3.4 a. Su örneklerinin filtrasyonu b. Su filtrasyonunda karbon filtre kullanımı

3.3.2. DNA ekstraksiyonu/izolasyonu

Filtrasyon işlemi takiben *Cystoseira sl* örnekleri ve örnekler içinde bulunan poliketler aseptik koşullar altında ayıklanmıştır (Şekil 3.5). Nereididae familyasına ait bireyler stereomikroskop ile tayin edildikten sonra %96'lık etanol içeren cam şişelerde -20° 'de total DNA ekstraksiyonu için saklanmıştır.



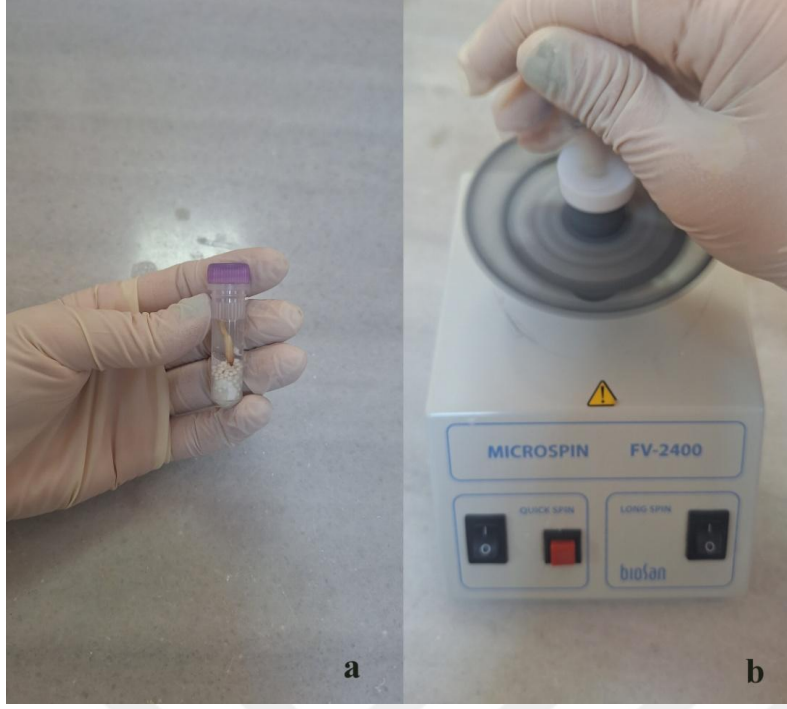
Şekil 3.5 a. İstasyonlardan toplanan *Cystoseira sl* örnekleri b. *Cystoseira sl* örneklerinin ayıklanması c. *Cystoseira sl* fasiyesinden ayıklanan poliket örneği

DNA ekstraksiyonu işleminde alg örnekleri için 0,5 gram kullanılmış olup poliket örnekleri A ve S istasyonu için 3 gruba ayrılmıştır. Bu istasyonlara ait alg fasiyesinden ayıklanan poliketler, A istasyonu için; 1 adet birey, 5 adet birey ve 4 adet birey şeklinde gruplandırılmış olup S istasyonu için; 1 adet birey, 5 adet birey ve 2 adet birey olarak DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. K istasyonu için ayıklanan poliket sayısının az olması sebebiyle; 1 adet birey ve 3 adet birey şeklinde olmak üzere 2 grup

oluşturulmuştur. DNA ekstaksiyonu sürecinde kullanılan tek poliket örnekleri, tüm istasyonlardaki alg örneklerinden ayıklanan en büyük bireydir (Şekil 3.6).

Total DNA izolasyonu, ticari ekstraksiyon kitinin önerdiği protokole uyularak yapılmıştır. DNA ekstraksiyon işlemi için Fast DNA Spin Kit for Soil kullanılmıştır. Yöntem basamakları aşağıdaki şekildedir.

- 1) Lysing Matrix E tüpüne filtre/alg/poliket örneği eklenir.
- 2) 978 µL Sodyum Fosfat çözeltisi, Lysing Matrix E tüpündeki numuneye eklenir.
- 3) 122 µL MT çözeltisi eklenerek kuvvetli bir şekilde çalkalanır, ardından homojenize olacak şekilde vortekslenir.
- 4) 14.000 x g'de 15 dk santrifüj yapılarak kalıntıların çökmesi sağlanır.
- 5) Süpernatant 2 mL'lik temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. 250 µL PPS eklenir ve tüp 10 kez ters düz edilerek çalkalanır. Sonrasında ise 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilir.
- 6) Pelleti çöktürmek için 5 dk 14.000 x g'de santrifüj yapılır. Süpernatant 2 mL'lik temiz bir tüpe yaklaşık 600 µL transfer edilir. Eşit miktarda Binding Matrix eklenir. DNA'nın Matrix'e bağlanmasını sağlamak için el ile nazıkçe çalkalanıp karışması sağlanır ve ters düz edilir.
- 7) Elde edilen solüsyona pipetaj yapıldıktan sonra SPIN™ Filter tüpüne solüsyonun 600 µL'si transfer edilir.
- 8) 14.000 x g'de 5 dk santrifüj edilir ve yakalama tüpü boşaltılıp aynı SPIN™ Filter tüpüne adım 6'da kalan solüsyon karıştırılıp koyulur. 14.000 x g'de 5 dk santrifüj yapıldıktan sonra biriken sıvı dökülür.
- 9) SPIN™ Filter tüpe hazırlanmış SEWS-M solüsyonundan 500 µL eklenir ve tüp hafifçe karıştırılır.
- 10) 14.000 x g'de 5 dk santrifüj edilir, yakalama tüpü boşaltılarak kalan etanolün uzaklaşması için tekrar 5 dk santrifüj edilir.
- 11) Steril 2 mL'lik Catch tüpüne SPIN™ Filter transfer edilir ve filtrenin kuruması için oda sıcaklığında 5 dk bekletilir.
- 12) SPIN™ Filter tüpe 100 µL nuclease free water eklenir, hafifçe parmakla vurularak pellet tekrar çözülür.
- 13) Catch tüp içerisindeki DNA'yı ayrıştırmak için 14.000 x g'de 2 dk santrifüj edilir, SPIN™ Filter çıkartılır. DNA kontrolü %1,8'lik agaroz jelde yapıldıktan DNA örnekleri sonraki işlemler için -20°C'de saklanır.



Şekil 3.6 a. DNA izolasyon protokolüne başlamadan önce poliket örneği b. DNA izolasyon adımlarında vorteksleme işlemi

3.3.3. PCR ile amplifikasyonu yapılan 16S rRNA bölgelerinin SSCP analizi

İzole edilen DNA örnekleri, 16S rRNA geninin bir bölgesini amplifiye eden Com1 ve Com2-ph primerleriyle PCR'da çoğaltılmış ve SSCP analizi (Lee vd. 1996; Schwienger ve Tebbe 2000; Schmalenberger ve Tebbe 2003; Smalla vd. 2007; Avşar, 2018) uygulanmıştır. Kullanılan reaksiyon bileşenlerinin konsantrasyonları Tablo 3.2’de, primer baz dizileri Tablo 3.3’te ve PCR protokolü Tablo 3.4’te verilmiştir.

Tablo 3.2 Modifiye primer ile yapılan PCR bileşenlerinin konsantrasyonları

Reaksiyon bileşimi	
DNA (10 ng μL^{-1})	1 μL
Buffer	6 μL
MgCl ₂ (25 mM)	2 μL
dNTPs (0.2 mM)	1 μL
Forward primer (10 μM)	0,2 μL
Reverse primer (10 μM)	0,2 μL
Taq DNA Polimeraz (5U/ μL)	0,4 μL
dH ₂ O	39 μL

Tablo 3.3 Primer baz dizileri

Baz dizisi 5'→3'	
Com1	5'CAGCAGCCGCGGTAATAC3' (16S rRNA gen bölgesi 519 ve 536 pozisyonunda)
Com2	CCGTCAATTCCTTTGAGTTT (16S rRNA gen bölgesi 907 ve 926 pozisyonunda)
Com2-ph	ph-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT

Tablo 3.4 Modifiye primer ile yapılan PCR protokolü

PCR sıcaklık profilleri	Döngü sayısı
94°C - 3 dk	1
94°C - 15 s 58°C - 30 s 72°C - 1 dk	30
72°C - 4 dk	1

3.3.3.1. DNA pürifikasyonu

İzole edilen DNA örneklerine 3 tekrarlı PCR işlemi uygulanmış olup tek bir tüpte toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Pürifikasyon için EasyPure PCR Purification Kit kullanılmıştır.

Yöntem basamakları aşağıdaki şekildedir.

- 1) 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpleri kullanılarak 1 volüm PCR ürününe (50 µL) 5 volüm Binding Buffer (250 µL) ekledikten sonra vortekslenir.
- 2) Tüm karışım, kit ile verilen içinde toplama tüpü bulunan kolonlara aktarılır.
- 3) 10.000 x g'de 1 dk santrifüj edilerek kolonun altına süzülen kısım uzaklaştırılır.
- 4) 650 µL Wash Buffer eklendikten sonra 10.000 x g'de 1 dk santrifüj edilir. Kolonun altına süzülen kısım uzaklaştırılır.
- 5) Wash Buffer solüsyonunu uzaklaştırmak için boş kolon 10.000 x g'de 2 dk santrifüj edilir.
- 6) Kolonlar temiz mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildikten sonra 40 µL Elution Buffer, kolonun merkezine doğru eklenir ve 1 dk oda sıcaklığında inkübe edilir. Sonrasında ise 10.000 x g'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Örnekler sonraki işlemler için -20°C'de saklanır.

Pürifikasyon işlemini takiben örnekler; %2'lik agaroz jelde, 80 V, 150 mA, 150 W, 45 dk yürütülmüş ve UV ışık altında görüntülenmiştir.

Pürifiye DNA'yı içeren tüplere Tablo 3.5'de belirtilen şekilde eklemeler yapıldıktan sonra, tüpler vortekslenerek parçalama işleminin gerçekleştirilmesi için 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Pürifiye edilmiş DNA'nın 5' ucundan fosforile edilmiş zincire lambda ekzonükleaz (Thermo Fisher Scientific, California) bağlandıktan sonra 5'→3' yönünde kesim işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyondan sonra önceden hazırlanmış olan 5 µL 3M Sodyum asetat (pH: 5,2) reaksiyonu durdurmak için eklenmiştir. Tek zincirli DNA, EasyPure PCR Purification Kit kullanılarak saflaştırılmıştır.

Tablo 3.5 Pürifiye edilmiş DNA örneklerinin lambda ekzonükleaz ile kesimi

Lambda ekzonükleaz ile kesim işlemi	
Pürifiye DNA	35 µL
Lambda ekzonükleaz	2,20 µL
Buffer	6,56 µL

Saflaştırılan tek zincirli DNA örneğinden 10 µl alınarak, 4 µl yükleme çözeltisi (Tablo 3.6) eklenmiş ve karışım 95°C'de 2 dk boyunca denatüre edilmiştir. Ardından örnekler hızla buz üzerinde soğutulmuş ve jel elektroforezine 5 µl yüklenmiştir.

Tablo 3.6 Yükleme çözeltisi bileşenleri

Yükleme çözeltisi
%95 formamide
10 mM NaOH
% 0,025 bromophenol blue
% 0,025 xylene cyanole

Elektroforez için 2x MDE (Mutation Detection Enhancement) stok solusyonundan 1x TBE'de 0,6 kata kadar seyreltilerek kullanılmıştır (Tablo 3.7). Elektroforez koşullarının 5 mA ve 200 V'da 20°C olması sağlandıktan sonra gümüş boyama yöntemi uygulanmıştır (Tablo 3.8) (Byun vd., 2009). Elektroforez süresi 36 saat olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7).

Tablo 3.7 MDE jel bileşenlerinin konsantrasyonları

MDE jel bileşimi	
MDE	12 mL
10X TBE	2,5 mL
Gliserol	5 mL
APS	200 µL
TEMED	80 µL
dH ₂ O	30,5 mL



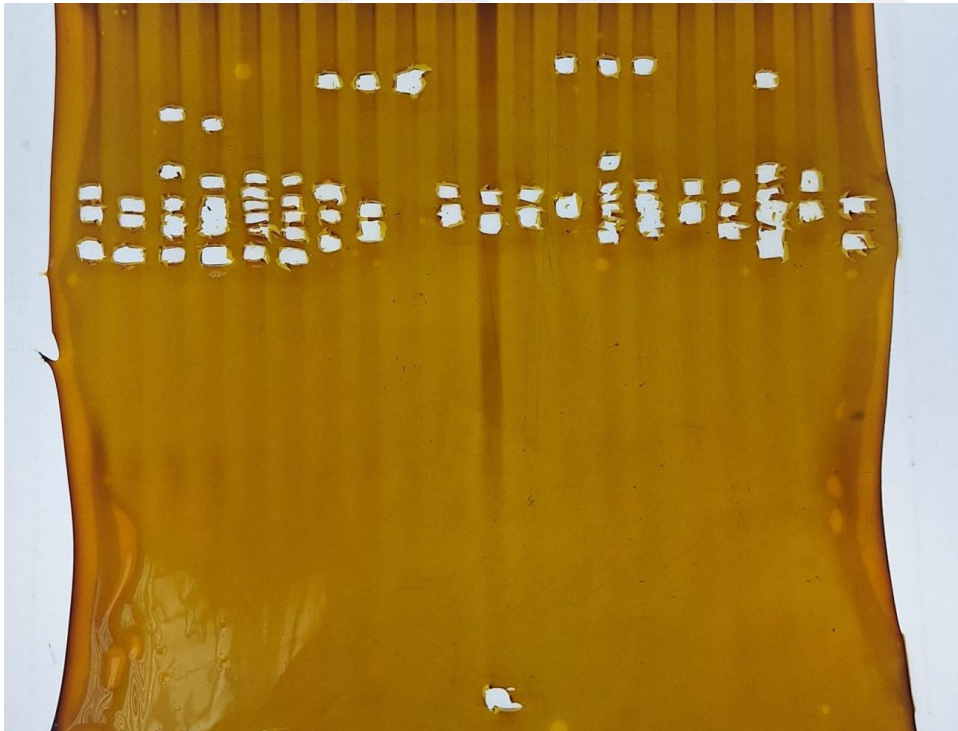
Şekil 3.7 Poliakrilamid jelde DNA örneklerinin yürütülmesi

Tablo 3.8 Gümüş boyama uygulama basamakları

Gümüş boyama uygulama basamakları		
1	% 10 Etanol, % 0,5 Asetik asit, % 0,2 AgNO ₃	20 dk boyunca ışık almayan bir ortamda çalkalanır.
2	dH ₂ O	30-40 s boyunca yıkama işlemi uygulanır.
3	% 3 NaOH, % 0,1 HCOH (Formaldehit)	10-15 dk boyunca yaklaşık 55°C'de muamele edilir.
4	% 10 Etanol, % 0,5 Asetik asit	1 dk bekleme işlemi uygulanır.

