

**ULUABAT GÖLÜ TOKSİK SİYANOBAKTERİ TÜRLERİ
VE TOKSİNLERİNİN BELİRLENMESİ**

Mihriban ÖZEN



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ULUABAT GÖLÜ TOKSİK SİYANOBAKTERİ TÜRLERİ VE
TOKSİNLERİNİN BELİRLENMESİ**

Mihriban ÖZEN
0000-0003-2088-2314

Prof. Dr. Şükran DERE
(Danışman)

Prof. Dr. Mete YILMAZ
(İkinci Danışman)
(Bursa Teknik Üniversitesi)

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2020
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Mihriban ÖZEN tarafından hazırlanan “Uluabat Gölü Toksik Siyanobakteri Türleri ve Toksinlerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Şükran DERE

İkinci Danışman : Prof. Dr. Mete YILMAZ, Bursa Teknik Üniversitesi

Başkan : Prof. Dr. Şükran DERE
0000-0002-6780-1270
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

İmza

Üye : Doç. Dr. Nurhayat Dalkıran
0000-0002-1222-8809
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

İmza

Üye : Doç. Dr. Muharrem BALCI
0000-0001-9373-6647
İstanbul Üniversitesi,
Fen Fakültesi,
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Didem KARACAOĞLU
0000-0003-4288-8389
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gökçe TANER
0000-0002-0290-1166
Bursa Teknik Üniversitesi,
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü

...././....

B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

03/02/2020



Mihriban ÖZEN

ÖZET

Doktora Tezi

ULUABAT GÖLÜ TOKSİK SİYANOBAKTERİ TÜRLERİ VE TOKSİNLERİNİN BELİRLENMESİ

Mihriban ÖZEN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şükran DERE

İkinci Danışman: Prof. Dr. Mete YILMAZ (Bursa Teknik Üniversitesi)

Küresel ısınma ve antropojenik ötrofikasyona bağlı olarak dünyanın pek çok bölgesinde özellikle de tatlısularda yaygın siyanobakteri çoğalmaları meydana gelmektedir. Siyanobakteriler, sularda hem tat ve koku problemlerine yol açarak hem de ürettikleri siyanotoksinler ile sucul ekosistemleri olumsuz etkilemektedir. Bu çalışma ile ülkemiz açısından ekolojik öneme sahip Uluabat Gölü'nün, siyanotoksinler ve potansiyel toksik siyanobakteriler açısından araştırılması amaçlanmıştır. Su kolonu ve plankton çekimi örnekleri, 2015 ve 2016 yıllarının Haziran ve Eylül ayları arasında dört farklı noktadan toplanmıştır. Uluabat Gölü'nden izole edilen siyanobakteri suşlarının kültürü yapılmıştır. Hem alan örneklerinde hem de kültür örneklerinde mikrosistin, saksitoksin, anatoksin-a ve silindrospermopsin toksinlerinin varlığı enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA) ve reseptör bağlanma analizi (RBA) ile araştırılmıştır. Diğer yandan örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile 16S rRNA ve toksin genlerinin taraması yapılmıştır. Morfolojik karakterizasyon ile izole edilen suşların *Microcystis aeruginosa*, *Dolichospermum* cf. *sigmoideum*, *Limnothrix planctonica*, *Cuspidothrix issatschenkoi*, *Calothrix elenkinii*, *Planktothrix isothrix*, *Dolichospermum ellipsoides*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*, *Synechocystis aquatilis*, *Aphanocapsa grevillei* ve *Microcystis smithii* taksonlarına ait olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 16S rRNA gen dizilerine dayalı neighbor-joining (NJ) ve maximum likelihood (ML) filogenetik ağaçları, dokuz suşun *M. aeruginosa*, *Limnothrix* sp., *Calothrix* sp., *S. aphanizomenoides* ve *C. issatschenkoi* taksonlarına ait olduğunu doğrulamıştır. Uluabat Gölü'nde ve gölden izole edilen *M. aeruginosa* (Aquameb 24 ve 25) suşlarında *mcy* genleri ve mikrosistin üretimi tespit edilmiştir. Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) analizi ile Aquameb 24 suşunda 430 µg g⁻¹ kuru ağırlık, 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde 75 µg g⁻¹ kuru ağırlık toplam MC tespit edilmiştir. Ayrıca *M. smithii* ve *A. grevillei* suşlarında *mcyA* ve *mcyB* genleri saptanmıştır. Plankton çekimi örneklerinden klonlanan *mcyA* dizileri, filogenetik ağaçlarda dünyadaki *M. aeruginosa* suşlarıyla birlikte gruplanmıştır. Moleküler ve toksikolojik veriler, *M. aeruginosa* türünün Uluabat Gölü'nde mikrosistin üretimine katkıda bulunan temel tür olduğunu fakat gölde mikrosistin üreticisi olabilecek *Microcystis* cinsine ait başka türlerin veya başka cinslerin bulunabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışma Uluabat Gölü'nde mikrosistin ve üreticileri ile ilgili bilgi vermesi açısından önem teşkil etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Uluabat Gölü, Mikrosistin, Saksitoksin, Anatoksin-a, Silindrospermopsin, 16S rRNA, Siyanobakteri Kültürü, ELISA, PCR, Filogenetik

2020, xiii + 188 sayfa.

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF TOXIC CYANOBACTERIA AND TOXINS IN LAKE ULUABAT

Mihriban ÖZEN

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Şükran DERE

Second Supervisor: Prof. Dr. Mete YILMAZ (Bursa Technical University)

In many parts of the world, especially in freshwaters, widespread cyanobacteria proliferation occurs due to global warming and antropogenic eutrophication. Cyanobacteria adversely affects aquatic ecosystems both by causing taste and odor problems in waters and with cyanotoxins they produce. The aim of this study was to investigate cyanotoxins and potentially toxic cyanobacteria in Lake Uluabat, an important ecological site for our country. Water column and plankton tow samples were collected from four different sites between June and September of 2015 and 2016. Cyanobacterial strains isolated from Uluabat Lake were cultured. The presence of cyanobacterial toxins microcystin, saxitoxin, anatoxin-a and cylindrospermopsin in both field samples and culture samples were investigated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and receptor-binding assay (RBA). On the other hand, 16S rRNA and toxin genes were screened by polymerase chain reaction (PCR) in these samples. Morphological characterizations suggested that the isolated strains belonged to *Microcystis aeruginosa*, *Dolichospermum* cf. *sigmoideum*, *Limnothrix planctonica*, *Cuspidothrix issatschenkoi*, *Calothrix elenkinii*, *Planktothrix isothrix*, *Dolichospermum ellipsoides*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*, *Synechocystis aquatilis*, *Aphanocapsa grevillei* and *Microcystis smithii*. In addition, neighbor-joining (NJ) and maximum likelihood (ML) phylogenetic trees based on 16S rRNA gene sequences confirmed that nine strains belonged to *M. aeruginosa*, *Limnothrix* sp., *Calothrix* sp., *S. aphanizomenoides* and *C. issatschenkoi*. *Mcy* genes and microcystin production was determined in Lake Uluabat and *M. aeruginosa* (Aquameb 24 and 25) strains isolated from the lake. Total MC determined in Aquameb 24 strain was 430 µg g⁻¹ dry weight, in plankton tow samples of 22.07.2015 Site 1 was 75 µg g⁻¹ dry weight as determined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis. In addition, *mcyA* and *mcyB* genes were detected in *M. smithii* and *A. grevillei* strains. In the phylogenetic trees, the *mcyA* sequences cloned from plankton tow samples were grouped together with those from *M. aeruginosa* strains in the world. Molecular and toxin data suggest that *M. aeruginosa* is the main species that contributes to the production of microcystins in Lake Uluabat. However, other *Microcystis* species or other genera may be producing microcystins as suggested by MC variants in the lake samples. This study is important in terms of providing information about microcystin and its producers in Lake Uluabat.

Key words: Lake Uluabat, Microcystin, Saxitoxin, Anatoxin-a, Cylindrospermopsin, 16S rRNA, Culture of Cyanobacteria, ELISA, PCR, Phylogenetic

2020, xiii + 188 pages.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Her zaman yanımda olan, ilgisini ve güler yüzünü benden esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Şükran DERE'ye,

Bursa Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü laboratuvarlarının kapılarını bana açan, çeşitli projelerde birlikte çalışmamıza imkan tanıyan, değerli fikirleriyle bana yol gösteren ikinci danışmanım değerli Prof. Dr. Mete YILMAZ'a,

Teşhislerim sırasında benden desteklerini esirgemeyen, varlıkları ve fikirleri ile tezime ve hayatıma ışık tutan değerli hocalarım Doç. Dr. Nurhayat DALKIRAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Didem KARACAOĞLU'na,

Tezimin düzenlenmesinde bana yardımcı olan sevgili kardeşim Şeref ÖZEN'e,

Her zaman yanımda olduğunu hissettiğim babam Ahmet ÖZEN'e,

Tez çalışmalarım ve yazım aşamalarımda beni yaşından daha büyük bir olgunluk ve anlayışla karşılayan sevgili kızım Zeynep Tanem ÇETİN'e,

Okul yıllarımda en başından beri her zaman yanımda olan, bana inanan, beni rahatlatan, cesaretlendiren, omuzlarımdaki yüklerin çoğunu üstlenen sevgili annem Hasene ÖZEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması "Uluabat Gölü siyanobakteri (Mavi-yeşil alg) çeşitliliğinin, mevcut siyanobakteri toksinlerinin ve toksik siyanobakteri türlerinin belirlenmesi" isimli 114Y641 no'lu TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Mihriban ÖZEN
03/02/2020

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Siyanobakteriler.....	5
2.2. Siyanotoksinler.....	6
2.3. Siyanotoksinlerin Yapısı, Etki Mekanizması ve Toksisitesi.....	8
2.3.1. Mikrosistinler.....	8
2.3.2. Anatoksinler.....	15
2.3.3. Saksitoksinler.....	18
2.3.4. Silindrospermopsinler.....	23
2.4. Toksik Siyanobakterilerin ve Siyanotoksinlerin Tespit Edilmesi.....	27
2.5. Türkiye’de Siyanobakteriler ve Toksinleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	42
3.1. Çalışma Alanının Tanımı ve Örnekleme Noktaları.....	42
3.2. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması.....	44
3.3. Toksik Siyanobakteri Türlerinin Teşhisi, İzolasyonu ve Kültürü.....	46
3.4. Fiziksel ve Kimyasal Analizler.....	48
3.5. Klorofil a Miktarının Belirlenmesi.....	49
3.6.1. Toksin analizleri için örneklerin hazırlanması.....	51
3.6.2. ELISA ve RBA ile toksin analizleri.....	52
3.6.3. LC-MS/MS ile toksin analizleri.....	56
3.7. Genetik ve Filogenetik Analizler.....	56
3.7.1. Genomik DNA izolasyonu.....	56
3.7.2. DNA Miktarı ve saflığının belirlenmesi.....	58
3.7.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	58
3.7.4. PCR ürünlerinin elektroforezi ve görüntülenmesi.....	63
3.7.5. Agaroz jelden DNA ekstraksiyonu.....	63
3.7.6. pGEMT-Easy vektör ile klonlama.....	63
3.7.7. Sekanslama ve filogenetik analizler.....	64
4. BULGULAR.....	66
4.1. Fiziksel ve Kimyasal Bulgular.....	66
4.2. Klorofil a miktarı.....	81
4.3. İzole Edilen Siyanobakteri Suşlarının Kültürü ve Morfolojik Tanımlaması.....	83
4.4. Toksin Analizleri.....	96
4.4.1. ELISA ve RBA analizleri.....	96
4.4.2. LC-MS/MS analizleri.....	103
4.5. Genetik ve Filogenetik Analizler.....	105
4.5.1. 16S rRNA ve toksin genlerinin belirlenmesi.....	105
4.5.2. İzole edilen suşların 16S rRNA genine dayalı filogenetik analizleri.....	116
4.5.3. Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden klonlanan <i>mcyA</i> dizilerinin filogenetik analizleri.....	119

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	123
KAYNAKLAR	147
ÖZGEÇMİŞ	188

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
α	Alfa
β	Beta
ppt	Binde Bir
Da	Dalton
fg	Femtogram
g	Gram
hm ³	Hektometreküp
H ⁺	Hidrojen İyonu
pH	Hidrojenin Gücü
Ca ⁺²	Kalsiyum İyonu
CO ₂	Karbondioksit
kg	Kilogram
km	Kilometre
km ²	Kilometre Kare
L	Litre
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
m	Metre
m ³	Metreküp
μ g	Mikrogram
μ L	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
μ mol	Mikromol
μ M	Mikromolar
μ S	Mikrosiemens
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
ppb	Milyarda Bir
ng	Nanogram
nm	Nanometre
N	Normalite
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
Na ⁺¹	Sodyum İyonu
LD ₅₀	Test Edilen Populasyonun Yarisını Öldürmek İçin Gereken Doz
%	Yüzde
s	Saniye
pmol	Pikomol
u	Unit (Birim)

Kısaltmalar

Açıklama

ABA	Absisik Asit
ORF	Açık Okuma Çerçevesi
ATP	Adenozin Trifosfat
Adda	3-amino-9-metoksi-2,6,8-trimetil-10-fenildeka-4,6-dienoik asit
ATX	Anatoksin
ATX-a	Anatoksin-a
ATX-a(s)	Anatoksin-a(s)
<i>ana</i>	Anatoksin biyosentez genleri
AKM	Askıdaki Katı Madde
BMAA	β -N-metilamino-L-alanin
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bç	Baz Çifti
GF/F	Cam Mikrofiber Filtre Kağıdı
DO	Çözünmüş oksijen
D-Glu	D-Glutamik asit
dk	Dakika
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
dcNEO	Dekarbomilneosaksitoksin
DGGE	Denature Edici Gradient Jel Elektrofrez
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dmMC	Desmetillenmiş MC
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EC	Elektriksel İletkenlik
ESIMS	Elektrosprey İyonizasyon Tandem Kütle Spektrometresi
ELISA	Enzim Bağlı İmmünoorbent Deneyi
Phe a	Feofitin a
IGS	Fikosiyanın İntergenik Spacer
FISH	Floresan in-Situ Hibridizasyon
PDA	Fotodiyot Dizisi
PAR	Fotosentezde Aktif Işınım
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GC	Guanin Sitozin İçeriği
HILIC	Hidrofobik Etkileşim Sıvı Kromatografisi
HCl	Hidroklorik Asit
hATX-a	Homoanatoksin-a
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
ITS	İnternal Transkribe Edilen Aralık
qPCR	Kantitatif PCR
CE	Kapiller Elektrofrez
SPE	Katı-Faz Ekstraksiyonu
kb	Kilo Baz
Chl a	Klorofil a
MS	Kütle Spektrometresi

Kısaltmalar	Açıklama
MALDI-TOF	Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanı
MALDI-TOF-MS	Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu-Uçuş Zamanlı-Kütle Spektrometresi
ML	Maximum Likelihood
MC	Mikrosistin
<i>Mcy</i>	Mikrosistin Sentetaz Genleri
Mega	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NJ	Neighbor-Joining
nAChRs	Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri
NOD	Nodularin
<i>nda</i>	Nodularin Sentetaz Gen Kümesi
NRPS	Non-Ribozomal Peptid Sentetazlar
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
OD	Optik Yoğunluk
OATP	Organik Anyon Taşıyan Polipeptit
Ort	Ortalama
PST	Paralitik Kabuklu Toksinleri
PSP	Paralitik Kabuklu Zehirlenmeleri
PS	Peptid Sentetaz
PKS	Poliketid Sentaz
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PVC	Polivinil Klorid
PP1	Protein Fosfataz 1
PP2A	Protein Fosfataz 2A
PPIA	Protein Fosfataz İnhibisyon Deneyi
RAPD	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
RBA	Reseptör Bağlanma Analizi
RNA	Ribonükleik Asit
rDNA	Ribozomal DNA
rRNA	Ribozomal RNA
rpoβ	RNA Polimeraz Beta Alt Birim Geni
STX	Saksitoksin
<i>sxt</i>	Saksitoksin Biyosentezi Gen Kümesi
LC	Sıvı Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi/Kütle Spektrometresi
CYN	Silindrospermopsin
<i>cyr</i>	Silindrospermopsin Gen Kümesi
SD	Standart Sapma
SKKY	Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği
T-RFLP	Terminal Kısıtlama Fragmanı Uzunluğu Polimorfizmi
TLA	Tespit Limiti Altı

Kısaltmalar**Açıklama**

TE	Tiyoesteraz
TBE	Tris-Borat-EDTA
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
UV	Ultraviyole
Bootstrap	Yeniden-örnekleme
YSKY	Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliği
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SELDI-TOF	Yüzey Geliştirilmiş Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu-Uçuş Süresi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Mikrosistinin genel kimyasal yapısı	9
Şekil 2.2. <i>Mcy</i> genlerinin nükleotid dizilerine ve fonksiyonel analizlerine göre mikrosistin sentetazın bileşenlerinin rolü.....	11
Şekil 2.3. <i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Anabaena</i> 'da mikrosistin gen kümelerinin ve <i>Nodularia</i> 'da nodularin sentetaz gen kümesinin yapısal organizasyonu	12
Şekil 2.4. Anatoksin varyantlarının kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.5. Anatoksin-a biyosentetik gen (<i>ana</i>) kümeleri.....	17
Şekil 2.6. Saksitoksinin temel kimyasal yapısı	20
Şekil 2.7. Bazı siyanobakteri suşlarında saksitoksin kodlayan gen kümeleri	21
Şekil 2.8. Silindrospermopsin ve varyantlarının kimyasal yapısı	24
Şekil 2.9. Bazı siyanobakteri suşlarında silindrospermopsini kodlayan <i>cyr</i> gen kümeleri	25
Şekil 3.1. Uluabat Gölü örnekleme noktaları.....	44
Şekil 4.1. Uluabat Gölü'nde 10.07.2015 tarihinde yüzeyde görülen siyanobakteri artışı	78
Şekil 4.2. Uluabat Gölü'nde 10.07.2015 tarihindeki yoğun siyanobakteri artışı.....	79
Şekil 4.3. Uluabat Gölü'nde örnekleme noktası 1'de zengin sucul bitki örtüsü ve su seviyesindeki belirgin azalma.....	80
Şekil 4.4. Farklı hacimlerde ve iklim kabininde kültüre alınan suşlar.....	83
Şekil 4.5. Cam tüplerde monosiyanobakteriyel kültürü oluşturulmuş suşlar	84
Şekil 4.6. İzole edilip kültüre alınan suşlar-I.	86
Şekil 4.7. İzole edilip kültüre alınan suşlar-II.	87
Şekil 4.8. İzole edilip kültüre alınan suşlar-III.....	88
Şekil 4.9. İzole edilip kültüre alınan suşlar-IV.	89
Şekil 4.10. 2015 yılının Temmuz ve Ağustos aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	106
Şekil 4.11. 2015 yılının Ağustos ve Eylül aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	106
Şekil 4.12. 2016 yılının Haziran ve Temmuz aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	107
Şekil 4.13. 2016 yılının Ağustos ve Eylül aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	107
Şekil 4.14. 2015 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde PCR sonucu elde edilen <i>mcyA</i> geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	110
Şekil 4.15. 2016 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde PCR sonucu elde edilen <i>mcyA</i> geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	110
Şekil 4.16. 2015 yılına ait 14 plankton çekimi örneğinde <i>mcyE</i> gen bölgesine özgü genel primerler ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü	111
Şekil 4.17. 2015 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde <i>mcyE</i> geni amplifikasyon sonuçları	111

Şekil 4.18. İzole edilen suşların 1470 bp uzunluğundaki 16S rRNA gen parçalarının agaroz jeldeki görüntüsü (Suş 1-9).....	113
Şekil 4.19. İzole edilen suşların 1470 bp uzunluğundaki 16S rRNA gen parçalarının agaroz jeldeki görüntüsü (Suş 10-18).....	113
Şekil 4.20. İzole edilen suşların bazılarında PCR sonucu elde edilen <i>mcyA</i> geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	115
Şekil 4.21. İzole edilen suşların bazılarında PCR sonucu elde edilen <i>mcyB</i> geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü.....	115
Şekil 4.22. İzole edilen suşların neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan 16S rRNA genine dayalı filogenetik ağacı.....	117
Şekil 4.23. İzole edilen suşların maximum likelihood yöntemi ile oluşturulan 16S rRNA genine dayalı filogenetik ağacı.....	118
Şekil 4.24. Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden elde edilen <i>mcyA</i> klonu dizilerinin, <i>Microcystis</i> taksonlarına ait <i>mcyA</i> dizileriyle filogenetik ilişkilerini gösteren NJ ağacı.....	120
Şekil 4.25. Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden elde edilen <i>mcyA</i> klonu dizilerinin, <i>Microcystis</i> taksonlarına ait <i>mcyA</i> dizileriyle filogenetik ilişkilerini gösteren ML ağacı.....	121

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Uluabat Gölü örnekleme noktalarının koordinatları	44
Çizelge 3.3. Primer çiftleri için amplifikasyon koşulları ve kullanılan PCR enzimleri..	62
Çizelge 4.1. 2015 yılına ait arazi tarihleri, örnekleme saatleri ve örnekleme noktalarında gözlemlenen derinlikler	67
Çizelge 4.2. 2016 yılına ait arazi tarihleri, örnekleme saatleri ve örnekleme noktalarında gözlemlenen derinlikler	67
Çizelge 4.3. Nokta 1 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	68
Çizelge 4.4. Nokta 2 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	69
Çizelge 4.4. Nokta 2 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (devam)	70
Çizelge 4.5. Nokta 3 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	71
Çizelge 4.6. Nokta 4 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	72
Çizelge 4.7. Nokta 1 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	73
Çizelge 4.8. Nokta 2 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	74
Çizelge 4.9. Nokta 3 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	75
Çizelge 4.10. Nokta 4 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler	76
Çizelge 4.11. 2015 ve 2016 yıllarının Haziran ve Eylül ayları arasındaki periyotta dört farklı örnekleme noktasına ait klorofil a değerleri.....	82
Çizelge 4.12. İzole edilen suşlar, suşların izole edildikleri yer ve tarihler, yetiştikleri kültür ortamları, kültür koleksiyonundaki kodları.....	85
Çizelge 4.13. 2015 yılında su kolonunda ELISA ile tayin edilmiş mikrosistin, saksitoksin, silindrospermopsin; RBA ile analiz edilmiş anatoksin konsantrasyonları	97
Çizelge 4.14. 2015 yılında plankton çekimi örneklerinde ELISA ile tayin edilmiş mikrosistin, saksitoksin, silindrospermopsin; RBA ile analiz edilmiş anatoksin konsantrasyonları.....	99
Çizelge 4.15. 2016 yılına ait plankton çekimi ve su kolonu örneklerinde ELISA ile tayin edilmiş mikrosistin konsantrasyonları	101
Çizelge 4.16. Kültüre alınan suşların ELISA analizlerine göre mikrosistin,saksitoksin ve silindrospermopsin; RBA analizine göre anatoksin konsantrasyonları ...	102
Çizelge 4.17. LC-MS/MS metodu ile hedeflenmiş mikrosistinlerin analiz sonuçları ..	104
Çizelge 4.18. 2015 yılına ait plankton çekimi örneklerinde 16S rRNA, <i>mcyA</i> , <i>cyrC</i> , <i>sxtA</i> ve <i>anaC</i> genlerinin taranması	108
Çizelge 4.19. 2016 yılına ait plankton çekimi örneklerinde 16S rRNA, <i>mcyA</i> , <i>cyrC</i> , <i>sxtA</i> ve <i>anaC</i> genlerinin taranması	109
Çizelge 4.20. Genel ve cinse özgü primerler ile 2015 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde <i>mcyE</i> gen bölgesinin taranması	112

Çizelge 4.21. İzole edilen suşlarda PCR ile belirlenen 16S rRNA, mikrosistin, saksitoksin, silindrospermopsin ve anatoksin genleri.....	114
---	-----

1. GİRİŞ

Siyanobakteriler, içerdikleri pigmentleri sayesinde fotosentez yapabilen prokaryotik organizmalardır. Klorofil ve fikobilin pigmentleri nedeniyle bu organizmalar genellikle karakteristik olarak mavi-yeşil renklerde görüldüğü için önceleri “mavi-yeşil algler” olarak da adlandırılmıştır. Sucul ekosistemlerde primer verimliliğe katkıda bulunan bu organizmalar, farklı çevrelerde yaşamaya adapte oldukları için ekstrem habitatlar da dahil olmak üzere sucul ve karasal ekosistemler gibi dünyanın pek çok bölgesinde yaşamaktadır (Hitzfeld ve ark. 2000, Sompong ve ark. 2005, Taton ve ark. 2006).