3.3.3.2 Poliakrilamid jelden DNA eldesi ve seçilen bantların sekans analizi

Gümüş boyama işlemi uygulandıktan sonra jel görüntüsü fotoğraflanmış ve jel üzerindeki bantların bistüri ile kesimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Poliakrilamid jelde bistüri ile kesilen bantlar

Jel parçalarından DNA eldesi için 100 µL elüsyon sıvısı içeren tüplere jel parçaları aktarılmıştır (Tablo 3.9).

Tablo 3.9 Elüsyon sıvısının bileşenlerinin konsantrasyonları

Elüsyon sıvısının bileşimi	
0,5 M amonyum asetat	
10 mM Mg ²⁺ -asetat	
1 mM EDTA (pH 8,0)	
% 0,1 SDS	

Tüpler 37°C'de 3 saat inkübasyona bırakılmış ve ardından oda sıcaklığında 12.000 x g kuvvetinde 1 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatantın 80 µL'si alınarak bir mikro test tüpüne transfer edilmiş ve üzerine çöktürme amacıyla 2 hacim soğuk %96'lık etanol eklenmiştir. 12.000 x g'de 7 dakikalık santrifüj işleminin ardından, DNA 30 dk boyunca 30°C'de kurutulup Tris-HCl (10 mM, pH 8,0)'de çözölmüştür.

PCR işlemi için hedef DNA olarak bu solüsyondan 0,2 µl kullanılmıştır. PCR optimizasyonunun sağlanabilmesi için farklı DNA miktarlarında PCR denenmiş olup uygun miktar 0,2 µl olarak belirlenmiştir. Ayrıca PCR sürecinde annealing (bağlanma) sıcaklığını belirlemek için sıcaklık gradienti uygulanmış ve uygun sıcaklık 58°C olarak saptanmıştır. PCR reaksiyon bileşenleri ve miktarları Tablo 3.10'da verilmiştir. PCR protokolü Tablo 3.11'de görölmektedir.

Tablo 3.10 PCR bileşenleri

Reaksiyon bileşimi	
DNA (10 ng µl ⁻¹)	0,2 µL
Buffer	7 µL
MgCl ₂ (25 mM)	4 µL
dNTPs (0,2 mM)	1 µL
10 µM Forward primer	0,2 µL
10 µM Reverse primer	0,2 µL
T432protein (600 ng µl ⁻¹)	0,2 µL
Taq DNA Polimeraz (5U/µl)	0,75 µL
dH ₂ O	35,5 µL

Tablo 3.11 PCR protokolü

PCR sıcaklık profilleri	Döngü sayısı
94°C - 3 dk	1
94°C - 1 dk 58°C - 1 dk 72°C - 1,5 dk	30
72°C - 5 dk	1

PCR optimizasyonu sağlandıktan örnekler agaroz jelde yürütülmüş ve tüm örnekler için bant görüntüsü elde edilmiştir. Son aşamada PCR ürünleri hazırlanarak ilgili firmaya sekans analizi için gönderilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Deniz Suyu Örneklerinin Fizikokimyasal Analizine İlişkin Bulgular

Üç istasyonun, HACH HQd model portatif çok fonksiyonlu ölçüm cihazı ile üçlü tekrar halinde ölçümleri yapılmış olup Tablo 4.1’de ortalama değerler, standart sapma ile birlikte sunulmuştur.

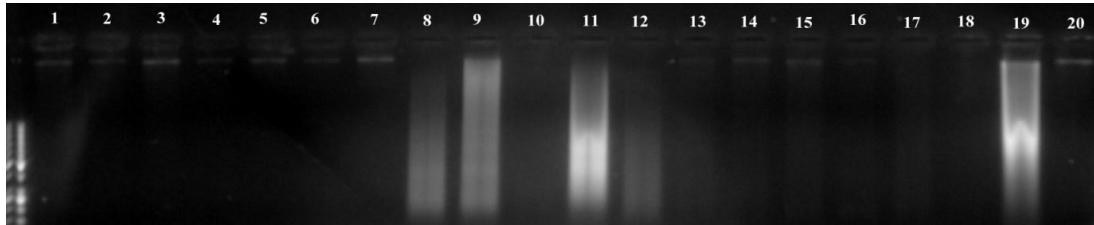
Tablo 4.1 Örnekleme yapılan istasyonlara ait fizikokimyasal veriler

İstasyon	Sıcaklık (°C)	pH	Çözülmüş Oksijen (mg/L)	ORP (mV)	İletkenlik (mS/cm)
Taş ocağı	19,53 ± 0,15	8,577 ± 0,006	11,60 ± 0,15	26,33 ± 0,35	29,4 ± 0,26
Karakum	19,60 ± 0,10	8,513 ± 0,006	9,48 ± 0,02	29,87 ± 0,21	28,5 ± 0,35
Stad	22,70 ± 0,44	8,667 ± 0,015	10,60 ± 0,13	18,6 ± 2,5	28,6 ± 0,1

“±” standart sapma

4.2. 16S rRNA Dizi Analiz Sonuçları ve Filogenetik Dağılımları

Total DNA izolasyonu, Fast DNA Spin Kit for Soil kullanılarak gerçekleştirilmiş olup örnekler 1,8’lik agaroz jelde yürütülmüştür. Şekil 4.1’de jel üzerindeki bantların görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.1 20 adet örneğe ait DNA izolasyonu sonrası agaroz jel görüntüsü

Tablo 4.2 DNA izolasyonu sonrası agaroz jelde yürütülmüş örneklerin numaralandırılması

1	A-SELÜLOZ
2	A-KARBON
3	K-SELÜLOZ
4	K-KARBON
5	S-SELÜLOZ
6	S-KARBON
7	A-TEK POLİKET
8	A1-POLİKET
10	S-TEK POLİKET

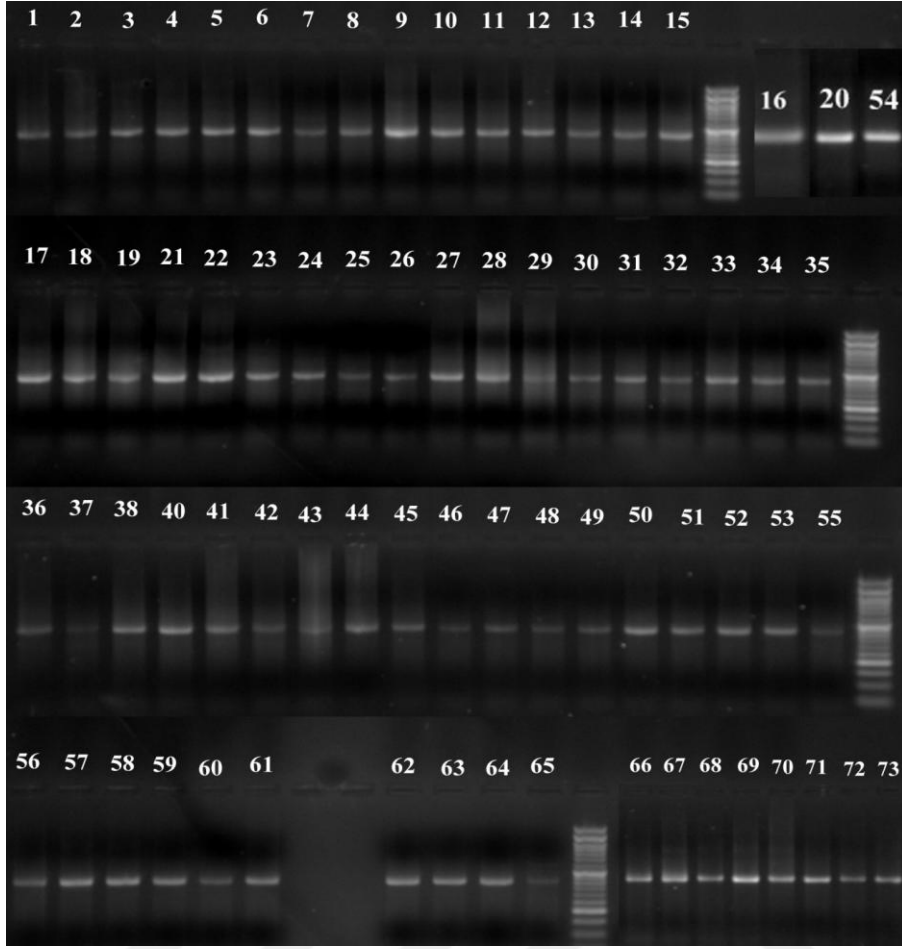
Tablo 4.2'nin devamı

11	S1-POLİKET
12	S2-POLİKET
13	A-ALG
14	A-ALG
15	K-ALG
16	K-ALG
17	S-ALG
18	S-ALG
19	K-TEK POLİKET
20	K-DİĞER POLİKET

Agaroz jel elektroforezinde bazı örneklere ait bant görüntüsü elde edilememesine rağmen sonraki aşamalarda yapılan PCR uygulamaları sonucunda bu örneklerde DNA varlığı tespit edilmiştir. Bu örneklerin içerdiği DNA miktarı az olduğu için jel elektroforezinde görüntü elde edilememiştir.

Total DNA izolasyonundan sonra her bir DNA örneği için üç tekrarlı PCR gerçekleştirilmiş olup tüpler birleştirilerek metot bölümünün 3.3.3.1 alt başlığında anlatıldığı gibi pürifikasyon işlemi uygulanmıştır. Lambda ekzonükleaz enzimi ile kesim aşamasının ardından tekrar pürifikasyon yapılmıştır.

Metot 3.3.3.2'de belirtildiği şekilde pürifikasyon sonrası elde edilen örnekler poliakrilamid jelde yürütülmüştür. Görüntülenen bantlar bistüri ile kesilmiş ve PCR işlemi uygulanmıştır. PCR optimizasyonun sağlanabilmesi için DNA örneklerinin ve diğer PCR bileşenlerinin farklı konsantrasyonları denenmiş olup annealing için sıcaklık gradienti uygulanmıştır. PCR optimizasyonu sağlandıktan sonra reaksiyon sonucu elde edilen bant görüntüsü Şekil 4.2'de verilmiştir. Tüm örnekler için bant görüntüsü elde edilmiş ve sekans analizi için örnekler ilgili firmaya gönderilmiştir.

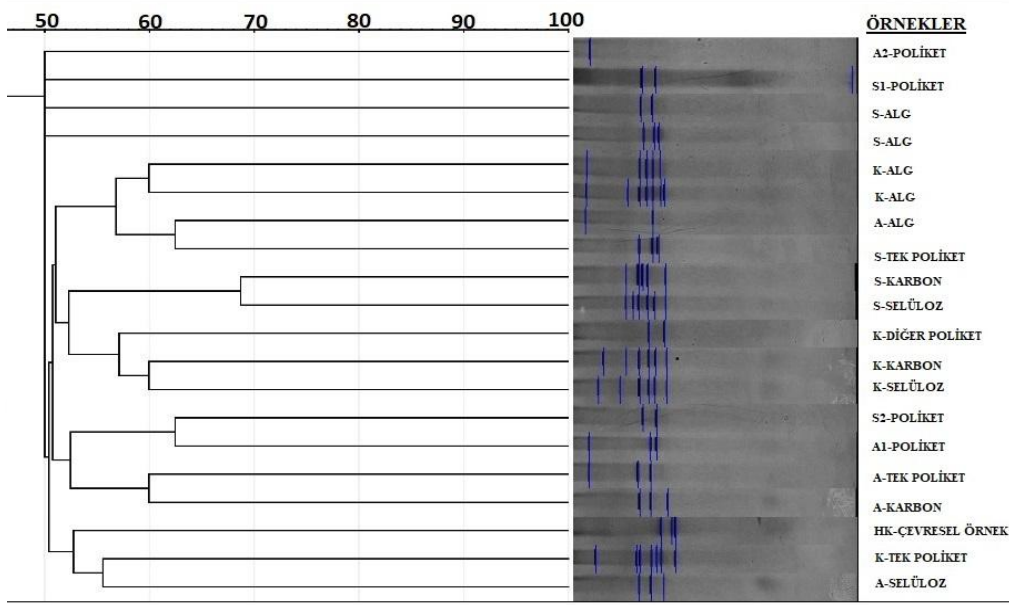


Şekil 4.2 Sekans analizi için gönderilecek örneklerin, PCR aşaması sonrası agaroz jel görüntüsü

Tablo 4.3 Bant profillerine ait numara, istasyon ve DNA kaynak bilgileri

Örnek no	İstasyon	DNA kaynağı
BH1, BH2, BH3	Taş ocağı (A)	Su örneği (Selüloz filtre)
BH4, BH5, BH6	Taş ocağı (A)	Su örneği (Karbon filtre)
BH7, BH8, BH9, BH10, BH11, BH12	Karakum (K)	Su örneği (Selüloz filtre)
BH13, BH14, BH15, BH16, BH17, BH18	Karakum (K)	Su örneği (Karbon filtre)
BH19, BH20, BH21, BH22, BH23, BH24	Stad (S)	Su örneği (Selüloz filtre)
BH25, BH26, BH27, BH28, BH29	Stad (S)	Su örneği (Karbon filtre)
BH30, BH31, BH32, BH33, BH34, BH35, BH36, BH37	Taş ocağı (A)	Poliket
BH38, BH40, BH41, BH42, BH43, BH44, BH45	Stad (S)	Poliket
BH46, BH47	Taş ocağı (A)	Alg
BH48, BH49, BH50, BH51, BH52, BH53, BH54, BH55, BH56, BH57, BH58, BH59	Karakum (K)	Alg
BH60, BH61, BH62, BH63, BH64	Stad (S)	Alg
BH65, BH66, BH67, BH68, BH69, BH70, BH71, BH72, BH73	Karakum (K)	Poliket

Örneklerin kendi aralarında kommunité yapısını ortaya koymak için SSCP bant profillerinin UPGMA dendrogram analizi GelJ programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.4 Bakteriyel kommunitelerin SSCP profillerinin UPGMA dendrogram analizleri (UPGMA dendrogram analizi GelJ programı kullanılarak oluşturulmuştur.)