Günümüzde küresel ısınmanın bir sonucu olarak iklimlerin değişmesi, yıllık sıcaklıkların ve ışık yoğunluğunun artması ile diğer yandan endüstriyel faaliyetler ve insan aktiviteleri ile sulardaki nutrient girişinin fazlaşması ötrofikasyonu hızlandırmakta ve bu organizmaların sulara aşırı derecede çoğalması için uygun ortamları yaratmaktadır (Paerl 2008, Hudnell 2010). Aşırı alg çoğalmaları, sucul ekosistemlerde oksijenin azalmasına neden olarak balıklarda kitlesel ölümlere yol açmakta; aynı zamanda suyun tat ve kokusunu bozarak da su kalitesini olumsuz etkilemektedir (Cheung ve ark. 2013). Ayrıca siyanobakteriler; siyanotoksin denilen doku, hücre veya organizmalara zararlı etkileri olan sekonder bileşikler üretmektedir (Carmichael 1992a).

Siyanobakteriler, yaklaşık olarak 4727 tür sayısına sahiptir (Guiry ve Guiry 2020). Siyanobakteriler içerisinde temel toksin üretici taksonlar: *Oscillatoria (Planktothrix)*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermum*, *Microcystis*, *Synechocystis*, *Cylindrospermopsis*, *Scytonema*, *Hapalosiphon*, *Schizothrix*, *Gleotrichia*, *Nodularia* ve *Nostoc*'dur (Kabziński ve ark. 2000). Siyanotoksinlerin etki mekanizmaları farklılık göstermekle birlikte siyanotoksinler, etki ettikleri organlara ve kimyasal yapılarına göre gruplara ayrılmaktadır. Siyanotoksinler etkiledikleri organa göre: 1) Nörotoksinler: Anatoksin-a (ATX-a), anatoksin-a(s) (ATX-a(s)), homoanatoksin-a (hATX-a), saksitoksin (STX); 2) Hepatotoksinler: silindrospermopsin (CYN), mikrosistin (MC)'ler ve nodularin (NOD)'ler olarak temelde ikiye ayrılır. Ayrıca deriyle temas halinde deriyi tahriş edici özellikte olan toksinler (dermal toksinler) de vardır (debromoaplysiatoksin, lyngbyatoksin ve aplysiatoksin) (Carmichael 2001). Diğer yandan siyanotoksinler

kimyasal yapılarına göre: 1) Siklik peptidler, 2) Alkaloidler ve 3) Lipopolisakkarit endotoksinler şeklinde gruplara ayrılmaktadır (Codd 2000).

Siyanotoksinler genellikle hücre içerisinde bulunmakta ve sadece hücreler parçalandığında ortama önemli miktarlarda salınmaktadır. Suda çözünübilirlikleri ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle sucul çevrede çok uzun süreler kalabilmektedir (Chorus ve Bartram 1999). Dolayısıyla canlılar, siyanobakteri toksinleri ile kontamine olmuş suların yutulması, dermal teması, besinlerle alınması (kabuklu deniz ürünleri vb.) (Funari ve Testai 2008), soluma yolu (Backer ve ark. 2010), hemodiyaliz (Elder ve ark. 1993, Hruday ve ark. 1994, Jochimsen ve ark. 1998, Pourida ve ark. 1998) ile bu toksinlere maruz kalabilmektedir. Siyanobakteri toksinlerinin bulunduğu sulara maruz kalmış gıdaların tüketiminin insan ve hayvanlarda ciddi tehlikeler yaratacağı açıktır (Falconer ve ark. 1992, Codd ve ark. 1999). Codd ve ark. (1999) çalışmalarında *Microcystis aeruginosa* içeren su ile sulanan marul yapraklarında yıkansa dahi mikrosistin toksininin uzaklaştırılmadığını göstermişlerdir. Diğer yandan ötrofik karakterdeki tatlısularda toksik siyanobakteri çoğalmaları (bloom) pek çok ülkede rapor edilmiştir. Bu toksik siyanobakteri çoğalmaları, evcil ve yabani hayvanların ölümüne (Carmichael 1992b, Carmichael 1994), insanlarda hastalığa (Kuiper-Goodman ve ark. 1999) hatta ölüme (Jochimsen ve ark. 1998, Pouria ve ark. 1998, Carmichael ve ark. 2001) bile sebep olmuştur. Siyanotoksinlerden kaynaklanan en şiddetli zehirlenme 1996'da Brezilya'da görülmüştür. Yüz otuz bir hastanın elli altısı mikrosistin ile kontamine olmuş suyun hemodiyaliz tedavisinde alınmasından sonra ölmüştür (Anonim 2003).

Sularda kütlece yüksek popülasyonlara ulaşan siyanobakteriler genellikle çok çeşitli toksinler ürettiği için (Carmichael 1989, Codd ve ark. 1989, Codd ve ark. 1995, Carmichael 1997) özellikle de sulama ve içme suyu amacı ile kullanılan suların toksik siyanobakteriler ve toksinleri açısından incelenmesi ve halkın bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Klasik yöntemler, sulardan siyanotoksinlerin uzaklaştırılmasında yeterli olmadığı için (Falconer 1996, Codd 2000) bu zararlı bileşikler sularda uzun süreler kalacak, doğrudan ve dolaylı olarak ilişkide bulunan her organizmayı etkileyecektir. Bu nedenle bu tez çalışmasında ülkemiz için büyük bir öneme sahip sulak alanlarımızdan olan Uluabat Gölü'ndeki toksik siyanobakteri türleri ve siyanotoksinleri belirlenmiştir.

Uluabat Gölü, Türkiye'nin kuzeybatısında Marmara Denizi'nin güneyinde bulunan sığ ve ötrofik karakterde olan bir göldür (Kazancı ve ark. 2004). Nesli tükenme tehlikesinde olan kuş türleri başta olmak üzere (Magnin ve Yarar 1997, Altınsoçlı ve Griffiths 2001, Cevik 2004) pek çok kuş türüne beslenme, barınma, üreme alanı sağlaması; kuş göç yolları üzerinde bulunması; yirmi bir balık türünü barındırması; özellikle kıyı bölgelerinin zengin sucul bitki örtüsü ile kaplı olması; farklı sucul bitki türlerini içermesi gibi özelliklerinden dolayı Türkiye'nin biyolojik tür çeşitliliği yüksek, ekonomik öneme sahip sulak alanlarından biri olarak kabul edilmektedir (Seçmen ve Leblebici 1996, Dalkıran ve ark. 2003, Karacaoğlu ve ark. 2004, Çınar ve ark. 2013). Zengin tür çeşitliliğine sahip olması ve endemik türlere ev sahipliği yapmasından dolayı 1998 yılında Ramsar Sözleşmesi ile koruma altına alınmış, 2000 yılında ise "Yaşayan Göller Ağı"na dahil edilmiştir (Reed ve ark. 2008).

Türkiye'nin en üretken tarımsal bölgelerinden biri olan gölde, balıkçılık da yöre halkı için önemli bir geçim kaynağıdır (Lammens ve Van den Berg 2001, Dalkıran ve ark. 2006). Son zamanlarda göl civarında artan insan aktivitesi, tarımsal ilaç ve gübreler, evsel atıklar, endüstriyel ve maden işletmelerinden suya karışan atıklar, hayvansal atıklar göldeki ekolojik dengeyi bozmakta ve ötrofikasyonu hızlandırmaktadır (Dalkıran ve ark. 2003, Karacaoğlu ve ark. 2004, Salihoğlu ve Karaer 2004). Diğer yandan küresel ısınmaya bağlı olarak gölde meydana gelen buharlaşma ve başta sulama olmak üzere çeşitli amaçlarla gölden su çekilmesi (Dalkıran ve ark. 2006), sedimentasyonun artması (Karacaoğlu ve ark. 2006) göldeki su seviyesini iyice azaltmakta; bu gibi durumlar da siyanobakterilerin yaşaması için elverişli ortama zemin hazırlamaktadır.

Türkiye'de toksik siyanobakteriler ve siyanotoksinlerle ilgili çok az çalışma yapılmıştır (Albay ve ark. 2003a, Albay ve ark. 2003b, Albay ve ark. 2005, Akçaalan ve ark. 2006, Akçaalan ve ark. 2009, Gürbüz ve ark. 2009, Gürbüz ve ark. 2012, Akçaalan ve ark. 2014, Kocasarı ve ark. 2015, Gürbüz ve ark. 2016, Tüney Kızılkaya ve ark. 2016, Karan ve ark. 2017, Köker ve ark. 2017a, Köker ve ark. 2017b, Yılmaz ve ark. 2018). Uluabat Gölü'nde ise Ulçay ve ark. (2010) yaptıkları çalışmalarında 2009 yılının Temmuz ayında *Microcystis aeruginosa* ve *M. wesenbergii* türlerinin aşırı çoğalma yaptıklarını göstermiştir. Diğer yandan Karacaoğlu ve ark. (2004) çalışmalarında Temmuz 1998 ile

Haziran 1999 arasında, Dalkıran ve ark. (2016a) ise Mart 2006 ile Ocak 2007 tarihleri arasında Uluabat Gölü'ndeki fitoplankton çeşitliliğini detaylı bir şekilde incelemişlerdir. *Microcystis*, *Nostoc*, *Anabaena/Dolichospermum*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Aphanizomenon*, *Raphidiopsis* ve *Phormidium* gibi siyanotoksin oluşturabilme özelliği olan taksonların varlığını tespit etmişlerdir (Karacaoğlu ve ark. 2004, Dalkıran ve ark. 2016a). Ancak bu çalışmaya kadar Uluabat Gölü'nde toksik siyanobakteri türleri ve göldeki siyanotoksinler ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Yapılan tez çalışmasının amacı Uluabat Gölü'nde bulunan toksin oluşturabilme potansiyeli olan siyanobakteri türlerinin izolasyonu; genetik, morfolojik ve toksikolojik karakterizasyonu ile göldeki siyanotoksinleri saptamaktır. Ekonomik ve ekolojik öneme sahip Uluabat Gölü'nde bulunabilecek toksik siyanobakterilerin ve siyanotoksinlerin, gerek burada yaşamını sürdüren canlılar gerekse balıkçılık ve tarım ile gölden geçimini sağlayan halk için bir tehlike yaratabileceği açıktır. Yapılan çalışma literatüre katkı sağlaması yanında, halkın bilinçlendirilmesine de katkıda bulunacaktır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Siyanobakteriler

Siyanobakterilerin fosil kalıntıları, 3500 milyon yıl öncesine kadar gitmektedir. Dünyada anaerobik koşulların hüküm sürdüğü zamanlarda, dereceli bir şekilde siyanobakteri fotosentezinden elde edilen oksijen, denizlerde ve atmosferdeki serbest oksijen seviyesini artırarak aerobik solunumu kullanan canlıların evrimleşmesine neden olmuştur. Ayrıca kloroplastların, simbiyotik siyanobakterilerden evrimleştiği ileri sürülmektedir (Stewart ve Falconer 2008).

Siyanobakteriler, nükleus ve mitokondrileri olmadığı için DNA (Deoksiribo Nükleik Asit)'ları sitoplazmalarında serbest halde bulunmakta ve bakteriler gibi prokaryotik formlar olarak sınıflandırılmaktadır. Klorofil-a (Chl a) pigmentinin yanısıra, yüksek yapılı bitkilerden farklı olarak fikosiyanın ve fikoeritrin denen özel fotosentetik pigmentlere sahiptir. Siyanobakteriler, Chl a'nın ışığı absorbe etmede yetersiz kaldığı dalga boylarında bu pigmentler sayesinde avantaj sağlayarak farklı derinliklerde yaşayabilmektedirler (Stewart ve Falconer 2008).

Siyanobakterilerin genetik olarak çok çeşitlilik göstermesi, bu organizma grubunun dünya üzerindeki farklı enlemlerdeki geniş dağılımına olanak sağlamaktadır. Siyanobakteriler; tatlı su, deniz ve kara ekosistemlerinden, sıcak su kaynakları, kutup bölgelerindeki okyanuslar, hipersalin ortamlar gibi ekstrem habitatlara kadar pek çok farklı bölgeye adapte olabilen, dünya üzerindeki en başarılı organizma gruplarından biridir (Mur ve ark. 1999, Whitton ve Potts 2000, Stewart ve Falconer 2008). Özellikle sucul sistemlerde, fotosentez ile primer verimliliğe katkı sağlamalarının yanında, karbon ve azot bütçelerine katkı sağlayarak hayati öneme sahip ekolojik fonksiyonları yerine getirmektedir (Stewart ve Falconer 2008).

Upwelling (yukarı akıntı) veya karasal akışlardan kaynaklanan nütrientlerin bol bulunduğu, nütrientçe zengin yüzey sularında siyanobakteriler yaygın olarak gelişmektedir. Büyümelerini sınırlandıran nütrientler, genellikle fosfat ve nitrattır

(Stewart ve Falconer 2008). Tatlısularda azotun çözünen formlarının, fosfatla karşılaştırıldığında nispeten daha bol olması ve siyanobakterilerin atmosferik azotu fikse edebilme yeteneklerinden dolayı fosfor konsantrasyonu, siyanobakteri büyümesini en çok sınırlayan faktördür. Işık, su sıcaklığı ve su kolonu stabilitesi (durağanlığı) gelişimlerini etkileyen diğer parametrelerdir. Çevresel koşullar uygun olduğunda büyük populasyon yoğunluklarına ulaşabilmektedirler (Humbert ve ark. 2001, Stewart ve Falconer 2008, Humbert 2009). Düşük fosfatlı çevrelerde hücrelerinde fosfatı depo edebilme, buyoyansı özelliği ve havanın serbest azotunu fikse edebilme yetenekleri sayesinde sucül ekosistemlerde diğer ökaryotik algere göre üstünlük sağlayabilirler (Stewart ve Falconer 2008).

Genellikle tarımsal ve endüstriyel kaynaklardan yüzey sularına aşırı besin girdisi, diğer organizmalara zararlı etkileri olan aşırı alg üremelerine neden olabilmektedir (Paerl ve ark. 2001, De Figueiredo ve ark. 2004, Hudnell 2010, Gkelis ve Zaoutsos 2014).

2.2. Siyanotoksinler

Siyanotoksinler, kimyasal ve toksikolojik açıdan doğal toksinlerin bir çeşit grubudur (Sivonen ve Jones 1999). Toksin ise “Düşük veya yüksek konsantrasyonlarda başka bir hücre, doku veya organizmaya zarar verebilecek mikrobiyal ürünler veya bileşenlerdir” (Carmichael 1992a, Prescott ve ark. 2002, Codd ve ark. 2005). Siyanobakteriler tarafından üretilen sekonder metabolit yapısındaki siyanotoksinler, diğer canlıların dokularında birikim gösterebilmektedir (Negri ve Jones 1995, Magalhães ve ark. 2001, Sipiä ve ark. 2002, Xie ve ark. 2005, Carmichael 1992a). Bazı siyanotoksinler (örneğin; STX’ler, lipopolisakkarit endotoksinler), sadece siyanobakteri gruplarına özgü olmayıp, diğer alg gruplarına ait türler tarafından da üretilebilmektedir (Metcalf ve Codd 2012).

Siyanobakteriler; yapılan alan ve laboratuvar çalışmalarında “toksik” veya “toksik olmayan” olarak adlandırılmaktadır (örneğin, Davis ve ark. 2009). Parçalanmamış siyanobakteri hücreleri, hücre lizatları veya siyanobakterilerin ürettiği siyanotoksinler, ekolojik olarak biota üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Metcalf ve Codd

2012). Siyanobakterilere özgü siyanotoksinler, farklı çevreler ve farklı organizmalar üzerinde farklı şekillerde etki göstermektedir (Xiong ve ark. 2014, Davis ve ark. 2009).

Siyanobakteriyel toksisite, ilk kez 1878 yılında Avustralya'da çiftlik hayvanlarının zehirlenmesinin bir sonucu olarak rapor edilmiştir. Bir haliç gölünün kıyılarında *Nodularia spumigena* türünü içeren siyanobakteri pisliğini içen at, koyun, domuz ve köpek gibi çiftlik hayvanlarında bilinçsizlik, sersemlik, düşme, sessiz kalma, uyku hali, kasılmalar, baş ve boyunda geriye doğru sert spazmlar ve ölüm tanımlanmıştır (Francis 1878, Stewart ve Falconer 2008).

Siyanobakteriyel toksinlere; kontamine içme suyu tüketimi, göllerin eğlence amaçlı kullanımı, kontamine besin takviyeleri gibi çeşitli yollarla maruziyetin, insan üzerine olan zararlarının riskleri yüzünden birçok ülkede sağlık yetkilileri, MC ve siyanobakteriler için kılavuz seviyeler belirlemektedir (Rogers ve ark. 2005, Stewart ve Falconer 2008).

Toksinlerin üretimi genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Genetik olarak toksin üretebilme potansiyeline sahip türler, her zaman toksin üretmeyebilmektedir. Bir siyanobakteri çoğalmasının toksisite potansiyelini tahmin etmek imkansızdır, çünkü potansiyel toksin üreticisi olduğu bilinen türler içerisinde bile toksin üreten ve üretmeyen genotipler, bir ekosistemden diğerine değişmekle kalmaz çoğalmanın seyri boyunca da değişen oranlarda meydana gelebilmektedir (Briand ve ark. 2008). Toksik hücrelerden üretilen toksin miktarı da hücre büyümesinin oranına bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmektedir (Sivonen 1990, Briand ve ark. 2005). Besin konsantrasyonları, su sıcaklığı ve pH gibi belirli çevresel faktörler, toksin üretimini etkilemektedir (Sivonen ve Jones 1999, Kaebernick ve Neilan 2001, Graham ve ark. 2004).

Siyanotoksinlerin doğal fonksiyonları ve ekolojik rolleri tam olarak açık olmamakla birlikte siyanobakterilerin, çeşitli hücre içi ve hücre dışı fonksiyonları yerine getirmek için siyanotoksinleri ürettiği düşünülmektedir (Codd 1995, Sivonen ve Jones 1999, Kaebernick ve Neilan 2001). Örneğin MC'lerin; zooplankton otlamasının (grazing) azaltılması, anti-herbivor bileşikler olarak korunmanın sağlanması, allelopatik etkileşimler veya hücre-hücre etkileşimleri gibi hücre dışı fonksiyonlarına sahip

olabileceği (Dittmann ve ark. 2001, Kaebernick ve Neilan 2001, Carmichael 1986; DeMott ve ark. 1991) değişik çalışmalarda ifade edilmiştir. Diğer yandan demir iyon dengesinin sağlanması (Utkilen ve Gjølme 1995), ışığın tutulmasının düzenlenmesi (Hesse ve ark. 2001) gibi işlevler MC'lerin hücre içi fonksiyonları olarak ileri sürülmüştür.