Şekil 4.4'te yer alan Jakarta Smilarity indeksine göre hazırlanan UPGMA dendrogram analizine göre; S istasyonuna ait selüloz ve karbon filtrelerdeki bakteriyel kommunitelerin diğer iki istasyondaki filtre örneklerine kıyasla yüksek benzerlik gösterdiği görülmüştür. Dendrogramdaki dallanma yapısına göre yaklaşık %70 oranında benzerlik saptanmıştır. K istasyonuna ait filtre örnekleri incelendiğinde bakteriyel kommunité benzerliğinin %60 oranında olduğu görülmüştür. En düşük benzerlik A istasyonundaki selüloz ve karbon filtreler arasındadır. Genel olarak dendrogramdaki veriler ve SSCP bant profilleri değerlendirildiğinde; su filtrasyonu için selüloz ya da karbon filtre kullanımının DNA ekstraksiyonunda belirgin bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir. Şekil 4.3.b'de, SSCP profillerinde gözlenen filtrelere ait bant sayısının S istasyonu dışında aynı olduğu görülmüştür. Karbon filtre, selüloz filtreye göre daha yüksek maliyete sahip olmasına rağmen filtrasyon performansı açısından ikisi arasında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Benzer sonuçlara daha uygun maliyetle ulaşılabilmesi bakımından selüloz filtre kullanımı daha avantajlı olabilir.

Farklı istasyonlar için total DNA ekstraksiyonu aşamasında; K ve S bölgelerine ait alg örneklerinden iki tekrarlı, A bölgesi için sadece bir adet ekstraksiyon elde edilmiştir. Bu

örnekler ile oluşturulan dendrogram analizi sonucuna göre; S bölgesindeki iki örnek için bakteriyel komünitelerin %50, K bölgesindekiler için ise %60 oranında benzerlik saptanmıştır. K ve A bölgelerine ait alg örneklerinin bakteriyel komünite yapısı arasındaki benzerlik, her iki istasyonun S bölgesine olan benzerliğinden yüksek olup yaklaşık %55-60 oranlarındadır.

İstasyonlardaki poliket örnekleri için filogenetik dallanmalar incelendiğinde, aynı istasyonun farklı bireyleri arasında çeşitlilik görülmektedir. S istasyonundan toplanan Nereididae familyasına ait bireylerin farklı türler olabilme ihtimali çeşitliliğin açıklanmasına olanak tanıyabilir.

SSCP bant profillerinin UPGMA dendrogram analizine göre, aynı istasyona ait örnekler arası ilişki incelendiğinde konak-konakçı (alg ve poliket) arası etkileşim açısından mikrobiyal komünite yapısında anlamlı bir benzerlik olmadığı görülmektedir.

Şekil 4.3.b’de verildiği gibi SSCP analizi sonucu poliakrilamid jelde 73 bant elde edilmiştir. SSCP analizi, farklı konformasyona sahip her bant profiliyle farklı bir tür ve/veya suşu ifade etmekte olup yoğun olarak görüntülenen koyu renkli bantlar çok sayıda bant içerebilir. Bu bantların ayırt edilmesi ve bistiği yardımıyla birbirinden ayrılarak kesilmesi SSCP analizinin zorluklarından biridir. Bu sebeple elde bazı bantların birden fazla bakteri türünü ve/veya suşu kapsamı olasıdır. Koyu renk görünen bantlar, bakteriyel komünitedeki dominant türleri ya da yüksek bolluktaki bakteri türlerini ifade edebilir. Bunun yanı sıra, jelde aynı konumda gözlenen farklı bantlar farklı bakteri türlerini temsil edebilir. Bant profillerinin filogenetik analizinde, dendrogramların moleküler tanımlama sonuçlarıyla desteklenmesi istasyonlar ve farklı örnek tipleri için bakteriyel komüniteler arasındaki yakınlık ilişkilerinin daha doğru yorumlanmasını sağlamaktadır.

Sekans analizi sonucunda ilgili firma tarafından DNA örneklerine ait kromatogram ve baz dizileri gönderilmiş olup NCBI BLAST programı aracılığıyla GenBank’ta tarama işlemleri gerçekleştirilmiştir. 53 adet örnek için erişim numarası GenBank tarafından verilmiş olup Ekler bölümünde örneklerle ait baz dizileri yer almaktadır. GenBank taraması sonucunda ulaşılan benzerlik oranları, örneklerin yakınlık gösterdiği türler, ait oldukları filum ve GenBank erişim numaraları Tablo 4.4’te verilmiştir. Tablo 4.4’te bazı örnekler için taksonomik kategori olarak sınıf bilgisi de yer almaktadır. Diğer 8 adet örneğin, 150 bazdan kısa diziler içerdiği için GenBank erişim numarası bulunmamaktadır. Bu örnekler için GenBank taraması sonucunda ulaşılan benzerlik

oranları, örneklerin yakınlık gösterdiği türler, ait oldukları filum Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.4 SSCP bantlarının, NCBI GenBank veritabanında BLAST taraması ile tespiti
(150 baz dizisinden uzun olan bantların tespiti)

DNA örneği	GenBank erişim numarası	Yakınlık gösteren türler	Sorgu raporu (%)	Benzerlik (%)	Baz dizisi uzunluğu	Filum-Class
BH-7	PV739281	Uncultured bacterium clone	%98	%90.42	163	Firmicutes Clostridia
BH-9	PV653104	Uncultured bacterium clone	%93	%93.57	151	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-11	PV653106	<i>Prochlorococcus</i> sp.	%91	%89.86	151	Cyanobacteria Cyanophyceae
BH-12	PV653108	Uncultured bacterium clone	%99	%94.00	152	Cyanobacteria Cyanophyceae
BH-13	PV739292	Uncultured bacterium clone	%95	%90.24	167	Firmicutes Bacilli
BH-14	PV739299	Uncultured bacterium clone	%96	%91.36	165	Firmicutes
BH-15	PV653138	Uncultured bacterium clone	%99	%94.01	169	Proteobacteria Betaproteobacteria
BH-16	PV653175	Uncultured marine bacterium clone	%100	%96.71	153	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-17	PV653184	Uncultured bacterium clone	%100	%97.35	152	Cyanobacteria Cyanophyceae
BH-19	PV739298	<i>Polaribacter</i> sp.	%93	%92.26	165	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-20	PV653189	<i>Formosa</i> sp.	%99	%95.33	152	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-22	PV739301	<i>Candidatus Minimicrobia naudis</i>	%97	%92.31	172	Candidatus Saccharibacteria
BH-23	PV739308	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	%96	%91.06	180	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-24	PV739307	Uncultured bacterium clone	%99	%91.53	187	Firmicutes
BH-25	PV653190	Uncultured bacterium clone	%100	%94.19	156	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-27	PV739309	Uncultured bacterium clone	%98	%91.52	169	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-30	PV739314	Uncultured bacterium clone	%100	%93.04	158	Bacterioidetes
BH-31	PV653191	<i>Mariniflexile aquimaris</i>	%100	%99.50	201	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-32	PV739315	<i>Pseudobutyrvibrio</i> sp.	%95	%93.41	176	Firmicutes Clostridia
BH-33	PV653193	Uncultured bacterium clone	%100	%96.28	189	Proteobacteria Gammaproteobacteria
BH-34	PV739316	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	%98	%92.26	170	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-35	PV739317	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	%93	%93.05	197	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-37	PV653195	<i>Arenibacter echinorum</i>	%97	%93.88	151	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-38	PV653205	<i>Bacillus velezensis</i>	%98	%99.68	323	Firmicutes - Bacilli
BH-40	PV653206	<i>Bacillus subtilis</i>	%99	%100	342	Firmicutes - Bacilli
BH-41	PV653207	Marine bacterium clone	%100	%94.34	160	Proteobacteria - Gammaproteobacteria
BH-42	V739350	Uncultured bacterium clone	%95	%92.05	183	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-43	PV653208	Uncultured bacterium clone	%99	%98.86	268	Proteobacteria
BH-45	PV653210	Uncultured bacterium clone	%100	%94.67	151	Proteobacteria
BH-46	PV653211	Uncultured bacterium clone	%99	%94.12	155	Bacterioidetes
BH-47	PV653213	Uncultured bacterium clone	%100	%96	151	Firmicutes Clostridia
BH-48	PV739351	Uncultured bacterium clone	%96	%91.30	166	Firmicutes Clostridia

Tablo 4.4'ün devamı

DNA örneği	GenBank erişim numarası	Yakınlık gösteren türler	Sorgu raporu (%)	Benzerlik (%)	Baz dizisi uzunluğu	Filum-Class
BH-49	PV653218	<i>Wolbachia</i> sp.	%100	%91	209	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-50	PV653219	<i>Zhouia amylytica</i>	%94	%96.50	153	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-51	PV653221	Uncultured bacterium clone	%100	%93.33	151	Proteobacteria Gammaproteobacteria
BH-52	PV653222	<i>Cellvibrio</i> sp.	%98	%95.92	151	Proteobacteria Gammaproteobacteria
BH-53	PV739352	Uncultured bacterium clone	%100	%92.35	168	Firmicutes - Bacilli
BH-54	PV653227	<i>Salipaludibacillus neizhouensis</i>	%100	%96.79	156	Firmicutes - Bacilli
BH-55	PV653229	Uncultured bacterium clone	%100	%93.51	155	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-56	PV653234	<i>Imtechella halotolerans</i>	%99	%95.97	152	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-57	PV653235	Uncultured bacterium clone	%97	%95.21	151	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-58	PV653236	Uncultured bacterium clone	%96	%94.70	158	Bacterioidetes
BH-59	PV739353	Uncultured bacterium clone	%97	%92.77	167	Bacterioidetes
BH-60	PV653237	MAG: Hypomicrobiaceae bacterium	%100	%95.41	197	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-61	PV653244	Uncultured bacterium clone	%98	%97.42	198	Proteobacteria Alphaproteobacteria
BH-62	PV653243	<i>Bacillus cereus</i>	%99	%100	270	Firmicutes - Bacilli
BH-63	PV653245	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	%98	%100	302	Firmicutes - Bacilli
BH-64	PV653246	<i>Bacillus stercoris</i>	%100	%99.58	238	Firmicutes - Bacilli
BH-66	PV653248	Uncultured bacterium clone	%100	%98.36	245	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-67	PV653249	Uncultured bacterium clone	%99	%98.98	297	Bacterioidetes Flavobacteriia
BH-68	PV653250	<i>Dethiosulfatibacter</i> sp.	%98	%95.95	151	Synergistota
BH-70	PV653251	<i>Inhella</i> sp.	%99	%94.59	151	Proteobacteria
BH-71	PV653252	<i>Rhizobium sophoriradicis</i>	%99	%96.65	331	Proteobacteria Alphaproteobacteria

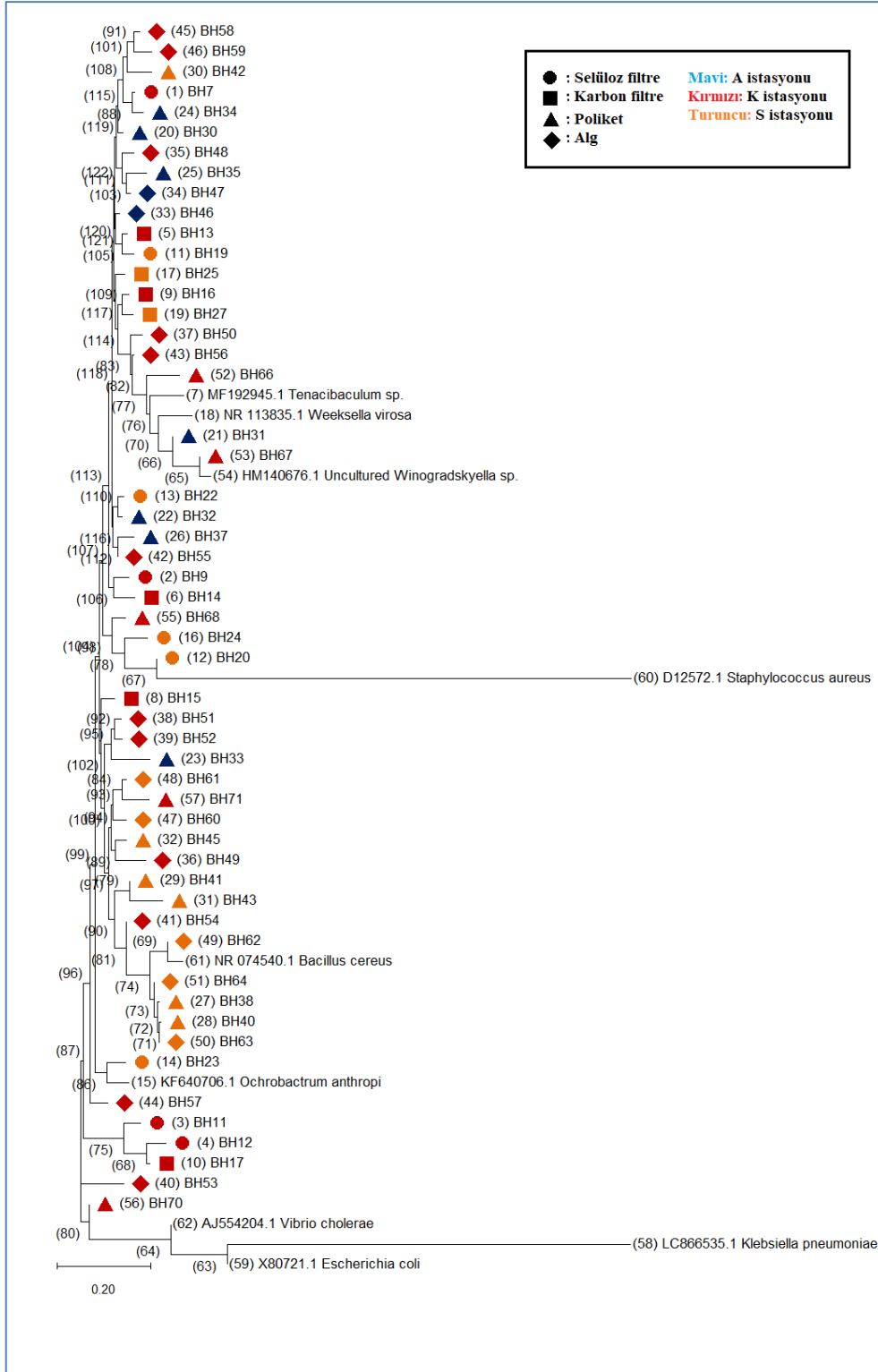
Tablo 4.5 SSCP bantlarının, NCBI GenBank veritabanında BLAST taraması ile tespiti (150 baz dizisinden kısa olan bantların tespiti)

DNA örneği	Yakınlık gösteren türler	Sorgu raporu (%)	Benzerlik (%)	Baz dizisi uzunluğu	Filum
BH-1	Uncultured bacterium clone	%100	%98	51	Bacterioidetes
BH-2	Uncultured bacterium clone	%100	%100	78	-
BH-4	Uncultured bacterium clone	%100	%100	42	Actinobacteria
BH-8	Uncultured bacterium clone	%92	%98.36	67	-
BH-10	<i>Delftia acidovorans</i>	%100	%100	41	Proteobacteria
BH-36	<i>Polaromonas</i> sp.	%100	%100	48	Proteobacteria
BH-44	Uncultured bacterium clone	%99	%100	79	Proteobacteria
BH-69	Uncultured bacterium clone	%100	%100	63	Proteobacteria

1 ve 2 numaralı örnekler Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te verildiği üzere A istasyonuna aittir. Agaroz jel elektroforezinde bu örneklerle ait bant profilleri net bir şekilde görüldüğü için inhibitörlerin az olduğu düşünüldü. Fakat SSCP uygulaması ve sekans analizi sonucunda, BLAST algoritmasının alt sınır olarak belirlediği 150 bazdan kısa diziler elde edilmiştir. PCR inhibitörlerinin varlığına bağlı olduğu düşünülerek bu örneklerde

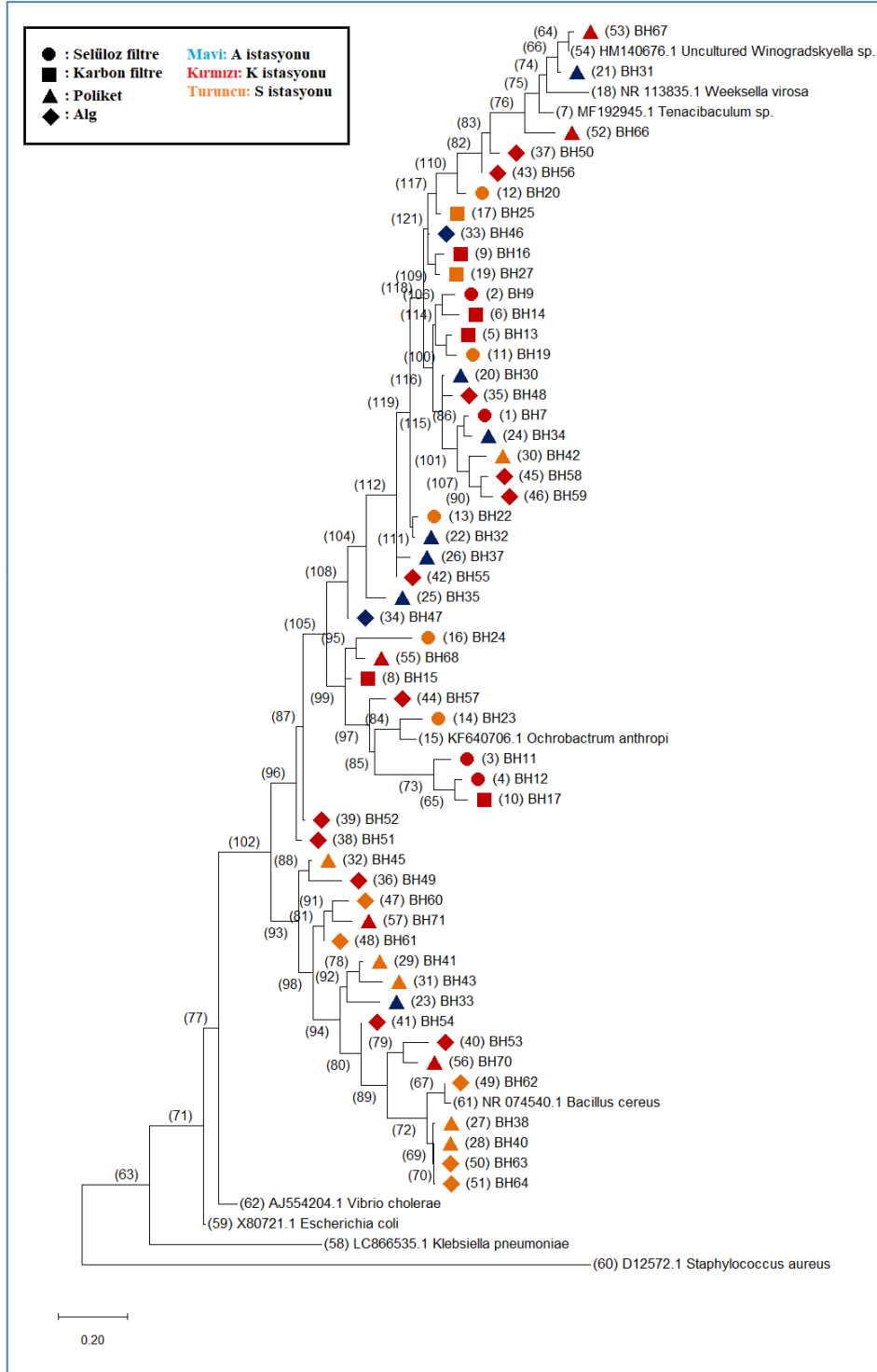
hedeflenen baz dizisi uzunluğuna ulaşamamıştır. 16S rRNA gen bölgesinin sekanslanması amacıyla Şekil 4.1’de yer alan 13 numaralı örnek için DNA elde edilememiştir. Sekans analizine gönderilen 12 bant profili için sonuç alınamamıştır.

BLAST taraması sonucunda kültüre alınmamış bakteri klonlarının (uncultured bacterium clone) dominant olduğu görülmektedir. BH-16 örneğinde olduğu gibi kültüre alınmamış denizel bakteri klonlarının (uncultured marine bacterium clone) varlığına rastlanmıştır. A istasyonu için kullanılan karbon ve selüloz filtrelerden elde edilen bantların tamamının, kültüre alınmamış bakteri klonlarının olduğu tespit edilmiştir. A istasyonu için 150 bazdan daha uzun diziler elde edilememiştir. K ve S istasyonlarının filtre örneklerinden elde edilen bantlar arasında 150 bazdan uzun diziler bulunmaktadır. Bu durum diğer istasyonlara kıyasla, A istasyonuna ait su örneklerinin yüksek inhibitör konsantrasyonu içermesiyle açıklanabilir. Moleküler tanımlamalara dair Tablo 4.4 ve Tablo 4.5’te yer alan veriler incelendiğinde, karbon filtrenin selüloz filtreye kıyasla çok sayıda tür tespitine olanak tanınması bakımından herhangi bir avantajı saptanamamıştır.



Şekil 4.5 Neighbor-Joining metodu (16S rRNA gen bölgesine ait oluşturulan moleküler filogenetik ağaçlar)

Evolutionary relationships of 62 taxa. The evolutionary history was inferred using the Neighbor-Joining method (Saitou ve Nei, 1987). The optimal tree with the sum of branch length = 4.335 is shown. The tree is drawn to scale, with branch lengths in the same units as those of the evolutionary distances used to infer the phylogenetic tree. The evolutionary distances were computed using the Maximum Composite Likelihood method (Tamura vd., 2004) and are in the units of the number of base substitutions per site. The analytical procedure encompassed 62 nucleotide sequences. The pairwise deletion option was applied to all ambiguous positions for each sequence pair resulting in a final data set comprising 1.550 positions. Evolutionary analyses were conducted in MEGA12 (Kumar vd., 2024).



Şekil 4.6 Maximum Likelihood metodu (16S rRNA gen bölgesine ait oluşturulan moleküler filogenetik ağaçlar)

The phylogeny was inferred using the Maximum Likelihood method and Tamura-Nei (1993) model (Tamura ve Nei, 1993) of nucleotide substitutions and the tree with the highest log likelihood (-12.353.87) is shown. The initial tree for the heuristic search was selected by choosing the tree with the superior log-likelihood between a Neighbor-Joining (NJ) tree (Saitou ve Nei, 1987) and a Maximum Parsimony (MP) tree. The NJ tree was generated using a matrix of pairwise distances computed using the p-distance (Nei ve Kumar, 2000). The MP tree had the shortest length among 10 MP tree searches, each performed with a randomly generated starting tree. The analytical procedure encompassed 62 nucleotide sequences with 1.550 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA12 (Kumar vd., 2024) utilizing up to 7 parallel computing threads.

MEGA 12 programı kullanılarak oluşturulmuş filogenetik ağaçlar, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Her istasyon için farklı renkler, örnekler için ise farklı semboller kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Oluşturulan filogenetik ağaçlarda BH62 örneğinin *Bacillus cereus* türüyle yüksek benzerlik gösterdiği ve BH38, BH40, BH63 ve BH64 örnekleriyle de bu türün taksonomik olarak yakın bir konumda yer aldığı görülmektedir. BH62, BH63 ve BH64, S istasyonuna ait alg örnekleri olmakla birlikte BH38 ve BH40 aynı istasyonun poliket örnekleridir. S istasyonunda alg ve poliket örnekleri için mikrobiyal kommunité açısından benzerlik olduğu Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilen filogenetik analiz sonuçlarıyla desteklenmektedir.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada SSCP yöntemi kullanılarak farklı istasyonlardaki; su, alg ve poliket örnekleri için mikrobiyota analizi yapılmıştır. BLAST taraması sonuçları incelendiğinde tüm örneklerde ortak olarak bulunan filumlar; Bacterioidetes, Proteobacteria ve Firmicutes şeklindedir. Su örneklerinde bu filumlara ek olarak Cyanobacteria yer almaktadır. Literatürde yer alan, Mancuso ve arkadaşları (2016) tarafından *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin, 1975 üzerinde yapılan çalışmada, algle birliktelik gösteren bakteri filumlarının Proteobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Actinobacteria ve Cyanobacteria olduğu tespit edilmiştir. Deniz suyu örneklerinde ise Proteobacteria ve Bacteroidetes yaygın olarak bulunmakta olup bu çalışmada tespit edilen bakteriyel topluluklarla paralellik gösterdiği saptanmıştır. Literatürde, Sinop kıyılarından toplanan *Gongolaria barbata* (Stackhouse) Kuntze ile ilişkili bakteri çeşitliliği SSCP yöntemiyle incelenmiş olup (Avşar ve Gümüş, 2024) mikrobiyal topluluklarda en yüksek bolluk oranının Proteobacteria filumuna ait Gammaproteobacteria sınıfı olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma, yöntem ve örnekleme bölgesi bakımından tez çalışmasıyla benzerlik göstermekle birlikte bulguların, elde edilen sonuçlarla genel olarak örtüştüğü görülmüştür. Avşar ve Gümüş (2024) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, örnekleme istasyonlarının bazılarında ait bantlar için yapılan moleküler taramalarda *Vibrio* ve *Klebsiella* ile benzerlik gösteren bakteri türlerine rastlanmıştır. Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’da verilen ağaçlar incelendiğinde, BLAST taramasında tespit edilen bakterilerin insan patojeni türleri içeren bu genoslara belirgin şekilde uzak olduğu saptanmıştır. Bu iki çalışma karşılaştırıldığında patojen türlere dair farklı sonuçlar elde edilmesi mevsimsel ve lokal değişkenlik ile açıklanabilmekte olup kontaminasyon olasılığı da göz önünde bulundurulabilir. Son olarak Avşar ve Gümüş (2024)’e ait literatürde yer alan bu çalışmada su ve alg örnekleri arasındaki mikrobiyal kommunité açısından farklılık görülmesinin antimikrobiyal aktivite sebebiyle ortaya çıkabileceği Yang ve arkadaşları (2023) tarafından yapılan çalışmayla desteklenerek öne sürülmüştür. Yang ve arkadaşları (2023), makroalg üzerindeki epifitik bakteriyel toplulukların, deniz suyu örneklerindeki diğerden anlamlı ölçüde farklı olduğunu ortaya koymuştur. Bu tez çalışmasında ise su ve alg örnekleri arasında mikrobiyal kommunité açısından göze çarpan bir benzerlik saptanamamıştır.