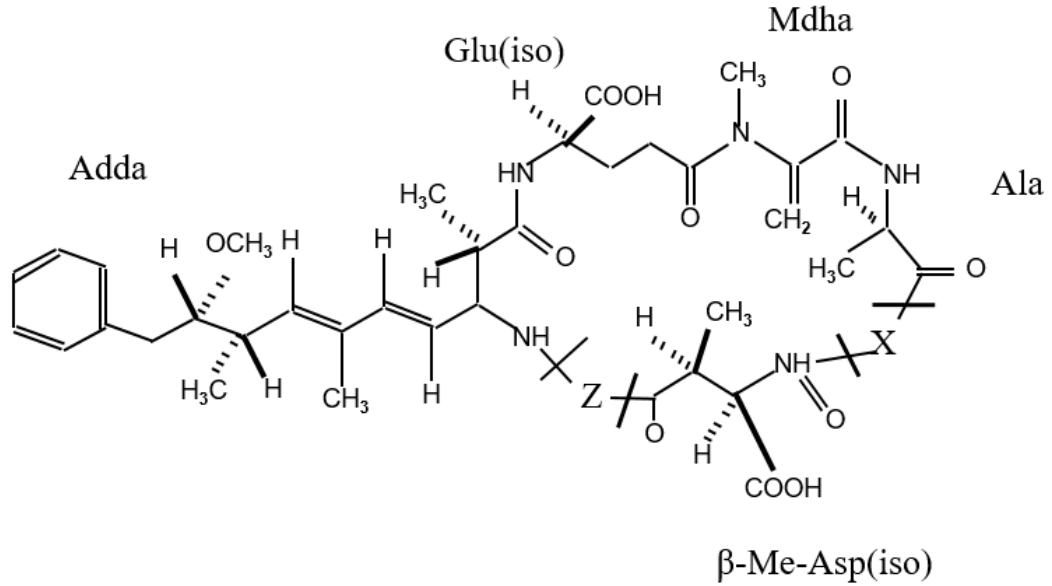
Siyanobakteriler tarafından üretilen toksinler toksik etkilerine, moleküler yapılarına ve kökenlerine göre sınıflandırılabilir (Van der Merve 2015). Başlıca karaciğeri hedef alan 3 toksin ailesi (Hepatotoksinler): MC'ler, CYN'ler ve NOD'lardır (Humbert 2009). ATX-a, hATX-a, ATX-a(s) ve STX'ler, nörotoksinler olup sinir sistemine etki etmektedir. Solunum, periferik ve iskelet kaslarını felç ederek kısa sürede solunum durması ile ölüme neden olabilmektedirler (Kuiper-Goodman ve ark. 1999, Duy ve ark. 2000). Yapılan çalışmalarda MC'ler ve anatoksin (ATX)'ler için çok az sayıda da olsa etkili panzehirler (antidot) olduğu, STX'ler için ise spesifik bir panzehir bulunmadığı rapor edilmiştir (Hermansky ve ark. 1990, Hyde ve Carmichael 1991).

2.3. Siyanotoksinlerin Yapısı, Etki Mekanizması ve Toksisitesi

2.3.1. Mikrosistinler

MC'ler peptid yapısında olan ve en bol bulunan siyanotoksinlerdir. Çoğunlukla sentezlendikleri hücrelerin içinde buldukları için endotoksinler olarak kabul edilmektedir (Stewart ve Falconer 2008). MC'ler, siklik heptapeptid yapısındaki toksinlerdir (Şekil 2.1). Yapılarında bulunan amino asitlerdeki çeşitli varyasyonlara göre MC'lerin son yıllarda yapılan çalışmalarda yaklaşık 250 varyantı tanımlanmıştır (Spoon ve Catherine 2017). Peptid halkasının yapısında yedi amino asit bulunmaktadır: D-alanin, L-X, D-eritro- β -metilaspartik asit (izo bağlantılı), L-Y, bir β amino asit olan Adda (3-amino-9-metoksi-2,6,8-trimetil-10-fenildeka-4,6-dienoik asit), D-Glutamik asit (D-Glu, izo bağlantılı), N-metildehidroalanin (Chorus ve Bartram 1999, Sivonen ve Jones 1999, Metcalf ve Codd 2012). Protein olmayan bir amino asit yapısındaki Adda molekülü, bir yan zincir oluşturmaktadır. Adda yan zinciri; MC varyantları arasında tutarlı olup, varyant tipinden bağımsız olarak MC'leri ölçmek için kullanılabilir. Peptid

halkasının 2'inci ve 4'üncü pozisyonlarındaki iki değişken amino asit (X ve Z), yapısal değişkenliğe en çok katkıda bulunan alanlardır. MC varyantları, değişken pozisyonlardaki protein amino asitleri baz alınarak adlandırılmaktadır (Carmichael ve ark. 1988). MC-LR; değişken grupta L-lösin ve L-arjinin içeren, MC'nin yaklaşık 250 varyantı içerisinde en bol bulunan formdur. MC-LR gibi toksisitesi çok yüksek varyantlarından (farelerde intraperitoneal uygulamada LD₅₀=50 µg kg⁻¹ vücut ağırlığı) (Chorus ve Bartram 1999, Wolf ve Frank 2002) toksik olmayan MC'lere (Rinehart ve ark. 1994) kadar varyantların moleküler ağırlıkları ve toksisiteleri çok değişkenlik göstermektedir (Sivonen ve Jones 1999). Genellikle, bireysel suşlar birden fazla MC varyantı üretmektedir (Sivonen ve Jones 1999). Molekülün Adda kısmı, toksisite için gereklidir. Ökaryotik hücrelerde protein fosfatazın aktif alanına sıkıca bağlanmaktadır (Stewart ve Falconer 2008).



Şekil 2.1. Mikrosistinin genel kimyasal yapısı (X ve Z değişken amino asitleri temsil etmektedir) (Lawton ve Edwards 2001)

Yapılan çalışmalarda MC'nin peptid omurgası için nonribozomal, Adda kısmı için bir poliketid biyosentez yolu ileri sürülmüştür (Arment ve Carmichael 1996). Non-ribozomal peptid sentetazlar (NRPS); her bir modülün, tek bir amino asidin aktivasyonundan, modifikasyonundan ve kondenzasyonundan sorumlu olduğu; büyük, çok fonksiyonlu modüler enzim ailesini temsil etmektedir. Bu enzimler, ribozomlar üzerinde alternatif bir

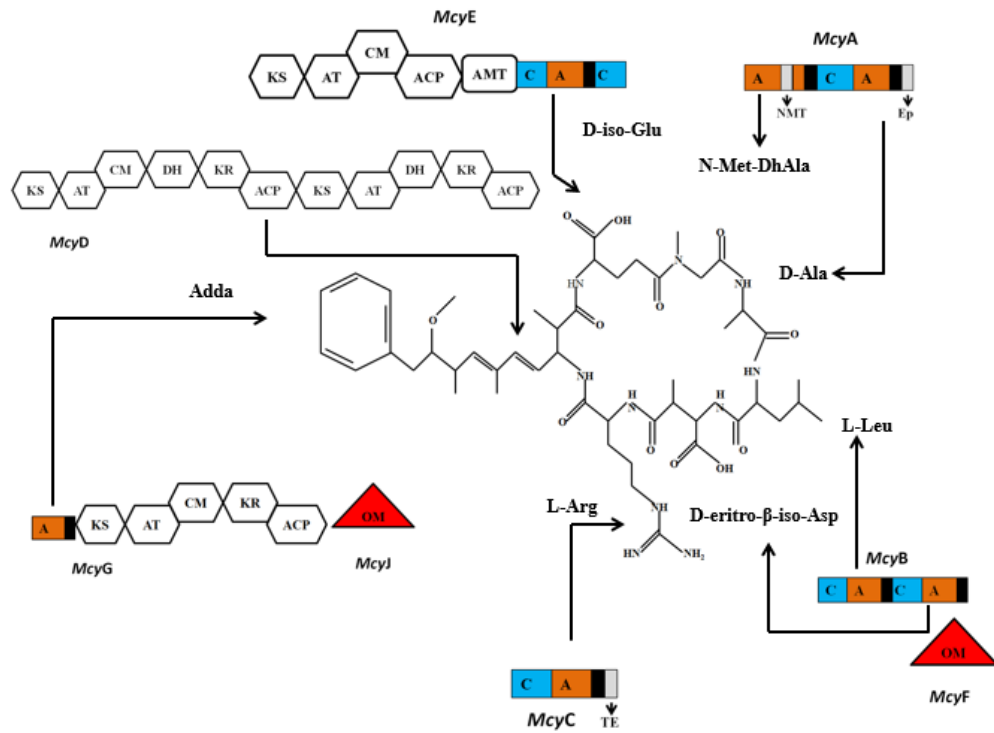
yol olarak peptitlerin biyosentezi için şablon görevi gören büyük kompleksler oluşturmaktadır (Marahiel ve ark. 1997, Von Döhren ve ark. 1997). Çok sayıda bakteriyel poliketid ise, modüler poliketid sentazlarının (PKS) etkisiyle benzer şekilde sentezlenmektedir. MC'ler, NRPS ve PKS tarafından oluşturulan çoklu enzim komplekslerinde sentezlenmektedir (Börner ve Dittmann 2005).

NRPS genleri, siyanobakterilerde ilk kez MC üreten ve üretmeyen *Microcystis* hücreleri araştırılarak tanımlanmıştır (Dittmann ve ark. 1996, Meißner ve ark. 1996). MC üretimi için gerekli olan genlerin tanımlanması; *M. aeruginosa* PCC7806 suşundaki NRPS genlerinin mutasyonla inaktif hale getirilip, toksin sentezleyemeyen mutant hücreler oluşturulması ile başarılmıştır (Dittmann ve ark. 1997). Bu çalışma, *M. aeruginosa* PCC7806 (Tillett ve ark. 2000) ve K-139 (Nishizawa ve ark. 1999, 2000) suşlarında MC sentetaz kompleksinin önemli bileşenlerini kodlayan büyük bir gen kümesinin sekanslanması ile tamamlanmıştır. Mikrosistin sentetaz genleri (*mcy*) daha sonra bir *Planktothrix* (Christiansen ve ark. 2003) ve bir *Anabaena* cinsine ait suşlarda da (Rouhiainen ve ark. 2004) karakterize edilmiştir.

M. aeruginosa'nın *mcy* gen kümesi; kromozomal DNA'nın yaklaşık 55 kilo bazlık (kb)'lık kısmını kapsamaktadır. İki yönlü transkribe edilen, iki operonun içine gömülmüş on gen içermektedir (Kaebernick ve ark. 2002, Tillett ve ark. 2000). Promotör bölgenin aşağı kısmında (downstream) *mcyA-C*, beş modül içeren üç NRPS'yi kodlarken; yukarı kısmında (upstream) *mcyD-J*, poliketid sentazları (*mcyD*), hibrit enzimleri (*mcyE, G*) ve ilave uyarılama (tailoring) enzimlerini (*mcyF, I, J*) ve ayrıca varsayılan bir ABC taşıyıcısının bileşenini (*mcyH*) kodlamaktadır (Şekil 2.2) (Tillett ve ark. 2000).

Adda-D-Glu öncüsü, *McyG, J, D* ve *E* denen en az dört enzimin aktiviteleri ile sentezlenmektedir. *McyG*, fenilasetatın aktivasyonunu izleyen ilk taşıyıcı domainin 4-phosphopantetheine'e transferi ile MC sentezini başlatan hibrit bir enzimdir. Daha sonra Adda; *McyG, D* ve *E*'nin dört PKS modülü tarafından oluşturulur. *McyJ*, bir O-metilasyon aşaması için gereklidir. *McyE*, PKS ve NRPS modüllerinden oluşan hibrit bir proteindir. Sonuçta *McyE*'nin birinci yoğunlaşma alanı; Adda'yı aktif glutamat ile yoğunlaştırır, böylece PKS'yi MC biyosentezinin NRPS kısmı ile bağlar. *McyA, B* ve *C*'nin NRPS

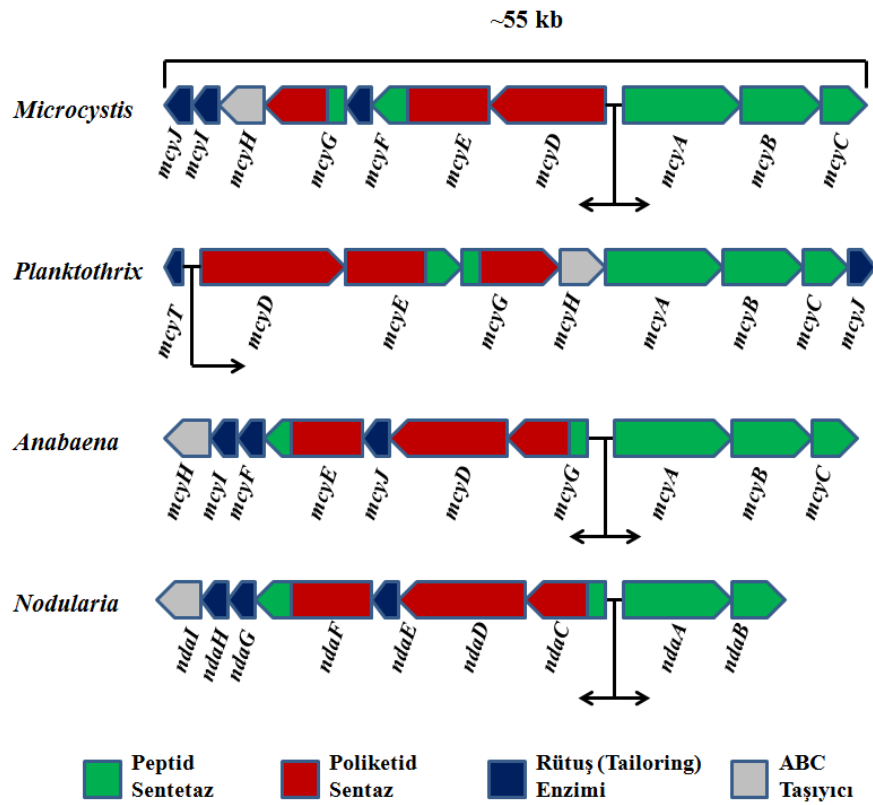
modülleri; kalan beş amino asidi aktive eder ve bunları büyüyen peptid yapısına dahil eder. *McyC*'nin TE (Tiyoesteraz) domaininin (Christiansen ve ark. 2003), sentetaz kompleksinden MC salınımindan ve siklozasyonundan sorumlu olduğu öne sürülmüştür. *McyF*, D-aspartat ve büyük olasılıkla D-metil-aspartat sağladığı düşünülen bir rasemazdır (Sielaff ve ark. 2003). *McyI*'nin rolü, henüz belirlenmemiştir (Tillett ve ark. 2000). *McyH*, ABA (Absisik asit) taşıyıcı ailesinin dışa aktarıcılara önemli benzerlik gösterdiği için, MC'nin dışa aktarımında önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Pearson ve ark. 2004).



Şekil 2.2. *Mcy* genlerinin nükleotid dizilerine (Tillett ve ark. 2000) ve fonksiyonel analizlerine (Dittmann ve ark. 1997, Christiansen ve ark. 2003, Sielaff ve ark. 2003) göre mikrosistin sentetazın (*Mcy* proteinleri) bileşenlerinin rolü. PKS domainleri: AT: açıltransferaz; ACP: açıl taşıyıcı protein; KS: β -ketoaçıl sentaz; KR: ketoaçıl redüktaz; DH: dehidrataz; CM: C-metiltransferaz; AMT: aminotransferaz; NRPS domainleri: A: aminoaçıl adenilasyon; C: kondenzasyon; NMT: N-metiltransferaz; Ep: epimeraz; TE: tiyoesteraz; *McyF*: rasemaz; OM (*McyJ*): o-metiltransferaz. Siyah kısımlar, NRPS modüllerinin tiyolasyon motiflerini temsil etmektedir. Oklar, mikrosistin biyosentezindeki basamaklarda görev yapan bireysel proteinleri belirtmektedir (Börner ve Dittmann 2005'den modifiye edilmiştir)

Mcy gen kümesi; on (*Microcystis*, *Anabaena*) veya dokuz gen (*Planktothrix*, *Nodularia*) tarafından kodlanan peptid sentetazları, poliketid sentazları ve rütüş (tailoring) enzimlerini kapsamaktadır (Şekil 2.3). Çok fonksiyonlu peptid sentetazın her modülü; amino asit substratının aktivasyonu (aminoasıl adenilasyon domaini) ve tiyoesterifikasyonu (peptid taşıyıcı domain), büyüyen peptidin uzaması (kondenzasyon domaini) için özgün fonksiyonel domainler içermektedir (Tillett ve ark. 2000, Kurmayer ve Christiansen 2009).

Tatlısu, geçici ve denizel sularda ve karasal ortamlardaki taksonlarda MC üretimi yaygın görülmektedir (Metcalf ve Codd 2012). Bu toksinlerin üretildiği başlıca cinsler arasında *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria* ve *Anabaenopsis* cinsleri bulunmaktadır (Humbert 2009, Van der Merwe 2015).



Şekil 2.3. *Microcystis* (Nishizawa ve ark. 2000, Tillett ve ark. 2000), *Planktothrix* (Christiansen ve ark. 2003), *Anabaena* (Rouhiainen ve ark. 2004)'da mikrosistin gen kümelerinin ve *Nodularia* (Moffitt ve Neilan 2004)'da nodularin sentetaz gen kümesinin yapısal organizasyonu (Oklar, varsayılan promoter bölgelerinden transkripsiyon başlangıç bölgelerini göstermektedir) (Börner ve Dittmann 2005'ten modifiye edilmiştir)

MC üretme kabiliyeti, siyanobakteriler arasında düzensiz bir dağılım göstermektedir. Toksik ve toksik olmayan suşlar (genotipler) genellikle alan popülasyonlarında bir arada bulunmakta ve genomlarında toksin biyosentezi için ihtiyaç duyulan genlerin varlığı ve yokluğu bakımından farklılık göstermektedir. *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*; toksin biyosentez genleri içeren ve içermeyen üyelere sahiptir. Veri tabanlarında *Mcy* gen kümelerinin tam nükleotit dizilerine ulaşılabilen suşlar arasında *Anabaena* 90, *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 ve K-139 ve *Planktothrix agardhii* CYA 126 suşları bulunmaktadır. Bireysel gen kümeleri tarafından kodlanan çoklu enzim bileşenleri benzerdir, ancak modüllerin ve ardışık domainlerin içeriği ve düzenlenmesi üç cinsten aynı değildir. Kümelerin genel organizasyonu ve kümeler içindeki belirli genlerin düzenlenmesi farklılık göstermektedir (Börner ve Dittmann 2005).

Mcy kümeleri sekanslanan *Microcystis* cinsine ait iki suşun, nükleotit dizilerinin aynı gen düzenine ve yüksek benzerliğe sahip olduğu bulunmuştur (Dittmann ve ark. 1997, Nishizawa ve ark. 1999, 2000, Tillett ve ark. 2000). *Mcy* genlerinin evrimi ile ilgili önemli veriler, *Anabaena*, *Planktothrix* ve *Microcystis* cinslerindeki *mcy* gen kümelerinde gözlenen yapısal organizasyondaki ve nükleotid sekansındaki farklılıkların; çeşitli rekombinasyonlar, mutasyonlardan kaynaklanabileceğini (Nishizawa ve ark. 2000, Tillett ve ark. 2000, Christiansen ve ark. 2003, Rouhiainen ve ark. 2004, Mikalsen ve ark. 2003), ortak bir ata fikrini güçlü bir şekilde desteklemektedir (Rantala ve ark. 2004). Bu nedenle MC biyosentezi, sekonder metabolizmanın çok eski bir yolu olarak görülmektedir (Börner ve Dittmann 2005).

MC'ler, protein fosfataz 1 ve 2A (PP1 ve PP2A) enzimlerini geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe ederek etki gösteren hepatoksinlerdir (MacKintosh ve ark. 1990, Yoshizawa ve ark. 1990, Honkanen ve ark. 1994). Bütün dokularda bulunan protein fosfatazlar, geniş bir substrat spesifikliğine sahiptir ve çok çeşitli hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Gee ve Mansuy 2005, Moorhead ve ark. 2007). Protein fosfatazlar, amino asitlerin hidroksil gruplarından fosfatların uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla bu toksinler ile proteinlerde fazla fosfat birikmesinin sonucu olarak hepatositlerdeki hücre iskeletinin filamentlerinde dağılma meydana gelmektedir (Falconer ve Yeung 1992, Toivola ve ark. 1997). Hepatositler, deforme olmakta ve

karaciğer yapısı bozulmaktadır (Stewart ve Falconer 2008). Hepatositlerdeki ve diğer canlı hücrelerde toksik etkiler; hücre iskeletinin bozulmasını, DNA hasarını, mitokondriyal hasarla ilgili apoptozu ve serbest oksijen radikallerinin oluşumuna dayandırılabilir oksidatif stresi içeren çok yönlü bir olaydır (Zegura ve ark. 2004, Ding ve Nam Ong 2006, Zhao ve ark. 2008). Ayrıca MC'ler, hücre döngüsünün kontrolünü etkilemekte ve tümör teşvik edici rol oynamaktadır. MC'lere maruz kalmanın, insanlarda hepatoselüler kanser ve kolorektal kanser gelişimine katkıda bulunan bir faktör olabileceğine dair kanıtlar artmaktadır (Meneely ve Elliot 2013). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)'nın yaptığı değerlendirmelere göre MC-LR'nin "Muhtemel karsinojen" olduğu sonucuna varılmıştır (Grosse ve ark. 2006).

MC'ler, muhtemelen safra asiti taşıyıcı sistemi vasıtasıyla ince bağırsaktan kan dolaşımına geçmektedir (Eriksson ve ark. 1990, Runnegar ve ark. 1991, 1995). MC'ler, bir organik anyon taşıyan polipeptit (OATP) sistemi vasıtasıyla karaciğer hücrelerine girerek (Runnegar ve ark. 1991), başta karaciğer olmak üzere bağırsak, böbrek, kalp, yumurtalık, akciğer ve beyinde birikebilmektedir. Sonuçta da bu organlarda fizyolojik doku ve hücre hasarı oluşmaktadır (Hooser ve ark. 1991, Chorus ve Bartram 1999, Wang ve ark. 2008, Zhao ve ark. 2009).