Literatür özetinde bahsedilen, Menabit ve arkadaşları (2024) tarafından Karadeniz’de yapılan poliketlerle ilgili çalışmada, bir poliket türü olan *Melinna palmata* Grube, 1870 mikrobiyomunun ilk karakterizasyonu yapılmıştır. *M. palmata* dokularında, kolonize olan bakterilerin çoğunluğunun Proteobacteria filumuna ait olduğu görülmüştür. Tespit edilen diğer bakteri filumları ise; Actinobacteria, Cyanobacteria ve Chloroflexi şeklindedir. Tez çalışmasına ait bulgulara, Proteobacteria filumunun bulunması Karadeniz’de (Romanya) poliketlerle ilgili yapılan bu çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Nereididae familyasıyla ilgili literatürde yer alan mikrobiyal kommunité çalışmalarından biri Markande ve arkadaşları (2014) tarafından yapılmış olup *Neanthes chilkaensis* (Southern, 1921) türünün bağırsak bakteri topluluğunda Proteobacteria, Firmicutes ve Actinobacteria filumlarının varlığı tespit edilmiştir. Literatürde yer alan Nereididae familyasıyla ilgili mikrobiyal kommunité çalışmalardan bir diğeri ise Wang ve arkadaşları (2020) tarafından yapılmıştır. *Alitta succinea* (syn. *Nereis succinea*) (Leuckart, 1847)’nın bağırsak mikrobiyotası analiz edilmiş olup Proteobacteria’nın *A. succinea*’nın bağırsağındaki en yaygın filum olduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında Nereididae familyasına ait poliketlerde, Proteobacteria ve Firmicutes filumlarının varlığının tespit edilmesi bahsedilen her iki çalışmadaki sonuçlarla tutarlılık göstermektedir.

Sekans analizi sonucunda, baz dizileri NCBI BLAST programı aracılığıyla taranmış olup yüksek benzerlik gösteren ve en üst bölümde yer alan türler tespit edilmiştir. Tablo 4.4’te yer alan BH-37 örneğinin BLAST analizi sonucunda *Arenibacter echinorum* ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu bakteri türü, deniz kestanesinden izole edilmiş olup (Nedashkovskaya vd., 2007) poliketlerle de ilişkili olduğu varsayılabilir. BH-66 örneğinin BLAST analizi sonucunda yakın benzerlik gösterdiği türler arasında *Weeksella virosa* bulunmaktadır. *W. virosa*, insan için fırsatçı patojen olup ciddi enfeksiyonlara neden olabilir (Toescu vd., 2017). Yapılan analizler sonucu hayvanlarda solungaç hastalıkları üzerinde negatif etkisi bulunan türleri içeren *Winogradskyella* (Embar-Gopinath vd., 2006)’nın BH-67 örneği ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

BH-23, BH-34 ve BH-35 bantlarına ait dizilerin BLAST taraması sonucunda *Ochrobactrum anthropi* türü ile yakın benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu tür yaygın olarak bulunan bir bakteri olup, bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda enfeksiyona neden olabilir (Liu vd., 2024). Şekil 4.3.b’de verilen jel görüntüsünde BH-34 ve BH-35 bantları aynı kuyucuğa yüklenen poliket örneğine aittir. Bantların jeldeki görüntülerine bakıldığında birbirinden uzakta konumlandığı görülmekte olup bu bantların BLAST

taramasında aynı bakteri türüyle (*O. anthropi*) ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durumun ortaya çıkması bantların, aynı türe ait farklı suşlar olmasından kaynaklanabilir.

Moleküler tanımlama ile birlikte tespit edilen *Prochlorococcus* sp. gibi fotosentetik bakteriler, denizel ortamdaki birincil üretimde büyük bir öneme sahiptir. Bakterilerin diğer ekolojik rolleri düşünüldüğünde, biyoremediasyon ve biyodegradasyon süreçlerindeki katkıları bakımından denizlerimizde bulunan türlerin sahip olduğu potansiyel, bu ve benzer çalışmalardaki veriler ışığında değerlendirilebilir.

BLAST uygulamasıyla yapılan moleküler tanımlama verileri incelendiğinde, A ve K istasyonlarında rastlanmayan ve S istasyonu için tespit edilen konak-konakçı (alg ve poliket) arasında *Bacillus* türleri açısından ilişki olduğu görülmektedir. BH-62, BH-63 ve BH-64, S istasyonundan örneklenen algelere ait bantlar olup BH-38 ve BH-40 aynı istasyondaki poliket örneğine aittir. Bu veriler, S istasyonunun *Bacillus* genusu tarafından domine edildiğini gösterebilir. S istasyonunu domine eden *Bacillus* genusuna ait türlerin biyoremediasyon ve biyodegradasyon süreçlerindeki rolüne ilişkin çalışmalar mevcuttur (Kumar Gupta ve Devi, 2019; Ali vd., 2023). Bakterilerin ekolojik rolleri söz konusu olduğunda kirlilikle mücadelede birçok mekanizma karşımıza çıkmaktadır. Biyopestisit potansiyeli bakımından ülkemiz denizlerinde tanımlanacak olan bakteri türleri, bu alanda çalışacak bilim insanlarına kaynak sağlayabilir.

Bu tez çalışmasında, poliket örnekleri için bakteriyel komüniteler karşılaştırıldığında aynı istasyonun farklı bireyleri arasında çeşitlilik saptanmıştır. S istasyonundan toplanan Nereididae familyasına ait bireylerin farklı türler olabilme ihtimali çeşitliliğin açıklanmasına olanak tanıyabilir. Literatürde, konak organizmalar ile onların mikrobiyotaları arasında evrimsel ilişkinin bulunduğu ve türleşme sürecinde mikrobiyotanın farklılaştığına dair çalışmalar mevcuttur (Moeller vd., 2016; Moeller, 2017; Apprill vd., 2020). Bu çalışmada mikrobiyal komünite yapısı poliketler için familya bazında incelenmiş olup genus ya da tür kategorisinde çalışmalar yapılması mikrobiyota açısından daha detaylı bilgilerin ortaya çıkmasına imkân sağlayabilir.

SSCP yönteminde elektroforez uygulama süresinin uzun olması farklı bantların ortaya çıkmasına olanak tanıyabilir. Buna istinaden 73 banttan daha fazla bant elde edileceği düşünülebilir. Uygulama süresinin uzatılmasının potansiyel sakıncalarından biri poliakrilamid jelde bozulmaların ortaya çıkmasıdır. Ortaya çıkabilecek diğer bir dezavantaj ise uzatılan süre sebebiyle bant kayıplarının görülmesidir. Bu çalışmada, elektroforez süresi 36 saat olarak uygulanmıştır. Bu sürenin uzatılması kullanılan 18

cm'lik poliakrilamid jelde 43 numaralı bandın kaybolmasına ve sekans analizi sonucunda bu bant profilinin tespit edilememesine yol açabilir.

SSCP, eski bir yöntem olup ekonomik olması bakımından kullanışlıdır. Bu yöntem, genetik polimorfizmlerin ve mutasyonların tespit edilmesi için kullanılmakla birlikte optimizasyonların sağlanması bakımından dezavantajlıdır (Badi vd., 2021). Bu tez çalışmasının deney aşamasında, optimizasyonların sağlanabilmesi için PCR uygulaması çok kez tekrar edilmiştir. SSCP ile elde edilen DNA dizileri, Sanger sekanslama ile tespit edilmiştir. NGS yöntemleri bütçe sınırlamaları sebebiyle tercih edilememiştir. Yeni yöntemlerin kullanılması çok sayıda örneğin analizinin kısa sürede tespit edilebilmesi bakımından büyük bir avantaja sahiptir. NGS yöntemleri, DNA ekstraksiyon sürecinin tamamlanmasından sonra uygulanarak kısa sürede sonuç verebilir. Özkara (2002) tarafından yapılan araştırmada, SSCP yönteminin iş yükünün fazla olduğu vurgulanmıştır. Bu tez çalışmasının metot kısmı değerlendirildiğinde bu tekniğin zahmetli ve zaman alıcı olduğu görülmektedir. Tez çalışmasında karşılaşılan zorluklardan bir diğeri, çevresel örneklerden DNA ekstraksiyonu aşamasında karşılaşılabilecek muhtemel olan humik ve fulvik asitler, ağır metaller gibi inhibitör maddelerdir. Bu çalışmada, inhibitör maddeleri minimum seviyeye indirebilmek amacıyla, PCR uygulamaları için BSA (Bovine Serum Albümini), T432 proteini kullanılmış olmasına rağmen hedeflenen sayıda bandın moleküler tespitine ve tespit edilen bantlarda ise istenen baz dizisi uzunluğuna ulaşamamıştır. SSCP yöntemi sonucunda 53 adet bant için GenBank erişim numarası alınmıştır. 8 adet banda ait dizi uzunluğunun, BLAST algoritmasının belirlediği alt sınırdan kısa olması sebebiyle bu örnekler için GenBank erişim numarası alınamamıştır. Sanger sekanslama ile 12 adet banda ait baz dizisi elde edilememiştir. Fast DNA Spin Kit for Soil, su örneklerinin analizi için istenen verimi sağlayamamıştır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında; SSCP yöntemi kullanılarak 3 farklı istasyona ait su, alg ve poliket örnekleri için bakteriyel komüniteler, moleküler tanımlama ile tespit edilmiştir. UPGMA dendrogram analizleri yapılarak ve MEGA 12 programında oluşturulan ağaçlara ait dallar karşılaştırılarak, örnekler ve istasyonlar arası benzerlik ve farklılıklar saptanmıştır. S istasyonunda *Bacillus* genusu bakımından alg ve poliket örnekleri arasında ilişki görülmüş olup diğer istasyonlar için belirgin bir benzerlik tespit edilememiştir. Aynı şekilde su ve alg örnekleri arasında da bakteriyel çeşitlilik açısından göze çarpan bir yakınlık saptanamamıştır. Tüm örnekler için ortak olan filumların; Bacterioidetes, Proteobacteria ve Firmicutes olduğu görülmüştür. İstasyonlar

karşılaştırıldığında ise; Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'daki ağaçlarda verilen K ve S istasyonuna ait su örnekleri olan BH-16 ve BH-27'nin yakın benzerlik gösterdiği görülmekte olup aynı filum ve sınıfa ait oldukları Tablo 4.4'te yer alan sonuçlarla desteklenmektedir. Saptanan bu benzerlik dışında istasyonlar arası kayda değer bir yakınlık görülememektedir.

BLAST taraması sonucunda en yüksek bollukta, kültüre alınmamış denizel bakteri klonları (uncultured marine bacterium clone) bulunmaktadır. Denizel mikrobiyal çeşitliliğin büyük çoğunluğunu klasik kültür teknikleriyle izole edilemeyen bakteri klonları oluşturmaktadır (Sogin vd., 2006). Bu sebeple, tez çalışmasında kültüre alınmamış bakteri klonlarına rastlanması beklenen bir sonuçtur.

Mikrobiyota çalışmalarının kapsamının gün geçtikçe artması; ekolojik ve evrimsel süreçlerin anlaşılmasında, mikrobiyotanın konak organizma sağlığına etkisinin aydınlatılmasında, biyolojik çeşitliliğin sürdürülmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Biyolojik çeşitliliği tehdit eden istilacı türlerle ilgili yapılan bilimsel çalışmalar, ekosistemlerin korunması bakımından büyük bir öneme sahiptir. Bu konuda örnek vermek gerekirse; aslan balığı (*Pterois* spp.), Lessepsiye türlerden biri olmakla birlikte ülkemiz denizlerinin biyoçeşitliliğini olumsuz etkilemektedir. Meron ve arkadaşları (2025) tarafından yapılan bilimsel çalışmada, aslan balıklarının (*Pterois* spp.) Akdeniz'deki istila sürecinde, mikrobiyotanın rolü incelenmiş olup mikrobiyal toplulukların istilacı türlerin yeni ekosistemlere adaptasyonunda etkili olduğuna dair önemli bulgular ortaya konmuştur. Mikrobiyota ile ilgili çalışmaların farklı perspektifte ele alınmasının literatüre sağlayacağı katkı büyüktür.

Ülkemizde, politikelerle ilgili yapılan bilimsel çalışmalar az olmakla birlikte bu tez çalışması politikelerin mikrobiyotası ile ilgili ülkemizde yapılan ilk çalışmadır. Yeni nesil dizileme platformları kullanılarak yapılacak yeni çalışmalar, bakteriyel komünitelerin yapısına dair daha detaylı bilgiler verebilir. Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular, gelecekte yapılacak mikrobiyota araştırmaları için temel oluşturacak niteliktedir. Denizel mikrobiyotanın, içerisinde bulundurduğu organizmalarla olan kompleks etkileşimlerine katkı sağlayan bu tez çalışması, literatüre özgün katkılar sunarak gelecekteki araştırmalar için yeni sorular sorulmasına ve hipotezler kurulmasına olanak tanıyacaktır.

KAYNAKLAR

- Ağırbaş, E. (2006). *Türkiyenin Doğu Karadeniz sahillerinin üst infralittoral zonundaki Nereidae (Polychaeta-Annelida) türlerinin dağılımı* (Yüksek lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi).
- Aktar, S., & Cebe, G. E. (2010). Alglerin Genel Özellikleri, Kullanım Alanları ve Eczacılıktaki Önemi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 39(3), 237-264. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000568
- AlgaeBase. <https://www.algaebase.org/>
- Ali, R., Bashir, K., Ahmad, S., Ullah, A., Shah, S. F., Ali, Q., Yasmin, H. & Ahmad, A. (2023). Bioremediation of heavy metals from industrial effluents using *Bacillus pakistanensis* and *Lysinibacillus composti*. *Sustainability*, 15(9), 7591. <https://doi.org/10.3390/su15097591>
- Allam, B., Paillard, C., & Ford, S. E. (2002). Pathogenicity of *Vibrio tapetis*, the etiological agent of brown ring disease in clams. *Diseases of aquatic organisms*, 48(3), 221-231. <https://doi.org/10.3354/dao>
- Allonsius, C. N., Van Beeck, W., De Boeck, I., Wittouck, S., & Lebeer, S. (2019). The microbiome of the invertebrate model host *Galleria mellonella* is dominated by *Enterococcus*. *Animal Microbiome*, 1, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0010-6>
- Altuğ, G., Çardak, M., Türetken, P. S. Ç., Gürün, S., & Kalkan, S. (2020). Deniz Ekosisteminde Bakteriyel Roller; Türkiye Denizleri Bakterileri Örneği. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 217-230.
- Altuğ, G., Çiftçi Türetken, P. S., Gürün, S., & Kalkan, S. (2016). Türkiye Deniz Alanlarında İzole Edilen Bakteri Çeşitliliği. *Bakterilerin Biyoteknolojik Kullanımı Çalıştayı Bildiri Kitabı* (s. 41-50).
- Apprill, A., Miller, C. A., Van Cise, A. M., U'Ren, J. M., Leslie, M. S., Weber, L., ... & Waring, G. (2020). Marine mammal skin microbiotas are influenced by host phylogeny. *Royal Society Open Science*, 7(5), 192046. <https://doi.org/10.1098/rsos.192046>
- Armstrong, E., Yan, L., Boyd, K. G., Wright, P. C., & Burgess, J. G. (2001). The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia*, 461, 37-40. <https://doi.org/10.1023/A:1012756913566>
- Avşar, C. (2013). *Sinop ili deniz suyu ve kara midye (Mytilus galloprovincialis Lamarck, 1819)'nin mikrobiyolojik analizi ve izole edilen Escherichia coli suşlarının moleküler karakterizasyonu*. (Yüksek lisans tezi, Sinop Üniversitesi).
- Avşar, C. (2018). *Toprakta Denitrifiyer Populasyon Büyüklüğünün Ölçümü Bakteri Kommünite Yapıları ve Kültüre Alınabilen Denitrifiyerlerin nosZ ve 16s rRNA Genlerinin Karşılaştırılması* (Doktora tezi, Ankara Üniversitesi).
- Avşar, C. ve Gümüş, F. (2024). Karadeniz kıyısındaki Sinop bölgesinden toplanan makroalg *Gongolaria barbata*'nın epifitik bakteri topluluğu analizi. *Yaşam Bilimleri ve İlgili Teknolojilerdeki Sınırlar*, 5(3), 217-223. <https://doi.org/10.51753/flsrt.1541036>
- Ayer, Ç. (2023). *Laktasyon Döneminde Beslenme, Anne Sütü Mikrobiyotası, Bisfenol A ve Nonilfenol Düzeylerinin Bebeklerin Bağırsak Mikrobiyotasıyla İlişkisi*. (Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi).
- Azam, F., Malfatti, F. (2007). Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 5(10), 782–791. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1747>
- Badi, M. A., Al-Shuhaib, M. B. S., Aljubouri, T. R., Al-Thuwaini, T. M., Dawud, H. H., Hussein, T. H., Al-Nafi, A. T., Abdulmalek, D., Altamemi, M. K. A., Fadhil, I. A.,

- Albakri, A. H., Hashim, H. O. & Mohammed, A. K. (2021). Rapid and optimized protocol for efficient PCR-SSCP genotyping for wide ranges of species. *Biologia*, 76(8), 2413-2420. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00776-z>
- Bakken, T., & Wilson, R. S. (2005). Phylogeny of nereidids (Polychaeta, Nereididae) with paragnaths. *Zoologica Scripta*, 34(5), 507-547. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2005.00200.x>
- Bat, L., Öztekin, A., Şahin, F., Arıcı, E., & Öz sandıkçı, U. (2018). Türkiye'deki Karadeniz kirliliğine genel bir bakış. *Akdeniz Balıkçılık ve Su Ürünleri Araştırması*, 1(2), 66-86.
- Bat, L., Kurt, G., Mülayim, A., Çağlar, S., Öztekin, A. (2024). Long-term changes and causes of biota assemblages in the southern Black Sea coasts. *Marine Biology Research*, 20(7): 251-265.
- Belizário, J. E., & Faintuch, J. (2018). Microbiome and gut dysbiosis. In *Metabolic interaction in infection* (pp. 459-476). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74932-7_13
- Belkin, S., & Colwell R. R. (2005). Oceans and health: pathogens in the marine environment. Springer.
- Bowden, T. J., Bricknell, I. R., & Preziosi, B. M. (2017). Comparative pathogenicity of *Vibrio* spp., *Photobacterium damsela* ssp. *damsela* and five isolates of *Aeromonas salmonicida* ssp. *achromogenes* in juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Journal of Fish Diseases*, 41(1), 79-86. <https://doi.org/10.1111/jfd.12679>
- Byun, S.O., Fang, Q., Zhou, H. & Hickford, J.G.H. (2009). An effective method for silver-staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 385(1); 174-175. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.10.024>
- Ceyhan, N., & Esmeray, E. (2012). Petrol Kirliliği ve Biyoremediasyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (1), 95-101.
- Chen, J., Zang, Y., Yang, Z., Qu, T., Sun, T., Liang, S., Zhu, M., Wang, Y. & Tang, X. (2022). Composition and functional diversity of epiphytic bacterial and fungal communities on marine macrophytes in an intertidal zone. *Frontiers in Microbiology*, 13, 839465. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.839465>
- Clark, K. F., Acorn, A. R., & Greenwood, S. J. (2013). Differential expression of American lobster (*Homarus americanus*) immune related genes during infection of *Aerococcus viridans* var. *homari*, the causative agent of Gaffkemia. *Journal of Invertebrate pathology*, 112(2), 192-202. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.11.005>
- Çınar, M. E., & Ergen, Z. (2001). On the ecology of the Nereididae (Polychaeta: Annelida) in the bay of İzmir, Aegean sea. *Zoology in the Middle East*, 22(1), 113-122. <https://doi.org/10.1080/09397140.2001.10637856>
- Çulha, M., Bat, L., Çulha, ST, & Çelik, MY (2010). Güney Karadeniz'in üst-infralitoral bölgesindeki bazı fasiyeslerin bentik yumuşakça kompozisyonu, Türkiye. *Türk Zooloji Dergisi*, 34(4), 523-532. <https://doi.org/10.3906/zoo-0806-12>
- Dale, H., Solan, M., Lam, P., & Cunliffe, M. (2019). Sediment microbial assemblage structure is modified by marine polychaete gut passage. *FEMS microbiology ecology*, 95(5), fiz047. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz047>
- Dale, H., Taylor, J. D., Solan, M., Lam, P., & Cunliffe, M. (2019). Polychaete mucopolysaccharide alters sediment microbial diversity and stimulates ammonia-oxidising functional groups. *FEMS microbiology ecology*, 95(2), fiy234. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy234>

- Delghandi, M. R., El-Matbouli, M., & Menanteau-Ledouble, S. (2020). *Renibacterium salmoninarum*—the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fish. *Pathogens*, 9(10), 845. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100845>
- Degli Esposti, M., & Martinez Romero, E. (2017). The functional microbiome of arthropods. *PLoS One*, 12(5), e0176573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176573>
- Diker, K. S. (2017). Hayvanlarda mikrobiyom-hayvan mikrobiyomu. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 88(2), 122-132.
- Eisenstein, M. (2012). Oxford Nanopore announcement sets sequencing sector abuzz. *Nat. Biotechnol*, 30(4), 295-296. <https://doi.org/10.1038/nbt0412-295>
- Embar-Gopinath, S., Crosbie, P., & Nowak, B. F. (2006). Concentration effects of *Winogradskyella* sp. on the incidence and severity of amoebic gill disease. *Diseases of aquatic organisms*, 73(1), 43-47. <https://doi.org/10.3354/dao>
- Fauchald, K., & Rouse, G. (1997). Polychaete systematics: past and present. *Zoologica scripta*, 26(2), 71-138. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.1997.tb00411.x>
- Ferranti, E. P., Dunbar, S. B., Dunlop, A. L., & Corwin, E. J. (2014). 20 things you didn't know about the human gut microbiome. *Journal of Cardiovascular Nursing*, 29(6), 479-481.
- Fitzpatrick, C. R., Salas-González, I., Conway, J. M., Finkel, O. M., Gilbert, S., Russ, D., Teixeira, P. J. P. L. & Dangl, J. L. (2020). The plant microbiome: from ecology to reductionism and beyond. *Annual review of microbiology*, 74(1), 81-100. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-022620-014327>
- Flint, H. J. (2012). The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutrition reviews*, 70(suppl_1), S10-S13. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00499.x>
- Foster, G., MacMillan, A. P., Godfroid, J., Howie, F., Ross, H. M., Cloeckert, A., ... & Patterson, I. A. P. (2002). A review of *Brucella* sp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Veterinary Microbiology*, 90(1-4), 563-580. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00236-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00236-5)
- Foster, K. R., Schluter, J., Coyte, K. Z., & Rakoff-Nahoum, S. (2017). The evolution of the host microbiome as an ecosystem on a leash. *Nature*, 548(7665), 43-51. <https://doi.org/10.1038/nature23292>
- Fuhrman, J. A., Cram, J. A., & Needham, D. M. (2015). Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation. *Nature Reviews Microbiology*, 13(3), 133-146. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3417>
- Fuirst M., Ward C.S., Schwaner C., Diana Z. Schultz, T.F. & Rittschof D. (2021). Compositional and Functional Microbiome Variation Between Tubes of an Intertidal Polychaete and Surrounding Marine Sediment. *Frontiers in Marine Science*. 8: 656506. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.656506>
- Fraschetti, S., Giangrande, A., Terlizzi, A., Miglietta, M. P., Della Tommasa, L., & Boero, F. (2002). Spatio-temporal variation of hydroids and polychaetes associated with *Cystoseira amentacea* (Fucales: Phaeophyceae). *Marine Biology*, 140, 949-957. <https://doi.org/10.1007/s00227-001-0770-9>
- Geldiay, R., & Kocataş, A. (2014). Deniz Biyolojisi. Dora Yayıncılık, Bursa.
- Gollas-Galván, T., Avila-Villa, L. A., Martínez-Porchas, M., & Hernandez-Lopez, J. (2013). *Rickettsia*-like organisms from cultured aquatic organisms, with emphasis on necrotizing hepatopancreatitis bacterium affecting penaeid shrimp: an overview on an emergent concern. *Reviews in Aquaculture*, 6(4), 256-269. <https://doi.org/10.1111/raq.12043>

- Goodwin, S., McPherson, J. D., & McCombie, W. R. (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature reviews genetics*, 17(6), 333-351. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.49>
- Graf, J. (2016). Lessons from digestive-tract symbioses between bacteria and invertebrates. *Annual review of microbiology*, 70(1), 375-393. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104258>
- Harriague, A. C., Di Brino, M., Zampini, M., Albertelli, G., Pruzzo, C., & Misic, C. (2008). Vibrios in association with sedimentary crustaceans in three beaches of the northern Adriatic Sea (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 56(3), 574-579. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.12.011>
- Higgins, R. (2000). Bacteria and fungi of marine mammals: a review. *The Canadian veterinary journal*, 41(2), 105.
- Hou, L., Liu, Y., Gao, Q., Xu, X., Ning, M., Bi, J., Liu, H., Liu, M., Gu, W., Wang, W. & Meng, Q. (2017). *Spiroplasma eriocheiris* adhesin-like protein (ALP) interacts with epidermal growth factor (EGF) domain proteins to facilitate infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00013>
- Jang, J., Hochstein, R., Forbes, V. E., & Sadowsky, M. J. (2021). Bioturbation by the marine polychaete *Capitella teleta* alters the sediment microbial community by ingestion and defecation of sediment particles. *Science of The Total Environment*, 752, 142239. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142239>
- Kakavas, K. V. (2021). Sensitivity and applications of the PCR Single-Strand Conformation Polymorphism method. *Molecular Biology Reports*, 48(4), 3629-3635. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06349-2>
- Kalip, K., & Atak, N. (2018). Bağırsak mikrobiyotası ve sağlık. *Turkish Journal of Public Health*, 16(1), 58-73. <https://doi.org/10.20518/tjph.458203>
- Karaçuha, A., & Okudan, E. S. (2017). Macroalgae and phanerogams of the Black Sea. *Black Sea marine environment: The Turkish shelf. Turkish Marine Research Foundation (TUDAV)*.
- Karaçuha, A. & Yıldız, G. (2017). Karadeniz'in Sinop yarımadası kıyılarında dağılım gösteren *Cystoseira crinita* Duby'nın kimyasal kompozisyonu üzerine mevsimsel inceleme. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 51-61.
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., & Glöckner, F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic acids research*, 41(1), e1-e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Kumar Gupta K. & Devi, D. (2019). Biodegradation of low density polyethylene by selected *Bacillus* sp. *Gazi University Journal of Science*, 32(3), 802-813. <https://doi.org/10.35378/gujs.496392>
- Kumar S., Stecher G., Suleski M., Sanderford M., Sharma S., and Tamura K. (2024). Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution* 41:1-9.
- Kurt, G., Rezzag-Mahcene, H., Kuş, S., Daas, T., Villalobos-Guerrero, T. (2021). First record of the Lessepsian nereidid *Pseudonereis anomala* Gravier, 1899 (Annelida: Nereididae) in the western Mediterranean Sea. *Cahiers de Marine Biologie*, 62: 17-26.
- Kurtaran, B. (2021). Mikrobiyom ve mikrobiyota. *Ege Tıp Dergisi*, 88-93.
- Kuş, S. (2015). *Sinop yarımadasındaki Cystoseira fasiyesi ile birliktelik oluşturan polychaeta (Annelida) türlerinin ekolojik özellikleri* (Yüksek lisans tezi, Sinop Üniversitesi).