Siyanobakteriyel hücreler parçalandığı zaman MC'ler çevredeki suya salınmaktadır. MC'lerin sulardaki kalıcılığı (stabilitesi) oldukça yüksek olup (Harada ve ark. 1996), tipik bir çevrede on haftalık yarı ömre sahiptir. Bozulma oranları; doğrudan güneş ışığı altında, yüksek çevresel sıcaklıklarda (> 40 °C) ve aşırı düşük pH'ta (< 1) veya yüksek pH'ta (> 9) artmaktadır (Tsuji ve ark. 1994, Harada ve ark. 1996).

Çiftlik hayvanlarında sıklıkla görülen zehirlenme olayları *Microcystis aeruginosa* ile ilgili olup (Falconer ve Humpage 2006) bazı durumlarda binlerce hayvan ölümüne neden olabilmektedir (Harding ve Paxton 2001). MC'ler; balıklarda da karaciğer hasarı oluşturmakta, embriyo gelişimini etkilemektedir (Tencalla ve Dietrich 1997, Götz ve ark. 2000). MC'ler, hayvanların yanısıra insanlarda da hastalık veya ölümlere neden olmaktadır. İnsanlarla ilgili zehirlenme olaylarının ilki, yazın sonlarında büyük

Microcystis çoğalmaları meydana gelen bir rezervuardan içme suyunu temin eden kırsal bir kasabada (Armidale, Avustralya) meydana gelmiştir. Toksinlere bağlı olarak karaciğerde işlev bozukluğu belirtilmiştir (Falconer ve ark. 1983). Sonrasında Birleşik Krallık'ta orduda eğitim gören askerlerin yoğun *Microcystis* çoğalmasını içeren gölde yaptıkları eğitimler sonrasında muhtemelen toksik organizmaların solunması ve yutulması sonucunda bazılarında ağız çevresinde kabarma, boğaz ağrısı, kusma, karın ağrısı, kuru öksürük, zatürre ve ishal şikayetleri ile tıp merkezine yatırılmıştır. Alg örneklerinde MC-LR saptanmıştır (Turner ve ark. 1990). Brezilya'daki bir klinikte ise böbrek yetmezliği için tedavi gören yüz otuz bir hemodiyaliz hastasında daha şiddetli bir zehirlenme görülmüştür. Diyaliz ünitesinin su filtrelerinde MC ve CYN toksinleri saptanmıştır. Diyalizden hemen sonra hastalarda görme bozuklukları, mide bulantısı, kusma, baş ağrısı, kas güçsüzlüğü ve karın ağrısı rapor edilmiştir. Karaciğer yetmezliğine bağlı olarak yüz hastanın yetmiş altısında ölüm gözlenmiştir (Jochimsen ve ark. 1998, Pouria ve ark. 1998, Carmichael ve ark. 2001, Azevedo ve ark. 2002). Bu sonuçlar siyanobakterilerin aşırı çoğalmaları sırasında, içme suyu güvenliğinin uluslararası değerlendirilmesine ve WHO'nun içme suyunda mikrosistin için bir kılavuz değer oluşturmasına yol açmıştır (Anonim 2006). WHO, içme suyunda mikrosistin için 1 µg L⁻¹lik bir kılavuz değer belirlemiştir (Anonim 2006).

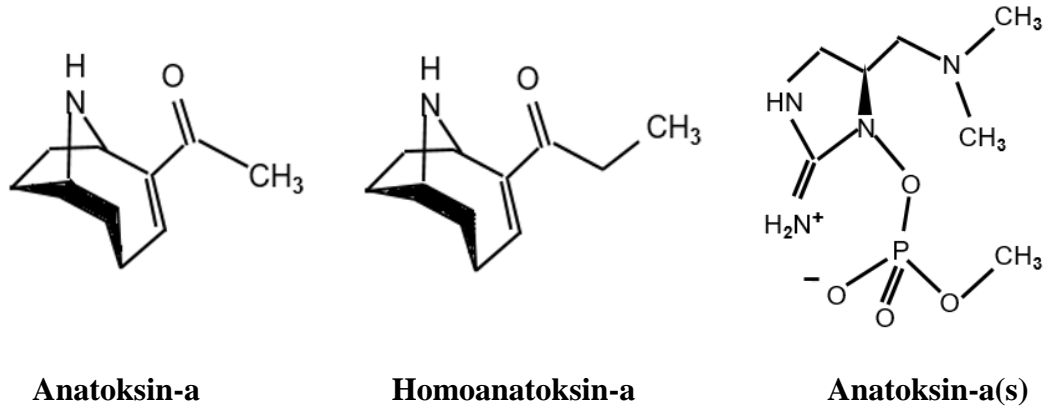
2.3.2. Anatoksinler

Anatoksin-a; oldukça güçlü ve hızlı, molekül ağırlığı 165 Da olan, bisiklik amin yapısında nörotoksik bir alkaloiddir (Falconer 1998). Glutamik asitten türevlenmiş bir homotropan iskelet içermektedir. İki simetrik merkeze sahip bir kiraldir (Wonnacott ve Gallagher 2006). ATX'in yapısı, kokaine ve asetilkoline benzemektedir (Sivonen ve Jones 1999). ATX-a, asetilkolin reseptörlerinin bir agonisti olup (Aronstam ve Witkop 1981), asetikolinden daha etkilidir (Swanson ve ark. 1986). Sinirlerde ve nöromüsküler bağlantılarda nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanarak, voltaja duyarlı Ca⁺² ve Na⁺¹ kanallarını açarak sinir depolarizasyonuna neden olmaktadır (Falconer 1998). Kolinesteraz, ATX-a'yı parçalamaz ve devamlı bir kas stimülasyonu oluşturur (Spivak ve ark. 1980, Wonnacott ve Gallagher 2006). Dolayısıyla ATX-a; kas kasılması, kas felci ve boğulma (asfiksasyon) sonucu ölüme neden olabilen bir kolinergik agonisttir (Stevens ve

Krieger 1991, Falconer 1998). Temel öldürücü etkisi, solunum kasları üzerindeki kontrol kaybından sonra solunum yetmezliğidir (Osswald ve ark. 2007).

ATX-a, en küçük toksik alkaloid olup ilk kez *Anabaena flos-aquae*'den izole edilmiştir (Carmichael ve ark. 1975, Devlin ve ark. 1977, Carmichael ve ark. 1979). *Anabaena*, *Planktothrix*, *Cylindrospermum*, *Phormidium*, *Raphidiopsis*, *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Arthrospira* ve *Nostoc* cinsleri anatoksinleri üretebilen başlıca cinslerdir ve yaygın olarak tatlı sularda bulunmaktadır (Sivonen ve Jones 1999, Osswald ve ark. 2007, Stewart ve Falconer 2008).

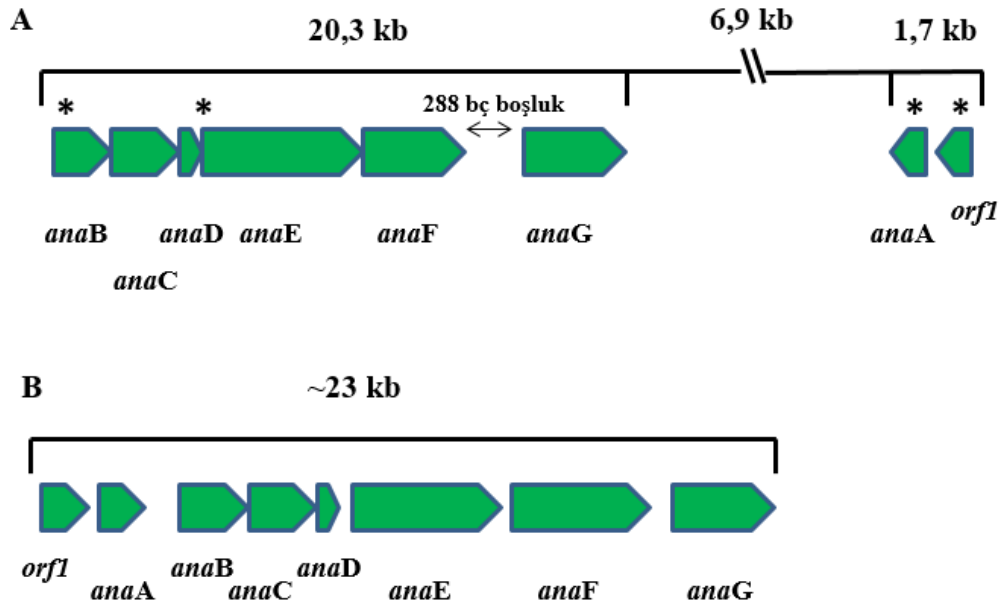
Homoanatoksin-a (hATX-a) veya metilen-anatoksin-a adı verilen yapısal bir analog ise *Oscillatoria formosa*'dan izole edilmiştir (Skulberg ve ark. 1992). Molekül ağırlığı 179 Da olan bu varyant, ATX-a'nın metilasyonu sonucu oluşmaktadır (Méjean ve ark. 2009). ATX'in bir diğer varyantı olan ATX-a(s) ise *Aphanizomenon flos-aquae* ve *A. lemmermannii* türlerinden izole edilmiş olup 252 Da molekül ağırlığına sahip ve ATX-a'dan çok daha ölümcüldür (Matsunaga ve ark. 1989, Carmichael ve ark. 1990, Méjean ve ark. 2014). Şekil 2.4'de üç anatoksin varyantının kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 2.4. Anatoksin varyantlarının kimyasal yapısı (Boopathi ve Ki 2014'ten alınmıştır)

ATX-a biyosentez yolu, glutamik asit ve asetat ile başlamaktadır. Genel şema, poliketid sentezinininki gibidir, son aşama dekarboksilasyon aşamasıdır (Selwood ve ark. 2007). ATX-a ve varyantları, NRPS tarafından prolin ilave edilmesi ile sentezlenmektedir. PKS ise ardından zincirin uzamasını ve siklizasyonunu sağlamaktadır (Cadel-Six ve ark.

2009). Méjean ve ark. (2009) *Oscillatoria* sp. PCC 6506, Rantala-Ylinen ve ark. (2011) *Anabaena* sp. 37 suşunda ATX sentezinden sorumlu gen kümelerini (*anaA-anaG* ve ORF1) tanımlamışlardır (Şekil 2.5). Her iki suşun anatoksin biyosentez genlerinin (*ana*) ve proteinlerinin yüksek dizi benzerliği sergilediğini fakat *ana* gen kümelerindeki genlerin organizasyonunun farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. *Anabaena* sp. 37 suşunda, ATX'i kodlayan biyosentetik genler yaklaşık 29 kb'yi kapsayan iki kümede bulunmuştur. *AnaB-anaG* genleri, 20,3 kb'lik bir küme oluştururken; *anaA* ve varsayılan siklaz geni (*orf1*) (1,7 kb), *ana* kümeden DNA'nın 6,9 kb'lik bir bölümü ile ayrılır ve ters yönde transkribe edilir (Rantala-Ylien ve ark. 2011). *Anabaena* sp. 37 suşundaki *ana* gen kümesi, herhangi bir RNA (Ribonükleik asit) polimeraz bağlanma bölgesi olmadan yukarı akış (upstream) bölgesinde karakteristik dizi motifleri ile dört veya beş operonu kapsamaktadır. Bugüne kadar *ana* kümelenmenin düzenlenmesi ile ilgili çalışmalar henüz başlangıç aşamasındadır ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Boopathi ve Ki 2014).



Şekil 2.5. Anatoksin-a biyosentetik gen (*ana*) kümeleri. A) *Anabaena* sp. 37 suşu, B) *Oscillatoria* sp. PCC 6506 suşu (*: tanımlanan RNA polimeraz tanıma dizilerinin yukarı akışındaki (upstream) genleri gösterir) (Méjean ve ark. 2009 ve Rantala-Ylinen ve ark. 2011'den modifiye edilmiştir)

ATX-a steril koşullar altında oldukça kararlıdır ancak mikrobiyal biyobozunmaya (biyodegradasyon) karşı hassastır (Rapala ve ark. 1994). Yüksek sıcaklık, ultraviyole (UV) ışığı ve alkali koşullar, ATX'in parçalanmasını hızlandırmaktadır (Stevens ve

Krieger 1991, Kaminski ve ark. 2013). Sudaki yarılanma ömrünün, tipik çevresel pH koşulları altında 5 gün iken (Smith ve Sutton 1993), laboratuvar testlerinde 24 gün olduğu rapor edilmiştir (Sivonen ve Jones 1999).

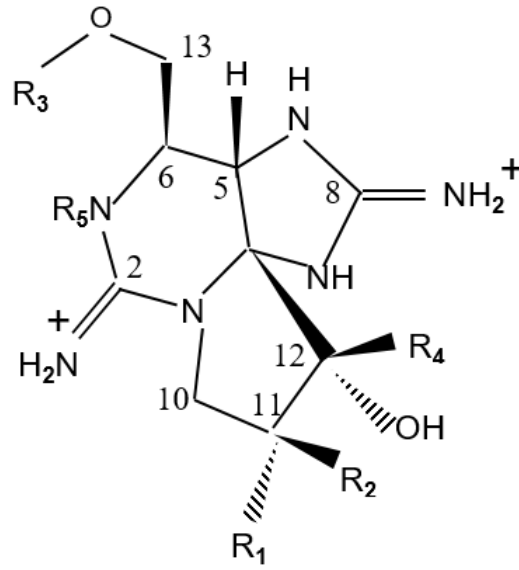
ATX-a, laboratuvar farelerinde 2-7 dk içinde hızlı öldürücü etki göstermesi nedeniyle “Çok hızlı ölüm faktörü” olarak adlandırılmıştır (Carmichael ve Gorham 1978). ATX-a'ya maruz kaldıktan sonra köpeklerde (Edwards ve diğerleri 1992), sığırlarda (Carmichael ve Gorham 1978) ve vahşi yaşam (Carmichael 1981) da dahil olmak üzere birçok türde akut ölümler kaydedilmiştir. Literatürde çok sayıda hayvan zehirlenmesi vakası rapor edilmesine rağmen (Gugger ve ark. 2005), insanlarda ATX-a zehirlenmesi vakası rapor edilmemiştir (Humbert 2009). *Anabaena flos-aquae* çoğalmasını içeren bir gölden su yutan on yedi yaşında bir çocuğun ölümü ile ilgili bir olayda gözlenen belirtiler, ATX-a zehirlenmesi ile tam uyuşmadığı için bu olay şüpheli kalmıştır (Carmichael ve ark. 2004).

2.3.3. Saksitoksinler

Saksitoksinler, hem tatlı su siyanobakterileri hem de denizel dinoflagellatlar tarafından üretilen trisiklik bir alkaloid ailesidir (Stewart ve Falconer 2008). Paralitik kabuklu toksinleri (PST) arasında yer almaktadır (Schantz ve ark. 1957). Denizel ortamlarda, deniz dinoflagellatlarınca üretilen STX'leri biriktiren kabuklu deniz hayvanlarının tüketilmesi ile ilişkilendirilen paralitik kabuklu zehirlenmeleri (PSP) görülmektedir (Cusick ve Sayler 2013). Tatlı sularda STX ve türevlerini üreten siyanobakteri türlerinden bazıları şunlardır: *Aphanizomenon flos-aquae* (Ikawa ve ark. 1982, Mahmood ve Carmichael 1986, Pereira ve ark. 2000, Ferreira ve ark. 2001), *Anabaena circinalis* (Humpage ve ark. 1994, Negri ve ark. 1995), *Lyngbya wollei* (Carmichael ve ark. 1997, Onodera ve ark. 1997), *Cylindrospermopsis raciborskii* (Lagos ve ark. 1999), *Planktothrix* sp. (Pomati ve ark. 2000), *Aphanizomenon* sp. (Dias ve ark. 2002), *Aphanizomenon issatchenkoi* (Nogueira ve ark. 2004). Ayrıca Finlandiya ve Danimarka tatlı sularında yapılan çalışmalarda STX'ler saptanmış ve göllerde *Anabaena lemmermannii* türünün fitoplanktonda yaygın bulunduğu rapor edilmiştir (Kaas ve Henriksen 2000, Rapala ve ark. 2005). Bu türlerin yanısıra STX'ler *Lyngbya* ve

Scytonema cinsleri tarafından da üretilmektedir (Smith ve ark. 2012, Wiese ve ark. 2010). Siyanobakterilerden başka yengeç, tatlısu balon balığı, Panama altın kurbağası (*Atelopus zeteki*) gibi farklı canlıların da alışılmadık modifikasyonlara sahip STX analoglarını içerdiği değişik çalışmalarda belirtilmiştir (Arakawa ve ark. 1994, 1995, Zaman ve ark. 1998, Yotsu-Yamashita ve ark. 2004).

STX'ler, molekül ağırlıkları 241 ile 491 Da arasında değişen tetrahidropürin yapısına sahip bir karbamat alkaloid ailesinden oluşmaktadır (Şekil 2.6). Değişken grupların (R1-R5) pozisyonlarındaki yer değiştirmelere bağlı olarak dört gruba ayrılabilir (Humbert 2009): saksitoksinler (STX, dcSTX, neoSTX) (Ikawa ve ark. 1982, Mahmood ve Carmichael 1986, Humpage ve ark. 1994, Negri ve ark. 1995, Lagos ve ark. 1999, Kaas ve Henriksen 2000, Pereira ve ark. 2000, Pomati ve ark. 2000), gonyatoksinler (GTX 1-6) (Humpage ve ark. 1994, Negri ve ark. 1995, Lagos ve ark. 1999, Kaas ve Henriksen 2000, Pereira ve ark. 2000) ve dcGTX 2 ve 3 (Humpage ve ark. 1994, Negri ve ark. 1995, Onodera ve ark. 1997), C-toksinler (C1 ve 2) (Humpage ve ark. 1994, Negri ve Jones 1995, Ferreira ve ark. 2001), ve Amerikan *Lyngbya wollei* suşlarında tanımlanan varyantlar (LWTX 1-6) (Onodera ve ark. 1997). Bu alkaloid trisiklik bileşikler, sülfatlanmamış (saksitoksinler ve neosaksitoksin), tek sülfatlanmış (gonyatoksinler) veya çift sülfatlanmış (C-toksinler) olarak da gruplandırılabilir (Shimizu 1993, Sivonen ve Jones 1999, Kellmann ve Neilan 2007). Trisiklik halka sisteminin iskeleti; arjininin karboksil grubunun kaybı ile arjininin karbon atomunda asetatin Claisen-tipi kondenzasyonu, ardından da amidasyon ve siklizasyon ile oluşturulmaktadır (Shimizu ve ark. 1984, Shimizu 1993). En güçlü PST olan STX'lerin toksisitesi (intraperitoneal enjeksiyon uygulamalarda fare için $LD_{50} = 10 \mu\text{g kg}^{-1}$), varyantlara bağlı olarak değişebilmektedir (Oshima 1995). Yapısal olarak elli yedi farklı varyanta sahip bu toksinlerin aktivitesi, pozitif yüklü guanidinyum grupları sayesinde gerçekleşmektedir (Wiese ve ark. 2010). STX'ler, özellikle hafif asitli ortamlarda ısıya dayanıklıdır ve suda çözünürlüğü yüksektir (Trevino 1998).



Şekil 2.6. Saksitoksinin temel kimyasal yapısı (R, değişken pozisyonları temsil etmektedir) (Pearson ve ark. 2010)

Saksitoksin biyosentezi gen kümesinin (*sxt*) ilk tanımlaması, *Cylindrospermopsis raciborskii* T3 suşunda yapılmıştır (Kellmann ve ark. 2008a). Yapılan araştırmalarda *sxt* genleri (*sxtA*, *sxtG*, *sxtB*, *sxtD*, *sxtS*, *sxtU*, *sxtH/T* ve *sxtI*) tarafından kodlanan sekiz proteinin doğrudan STX biyosentezi ile ilgili olarak farklı katalitik fonksiyonlara sahip olduğu belirlenmiştir. Diğerlerinin (*sxtL*, *sxtN* ve *sxtX*) ise STX'in ilgili türdeşlerinin modifikasyonunda yer aldığı, potansiyel STX taşıyıcıları ve STX bağlayıcı proteinleri olarak davrandığı ileri sürülmüştür (Kellmann ve ark. 2008a, Pearson ve ark. 2010, Hackett ve ark. 2012). Daha sonra homolog *sxt* gen kümeleri, aşağıdaki türlere ait bazı suşlarda da tanımlanmıştır: *Anabaena circinalis* AWQC131C, *Aphanizomenon* sp. NH-5 (Mihali ve ark. 2009), *Raphidiopsis brookii* D9 (Stucken ve ark. 2010) ve *L. wollei* (Mihali ve ark. 2011). Beş cins siyanobakteride yapılan çalışmalara (Kellmann ve ark. 2008a, Mihali ve ark. 2008, Stücken ve ark. 2009, Soto-Liebe ve ark. 2010, Stücken ve Jakobsen 2010) göre saksitoksin biyosentezi, taşınması ve düzenlenmesi ile ilgili 33 gen bildirilmiştir. *C. raciborskii*'de 31 ORF (Açık Okuma Çerçevesi)'yi kodlayan *sxt* gen kümesi, 35 kb uzunluğunda iken *Anabaena* ve *Aphanizomenon* türlerine ait suşlarda *sxt* geni kümelerinin yaklaşık 28 kb uzunluğunda olduğu belirlenmiştir. Şekil 2.7'de *Aphanizomenon* sp. NH-5, *A. circinalis* AWQC131C ve *C. raciborskii* T3 suşlarında STX sentezinden sorumlu gen kümeleri verilmiştir. Tüm *sxt* gen kümesinde yaygın olarak

Kellmann ve ark. (2008)'nin *C. raciborskii* suşundan elde ettikleri biyoinformatik verilere göre *sxtA*'nın, STX sentezini başlatan çok işlevli bir poliketid biyosentez enzimini kodladığı ve kümedeki diğer genlere göre daha büyük olduğu ortaya çıkarılmıştır. Alkaloidin biyosentezinde daha sonra transferazlar, hidroksilazlar, hidrolazlar, redüktazlar ve siklazlar rol oynamaktadır. STX analoglarının sentezi, uyarılma enzimleriyle gerçekleştirilmektedir. Transpozazları kodlayan ORF'ler, regülatörler ve fonksiyonu bilinmeyen ORF'ler de *sxt* kümelerine dahil edilmektedir.

Beş cins üzerinde yapılan inceleme sonuçlarına göre *sxt* kümesine ait topolojideki farklılıklar, siyanobakterilerdeki STX biyosentezinin evrimi boyunca çoklu transpozisyon olaylarının meydana geldiğini ileri sürmüştür (Pearson ve ark. 2010). *Sxt* kümelerinin karşılaştırmalı analizi, genlerin kaybı ve yeniden düzenlenmesinin tür filogenisine karşılık gelen farklı gen konfigürasyonlarına yol açtığını, *sxt* kümesinin muhtemelen tek bir ortak atadan geldiğini, dikey olarak taşındığını ileri sürmektedir (Murray ve ark. 2011, Moustafa ve ark. 2009). Siyanobakterilerde saksitoksin üreticilerinin düzensiz dağılımının ise, tekrarlanan gen kaybı olaylarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca bir *sxt* gen alt kümesinin, siyanobakteriyel kaynaklardan veya bunların eksikliğinden yatay transfer ile elde edildiği varsayılmaktadır (Moustafa ve ark. 2009).

Yapılan çalışmaların bazıları STX oluşumu için önemli olan PKS ve PS (Peptid sentetaz) proteinlerini kodlayan genlerin tespiti ile STX üreten siyanobakterilerin tespit edilmesini hedeflemektedir. Bununla birlikte STX üreticisi olmayan siyanobakteriyel suşlarla yapılan çalışmalar, bazı *sxt* genleri mevcut olsa bile muhtemelen *sxt* gen kümesinin bir kısmının kaybı nedeniyle hücrelerde toksisite kaybı olduğunu göstermiştir (Ballot ve ark. 2010).

STX'ler, motor sinirlerinde sodyum iyonlarının, voltaj kapılı sodyum kanallarından geçişini engelleyerek patolojik etki göstermektedir. Sinirsel iletimin engellenmesi ile kas felci oluşmaktadır (Catterall 1980, Stewart ve Falconer 2008). Sinirlilik, zıplama, sarsıntı, ataksi, kasılmalar gibi nörolojik etkilerin yanısıra solunum kaslarının felci ile birkaç dakika içerisinde ölüme neden olabilmektedir (Runnegar ve ark. 1988). STX'ler, oldukça

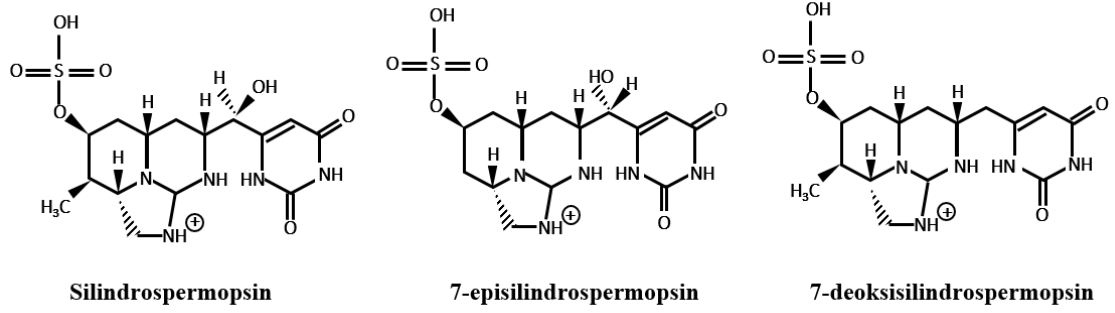
güçlüdür, farede LD₅₀ değerleri 263 µg kg⁻¹ (oral), 10 µg kg⁻¹ (intraperitoneal), and 3,4 µg kg⁻¹ (intravenöz)'dir (Wiberg ve Stephenson 1960). STX, Kimyasal Silahlar Sözleşmesinin 1. Çizelgesinde yer alan tek siyanobakteriyel toksindir (Humbert 2009).

2.3.4. Silindropermopsinler

Trisiklik halkasal bir yapıya sahip olan bu alkaloidler; bir sülfat ve bir metil grubu bağlı bir guanido grubu ve bir urasil kısmı içermektedir. Sülfat gruplarının negatif, guanido gruplarının pozitif yüklenmesinin bir sonucu olarak molekül, suda yüksek oranda çözünebilen bir zwitter iyonudur (Ohtani ve ark. 1992). Molekül, α ve β konfigürasyonunda hidrosimetil ile köprü oluşturabilmektedir. Hidroksi grubunun oksijen kaybı, toksisiteyi azaltmakta ancak ortadan kaldırmamaktadır (Stewart ve Falconer 2008). Diğer yandan yapılan çalışmalar molekülün urasil kısmının, toksisite için gerekli olduğunu göstermiştir (Banker ve ark. 2001).

Silindropermopsinin (CYN) ikisi toksik (silindropermopsin, 7-episilindropermopsin), birisi neredeyse toksik olmayan (deoksisilindropermopsin) toplam üç yapısal varyantı tanımlanmıştır (Banker ve ark. 1997, Norris ve ark. 1999, Metcalf ve Codd 2012). Şekil 2.8'de CYN ve varyantlarının kimyasal yapısı gösterilmektedir. 7-episilindropermopsin, sadece hidroksil grubunun urasil kısmına yakın oryantasyonu ile farklılık gösterirken (Banker ve ark. 2000) deoksisilindropermopsin, urasil kısma yakın ilk hidroksil grubu ile ilgili eksik bir oksijen atomu (Li ve ark. 2001) ile karakterize edilmektedir.

CYN, yüksek sıcaklık, güneş ışığı ve ekstrem pH gibi çevresel faktörlere karşı oldukça dayanıklıdır (Chiswell ve ark. 1999). MC'lerin aksine CYN, hücrelerden genellikle çevredeki suya salınmaktadır (Rücker ve ark. 2007). Özellikle gastropodlar, çift kabuklular (bivalve) ve Crustaceae gibi besin zincirinde alt seviyede bulunan organizmalarda biyolojik olarak birikmektedir (Kinnear ve ark. 2009).

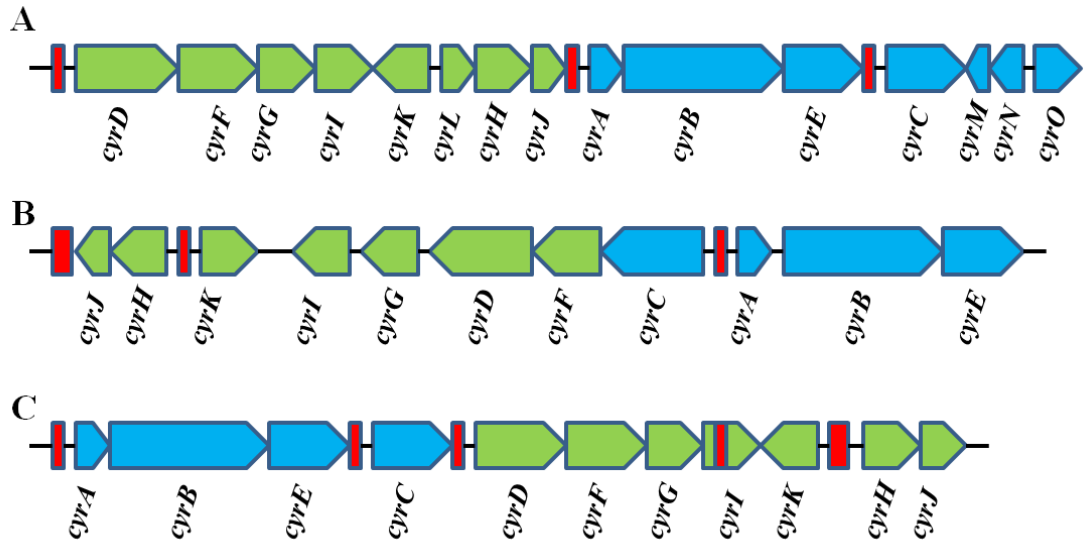


Şekil 2.8. Silindropermopsin ve varyantlarının kimyasal yapısı (Boopathi ve Ki 2014'ten alınmıştır)

CYN, dünya genelinde yüzey tatlı sularında yaygın olarak bulunan siyanotoksinlerden birisidir (Falconer 2005, de la Cruz ve ark. 2013). *Cylindropermopsis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya*, *Umezakia* ve *Raphidiopsis* dahil olmak üzere birçok tatlı su siyanobakteri cinsi tarafından üretilmektedir (Guzman-Guillen ve ark. 2013). Örneğin, değişik çalışmalarda *Cylindropermopsis raciborskii* (Hawkins ve ark. 1985), *Umezakia natans* (Harada ve ark. 1994), *Aphanizomenon ovalisporum* (Shaw ve ark. 1999, Banker ve ark. 2000), *Raphidiopsis curvata* (Li ve ark. 2001), *Anabaena lapponica* (Spooft ve ark. 2006) ve *Aphanizomenon flos-aquae* (PreuBel ve ark. 2006) türlerinin CYN ürettiği rapor edilmiştir.

CYN biyosentezi enzimlerini kodlayan silindropermopsin gen kümesi (*cyr*); *C. raciborskii* suşlarında (Mihali ve ark. 2008, Stucken ve ark. 2010, Jiang ve ark. 2012), *Aphanizomenon* sp. 10E6 (Stuken ve Jakobsen, 2010), *Oscillatoria* sp. PCC 6506 (Mazmouz ve ark. 2010) ve *Raphidiopsis curvata* CHAB1150 suşlarını kapsayan çeşitli siyanobakterilerde çalışılmıştır (Mihali ve ark. 2008, Mazmouz ve ark. 2010, Stuken ve Jakobsen 2010, Jiang ve ark. 2012). Şekil 2.9'da *C. raciborskii* AWT205, *Aphanizomenon* sp. 10E6 ve *Raphidiopsis curvata* CHAB1150 suşlarında CYN sentezinden sorumlu *cyr* gen kümeleri gösterilmiştir. *Cyr* gen kümesinin karakterizasyonu ilk olarak *Cylindropermopsis raciborskii* ve *Aphanizomenon ovalisporum* (aoa genleri)'da tanımlanmıştır (Schembri ve ark. 2001, Shalev-Alon ve ark. 2002). *Cyr* gen kümesi; amidinotransferaz (*CyrA*), PKS ve NRPS aktiviteleri (*CyrB-F*), urasil halka oluşumundan (*CyrG* ve *CyrH*) ve uyarılma fonksiyonlarından sorumlu (*CyrI*, *CyrJ*, *CyrN*) olan enzimlerin dahil olduğu CYN'nin biyosentezi ile ilgili enzimleri

kodlayan 15 ORF ile 43 kb'lık bir gen bölgesini kapsamaktadır (Kellmann ve ark. 2006, Mihali ve ark. 2008, Pacheco ve ark. 2016). Kısaca, CYN'in biyosentezi, bir amidinotransferaz ile başlatılır ve uyarılma enzimleri ile birlikte NRPS-PKS tipi enzimler ile tamamlanır (Muenchhoff ve ark. 2010). Bu küme ayrıca regülasyon (CyrO), transpozisyon (CyrL ve CyrM) ve CYN'in dışarı salınımı (CyrK) ile ilgili proteinleri kodlayan genleri içermektedir (Pacheco ve ark. 2016). *Cyr* gen kümesi, çeşitli CYN üreten siyanobakteriyel cinsler arasında yüksek oranda korunmuştur. Bununla birlikte, kümedeki gen düzenlemeleri farklı cinsler arasında değişmektedir (Kaplan ve ark. 2012). Örneğin, *Oscillatoria* sp. PCC 6506'da *cyrO* yoktur; bununla birlikte, iki ek transpozaz ve CYN biyosentezinde belirgin bir rolü olmayan bir adenosin trifosfat (ATP)-kavrama tipi protein dizisi içermektedir (Mazmouz ve ark. 2010). Yapılan çalışmalarda *Aphanizomenon* sp. (Stuken ve Jakobsen 2010), *Oscillatoria* sp. (Mazmouz ve ark. 2010) ve *R. curvata* (Jiang ve ark. 2012)'da *cyr* gen kümelerinin benzer olduğu belirtilmiştir.



Şekil 2.9. Bazı siyanobakteri suşlarında silindrospermopsini kodlayan *cyr* gen kümeleri; A) *C. raciborskii* AWT205, B) *Aphanizomenon* sp. 10E6, C) *Raphidiopsis curvata* CHAB1150; kırmızı çubuklar, transpozaz kodlama bölgesini veya bunlarla ilgili kalıntıları belirtmektedir (Jiang ve ark. 2012, Boopathi ve Ki 2014)

Hem toksik hem de toksik olmayan suşların genomlarını karşılaştıran bir araştırmada, *cyr* gen kümesinin CYN üretmeyen suşlarda tamamen bulunmadığını diğer yandan ise *cyr*

kümesindeki mutasyonların ve değişikliklerin, toksin sentezini etkilemediğini ortaya koymuştur (Sinha ve ark. 2014). Schembri ve ark. (2001), benzer şekilde çalışmalarında NRPS ve PKS genlerinin; *Cylindrospermopsis raciborskii* ve *Anabaena bergii*'nin toksin üreten suşlarında bulunduğunu, toksik olmayanlarda bulunmadığını göstermiştir. Diğer yandan CYN biyosentezi için gen kümesi çeşitli siyanobakterilerden sekanslanmasına rağmen promotör yapı ve transkripsiyonel organizasyon hakkında az sayıda çalışma yapılmıştır (Stuken ve Jakobsen 2010).

Cyr kümesinin parçalarındaki yeniden düzenlemeler, genom içi veya genom arası seviyelerde meydana gelebilir. Genom arası durumunda bu yeniden düzenlemeler, *cyr* genlerinin yatay transferine bağlanmaktadır (Stuken ve Jakobsen 2010, Jiang ve ark. 2012). Yatay transfer ayrıca; yüksek dizi korunumu, *cyr* gen kümesindeki atipik GC (Guanin Sitozin) içeriği ve transpozisyon kanıtı ile desteklendiği gibi, siyanobakterilerin filogenetik ağacındaki *cyr* gen kümelerinin sporadik (düzensiz) dağılımı için olası bir açıklamadır (Stuken ve Jakobsen 2010). Alternatif olarak CYN genlerinin yüksek dizi korunumu, eski bir kökene ve ardından parçaların veya tüm kümenin kaybına işaret edebilir. Bu olaylar, aynı tür içinde CYN üreten ve üretmeyen türlerin birlikte ortaya çıkmasını açıklamaktadır (Pacheco ve ark. 2016).

CYN, Avustralya'nın Palm adasında çocuklarda görülen şiddetli hepatoenteritis salgını üzerine dikkatleri çekmiştir (Byth 1980). Su temin edilen rezervuardan toplanan siyanobakteri örneklerinde *Cylindrospermopsis raciborskii* bulunmuştur. Hawkins ve ark. (1985) tarafından yapılan çalışmalarda toksik olan bu türün karaciğer ve böbrek hasarına neden olduğu rapor edilmiş, türden izole edilen alkaloid toksin ise CYN olarak adlandırılmıştır (Ohtani ve ark. 1992). Daha sonraki yıllarda Brezilya'da bir klinikte diyaliz hastalarında karaciğer yetmezliği ve ölüm gözlenmesi ile diyaliz suyu incelenmiştir. İncelenen suda CYN ve MC rapor edilmiştir (Azevedo ve ark. 2002).

CYN'in canlılarda göstermiş olduğu etkiler; protein sentezinin inhibisyonu, DNA hasarı ve tümör oluşumunun teşvik edilmesi şeklinedir (Terao ve ark. 1994, Falconer 1998, Metcalf ve ark. 2004, Falconer ve Humpage 2006). Ayrıca alışmalar CYN'nin, çoklu organ ve doku hasarına neden olduğunu göstermiştir (Falconer ve Humpage 2005). Özellikle karaciğer başta olmak üzere böbrek, timus ve kalbi etkileyen bu toksinin DNA

iplikçik kırılması ve kromozom bütünlüğü kaybına neden olarak genotoksik etki gösterdiği de farklı çalışmalarda belirtilmiştir (Terao ve ark. 1994, Humpage ve ark. 2000, Shaw ve ark. 2000, Humbert 2009). Farelerde CYN içeren hücrelerin periton içi enjeksiyonunda doza bağlı olarak ishal, anoreksi, düzensiz solunum ve ölüm görülmüştür (Hawkins ve ark. 1985). CYN'nin LD₅₀'si, 24 saatte farelerde 2,100 µg kg⁻¹ vücut ağırlığıdır (Ohtani ve ark. 1992). CYN'nin toksisite mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamıştır, ancak klinik vakalara, in vitro çalışmalara ve hayvan modeli çalışmalarına dayanarak insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerine dair kanıtlar mevcuttur (Poniedzialek ve ark. 2012).

2.4. Toksik Siyanobakterilerin ve Siyanotoksinlerin Tespit Edilmesi

Siyanobakterilerin ve siyanotoksinlerin belirlenmesi için çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Mikroskobik yöntemler ve Chl a pigmenti özellikle çevresel örneklerde eski zamanlarda sularda siyanobakterilerin belirlenmesi için kullanılan geleneksel metotlardır. Mikroskobik analizler; çok uzun zaman almakta ve türlerin teşhisi için tam bir uzmanlık gerektirmektedir. Bununla birlikte potansiyel olarak toksik bir siyanobakteri türünün mikroskopla tanımlanması, o türün aktif olarak toksin ürettiği anlamına gelmemektedir. Türlerin veya suşların morfolojisi, o canlının toksisitesini belirleyememekte bu da mikroskobik yöntemlerin kısıtlılığını oluşturmaktadır. Chl a ise belirli bir siyanobakteri çoğalması olduğu durumlarda daha etkili olarak kullanılabilir. Chl a'nın sadece siyanobakterilere özgü olmaması, toplam alg biyomasını temsil etmesi ve çoğalma sırasında toksik veya toksik olmayan suşların birlikte bulunabilmesinden dolayı bu yöntem de toksik türleri belirlemede yeterli değildir. Diğer yandan siyanobakterilere özgü fikosiyanın pigmentinin ölçülmesi ile doğal bir komünite içerisindeki siyanobakterilerin oranı hakkında bilgi elde edilebilir. Özetle tüm bu geleneksel yaklaşımlar, toksik siyanobakterilerin ve toksinlerinin belirlenmesinde yeterli değildir (Ouellette ve Wilhelm 2003, Rantala ve ark. 2006, Gregor ve ark. 2007, Briant ve ark. 2008, Joung ve ark. 2011, Merel ve ark. 2013, Srivastava ve ark. 2013).

İklim değişimine bağlı olarak sularda siyanobakteri çoğalmaları ve siyanotoksinlerle ilgili vakaların artmasından dolayı toksik siyanobakteri çoğalmalarının ve siyanotoksinlerin

tespitini sağlayacak farklı siyanotoksin belirleme metotları geliştirilmiş ve her geçen gün de geliştirilmeye devam etmektedir. Bu yeni yaklaşımlar, geleneksel metotların dezavantajlarını ortadan kaldırmaktadır. Çevresel örneklerde ve kültür örneklerinde siyanotoksinler temel olarak biyolojik, analitik ve moleküler analizlerle tespit edilmektedir (Kaushik ve Balasubramanian 2013).

Biyolojik analizler; in vivo canlı organizma deneyleri, biyokimyasal analizler ve immünolojik analizleri kapsayan, numunelerin basit ve hızlı bir şekilde toksin ve toksisite açısından değerlendirilmesini sağlayan analizlerdir (Kaushik ve Balasubramanian 2013).

İn vivo canlı organizma deneyleri; bakteri, bitki, crustaceae, böcek, domuz, fare, sıçan, balık embriyosu gibi çeşitli duyarlı test organizmaları ile siyanobakterilerin bütün hücrelerinin, lizatlarının, ham ekstraktlarının veya saflaştırılmış bileşiklerinin toksisitelerinin değerlendirilmesi için oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle nitel bir araç olarak kullanılan bu analiz; toksinin kimliği, toksin varyantları veya toksisiteden sorumlu toksinlerin sınıfı hakkında bilgi sağlamamaktadır. Analizin diğer dezavantajları, düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmasıdır (Falconer 1993, Campbell ve ark. 1994, Koreiviene ve Belous 2012, Metcalf ve Codd 2012, Kaushik ve Balasubramanian 2013).

Enzim inhibisyon metotları, bir diğer biyokimyasal analiz olup MC'ler, NOD'lar ve ATX-a(s) olmak üzere üç tip siyanotoksinin saptanmasına olanak sağlamaktadır (Moreira ve ark. 2014). Siyanotoksinlerin belirlenmesinde en yaygın kullanılan enzim inhibisyon metotlarından biri protein fosfataz inhibisyon deneyi (Metcalf ve ark. 2001) (PPIA)'dir. PPIA, ökaryotik PP1 ve PP2A'nın inhibisyonunun toksin konsantrasyonunun bir göstergesi olarak kabul edildiği bir analizdir (De Figueiredo ve ark. 2004, Msagati ve ark. 2006, Srivastava ve ark. 2013). Daha açık bir ifade ile protein fosfataz analizleri; MC'lerin, fosforlanmış protein substratlarından fosfatın salınımı üzerindeki önleyici etkisinin ölçülmesini içermektedir (Bell ve Codd 1994). MC'ler ve NOD'lar, güçlü protein fosfataz inhibitörleri olduğu için PPIA analizi, bu toksinlerin rutin taramalarında kullanılabilir (Carmichael ve An 1999, Heresztyn ve Nicholson, 2001, Rapala ve ark. 2002, Triantis ve ark. 2010). Kolorimetrik veya florometrik olarak yürütülen

PPIA'lar; hassas ve uygun maliyetlidir. Diğer yandan enzimatik aktivite inhibisyonuna dayandıkları için spesifik değildir (Pacheco ve ark. 2016). Bazı MC varyantları, protein fosfataz enzimleriyle benzer bir şekilde reaksiyona girmediği için bu analiz tam doğru kantitatif sonuçlar sağlayamamakta (An ve Carmichael 1994, Heresztyn ve Nicholson 2001) ve örnekteki toksin konsantrasyonunun olduğundan fazla çıkmasına neden olabilmektedir (Wirsing ve ark. 1999, Metcalf ve ark. 2001, Bouaïcha ve ark. 2002).