- Kuş S. & Kurt-Şahin G. (2016). Temporal changes in the Polychaeta (Annelida) community associated with *Cystoseira* beds of Sinop Peninsula (southern Black Sea). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(1), 61-68. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v16_1_07
- Laver, T., Harrison, J., O'Neill, P. A., Moore, K., Farbos, A., Paszkiewicz, K., & Studholme, D. J. (2015). Assessing the performance of the oxford nanopore technologies minion. *Biomolecular detection and quantification*, 3, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2015.02.001>
- Lee, D. H., Zo, Y. G., & Kim, S. J. (1996). Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism. *Applied and environmental microbiology*, 62(9), 3112-3120. <https://doi.org/10.1128/aem.62.9.3112-3120.1996>
- Li, C., & Jiang, J. (2023). High-throughput genotyping in estimating genetic resources and detecting pathogens in aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 54(3), 558-565. <https://doi.org/10.1111/jwas.12996>
- Li, P., Zhang, J., Liu, X., Gan, L., Xie, Y., Zhang, H., & Si, J. (2022). The function and the affecting factors of the zebrafish gut microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 13, 903471. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.903471>
- Liu, L., Wang, C., Xu, H., Hou, L., Huang, R., Shi, X., & Jia, H. (2024). *Ochrobactrum anthropi* infection following corneal transplantation-a case report and review of literature. *BMC ophthalmology*, 24(1), 234. <https://doi.org/10.1186/s12886-024-03472-z>
- Lu, D. C., Wang, F. Q., Amann, R. I., Teeling, H., & Du, Z. J. (2023). Epiphytic common core bacteria in the microbiomes of co-located green (*Ulva*), brown (*Saccharina*) and red (*Grateloupia*, *Gelidium*) macroalgae. *Microbiome*, 11(1), 126. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01559-1>
- Lyra, M. L., Bletz, M. C., Haddad, C. F., & Vences, M. (2017). The intestinal microbiota of tadpoles differs from those of syntopic aquatic invertebrates. *Microbial Ecology*, 76, 121-124. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1109-5>
- Maekawa, S., Yoshida, T., Wang, P. C., & Chen, S. C. (2018). Current knowledge of nocardiosis in teleost fish. *Journal of fish diseases*, 41(3), 413-419. <https://doi.org/10.1111/jfd.12782>
- Mancuso, F. P., D'hondt, S., Willems, A., Airoidi, L., & De Clerck, O. (2016). Diversity and temporal dynamics of the epiphytic bacterial communities associated with the canopy-forming seaweed *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff and Nizamuddin. *Frontiers in microbiology*, 7, 476. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00476>
- Mancuso, F. P., Sarà, G., & Mannino, A. M. (2024). Conserving Marine Forests: Assessing the Effectiveness of a Marine Protected Area for *Cystoseira Sensu Lato* Populations in the Central Mediterranean Sea. *Plants*, 13(2), 162. <https://doi.org/10.3390/plants13020162>
- Manev, Z., Iliev, A., & Vachkova, V. (2013). Chemical characterization of brown seaweed—*Cystoseira barbata*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(1), 12-15.
- Maritan, E., Quagliariello, A., Frago, E., Patarnello, T., & Martino, M. E. (2024). The role of animal hosts in shaping gut microbiome variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 379(1901), 20230071. <https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0071>
- Markande, A. R., Mikaelyan, A., Nayak, B. B., Patel, K. D., Vachharajani, N. B., Vennila, A., Rajendran, K. V. & Purushothaman, C. S. (2014). Analysis of midgut bacterial community structure of *Neanthes chilkaensis* from polluted mudflats of Gorai, Mumbai, India. *Advances in Microbiology*, 4(13), 906. <https://doi.org/10.4236/aim.2014.413101>

- Martins, A. D., & Barros, F. (2022). Ecological functions of polychaetes along estuarine gradients. *Frontiers in Marine Science*, 9, 780318. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.780318>
- Matsui, G. Y., Ringelberg, D. B., & Lovell, C. R. (2004). Sulfate-reducing bacteria in tubes constructed by the marine infaunal polychaete *Diopatra cuprea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 7053-7065. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7053-7065.2004>
- Mazurkiewicz, M. (2009). The ontogeny of parapodia and setae in *Laeonereis culveri* (Webster)(Polychaeta: Nereididae). *Zoosymposia*, 2, 369-377. <https://doi.org/10.11646/zoosymposia.2.1.25>
- Menaa, F., Wijesinghe, P. A. U. I., Thiripuranathar, G., Uzair, B., Iqbal, H., Khan, B. A., & Menaa, B. (2020). Ecological and industrial implications of dynamic seaweed-associated microbiota interactions. *Marine drugs*, 18(12), 641. <https://doi.org/10.3390/md18120641>
- Menabit, S., Lavin, P., Begun, T., Mureşan, M., Teacă, A., & Purcarea, C. (2024). First screening of bacteria assemblages associated with the marine polychaete *Melinna palmata* Grube, 1870 and adjacent sediments. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1279849. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1279849>
- Meron, D., Lalar, M., Rothman, S. B. S., Kroin, Y., Kaufman, E., Kitson-Walters, K., Zvi-Kedem, T., Shemes, E., Tsadok, R. Nativ, H. Einbinder, S. & Tchernov, D. (2025). Microbiota dynamics in lionfish (*Pterois*): insights into invasion and establishment in the Mediterranean Sea. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1570274. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1570274>
- Mikheyev, A. S., & Tin, M. M. (2014). A first look at the Oxford Nanopore MinION sequencer. *Molecular ecology resources*, 14(6), 1097-1102. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12324>
- Moeller, A. H. (2017). The shrinking human gut microbiome. *Current opinion in microbiology*, 38, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.04.002>
- Moeller, A. H., Caro-Quintero, A., Mjungu, D., Georgiev, A. V., Lonsdorf, E. V., Muller, M. N., Pusey, A. E., Peeters, M., Hahn, B. H. & Ochman, H. (2016). Cospeciation of gut microbiota with hominids. *Science*, 353(6297), 380-382. <https://doi.org/10.1126/science.aaf3951>
- Nedashkovskaya, O. I., Kim, S. B., Lysenko, A. M., Lee, K. H., Bae, K. S., & Mikhailov, V. V. (2007). *Arenibacter echinorum* sp. nov., isolated from the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(11), 2655-2659. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.65251-0>
- Nei M. and Kumar S. (2000). Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York.
- Newton, I. L., Sheehan, K. B., Lee, F. J., Horton, M. A., & Hicks, R. D. (2013). Invertebrate systems for hypothesis-driven microbiome research. *Microbiome Science and Medicine*, 1(1), 1-9. <https://doi.org/10.2478/micsm-2013-0001>
- Okudan, E. Ş., Dural, B., Demir, V., Erduğan, H., & Aysel, V. (2016). Biodiversity of marine benthic macroflora (seaweeds/macroalgae and seagrasses) of the Mediterranean Sea. *The Turkish Part of the Mediterranean Sea*, 107.
- Orita, M., Suzuki, Y., Sekiya, T., & Hayashi, K. (1989). Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics*, 5(4), 874-879. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(89\)90129-8](https://doi.org/10.1016/0888-7543(89)90129-8)

- Öncü, F., Yüce, A. M., Tapan, B. Ö., & Abdi, M. H. S. (2021). Çevresel Etkiler ve Türkiye Deniz Ekosistemleri. *City Health Journal*, 2(2), 68-71.
- Özden, D. (2021). Plastik Biyodegradasyonu: Genel Sorunlar ve Biyoteknolojik Çözümler. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(2), 324-339. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.851254>
- Özkara, H. A., (2002). Tek zincir konformasyon polimorfizmi (SSCP) analizinde yanlış pozitiflik. *Türk Biyokimya Dergisi*, vol.27, no.3, 106-111.
- Özsoy, E., & Ünlüata, Ü. (1997). Oceanography of the Black Sea: a review of some recent results. *Earth-Science Reviews*, 42(4), 231-272. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(97\)81859-4](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(97)81859-4)
- Peixoto, R. S., Harkins, D. M., & Nelson, K. E. (2021). Advances in microbiome research for animal health. *Annual Review of Animal Biosciences*, 9(1), 289-311. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-091020-075907>
- PS, Ç. T. (2014). *Gökçeada Çevresinde (Kuzey Ege Denizi) Kültür Edilebilir Bakteri Düzeyi Ve Çeşitliliğinin Araştırılması* (Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi).
- Reish, D. J., & Lemay, J. A. (1991). Toxicity and bioconcentration of metals and organic compounds by polychaeta. In *Systematics, Biology and Morphology of World Polychaeta* (pp. 653-660). Brill. https://doi.org/10.1163/9789004629745_069
- Romalde, J. L. (2002). *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: an integrated view of a bacterial fish pathogen. *International Microbiology*, 5, 3-9. <https://doi.org/10.1007/s10123-002-0051-6>
- Rychlik, I. (2020). Composition and function of chicken gut microbiota. *Animals*, 10(1), 103. <https://doi.org/10.3390/ani10010103>
- Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- Schmalenberger, A., & Tebbe, C. C. (2003). Bacterial diversity in maize rhizospheres: conclusions on the use of genetic profiles based on PCR-amplified partial small subunit rRNA genes in ecological studies. *Molecular Ecology*, 12(1), 251-262. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01716.x>
- Schwieger, F., & Tebbe, C. C. (2000). Effect of field inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33 on the composition of bacterial communities in rhizospheres of a target plant (*Medicago sativa*) and a non-target plant (*Chenopodium album*)—linking of 16S rRNA gene-based single-strand conformation polymorphism community profiles to the diversity of cultivated bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3556-3565. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3556-3565.2000>
- Sehna, L., Brammer-Robbins, E., Wormington, A. M., Blaha, L., Bisesi, J., Larkin, I., Martyniuk, C. J., Simonin, M. & Adamovsky, O. (2021). Microbiome composition and function in aquatic vertebrates: small organisms making big impacts on aquatic animal health. *Frontiers in microbiology*, 12, 567408. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.567408>
- Serebryakova, A., Aires, T., Viard, F., Serrão, E. A., & Engelen, A. H. (2018). Summer shifts of bacterial communities associated with the invasive brown seaweed *Sargassum muticum* are location and tissue dependent. *PLoS One*, 13(12), e0206734. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206734>
- Sidstedt, M., Jansson, L., Nilsson, E., Noppa, L., Forsman, M., Rådström, P., & Hedman, J. (2015). Humic substances cause fluorescence inhibition in real-time polymerase chain reaction. *Analytical biochemistry*, 487, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.07.002>

- Smalla, K., Oros-Sichler, M., Milling, A., Heuer, H., Baumgarte, S., Becker, R., Neuber, G., Kropf, S., Ulrich, A. & Tebbe, C. C. (2007). Bacterial diversity of soils assessed by DGGE, T-RFLP and SSCP fingerprints of PCR-amplified 16S rRNA gene fragments: do the different methods provide similar results. *Journal of microbiological methods*, 69(3), 470-479. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.014>
- Sogin, M. L., Morrison, H. G., Huber, J. A., Welch, D. M., Huse, S. M., Neal, P. R., Arrieta, J. M. & Herndl, G. J. (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(32), 12115-12120. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605127103>
- Sunagawa, S., Coelho, L. P., Chaffron, S., Kultima, J. R., Labadie, K., Salazar, G., Djahanschiri, B., Zeller, G., Mende, D. R. & Velayoudon, D. (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 348(6237), 1261359. <https://doi.org/10.1126/science.1261359>
- Struck, T. H., Paul, C., Hill, N., Hartmann, S., Hösel, C., Kube, M., Lieb, B., Meyer, A., Tiedemann, R., Purschke, H. & Bleidorn, C. (2011). Phylogenomic analyses unravel annelid evolution. *Nature*, 471(7336), 95-98. <https://doi.org/10.1038/nature09864>
- Su, C., Lei, L., Duan, Y., Zhang, K. Q., & Yang, J. (2012). Culture-independent methods for studying environmental microorganisms: methods, application, and perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 93, 993-1003. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3800-7>
- Sunnucks, P. A. C. C., Wilson, A. C. C., Beheregaray, L. B., Zenger, K., French, J., & Taylor, A. C. (2000). SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. *Molecular ecology*, 9(11), 1699-1710. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.01084.x>
- Tamura K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- Tamura K., Nei M., and Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035.
- Thompson, F. L., Iida, T., & Swings, J. (2004). Biodiversity of vibrios. *Microbiology and molecular biology reviews*, 68(3), 403-431. <https://doi.org/10.1128/mmbr.68.3.403-431.2004>
- Toescu, S. M., Lacey, S., & Low, H. L. (2017). First report of postoperative intracranial *Weeksella virosa* infection. *Acta Neurochirurgica*, 159, 2235-2238. <https://doi.org/10.1007/s00701-017-3307-9>
- Turon, M., Uriz, M. J., & Martin, D. (2019). Multipartner symbiosis across biological domains: looking at the eukaryotic associations from a microbial perspective. *Msystems*, 4(4), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/msystems.00148-19>
- Trica, B., Delattre, C., Gros, F., Ursu, A. V., Dobre, T., Djelveh, G., Michaud, P. & Oancea, F. (2019). Extraction and characterization of alginate from an edible brown seaweed (*Cystoseira barbata*) harvested in the Romanian Black Sea. *Marine drugs*, 17(7), 405. <https://doi.org/10.3390/md17070405>
- Ucko, M., & Colorni, A. (2005). *Mycobacterium marinum* infections in fish and humans in Israel. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(2), 892-895. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.2.892-895.2005>
- Uçarlı, C. (2022) Mikrobiyom Analizinde Metagenomik Yaklaşımlar.