İmmünolojik analiz, bir antikorun veya antikorların antijenlerine reaksiyonunu kullanarak numunedeki bir maddenin konsantrasyonunu ölçen biyokimyasal bir testtir (Kaushik ve Balasubramanian 2013). Örneğin enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELISA), MC'ler gibi siyanotoksinlere karşı monoklonal (Ueno ve ark. 1996, Zeck ve ark. 2001) veya poliklonal (Metcalf ve ark. 2000, Yu ve ark. 2002, Sheng ve ark. 2006) antikorlar kullanılarak geliştirilen, son yıllarda çeşitli örneklerde siyanotoksinlerin hızlıca taranması için yaygın olarak kullanılan bir metottur. ELISA analizinde kullanılan antikorlar, çoğu varyantta bulunan korunmuş motifleri tanıdığı için, MC'ler, NOD'lar, STX'ler, CYN ve BMAA (β -N-metilamino-L-alanin) gibi çeşitli toksinler de dahil olmak üzere bazı metabolitlerin etkili şekilde saptanmasını sağlayabilmektedir (James ve ark. 2010, Moreira ve ark. 2014). Örneğin, MC ve NOD hepatotoksinlerinin tespit edilebilmesi için MC türdeşlerinin % 80'inden fazlasında bulunan β -amino asit Adda'ya karşı antikorlar da geliştirilmiştir (Fischer ve ark. 2001). ELISA; sulardaki çözünmüş toksinler için geliştirilmesine rağmen atık sular, siyanobakteri biyoması, toksinlerle kontamine olmuş bitki ve hayvan örnekleri, insan serumu ve idrarı gibi kompleks örneklerde siyanotoksinlerin değerlendirilmesi için kullanılabilir (Moreira ve ark. 2014). ELISA, çok kısa bir süre içinde, çeşitli örneklerde çok düşük konsantrasyonlardaki ($0,02$ ile 5 ng mL^{-1}) siyanotoksinlerin etkili bir şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır (Lawton ve Edwards 2008, Sivonen 2008, Moreira ve ark. 2014). ELISA oldukça hassas, hızlı ve spesifik, asgari ekipman gerektiren fakat pahalı bir metottur. Ayrıca, MC'ler söz konusu olduğunda çok sayıda varyantın varlığı ve bu analizlerde farklı çapraz reaktivite seviyeleri, bazı varyantların eksik tahmin edilmesine yol açabilmektedir (Pacheco ve ark. 2016). Diğer yandan yüksek çapraz reaktivite, yanlış pozitif sonuçlara sebep olabilmektedir (Nicholson ve Burch 2001). Yanlış negatif ve pozitif sonuçların ortaya çıkabilmesinden dolayı (Rivasseau ve ark. 1999) ELISA, yalnızca yarı kantitatif bir

tarama aracı olarak kullanılabilir (Nicholson ve Burch 2001). Ek olarak, farklı şirketler tarafından üretilen ELISA test kitleri farklı sonuçlar verebilmektedir (Metcalf ve ark. 2002). ELISA'nın diğer dezavantajları, bireysel izoformları tanımlayamayıp (Lawton ve ark. 2010) bir numunedeki toplam siyanotoksin değerini vermesidir.

Çeşitli örneklerde toksisite değerlendirmeleri ve tarama çalışmalarında yaygın olarak kullanılan PPIA ve ELISA analizlerininin (Dörr ve ark. 2010) yanısıra biyolojik analizler içerisinde ligand bağlanma analizi de geliştirilmiştir. Araújo ve ark. (2008) tarafından geliştirilen bu analiz, siyanobakteri kültürlerinde ve doğal örneklerde ATX-a ve hATX-a'nın belirlenmesini sağlamaktadır. Günümüzde ticari kitlerle değişik örneklerle uygulanabilmektedir (Moreira ve ark. 2014).

Siyanotoksinlerin belirlenmesi için kullanılan analitik metotlar, biyolojik analizlere göre daha fazla çeşitlilik göstermektedir. Hassasiyet dereceleri farklılık sergileyen bu metotları yürütmek için alanında uzman kişilere, donanımlı laboratuvarlara ihtiyaç bulunmaktadır. Aynı zamanda çoğu analitik yöntem, zaman alıcı ve yüksek maliyetli olup incelenecek örnekler açısından uzun hazırlık aşamaları gerektirmektedir. Bazı analizler için mevcut standartlara, örneğin belli bir konsantrasyonuna ve saflaştırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Diğer yandan analitik metotlar; çeşitli örneklerdeki siyanotoksin konsantrasyonlarının nicel ve nitel olarak değerlendirilmesine, ayrıca siyanotoksin varyantlarının ve yeni toksin bileşiklerinin tespitine ve tanımlanmasına imkan vermektedir. Analitik metotlar, siyanobakteriyel toksinlerin yapılarında bulunan fonksiyonel grupların ve UV kromoforlarının fizikokimyasal özelliklerini kullanarak toksinlerin çeşitli kimyasallarla reaksiyona girmesini kullanmaktadır. Analitik metotlar arasında; yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), kütle spektrometrisi (MS), gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS), sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi (LC-MS), sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS), ultraviyole absorbanı (UV) ve fotodiyot dizisi (PDA) dedektörleri ile bağlantılı kromatografik teknikler, katı-faz ekstraksiyonu (SPE)-sıvı kromatografisi (LC)-kütle spektrometrisi (MS) metodu, matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanı (MALDI-TOF), matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu-uçuş zamanlı-kütle spektrometrisi (MALDI-

TOF-MS), yüzey geliştirilmiş lazer desorpsiyon iyonizasyonu-uçuş süresi (SELDI-TOF), hidrofobik etkileşim sıvı kromatografisi (HILIC), HPLC-elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometresi (HPLC-ESIMS), nükleer manyetik rezonans (NMR), kapiller elektroforez (CE), ince tabaka kromatografisi (TLC) bulunmaktadır (Koreiviene ve Belous 2012, Metcalf ve Codd 2012, Kaushik ve Balasubramanian 2013, Moreira ve ark. 2014).

Biyokimyasal ve analitik yöntemlerin tümü, bir dereceye kadar bu yöntemlerin çevresel örneklerle uygulanmalarını zorlaştıran örnek-matriks engellemelerinden etkilenmektedir (Pacheco ve ark. 2016). Siyanotoksinlere yönelik analitik yöntemlerin çoğu, ilgili analiti ölçmektedir. Bu yüzden bazı durumlarda özellikle de bir çevrede potansiyel toksik siyanobakterilerin varlığı ve aşırı siyanobakteri artışlarının toksisitelerinin değerlendirilmesi açısından erken uyarı, tespit ve hızlı tarama aracı olarak kullanılabilecek moleküler tabanlı metotlar geliştirilmiştir. Böylelikle sularda siyanotoksinlerin ortaya çıkmasından çok önce toksik genotipler belirlenebilmektedir. Böylelikle gen sekanslamasıyla birlikte, mikroskoba dayalı tanımlamada uzmanlığa ve laboratuvar kültürlerine gerek olmadan çevresel örneklerden toksik siyanobakteri türlerinin tanımlanması sağlanmaktadır (Moreira ve ark. 2014).

Moleküler metotlar; siyanobakterilerde mevcut genlerin ve siyanotoksinlerin sentezi ile ilgili genlerin belirlenmesine dayanmaktadır (Schembri ve ark. 2001, Rantala ve ark. 2004). Moleküler analizler; oldukça hassas, spesifik, hızlı ve maliyeti düşük olup polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'a dayalı teknikleri (örneğin geleneksel PCR, multipleks PCR, gerçek zamanlı veya kantitatif PCR (qPCR), rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD), denature edici gradient jel elektroforezi (DGGE), terminal kısıtlama fragmanı uzunluğu polimorfizmi (T-RFLP)) ve PCR'a dayalı olmayan teknikleri (örneğin floresan in-situ hibridizasyon (FISH), DNA mikrodizilimi) içermektedir (Kaushik ve Balasubramanian 2013, Moreira ve ark. 2014).

PCR'a dayalı yöntemler ile toksin biyosentezi ile ilgili genlerin varlığı tespit edilebilmektedir (Tillett ve ark. 2000, Kurmayer ve Kutzenberger 2003, Ouahid ve ark. 2005, Pearson ve Neilan 2008, Al-Tebrineh ve ark. 2010, Rantala-Ylinen ve ark. 2011).

QPCR ise mikrobiyal komünitelerde ilgili genlerin kantitatif ölçümü için yaygın olarak kullanılmaktadır (Pacheco ve ark. 2016). Bu moleküler tekniklerle doğrudan siyanotoksinler yerine dolaylı olarak toksinleri üretebilecek siyanobakteriler tespit edilmektedir. Diğer yandan 16S rRNA (ribozomal RNA), fikosiyenin operonu, ITS (internal transkribe edilen aralık) ve RNA polimeraz beta alt birim geni (rpo β) gibi genler siyanobakterilerin tanımlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır (Neilan ve ark. 1995, Nelissen ve ark. 1996, Itehan ve ark. 2000, Rajaniemi ve ark. 2005a, Dadheech ve ark. 2010). Moleküler analizler, mikroskobik çalışmaların dezavantajlarını ortadan kaldırarak bu çalışmaları destekleyici bilgiler elde edilmesine olanak sağlamaktadır.

Siyanotoksinlerin belirlenmesi ile ilgili kapsamlı, tek ve en iyi bir metot bulunmamaktadır. Her yöntemin avantajları ve dezavantajları vardır. Metot seçiminde; incelenecek örnek, araştırılmak istenen siyanotoksin (yapısı, stabilitesi vb. gibi faktörler), çalışmanın amacı, zaman ve maliyet gibi pek çok faktör dikkate alınarak karar verilmelidir.

2.5. Türkiye’de Siyanobakteriler ve Toksinleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Türkiye sularında siyanobakterilerin varlığını gösteren çalışmalar genellikle taksonomik niteliktedir (Girgin ve ark. 2004, Taş ve Gönüloğlu 2007, Fakioğlu ve ark. 2011, Akar ve Şahin 2016). Küresel ısınmaya bağlı olarak artan siyanobakteri çoğalmalarının ve toksinlerinin sucul ekosistemdeki canlılara dolaylı olarak da insanlara olumsuz etkileri yüzünden toksikolojik ve moleküler ayrıntılı çalışmalar son yirmi yılda önem kazanmaya başlamıştır. Türkiye’de siyanobakteriler ve siyanotoksinleri ile ilgili çok az çalışma rapor edilmiştir.

Türkiye’de siyanotoksinler ile ilgili en eski çalışmalardan biri Albay ve ark. (1998) tarafından Sapanca ve Taşkısı göllerinde yapılmıştır. Araştırmacılar, her iki gölde toksik siyanobakteri çoğalmalarının ve MC’lerin varlığını belirlemeye çalışmışlardır. Baskın MC varyantının Sapanca’da MC-RR, Taşkısı Gölü’nde ise MC-LR olduğunu saptamışlardır.

Bazı çalışmalarda ise sadece izolasyon ve kültür yapılmıştır. Örneğin Çetinkaya-Dönmez ve ark. (1999), Mogan Gölü'nde Ağustos-Eylül döneminde sivrisinek beslenme alanlarında sayıca artış gösteren siyanobakteri cinslerine ait altı suşu izole edip kültüre almışlardır. İzolatların *Synechococcus* sp., *Gloecapsa* sp. ve *Synechocystis* sp. türlerine ait olduğunu morfolojik olarak belirlemişlerdir.

Albay ve ark. (2003a), Sapanca Gölü'ndeki büyük bir siyanobakteri çoğalmasının ardından balık ölümlerinin gözlenmesi üzerine Sapanca, İznik ve Taşkısığı göllerinde 1998 yılının Mayıs-Ağustos ayları arasında göllerdeki MC'lerin varlığını ve dağılımını araştırmışlardır. Örneklerin MC içeriğini; HPLC-PDA, PPIA ve ELISA metotları ile belirlemişlerdir. Sapanca Gölü'nde 10 m'nin üzerindeki su kolonu örneklerinde MC bulunmamasına karşın, 20 m derinlikten süzölmüş siyanobakteriyel örneklerde $3,65 \mu\text{g L}^{-1}$ MC-LR eşdeğer konsantrasyonunda toksin saptamışlardır. Sapanca Gölü'nde tespit edilen MC'nin % 90'ını, 15 m ile 25 m arasında yani içme suyunun çekildiği derinliklerde bulmuşlardır. HPLC-PDA ile tespit edilen başlıca MC'nin, MC-RR varyantı; *Planktothrix rubescens*'in ise popülasyondaki temel tür olduğunu gözlemlemişlerdir. Taşkısığı Gölü yüzey numunelerinden filtrelenmiş siyanobakteriyel hücre fraksiyonunda ise $2,43 \mu\text{g L}^{-1}$ MC-LR eşdeğer konsantrasyonunda tanımlanamayan iki MC varyantı bulmuşlardır. *M. aeruginosa*, göldeki dominant tür olmuştur. İznik Gölü'ndeki örneklerde ise HPLC-PDA ile hiçbir MC tespit etmemişlerdir.

Ötrofikasyon, küresel ısınmaya bağlı olarak su kütlelerinde daha yaygın görölmeye başlamıştır. Özellikle şehirlere içme suyu sağlayan rezervuarlarda meydana gelmesi, yakın bölge halkı için bir risk faktörü oluşturmaktadır. İstanbul'un çoğuna içme suyu sağlayan Ömerli rezervuarı da, ötrofikasyondan muzdariptir. Albay ve ark. (2003b), rezervuarda 1999 Ekim ayında büyük bir balık ölümü olayından sonra elde edilen su numunelerinde *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz aşırı çoğalmasını kaydetmişlerdir. Yüzey suyundaki ham örnekte $2,1 \mu\text{g MC-LR eşdeğeri L}^{-1}$, yüzeyden toplanıp kurutulmuş siyanobakteri biyoması örneklerinde $5,84 \mu\text{g MC-LR eşdeğeri mg}^{-1}$ hepatotoksin ölçmüşlerdir. Ertesi yıl İstanbul Belediye Su İdaresi, siyanobakteriyel artışı önlemek ve algisidin siyanobakterilere ve bazı fiziksel ve kimyasal parametrelere olan etkilerini ölçmek için rezervuara bakır sülfat (algisit) muamelesi uygulama kararı almıştır.

Muamele durdurulduktan sonra *M. aeruginosa*'nın tekrar çoğaldığını fakat türün biyomasının muameleden sonra 3,1 kat düştüğünü gözlemişlerdir. Ayrıca muameleden sonra su kalitesinde de önemli farklılıklar rapor etmişlerdir.

Sucul ekosistemlerde siyanobakteri çoğalmaları ve siyanotoksin miktarları çevresel faktörlere bağlı olarak değiştiği için literatürde bu yönde çalışmalar yapılmaktadır. Türkiye'de yapılan çalışmalardan biri de Albay ve ark. (2005)'nin Küçükçekmece Lagünü'nde yaptıkları çalışma olmuştur. Araştırmacılar lagünde siyanobakterilerin aşırı çoğalmasını teşvik eden faktörleri, MC konsantrasyonunu ve su kalitesinin fizikokimyasal ve biyolojik parametrelerini Ekim 2000'den Haziran 2003'e kadar incelemişlerdir. Bloom örneklerinin çoğunda *Microcystis aeruginosa*, dominant tür olarak gözlenmiştir. MC-YR ve MC-LR, HPLC-PDA ile tespit edilen başlıca MC varyantları olmuştur. Yüzey sularından filtrelenen numunelerde bulunan toksin konsantrasyonu; 0,06 ile 24,2 µg MC-LR eşdeğeri L⁻¹ arasında değişmiştir. Her yıl yoğun alg çoğalmaları ile aynı zamanda oluşan yaygın balık ölümleri kaydedilmiştir. Araştırmacılar MC artışının; sıcaklık, çözülmüş nütrientlerin yüksek konsantrasyonu, yüksek ışık yoğunluğu gibi çevresel faktörlerle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Akçaalan ve ark. (2006) çalışmalarında aşırı çoğalan iki *Planktothrix* türünün (*P. agardhii* ve *P. rubescens*) filamentlerini, İngiltere (Bassenthwaite ve Elmhirst Fishing), Türkiye (İznik ve Sapanca) göllerinden toplanan çevresel örneklerden ve laboratuvar örneklerinden izole etmişlerdir. İzole edilmiş tekli filamentlerin MC analizi, ELISA ile yapılmıştır. Bazı durumlarda çevresel örneklerden ve laboratuvar kültürlerinden elde edilen filamentlerin yüksek bir yüzdesinde toksin miktarını, minimum tespit lipitinin altında saptamışlardır. En düşük MC konsantrasyonu, Bassenthwaite Gölü'nden (İngiltere) *P. agardhii* (0,7 fg µm⁻³)'de; en yüksek MC konsantrasyonunu (2,9 fg µm⁻³) ise İznik Gölü'nden (Türkiye) *P. rubescens*'te ölçmüşlerdir. Filamentlerin, MC içerikleriyle biyo-hacimleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve bu ilişkinin değişkenlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Kültür koşulları altında, *P. rubescens*, filamentin biyohacmi ile toksin içeriği arasında iyi bir ilişki rapor etmişlerdir.

Kirliliğin yüksek seviyelerde olduğu Haliç'te 1998-2000 yılları arasında Taş ve ark. (2006) tarafından toksik *Microcystis* cf. *aeruginosa*'nın dağılımı çalışılmıştır. *Microcystis*, su sirkülasyonunun zayıf olduğu üst haliç bölgesinde bulunmuştur. Ölçülen fiziksel (tuzluluk, sıcaklık, yağış ve seki diskisi) ve kimyasal parametreler, *Microcystis* verileri ile birlikte değerlendirilmiştir. *Microcystis*'in aşırı çoğalmaları, artan sıcaklardan dolayı genellikle yaz aylarında oluşmasına rağmen bu çalışmada çoğalmalar kış aylarında gözlenmiştir. *M. cf. aeruginosa*'nın bolluğu da, kış aylarında daha yüksek olarak saptanmıştır. *Microcystis* bolluğunun, tuzluluktaki değişimlere bağlı olduğu gözlenmiştir. *Microcystis* bolluğu ve tuzluluk arasında; sıcaklık, çözülmüş oksijen ve yağış verilerine bağlı orta kısmi bir korelasyon belirlenmiştir.

Isparta'ya içme suyu kaynağının bir kısmını karşılayan Eğirdir Gölü'nde, 2006 yılının yaz ve sonbahar aylarında ardışık siyanobakteri çoğalmaları gözlenmesi üzerine Sömek ve ark. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, gölde *M. aeruginosa* ve *M. flos-aquae* türleri tespit edilmiştir. Gölde aşırı çoğalma gösteren başlıca tür *M. aeruginosa* olarak belirlenmiştir. *M. aeruginosa* 16,530 koloni L⁻¹ olarak sayılmış ve Chl a konsantrasyonu 117 µg L⁻¹ olarak ölçülmüştür. *M. aeruginosa*, potansiyel olarak toksik bir tür olduğu için Eğirdir Gölü'nün siyanobakteriyel toksisite riski altında olduğunu belirtmişlerdir.

Eski yıllarda siyanobakteri çoğalmalarının nadiren görüldüğü İznik Gölü'nde Akçaalan ve ark. (2009), 2005 yılının yaz aylarında gölde toplam siyanobakteri bolluğunun % 60'ını oluşturacak şekilde *Nodularia spumigena* türünü rapor etmişlerdir. İzole edilen *N. spumigena* filamentlerinde HPLC, ELISA, PPIA ve LC-MS ile NOD tespit edilmiştir. İzole edilen suşun kültürünün hücre ekstraktında NOD konsantrasyonu 444,6 µg g⁻¹ kuru ağırlık ve 578 µg g⁻¹ kuru ağırlık (sırasıyla ELISA, HPLC) düzeylerinde saptanmıştır. Yapılan çalışma, Avrupa'daki bir tatlı su gölünde ilk toksik *N. spumigena* rapor edilmesini sağlamıştır. *Nodularia* hücre ekstraktında NOD'dan başka demetillenmiş NOD varyantı da bulunmuştur.

Gürbüz ve ark. (2009), Kovada Gölü'ndeki üç örnekleme istasyonunda sudaki hücre dışı MC konsantrasyonlarını ELISA ile ölçmüş ve MC varyantlarını HPLC-PDA ile incelemişlerdir. Ayrıca göldeki siyanobakteriyel biyotayı karakterize etmişlerdir. 2006

Ağustos ve Eylül aylarında *Microcystis aeruginosa*, *Synechococcus* sp., *Phormidium limosum*, *Phormidium formosa* ve *Planktothrix limnetica* gölde gözlenen baskın siyanobakteri türleri olmuştur. Araştırmacılar, HPLC ile yapılan kantitatif analiz ile su örneklerinde beş MC varyantını (MC-LR, -RR, -LA, -LW, -LF) tanımlamışlardır. Çözünmüş MC-LW'nin maksimum konsantrasyonunu, Ekim ayında $98,9 \mu\text{g L}^{-1}$ belirlemişlerdir. MC-LR ise sadece Mayıs ayında $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyonunda tespit edilmiştir. Antikorun (MC10E7), bazı MC varyantlarına karşı çapraz reaktivitesi düşük olduğu için Eylül ve Ekim ayı örneklerinde ELISA ile elde edilen toksin verilerini, HPLC tarafından belirlenenlerden daha düşük saptamışlardır. ELISA ile ölçülen toplam hücre dışı MC miktarlarının $0,73$ ila $48,5 \mu\text{g MC-LR eşdeğerleri L}^{-1}$ arasında değiştiğini, bazı durumlarda içme suyunda WHO tarafından MC-LR için belirlenen sınır değerlerin aşıldığını rapor etmişlerdir.

Yüksel ve ark. (2009), İzmir ili ve çevresindeki termal tesislerden dört siyanobakteri türünü laboratuvar ortamında izole ederek moleküler yöntemlerle tür tanımlamasını yapmaya çalışmışlardır. İzolatların DNA'larının 16S rRNA gen bölgeleri, siyanobakterilere özgü primerler kullanılarak PCR'da çoğaltılmıştır. Sekanslama sonrası dizi analizlerine göre yapılan filogenetik analizler ile örneklerden üçünün *Geitlerinema* cinsi olduğunu, diğer suşun ise tanımlanamadığını belirtmişlerdir.

Gürbüz ve ark. (2010), Eğirdir Gölü'nde yedi yıldır gözlenen *Microcystis aeruginosa* türünün aşırı çoğalmaları üzerine, göldeki *M. aeruginosa*'nın toksisitesini değerlendirmişlerdir.

Gürbüz ve ark. (2012) başka bir çalışmalarında bir tatlı su gölünden izole edilen siyanobakteriyel suşlardaki ve *Microcystis* PCC 7806'daki MC konsantrasyonlarını, üç farklı immunoassay yöntemi ile ölçmüşlerdir. İmmünolojik testler, ELISA'nın cevabı ve numunelerdeki MC konsantrasyonları arasında istatistiksel analizler yapmışlardır. Antikorların (MAb, PAb) MC'ler ile çapraz reaktivite özelliklerinden dolayı ELISA'lar arasında, genel olarak iyi bir uyum sağlandığını belirtmişlerdir. Kullanılan MC varyantına bağlı olarak, immünolojik testlerin, farklı varyantlara karşı farklı hassasiyetler gösterdiğini ifade etmişlerdir. ELISA verileri ile karşılaştırmak ve siyanobakterilerce

üretilen MC'lerin profilini belirlemek için HPLC analizi yapmışlardır. Dolaylı bir rekabetçi ELISA yöntemi kullanılarak HPLC tespiti ile iyi bir korelasyon elde etmişlerdir.

İznik Gölü'nde Akçaalan ve ark. (2014) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, Türkiye'de ilk kez CYN rapor edilmiştir. Çalışmacılar, 2013 yılının yaz aylarında gölde *Dolichospermum (Anabaena) mendotae* ve *Chrysochlorum (Aphanizomenon) ovalisporum* türlerinin aşırı çoğaldığını gözlemlemişlerdir. Her iki tür de çoğalma sırasında gölde aktif olarak büyüyen tek siyanobakteri türleri olduğu için göldeki CYN üretimi araştırmacılar tarafından yalnızca bu türlere dayandırılmıştır. Araştırmacılar, morfolojik tayinlerin yanısıra çevresel örneklerden 16S rRNA dizi analizi ile *C. ovalisporum* ve *D. mendotae* türlerini moleküler metotlarla da tanımlamışlardır. Her iki türün çoğalma örneklerinin, CYN gen kümesinin (*cyrC* ve *aoaC*) varlığı açısından PCR'da pozitif sonuç verdiğini belirtmişlerdir. LC-MS/MS verilerinin de iki türün CYN üreticisi olduğunu desteklediğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar tarafından LC-MS/MS ile belirlenen CYN konsantrasyonları, 0,12 µg mg⁻¹ ile 4,92 µg mg⁻¹ kuru ağırlık arasında değişmiştir. Ayrıca yapılan çalışmanın bulgusuna göre *D. mendotae* türüne ait çoğalmalarda dünyada ilk kez CYN tespit edilmiştir.

Kocasarı ve ark. (2015), Mayıs 2011-Kasım 2011 tarihleri arasında Burdur Gölü'nden toplanan örneklerdeki su kalitesi parametrelerini, *Nodularia spumigena* türünün varlığını ve NOD üretimini araştırmışlardır. En yüksek Chl-a seviyeleri (27,15 µg L⁻¹) ve su sıcaklığı (29 °C)'nın gözlemlendiği Temmuz ayı sonunda, *N. spumigena* türünün bolluğu ve NOD seviyeleri zirveye ulaşmıştır (112,147 hücre mL⁻¹ and 4,82 µg L⁻¹). Örneklerdeki hücre dışı NOD konsantrasyonunu ELISA metodu ile 0,30 ile 4,82 µg L⁻¹ arasında saptamışlardır. Araştırmacılar, genellikle NOD konsantrasyonlarını; su sıcaklığı, Chl konsantrasyonu ve *N. spumigena* yoğunluğu ile ilişkilendirmişlerdir.

Daha sonra toksik *N. spumigena* türü Tüney Kızılkaya ve ark. (2016)'nın yaptıkları bir çalışmada Bafa Gölü'nde ilk kez rapor edilmiştir. Haziran 2010'da toplanan türün karakterizasyonu için morfolojik, moleküler ve kimyasal yöntemler uygulanmıştır. Filogenetik analizler; 16S rDNA (ribozomal DNA), fikosiyenin genleri arası bölge (IGS) ve nodularin sentetaz genlerinden *nda*'nın bir kısmı çoğaltılarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada *N. spumigena*'nın ürettiği NOD'un tayini; ELISA, HPLC ve LC/MS yöntemleriyle araştırılmıştır. ELISA (312,5 µg g⁻¹ kuru ağırlık) ve LC/MS (405 µg g⁻¹

kuru ağırlık) sonuçları, Bafa Gölü'nden izole edilen *N. spumigena* türünün, NOD toksinini ürettiğini göstermiştir. PCR ile NOD genlerinin varlığının gösterilmesi, bloom örneğindeki *N. spumigena*'nın toksik olduğunu desteklemiştir. Aynı zamanda morfolojik, moleküler ve filogenetik analizler; Bafa Gölü izolatının *N. spumigena* türüne ait olduğunu göstermiştir.

Toksinler, besin zinciri ile taşınarak diğer organizmalarda birikebilmektedir. Literatürde bu yöndeki çalışmalara bakıldığında Gürbüz ve ark. (2016)'nın Eğirdir Gölü'nde üç balık türünün kas ve karaciğer dokularında, ELISA ve HPLC-PDA yöntemleri ile MC birikimini inceledikleri çalışma karşımıza çıkmaktadır. Hem karaciğer hem de kas dokularında MC-LA ve -YR, ardından sırasıyla MC-LY, -LF, -RR ve -LR tespit etmişlerdir. MC'leri, aynı zamanda göldeki su örneklerinde, sedimanda ve *M. aeruginosa*'nın aşırı çoğalma örneklerinde HPLC-PDA ile belirlemişlerdir. Su numunelerinde en yaygın varyantları MC-LY ve -YR olarak tanımlamışlardır. Sudaki toplam hücre dışı MC konsantrasyonlarının $2,9 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ ile $13,5 \pm 2,3 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Sediment örneklerinin analizlerinde $7,0 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık ve $17,6 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık konsantrasyonlarında MC-YR saptanan ayların su örneklerinde, MC-YR'yi belirlememişlerdir. Benzer olarak aralık ayında sedimanda az miktarda bulunan MC-RR varyantının, su örneklerinde gözlenmediğini saptamışlardır. HPLC ile *M. aeruginosa* aşırı çoğalması örneklerinde; MC-YR, -LR, -LW ve -LF varyantlarını rapor etmişlerdir (sırasıyla $217,0 \mu\text{g g}^{-1}$, $74,3 \mu\text{g g}^{-1}$, $10,3 \mu\text{g g}^{-1}$ ve $18,4 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık). Araştırmacıların bulguları balıkların, insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek MC'ler ile kontamine olduğunu göstermiştir.

Tatlı sulardaki ötrofikasyonun siyanobakteriler üzerine bilinen etkilerinden dolayı, Akçaalan ve ark. (2016), denizel ortamlardaki ötrofikasyonun sonuçlarını incelemek için kirlilik riski altındaki Karadeniz kıyılarında potansiyel toksik siyanobakterileri araştırmışlardır. İğneada ile Samsun arasındaki beş bölgeden toplanan örneklerde, mikroskopik ve moleküler olarak siyanobakterilerin varlığını incelemişlerdir. Yüzey sularından yirmi sekiz örneğin on altı tanesinin, 16S rRNA için pozitif sonuç verdiğini belirlemişlerdir. Sakarya nehri çevresindeki her örnekleme tarihinde, mikroskopik olarak ve PCR yöntemi ile siyanobakterileri tespit etmişlerdir. Toplanan örneklerde *Anabaena*

sp., *Planktothrix* sp., *Pseudoanabaena limnetica* türlerini rapor etmişlerdir. Potansiyel toksik siyanobakterilerin belirlenmesi için PCR ile MC ve NOD genlerinin saptandığı örneklerde ELISA ile MC/NOD üretiminin olmadığını belirlemişlerdir.

Türkiye’de de son yıllarda siyanobakterilerin en doğru şekilde tanımlanması için yapılan çalışmalarda birden fazla yöntem (morfolojik, moleküler, toksikolojik vs.) uygulanmaya başlamış ve bu çalışmalar giderek artan bir önem kazanmıştır. Bu süreçte türlerin izolasyon ve kültürü de önem arz etmektedir. Örneğin, Karan ve ark. (2017) çalışmalarında Tokat ilinde tatlı su alanları ve çevresinden toplanan siyanobakterileri laboratuvar ortamında izole etmiş, bunların morfolojik sistematüğini belirlemiş ve ayrıca tür tanımlamalarını moleküler yöntemlerle desteklemişlerdir. İzole edilmiş hücrelerin ekstrakte edilmiş DNA'larında, 16S rRNA ve fikosiyanın gen bölgelerini PCR ile amplifiye etmek için siyanobakterilere özgü primerler kullanmışlardır. Elde edilen dizi analiz verilerinin bilgisayar yazılımı kullanılarak değerlendirilmesi ile *Chroococcus minutus*, *Oscillatoria limnetica*, *Geitlerinema carotinosum*, *Nostoc linckia*, *Phormidium* sp., *Cylindrospermum* sp., *Anabaena oryzae* türlerinin filogenetik tanımlamasını yapmışlardır. Dizi analizi ile tür tanımlamasına göre, moleküler verilerin morfolojik sistematüğü desteklediğini göstermişlerdir.

Köker ve ark. (2017a) çalışmalarında, Küçükçekmece Lagünü, Sapanca, İznik, Manyas ve Taşkısı Gölleri’nden toplam on siyanobakteri aşırı çoğalması örneğini ve on bir izole edilmiş siyanobakteri suşunu; moleküler yöntemlerle incelemiş ve hepatotoksin biyosentezinden sorumlu genleri amplifiye etmişlerdir. 16S rRNA geni kullanarak örneklerde *Microcystis* spp., *Nodularia spumigena*, *Anabaenopsis elenkinii*, *Planktothrix* spp., *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* türlerini tanımlamışlardır. Potansiyel toksisiteyi belirleyen hepatotoksin genlerini, örneklerin % 60'ında ve izole edilen suşların % 45'inde tespit etmişlerdir. Küçükçekmece Lagünü'nden izole edilen iki *Microcystis* türünden *M. aeruginosa*'nın MC ürettiğini belirlemişlerdir. Diğer yandan araştırmacılar PCR sonuçlarına göre, *M. aeruginosa* ve *Planktothrix agardhii* aşırı çoğalması örneklerinde *mcyE* geni saptanmasına rağmen HPLC metodu ile hiçbir MC tespit edememişlerdir. Ayrıca *McyE* genini, Taşkısı Gölü'nden izole edilen *M.*

wesenbergii'de ve Sapanca Gölü'ndeki tüm *Planktothrix rubescens* aşırı çoğalması örneklerinde saptamışlardır.

Köker ve ark. (2017b)'nin aynı yıl yaptığı bir diğer çalışmada 'SIYANOTOKS' Projesi kapsamında, seçilen on sekiz su kütlesinden dört yüz doksan yedi örnek toplayarak siyanobakterileri ve bunların toksinlerini incelemişlerdir. On dört su kütlesinde potansiyel olarak toksik on iki siyanobakteri türü tespit edilmiş ve bunların % 57'sinde aşırı çoğalma gözlenmiştir. Örnekleme alanlarının on üçünde MC, on birinde silindrospermopsin saptamışlardır. Tüm örneklerdeki MC içeriği 0,1-29,7 µg L⁻¹ arasında değişmiş olup, MC'nin örneklerdeki görülme sıklığı % 32 olarak belirlenmiştir. CYN ise % 23 sıklıkta gözlenirken, örneklerin CYN içeriği ise 0,1 ila 9 µg L⁻¹ arasında değişmiştir. Bu sonuçlara göre, siyanotoksin sorunlarının Türkiye yüzey sularında çok yaygın olduğu ileri sürülmüştür.

Yılmaz ve ark. (2018), tarafından yapılan bir çalışmada ise Türkiye'nin kuzeybatısındaki İznik Gölü'nden üç siyanobakteri suşu izole edilmiştir. Bu suşların morfolojik karakterizasyonunun yanısıra moleküler ve toksikolojik analizleri de yapılmıştır. Filogenetik analizlerde izole edilen suşların 16S rRNA gen dizileri, PST üreten suşların çoğunu içeren bir *Aphanizomenon gracile* kümesine yerleştirilmiş ve izole edilen suşların *A. gracile* olarak tanımlanması doğrulanmıştır. Bu yeni suşların, PCR ile STX biyosentez genlerine (*sxtA*, *sxtG*) sahip olduğu saptanmıştır. Filogenetik analizlerde toksin genlerine ait diziler, diğer *A. gracile* suşları ile birlikte kümelenmiştir. LC-MS/MS analizi, tüm suşlarda NEO, STX, dcSTX ve dekarbomilneosaksitoksin (dcNEO) varlığını göstermiştir. Sonuçta Yılmaz ve ark. (2018)'nin yaptıkları çalışma, Türkiye'deki herhangi bir su kütlesinde bir PST üreticisinin ilk raporunu temsil etmiştir. Bir *A. gracile* kültüründe ise dcNEO'nun ilk gözlemi olmuştur.

Türkiye'nin değişik bölgelerinde yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen Uluabat Gölü'nde yapılan çalışmalar daha çok gölün trofik seviyesi, su kalitesi, kirlenme, tür çeşitliliği ve kompozisyonu ile ilgilidir (Dalkıran ve ark. 2006, Karacaoğlu ve ark. 2006, Katip ve ark. 2015, Dalkıran ve ark. 2016a). Uluabat Gölü'nün tür çeşitliliğinin detaylı incelendiği daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda gölde *Microcystis*, *Nostoc*, *Anabaena*,

Lyngbya, *Oscillatoria (Planktothrix)*, *Aphanizomenon*, *Raphidiopsis* ve *Phormidium* taksonlarına ait türlerin varlığı rapor edilmiştir (Karacaoğlu ve ark. 2004, Dalkıran ve ark. 2016a). Bu taksonların bazı türlerinin siyanotoksin ürettiği bilinmektedir (Codd 2000, Carmichael 2001, Li ve ark. 2001). Ulcay ve ark. (2010), *Microcystis aeruginosa* ve *M. wesenbergii* türlerinin 2009 yılının Haziran ayında Uluabat Gölü'nde aşırı çoğaldığını rapor etmişlerdir. Günümüze kadar Uluabat Gölü'nde yapılan siyanobakteriyel çalışmalar sadece geleneksel mikroskopik metotlarla yürütülmüş (Karacaoğlu ve ark. 2004, Ulcay ve ark. 2010, Dalkıran ve ark. 2016a) olup, bu çalışmaya kadar gölde toksik siyanobakteri türleri ve siyanotoksinler hakkında herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanının Tanımı ve Örnekleme Noktaları

Bursa sınırları içerisinde bulunan Uluabat Gölü (40°10' K, 28°36' D), Marmara Denizi'nin 20 km güneyinde konumlanmaktadır. Tektonik orjinli bir alüvyon-set gölü olan Uluabat Gölü, yaklaşık 24 km uzunluğunda ve 12 km genişliğindedir. Gölün yıllık ortalama derinliği 2,5-3 m, maksimum derinliği 6 m olmakla birlikte özellikle yaz aylarında iklim değişikliğinin sonuçlarının yanısıra sulama amaçlı gölden su çekilmesi nedeniyle su seviyesi 0,5-1 m'ye kadar düşebilmektedir. 9 m'lik rakıma sahip gölün su yüzeyi, deniz seviyesinden 2 m yukarıdadır. 161 km² ile 138 km² arasında bir yüzey alanını kaplayan Uluabat Gölü, kabaca üçgen biçimindedir. Gölün yüzey alanı ve hacmi son on yılda % 12 oranında azalmıştır (Magnin ve Yarar 1997, Anonim 1998, Demir ve ark. 1998, Dalkıran ve ark. 2006, Kâtip 2010, Karaer ve ark. 2011, Kâtip ve Karaer 2011, Anonim 2016a).

Susurluk Havzasının önemli bir kısmını oluşturan Uluabat Gölü'nü güneybatıdan besleyen en önemli su kaynağı, Emet ve Orhaneli Çayları'nın birleşerek oluşturduğu Mustafakemalpaşa Çayı'dır. Akçalar Deresi, tarım alanlarının drenaj suları ve yağış gölün su bütçesini destekleyen diğer su kaynaklarıdır. İklimle bağlı olarak mevsimlere ve yıllara göre göle giren su miktarı değişkenlik göstermektedir. Uluabat Gölü, Susurluk drenaj havzasının önemli bir kısmının drenajını kontrol etmektedir. Gölden su çıkışı; gölün kuzeybatısında bulunan, Nilüfer ve Susurluk çaylarının birleşerek oluşturduğu Kocasu Çayı ile olur. Kocasu Çayı, sonrasında Marmara Denizi'ne dökülmektedir. Kocasu Çayı'nın akışı bazı periyotlarda ters doğrultuda olup gölü besler niteliktedir. Gölden su çıkışı, sulama ve buharlaşma ile de meydana gelmektedir. Uluabat Gölü, yıllık toplam 2060 hm³ su kapasitesine sahiptir (Anonim 1999, Salihoğlu ve Karaer 2004, Kazancı ve ark. 2006, İleri 2010, Anonim 2016a).

Uluabat Gölü'nde çevresinden kaynaklanan pek çok kirletici faktör bulunmaktadır. Emet ve Orhaneli Çayları aracılığı ile Mustafakemalpaşa Çayı üzerinden göle tarımsal kirlilik girdisi olmaktadır. Tarımsal faaliyetler sonucu gölün hem sediman yükü artmakta hem de

su seviyesi her geçen gün azalmaktadır. Ağır metal kirliliği oluşturan bor, arsenik ve krom maden atıkları; Orhaneli ve Emet Çayları ile taşınarak Mustafakemalpaşa Çayı'na ulaşmaktadır. Atık su arıtım tesisi bulunmayan 23 adet süt işleme tesisi de Mustafakemalpaşa yerleşiminde kirletici baskı unsurlarından bir diğerini oluşturmaktadır. Ayrıca Mustafakemalpaşa Çayı, endüstri ve madencilik faaliyetlerinden, yerleşimden, düzensiz katı atık bertarafının sebep olduğu kirliliği de göle taşımaktadır (Anonim 2016a). 10756 km² drenaj alanına sahip Mustafakemalpaşa Çayı Havzasında 67 adet yerleşim merkezi bulunmaktadır. Başta arıtma tesisi bulunmayan Tavşanlı kanalizasyon sistemi olmak üzere Tunçbilek termik santrali ve linyit işleme tesisleri bölgenin en önemli kirlilik kaynaklarıdır. Tunçbilek termik santrali ve linyit işleme tesisleri atıklarını, fiziksel arıtma işlemine tabi tutulduktan sonra Orhaneli Çayı'na deşarj etmektedirler. Mustafakemalpaşa köyü, organize deri sanayi bölgesi ve mezbananın arıtılmamış atık suları, Mustafakemalpaşa Çayı'na boşaltılmaktadır (Dalkıran ve ark. 2006, Katip 2010). Akçalar kasabası ve Mustafakemalpaşa ilçesinden gelen arıtılmamış evsel atıksu deşarjları da vardır. Tüm bu kirletici faktörler ve bunun yanısıra avlanma ve erozyon; gölün su kalitesini bozmakta, göl ekosistemine zarar vererek ötrofikasyona neden olabilmektedir (Anonim 2016a). Mustafakemalpaşa ilçe merkezi ile Camandar köyü arasında bulunan kum-çakıl ocakları ise Mustafakemalpaşa Çayı'nın askıda katı madde oranını yükseltmektedir. Mustafakemalpaşa Çayı'nın taşıdığı bu kirlilik ve akış; Uluabat Gölü'nde askıdaki katı madde (AKM) miktarını artırmaktadır (Anonim 1999). Bunun sonucu olarak bulanık hale gelen gölde; kirletici kaynakların besin tuzlarını da beraberinde getirmesiyle gölün trofik seviyesi etkilenmekte, ötrofikasyon hızlanmakta ve alglerin mevsimsel değişimleri etkilenmektedir. Kocasu Deresi'ne ise Karacabey ve çevresindeki işletmelerden çeşitli atık sular bırakılmaktadır. Demir ve ark. (1998) da çalışmalarında özellikle kış sonu-ilkbahar başında Kocasu Deresi'nin ters akım sonucu bünyesine aldığı atıksuları ve Nilüfer Çayı'ndaki kirliliği, Uluabat Gölü'ne taşıdığını belirtmişlerdir. Kirletici faktörlerin ve iklimsel etkenlerden dolayı, Uluabat Gölü giderek hipertrofik seviyeye yaklaşmaktadır. "Susurluk Havzası Su Kalitesi İzleme Projesi" kapsamında dört mevsim incelenen Uluabat Gölü'nün trofik durum parametrelerinin genel eğiliminin ötrofik durumu belirttiği; "Türkiye'de Havza Bazında Hassas Alanların ve Su Kalitesi Hedeflerinin Belirlenmesi Projesi" kapsamında incelendiğinde ise Carlson Trofik İndeksi'ne göre hipertrofik seviyede olduğu rapor edilmiştir (Anonim 2016a).