- Uğur, A., Ceylan, Ö., & Aslım, B. (2012). Characterization of *Pseudomonas* spp. from seawater of the southwest coast of Turkey. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 6(16).
- Wang, D., Ren, J., Tan, Z., & You, J. (2020). Gut microbial profiles in *Nereis succinea* and their contribution to the degradation of organic pollutants. *Environmental science & technology*, 54(10), 6235-6243. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07854>
- Weigert, A., & Bleidorn, C. (2016). Current status of annelid phylogeny. *Organisms Diversity & Evolution*, 16, 345-362. <https://doi.org/10.1007/s13127-016-0265-7>
- Wilson, R. S., Glasby, C. J., & Bakken, T. (2023). The Nereididae (Annelida)–diagnoses, descriptions, and a key to the genera. *ZooKeys*, 1182, 35. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1182.104258>
- Wood, G., Steinberg, P. D., Campbell, A. H., Vergés, A., Coleman, M. A., & Marzinelli, E. M. (2022). Host genetics, phenotype and geography structure the microbiome of a foundational seaweed. *Molecular Ecology*, 31(7), 2189-2206. <https://doi.org/10.1111/mec.16378>
- World Health Organization. (2003). *Guidelines for safe recreational water environments: Coastal and fresh waters* (Vol. 1). World Health Organization.
- WoRMS. World Register of Marine Species. <https://www.marinespecies.org/>
- Yang, Z., Sun, T., Chen, J., Wang, J., Yu, X., Zhao, Y., Li, Y., Tang, X. & Xiao, H. (2023). The contribution of host tissue location and sex to epiphytic bacterial community assembly of *Sargassum thunbergii*. *Ecological Indicators*, 154, 110871. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110871>
- Yi, J., Lo, L. S. H., & Cheng, J. (2020). Dynamics of microbial community structure and ecological functions in estuarine intertidal sediments. *Frontiers in Marine Science*, 7, 585970. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.585970>
- Zhou, J., Bruns, M. A., & Tiedje, J. M. (1996). DNA recovery from soils of diverse composition. *Applied and environmental microbiology*, 62(2), 316-322. <https://doi.org/10.1128/aem.62.2.316-322.1996>

EK

Sekans Analiz Sonuçları:

>BH7

TGGATTCCAGCTGTAGCGGTGAATGCTAGATATTACGGAGGAACACCGATG
GCGAAGGCACTTACTGGACCTATTACTGACGCTGAGGACGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAAATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGATACTA
GTGTTGCGA

>BH9

GTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACGAGGAACACCGATGGCGAAGGCA
GTTTCCTGGGCATTTACTTGACGCTCATGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGAC

>BH11

GCGGGGGTAGAGGGAATTCCCGGCGTAGCGGTGAAATGCGTAAATATTGGG
AGGAACACCAATGGCGAAGGCGCTTCTCTGGGCCTTTACTGACGCTCAGGG
ACGAAAGCCTGGGGAGCAAACAGGATTAAATACCCCTGGGTAAGTCCC

>BH12

ATGGAATTCCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGGGAAGAACACCA
ATGGCGAAGGCGCTTTGCTGGGCCATTACTGACGCTCAGGGACGAAAGCGT
GGGGAGCGAAAGGGATTAGATACCCCGGGTAAGTCCCACGCCGTAAACG

>BH13

TGGATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCTAGATATTCGAGAACACCGATGCG
AAGCGGCTTACTGGCTTTACTGACGCTCAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATAGCTAGAT
GTTGGAGTACTG

>BH14

GATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGAGAATACCATGGCG
AAGGCAGTCTACTGGTCTATACTGACCCTCAGGGACGAAAGCGTGGGGAGC
AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTACTAGA
TGTTGGAGAGT

>BH15

GGTGAATTCCTCGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTTGGAGGAACACC
AATGGCGAAGGCAGCTTCCTGGTCCTTTACTGACGCTGATGGACGAAAGCG
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGG
ATACTAGCTGTTGGG

>BH16

GTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGCAGAACACCGATGGCGAAGGCA
GATTACTGGCAATATACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGCTGTT

>BH17

GTGTTGGAGGGGCAGAGGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATA
TCGGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGCTCTGCTGGGCCATCACTGACGCT
CATGGACGAAAGCCTGGGGAGCGAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCC

>BH19

GGTGGATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCTAGATATTACGGAGAATACCGAT
GCGAAGGCGGTCTACTGGCGCCTTACTGACGCTCAGGGACGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATAC
TAGATGTTGGA

>BH20

TAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTACATAGAACACCGATGGCGAAGG
CAGATTACTGGACCATTACTGACACTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGAT

>BH22

GTGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCGAAGAACACCGAT
GGCGAAGCGGCTTACTGGAACCTTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGG
GAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATAC
TAGATGTTGGAGGTTCTA

>BH23

GAGGGAGTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATACGAGAAC
ACCAGTGGCGAAGCGGTCTACTGGCCTTACTGACGCTCAGGGACGAAAGCG

TGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGA
ACTACTAGGTGTTGCGGGGATTCACC

>BH24

TCTTGAGTATGAGAGGGAGCGGAATTCCGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATCTCGAGGAACACCAATGGCGAAGGCGGCTTACTGGACCATAACTGACG
CTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAAAGGGATTAAATACCCTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATGAGACACTAGGTGTTAGGG

>BH25

GTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGAAGAATACCAATGGCGAAGGCA
GCTTACTGGCTCTTTACTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACA
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGATGTTG
GA

>BH27

GGTGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGCAGAACACC
GATGGCGAAGCAGCTTACTGGCTACTTTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCG
TGGGGAGCAAAACGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGG
ATACTAGCTGTTGGA

>BH30

AGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGAAGAACACCATGGCGAAGGCA
GCTTACTGGCATCCTATTACTGACGCTGAGAGACGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGATG
TTGG

>BH31

TGTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACATAGAATACCAATTGCGAA
GGCAGATCACTAACATTGTATTGACACTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCG
AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGCT
GTTCCGATTTATCTGAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAATATCCCACC

>BH32

TCAGAGGAGGTGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGA
GAACACCGATGGCGAAGGCGGCTTACTGGACCTATTACTGACGCTGAGGGA

CGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAAATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AACGATGGATACTAGATGTTGG

>BH33

TTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAAGAAGGAATACCGGTGGCGAAGG
CGGCCTCCTGGACCAATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGT
TGGGAGACTTGATCTCTTAGTGGCGCAACTAACGC

>BH34

TGGATTCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGCGGAAGAACACCGAT
GGCGAAGGCGGCTTACTGGCATCCTATTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCG
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGA
GTACTAGATGTTGCGA

>BH35

GTCTTGAGTCTGAAGAGGTAGAGTGGAATTCCAGTGTAGCGGTGAAATGCA
TAGATATTCGAGAACACCAATGGCGAAGGCGACTCACTGGACCATAACTGA
CGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
CCACGCCGTAAACGATGAATACTAGATGTTGGACGATTGAGCC

>BH37

CCACTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACAAAGAACACCGATGGCGAAG
GCAAATTACTAGACCAATACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCA
AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAG

>BH38

CCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGA
AGAGGAAAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGA
GGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAG
CGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA
AACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCCTTAGTGCTGCAGCTAA
CGCATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAG
GAATTGACGGAAACTC

>BH40

CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAA
CTGGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTC
TGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCC
CCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGG
TCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGAGCCT

>BH41

AAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTTGGAGGAACAC
CGGTGGCGAAGGCAGCTTCCTGGCTCATTACTGACACTGAGGTACGAAAGC
GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATG
ATAACT

>BH42

CTCGATCCAGAGGGAGTGGAATTCCTGCGTAGCGGTGAAATGCCTAGATAT
TCCGTAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGCTCACTGGTCCTATACTGACGCT
GAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCGTAAACGATGAGTACTAGTGTTGGGA

>BH43

TGAGAGAGGGAAGTGGAATTCCACATGTAGCGGTGAAATGCCTAGAGATGT
GGAGGAATATCGGTGGCGAAGGCGGCTTCCTGGCTCAATACTGACACTGAG
GTACGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC
GTAAACGATGAGAACTAGCTGTTGGGAATTGACTCAGTAGCGAAGCTAACG
CGTTAAGTTCTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGA
ATTGACGGACCT

>BH45

AGGTGAAATGCGTAGATATTTGGAGGAACACCAATGGCGAAGGCGGCTCTC
TGTTCAATACTGACGCTGAGGGGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA
AATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGATGTTGGGG

>BH46

CTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGAAGAACACCGATGGCGAAGGCA
GCTTACTGGCTCTTTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGATGTTG
G

>BH47

CTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTAGGAGGAACACCAATGGCGAAG
GCGACTTACTGGCCCTTTACTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAG

>BH48

GGATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTCGCAAGAATACCGATG
GCGAAGGCCTTACTGGCATCCTATTACTGACGCTGAGGAACGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATA
CTAGATGTTGGA

>BH49

TGGAATTCTGAGTGTAGGGGTGAAATGCGTAGATATTCGGAGGAACACCAA
AGGCGAAGGCGGCTATCTGGATCATAACTGACGCTGAGGGGCGAAAGCGTG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGT
GCTGGATGTTGGAATAATAGATTTTCAGTGTCTGAGCTAACGCGTTAAGCACT
CCG

>BH50

TGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACTTAGAATACCGAT
TGCGAAGGCAGATCACTGGCATTTTATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAAATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGA

>BH51

CTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTTGGAGGAATACCAATGGCGAAG
GCGACTCCCTGGACCATTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAAATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAG

>BH52

CTCGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTTGAAGGAACACCAATGGCGAAG
GCGACTCCCTGGACCATTACTGACGCTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTAG

>BH53

GTGGAATTCCCGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAGAACACCAGT
GGCGAAGCGACTTTCTGGACACTATACTGACGCTGATGCACGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTTTA
GCTAGCTGTTGGAG

>BH54

GGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTTGGAGGAACACCAGT
GGCGAAGGCGGCTTTCTGGGCCTATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGATTG
CT

>BH55

GTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACGAAGAACACCGATGGCGAAGGCA
ACTTACTGGACCTTTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGATGTTG
G

>BH56

CTAGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACATAGAACACCGATGGCGAAG
GCAGATCACTAGCCTTTTATTGACGCTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGA

>BH57

CCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACACCGATGGCGAA
GGCGGCTCCCTGGGCCTTTACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCA
AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATTACT

>BH58

CGTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTTTCATGGAACACCGATGGCGAAGGC
AGCTTACTGGACCTTTATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAAC

AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTTTACTAGATGTTG
GGG

>BH59

GAGGCGGAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCTAGATATGTCGTAGAACACC
ATGGCGAAGCGGCTTCTGGACCTATATTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGG
GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTTTA
CTCGATGTTGGGT

>BH60

TGCCTTTGATACTGGGAGTCTTGAGTTCGAGAGAGGTGAGTGGAATTCCTAG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAATGGCGAAGGCG
GCTCTCTGGCTCGATACTGACGCTGATGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATGCT

>BH61

AACTGCCTTTGATACTGGTAGACTTGAGTTCGGAAGAGGTGAGTGGAATTC
CTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAG
GCGGCTCACTGGTCCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATA

>BH62

AAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGA
GGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACTGACACTGAGGCG
CGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAA
AACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAA
CGCATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAG
GAATTGACGGAGA

>BH63

GTCCTTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGC
GACTCTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTT
AGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAAGCACTCCGCCTG
GGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGAGACT

>BH64

ACTGGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGT
CTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGAT
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTC
CGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCAC

>BH66

GTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACACAGAACACCGATTGCGAAG
GCAGCTTACTAACTATGATTGACGCTCATGAACGAAAGCGTGGGGAGCGA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACTATGATTACTCGATGT
TGGCGATTTACGGTCAGTGTCTAAGCGAAAGTGATAAGTAATCCACCTGGG
GAGTACGGTCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGC

>BH67

TTGCCTTTGATACTGGTTGTCTTGAATCATTGTGAAGTGGGTGGAATATGTA
GTGTAGCGGTGAAATGCATAGATATTACATAGAATACCAATTGCGAAGGCA
GATCACTAACAATGTATTGACACTGATGGACGAAAGCGTGGGGAGCGAACG
GGATTAGATACCCCGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGTCACTAGCTGTTC
GGACTTCGGTTTGAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTGACCCACCTGGGGA
GTACGTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGAGG

>BH68

TCGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAATTGCGAAGG
CGGCTTCCTGGACTATTACTGACGCTGAGGGACGAAAGCGTGGGGAGCAAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGTAGCTAGC

>BH70

AATTCCTCGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGCGAAGGAACACCAATGG
CGAAGGCGACTCCCTGGACCTTTACTGACGCTGAGGCACGAAAGCGTGGGG
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTTT

>BH71

TCTGGGGTGAAATCCCAGGGCTCAACCCTGGAAGTGCCTTTGATACTGCTGG
TCTGGAGTTTGGAAGAGGTGAGTGGAATTCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCG

TAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGCTCTTTACT
GACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGAATGCTAGCCGTCGGGCAGTATACTGTTCCG
TGACGCACCTAACGGATTAAACATTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGAT
TAAAACTCAAAGGAATTGACGGAG



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Büşra HAS

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Halit Armay Lisesi, 2009

Lisans : Kocaeli Üniversitesi, 2013

Mesleki Deneyim

İş Yeri : Pendik İMKB Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi, 2016-2019

İş Yeri : Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi, 2019-Günümüz