Yapılan doktora tez çalışması kapsamında dört farklı örnekleme noktası belirlenmiştir. Nokta 1, Kocasu Çayı'na yakın kısım (Gölden su çıkışını sağlayan ana kısma yakın bölge) iken Nokta 3, Mustafakemalpaşa Çayı'na yakın kısım (Göle su girişini sağlayan ana kısma yakın bölge)'dir. Bu noktalarla birlikte Nokta 2 ve Nokta 4, örneklemenin göl uzunluğu boyunca gölü karakterize edecek şekilde yapılabilmesi için seçilmiştir. Uluabat Gölü'nün genel görünümü, örnekleme noktaları (Şekil 3.1) ve örnekleme noktalarının koordinatları Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Uluabat Gölü örnekleme noktaları

Çizelge 3.1. Uluabat Gölü örnekleme noktalarının koordinatları

Nokta 1	40°11'56.0"N, 28°29'03.9"E
Nokta 2	40°11'24.9"N, 28°32'47.7"E
Nokta 3	40°09'41.1"N, 28°34'35.3"E
Nokta 4	40°09'30.6"N, 28°39'52.9"E

3.2. Örneklerin Toplanması, Taşınması ve Saklanması

Siyanobakteriler özellikle yaz aylarında sucul ekosistemlerde büyük populasyonlar oluşturduğu için (Karacaoğlu ve ark. 2004, Dalkıran ve ark. 2006, Karacaoğlu ve ark. 2006) bu doktora tez çalışması kapsamında yapılan araziler, 23 Haziran 2015 ile 9 Eylül 2016 tarihleri arasında siyanobakterilerin Uluabat Gölü'nde bol bulunduğu yaz aylarında (Dalkıran ve ark. 2016a) yapılmıştır. Örnekler, Uluabat Gölü'nü temsil edecek dört farklı

örnekleme noktasından iki haftada bir olacak şekilde Çizelge 3.1’de belirtilen koordinatlardan toplanmıştır. Toplamda on iki arazi çalışması yapılmıştır. Gölden örneklerin toplanması için gerekli izinler ilgili devlet kurumlarından alınmıştır.

Uluabat Gölü’ndeki belirtilen noktalardan temelde iki farklı örnekleme yapılmıştır:

- Vertikal olarak alınan su kolonu örnekleri
- Yatay çekimle toplanan plankton çekimi örnekleri

Su kolonu örnekleri; belirlenmiş olan örnekleme noktalarından vertikal entegre su kolonu örnekleme cihazı (1, 2 veya 3 m uzunluğunda, 5 cm çapında) ile yüzeyden itibaren 1-3 m’ye kadar olan derinlikten alınmıştır (Bledsoe ve Philips 2000, Philips ve ark. 2007, Frost ve ark. 2008, Philips ve ark. 2008). PVC (polivinil klorid) tüpler ile alınan bu su örnekleri, vertikal olarak tüm su kolonunu temsil eden örneklerdir. PVC tüp ile bir kaba alınan su kolonu örnekleri, karıştırıldıktan sonra farklı şişelere doldurulmuştur. Daha sonra alınma amacına uygun bir şekilde laboratuvara taşınmıştır.

Alınan su örnekleri farklı analizlerde kullanılmak üzere farklı kısımlara ayrılmıştır. Bir kısmı siyanobakteri izolasyonları için ayrılırken, bir kısmı ELISA analizleri için ayrılmıştır. Toksin analizleri için ayrılan su örnekleri, önceden asitle yıkanmış cam şişelere konulmuş ve laboratuvara soğuk olarak taşınmıştır. Laboratuvara getirilen su kolonu örneklerinden, üç tekrarlı olacak şekilde kapaklı cam tüplere her toksin için 5 mL ayrılmıştır. Örnekler, ELISA analizlerine kadar -20 °C’de saklanmıştır. Arazi esnasında Chl a ölçümü için, belli hacimdeki su kolonu örneği cam mikrofiber filtre kağıdından (GF/F) süzülüp, soğuk olarak laboratuvara taşınmıştır. Chl a analizi için kullanılacak bu filtre örnekler, analize kadar -20 °C’de saklanmıştır.

Plankton çekimi örnekleri, örnekleme noktasından itibaren su yüzeyinden yatay olarak 5-10 dk boyunca 20 µm’lik göz açıklığına sahip plankton kepçesi yardımıyla toplanmıştır. Bu örnek, çok yoğun olduğu için çabuk bozulabileceğinden soğuk bir şekilde araziden hemen sonra laboratuvara taşınmıştır. Örnekleme noktalarından toplanan plankton çekimi örneklerinin bir kısmı siyanobakteri izolasyonları için kullanılmıştır. Plankton çekimi

örneği, su kolonu örneğine göre daha yoğun olduğu için gözden kaçabilecek farklı siyanobakteri türlerinin görülmesi ve izolasyonu amaçlanmıştır.

Ayrıca plankton çekimi örnekleri; toplam genomik DNA izolasyonu, PCR ile toksin genlerinin tespit edilmesi ve toksin analizleri (ELISA ve LS-MS/MS) için kullanılmıştır. Bu amaçlarla plankton çekimi örnekleri; ependorf tüplerde 14800 rpm’de 10 dk (Microfuge 16 Centrifuge, Beckman Coulter), 50 mL’lik falkonlarda 4200 rpm’de 20 dk santrifüj (Allegra X30R, Beckman Coulter, IN, USA) edilmiştir. Örneklerin pelletleri analizlere kadar -20 °C’de saklanmıştır. ELISA ve LC-MS/MS analizleri için ayrılan plankton çekimi örnekleri, analizden önce liyofilizasyona gönderilmiştir. Liyofilize edilen örnekler, toksin analizlerine kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.3. Toksik Siyanobakteri Türlerinin Teşhisi, İzolasyonu ve Kültürü

Siyanobakteriler, morfolojik olarak çeşitlilik göstermekte ve temelde filamentli ve filamentsiz formlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Filamentsiz formlar içinde iki ordo bulunmaktadır: Chroococcales ve Pleurocapsales. Her iki takımın üyeleri de tek hücreli küresel hücrelere veya jel benzeri bir matriksin onları bir arada tuttuğu agregat formlara sahiptir. Filamentli siyanobakteriler üç takıma ayrılmaktadır. Oscillatoriales üyeleri; heterosist veya akinet oluşturmeyen iplikler oluşturmak için tek bir düzlemde bölünmektedir. Nostocales üyelerinin Oscillatoriales takımından farkı heterosist ve bazı türlerinin ise akinet oluşturabilmesidir. Stigonematales üyeleri ise birden fazla düzlemde bölünüp, yüzeylerde veya serbest su süspansiyonunda dallanmış filament kümeleri oluşturmaktadır (Stewart ve Falconer 2008). Schirrneister ve ark. (2011), 16S rRNA gen dizilerine göre siyanobakterileri morfolojik olarak; ikiye bölünen tek hücreli koloniler, çoklu bölünen tek hücreli koloniler, çok hücreli koloniler, farklılaşmış hücrelere sahip çok hücreli koloniler ve farklılaşmış hücrelere sahip dallanmış çok hücreli koloniler olarak beş ayrı bölüme ayırmıştır.

Gerek su kolonu örneklerinden gerekse plankton çekimi örneklerinden izole edilip kültüre alınan toksik olabilecek siyanobakteri taksonları, inverted mikroskop (Olympus, CKX41-PH) ve ışık mikroskobu altında değişik büyütmeleerde (x10, x20, x40, x100)

fotoğraflanmıştır. Morfometrik ölçümler, Image J (Anonim 2020b) programı kullanılarak bu fotoğraflar üzerinden yapılmıştır. Hücre boyutları, koloni çapı, filament ve trikom eni için ölçümler elli tekrarlı yapılmıştır. Diğer yandan heterosist ve akinet boyutları, sarmal yapan ipliksi formdaki bireylerde sarmal genişliği, trikom ve filament uzunlukları otuz tekrarlı olarak ölçülmüştür. Bazı suşların kültüründe ise akinet ve heterosist oluşumu gözlenmediği için diğer morfolojik ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Siyanobakteri taksonları, morfolojik olarak Komárek ve Anagnostidis (1999, 2005), John ve ark. (2003) ve Komárek (2013)'e göre tayin edilmiştir.

Siyanobakteri izolasyonları, hem plankton çekimi örneklerinden hem de su kolonu örneklerinden yapılmıştır. Mümkün olduğunca farklı tür kültüre alınmaya çalışılmıştır. İzolasyonlar temelde iki yolla gerçekleştirilmiştir:

- Tek hücre izolasyonu
- Seyrelterek izolasyon

Tek hücre izolasyonunda, inverted mikroskop (Olympus, CKX41-PH) altında lama alınan su örneğinden izole edilmesi planlanan türe ait birey, 10 μ L'lik mikropipet yardımıyla çekilip (Yılmaz ve ark. 2008; Yılmaz ve Philips 2011b), üzerinde 1/20'lik steril ortam bulunan temiz bir lama aktarılmıştır. Bu sayede organizmanın yıkanması sağlanmıştır. Daha sonra siyanobakteri hücresi buradan yine mikropipet ile alınıp içerisinde 1/20'lik steril kültür ortamı bulunan mikro kuyucuklu plakalara ekim yapılmıştır.

Seyrelterek izolasyonda ise belirli hacimdeki örnek (10-20 μ L), içerisinde steril ortam (280 μ L) bulunan 96 kuyucuklu mikro plakanın ilk kuyusuna ekilmiş ve buradan itibaren en sondaki kuyuya kadar seyrelterek yandaki kuyulara ekim yapılmıştır. Bu yöntem, ortam zenginleştirilmesi ile izolasyon esasına dayanmaktadır (Andersen ve Kawachi 2005).

İzole edilip kültüre alınabilen siyanobakteri suşu sayısını artırmak için izolatlar, mümkün olduğunca farklı kültür ortamlarına ekilmiştir. Siyanobakterilerin kültüründe pek çok

farklı ortam kullanılmaktadır. Fakat BG11 kültür ortamı, siyanobakterilerde en yaygın olarak kullanılan ortamlardan biridir (Stainer ve ark. 1971). Bu tez çalışmasında, siyanobakterilerin izolasyonu ve kültürü için BG11 (Stainer ve ark. 1971) ve MLA (Bolch ve Blackburn 1996) kültür ortamları ve bu ortamların azot kaynağı içermeyen formları kullanılmıştır. İzole edilen siyanobakteri filamentleri veya hücreleri; mikro kuyucuklu plakalarda, iklim kabininde (Panasonic Healthcare) 23 °C sıcaklık, 50 μmol foton $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda 12s:12s (aydınlık-karanlık) fotoperiyodunda inkübe edilmiştir. Filamentler, inverted mikroskop altında haftalık kontrol edilmiştir. İnkübasyon süresi sonrasında iyi büyüyen kuyulardaki siyanobakteri örneklerinin, monosiyanobakteriyel olması durumunda seyreltilmemiş kültür (full strength) ortamlarına aktarımları yapılmıştır. İklim kabininde aynı şartlarda inkübasyona devam edilmiştir. Monosiyanobakteriyel suşlar, giderek artan hacimlerde cam tüplerde veya erlenlerde kültüre alınmış olup genetik ve toksikolojik analizler için gerekli kültür miktarları elde edilmiştir.

Genomik DNA izolasyonları için gereken hücre materyalleri, cam tüplerdeki monosiyanobakteriyel kültürlerden karşılanmıştır. 14800 rpm'de 10 dk santrifüjden sonra elde edilen pellet -20 °C'de saklanmıştır. Toksin analizleri için ise erlenlerdeki ortalama 1 aylık kültürler, santrifüjle hasat edilmiştir. Pelletler, liyofilizasyona kadar ve liyofilizasyon sonrasında -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.4. Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Arazi esnasında su örneğinin alındığı noktada, yüzeyden itibaren 1m aralıklarla dibe kadar pH, su sıcaklığı, elektriksel iletkenlik (EC), çözülmüş oksijen (DO) değerleri, YSI multiparametre aleti (YSI Professional Plus, Ohio, ABD) ile ölçülmüştür. Işık yoğunluğu (fotosentezde aktif ışınım: PAR), Li-Cor Pro Plus (Nebraska, ABD) marka ışık ölçer ile iki tip sensör kullanılarak belirlenmiştir. Birinci tip sensör, ışık yoğunluğunu tek doğrultuda (yönde) ölçen ve sadece yüzeyde kullanılan kuantum sensörüdür. İkinci tip sensör ise hem hava hem su içinde kullanılıp ışık yoğunluğunu her doğrultuda ölçen küresel kuantum sensörüdür. Bulanıklık, seki diski ile belirlenmiştir.

3.5. Klorofil a Miktarının Belirlenmesi

Klorofil a, bütün fotosentetik alglerde ve bitkilerde bulunan ana pigmenttir. Işık enerjisinin, organik bileşiklerde kimyasal enerji halinde tespit edilmesini sağlayan fotosentez olayının gerçekleşmesini sağlar. Sucul ekosistemlerde besin ağları, biyokütle ile ilgili bilgi veren ve en sık ölçülen biyokimyasal parametredir (Jeffrey ve Mantoura 1997). Klorofiller, bir magnezyum iyonunu şelatlayan bir tetrapireol yapısında, ışığa karşı duyarlı pigmentlerdir. Chl a ve b, Chl c'den farklı olarak yan bir fitol zincirine sahiptir. Klorofil molekülü, magnezyum iyonunu kaybettiğinde elde edilen ürün, bir feofitindir (Aminot ve Rey 2001).

Klorofilin ölçülmesinde ilk adım, suyun filtre edilmesini ve daha sonra ise filtredeki hücrelerden uygun bir çözücü ile klorofilin ekstrakte edilmesini gerektirmektedir. Klorofiller ve karotenoidler, su içeren canlı bitki dokusundan aseton, metanol veya etanol gibi suyu alabilen organik çözücüler tarafından ekstrakte edilebilen yağda çözünen pigmentlerdir (Lichtenthaler 1987). Chl a'nın belirlenmesinde aseton başta olmak üzere değişik organik çözücüler kullanılmaktadır. Etanol, asetona göre daha güvenli alternatif bir ekstraktanttır (Ritchie 2006). Fotosentetik pigmentlerin siyanobakterilerden ve yeşil alglerden ekstraksiyonunda asetona göre daha iyi bir çözücüdür. Ayrıca % 90 veya % 95 etanol çözeltisi, kaynatma basamağında ve ardından 24 saat inkübasyon sırasında, klorofil pigmentinin degradasyonu olmadan ekstraksiyonuna olanak sağlamaktadır. Hem % 90 ve hem de % 95 etanol, Chl a'nın ekstraksiyonu için uygundur (Sartory ve Grobbelaar 1984). Yaptığımız çalışmada, % 95'lik derişimdeki etanol kullanılmıştır (Wintermans ve De Motts 1965, Parker ve ark. 2016).

Arazi sırasında örneğin yoğunluğuna göre GF/F filtrelerinden süzülen 150-500 mL su kolonu örneği, Chl a analizine kadar -20 °C'de saklanmıştır. Chl a miktarını belirlemek için filtre edilmiş su kolonu örneklerinin üzerlerine 8 mL % 95'lik etanol eklendikten sonra, 5 dk 78 °C'de su banyosunda bekletilmiştir. 24 saat ile 72 saat arasında karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında inkübasyona bırakılarak pigment ekstraksiyonu tamamlanmıştır (Sartory ve Grobbelaar 1984). Pigment ekstraktı, 20 dk 2000 rpm'de santrifüj edildikten sonra standart metotlar (Anonim 2005)'a göre modifiye edilerek

spektrofotometrik okumaları yapılmıştır. Süpernatantın, spektrofotometrede öncelikle 664 nm ve 750 nm % 95'lik etanole karşı absorpsiyonları ölçülmüştür. Süpernatant üzerine daha sonra 0,2 N hidroklorik asit (HCl) ilave edilmiştir. Postasidifikasyon süresi (90 s)'nden sonra 665 nm ve 750 nm'de tekrar absorpsiyon ölçülmüştür.

Chl a'nın belirlenmesi; HCl ile muamele edilmesinden sonra Chl a'nın feofitin a'ya (Phe a) dönüştürülmesi esasına dayanmaktadır (Lorenzen 1967). Chl a'nın Phe a dönüşümü, Chl a molekülünün bir porfirin halkası içindeki magnezyum iyonlarının yerine geçen, seyreltik asitten gelen protonlar tarafından başlatılır (Joslyn ve Mackinney 1938). Bu kimyasal reaksiyon, kırmızı ışık spektrumu içerisinde pik (tepe) absorpsiyonunda 664 nm'den (Chl a) 665 nm'ye (Phe a) bir değişime neden olur. Bu spektral değişimin büyüklüğü, ekstraktant çözücüdeki pigmentin bilinen optik özelliklerine dayanarak hesaplanabilen Chl a konsantrasyonuyla orantılıdır. Chl a'nın feofitine dönüşmesini yavaşlatan yetersiz asidifikasyon, Chl a konsantrasyonunun tahminin altında değerler vermesine neden olmaktadır (Parker ve ark. 2016).

Chl a miktarını belirlemek için hesaplamalar, Anonim (2012)'de bulunan Lorenzen (1967) tarafından geliştirilen formüle göre gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Chl a} = [A \times K \times ((664_b - 750_b) - (665_a - 750_a)) \times V_e] / V_f \times l \quad (3.1)$$

Chl a: Klorofil a pigment konsantrasyonu (mg Chl a L⁻¹); A, 11.99 mg Chl a cm L⁻¹'e eş değer ters absorpsiyon sönme katsayısı (Wintermans ve De Mots 1965); K, 2,43'ün absorpsiyon indirgenme faktörü (Lorenzen 1967); 664_b, asidifikasyondan önce 664 nm'deki temel absorpsiyon; 750_b, asidifikasyondan önce 750 nm'deki absorpsiyon; 665_a, asidifikasyondan sonra 665 nm'deki absorpsiyon; 750_a, asidifikasyondan sonra 750 nm'deki absorpsiyon; V_e, pigmenti ekstrakte etmek için kullanılan % 95'lik etanolün hacmi (mL); V_f, filtre edilen örneğin hacmi (mL); l, küvetin yol uzunluğu (cm)'dur.

3.6. Toksin Analizleri

3.6.1. Toksin analizleri için örneklerin hazırlanması

Su kolonundaki toplam toksin konsantrasyonu (serbest ve hücreye bağlı) belirlenmeye çalışılacağından analizden önce uygun hücre parçalama prosedürleri izlenmiştir. Bu sayede yanlış sonuçlara neden olabilecek hücreye bağlı toksinlerin uzaklaştırılması engellenmeye çalışılmıştır. Kapaklı cam tüplerdeki su kolonu numuneleri, intraselüler (hücre içi) mikrosistinleri ekstrakte etmek için (Metcalf ve Codd, 2000) 1 dk boyunca kaynayan su banyosunda inkübe edilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan örnekler, parçalanmış hücre artıklarının pellet şeklinde çökmesi için 14800 rpm'de 5 dk santrifüj (Microfuge 16 Centrifuge, Beckman Coulter) edilmiştir. Süpernatantlar, MC tayini için ELISA analizlerinde kullanılmıştır. Cam tüplerde bulunan diğer su kolonu örnekleri ise üç kez dondurulup çözülerek hücrelerin parçalanması sağlanmıştır. Santrifüjden sonra süpernatantlar, su kolonu örneklerinde STX, CYN ve ATX-a tayini için RBA (reseptör bağlanma analizi) ve ELISA analizlerinde kullanılmıştır.

Su kolonu örnekleri ile her ne kadar ortamdaki gerçek toksin değerleri belirlenmeye çalışılsa da, hücre içi toksin miktarının düşük olduğu durumlarda ortamdaki mevcut toksinler saptanamayabilmektedir. Plankton çekimi örnekleri, incelenen ortamdaki türleri yoğunlaştırarak topladığı için hücre içi toksinlerini tespit etme olasılığımızı artırmış, gözden kaçabilecek mevcut siyanotoksinleri belirlemeyi sağlamıştır. Yaklaşık 10 mg liyofilize edilmiş plankton çekimi örneği veya monosiyanobakteriyel kültür örneği; 1,5 mL steril ultra saf suda (steril Milli-Q water), 1:3 (w/v) oranında cam boncuklarla ($\leq 106 \mu\text{m}$, Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD) vortekslenerek ekstrakte edilmiştir. Ekstraktların 14800 rpm'de 10 dk santrifüjünden (Microfuge 16 Centrifuge, Beckman Coulter) sonrasında süpernatantlar, toksin analizlerinde kullanılmıştır. Süpernatantlar 3200 kata kadar farklı oranlarda seyreltilmiştir.

Ayrıca kültüre alınabilen türlerden toksik potansiyele sahip olanlarının hızlıca taranması için ön deneme niteliğinde yaklaşık 5 mL monosiyanobakteriyel kültür santrifüjlenmiştir. Pelletler (30-50 mg yaş ağırlık), steril ultra saf su ile yıkandıktan sonra cam bilyeler

vasıtasıyla 1,5 mL ultra saf su içerisinde ekstrakte edilmiştir. Santrifüjden (14800 rpm'de 10 dk) sonra süpernatantlar toksin analizlerinde (ELISA ve RBA) kullanılmıştır. İzole edilen suşlara ait kültürlerin toksik olup olmayacağı hakkında bir ön veri elde etmek için kültürlerin yaş ağırlıklarından toksin analizleri yapılmıştır. Pozitif örnekler, PCR ile doğrulandıktan sonra kültürler daha büyük hacimlerde yetiştirilmiş ve liyofilizasyona gönderilmiştir. Liyofilize örnekler tekrar ELISA analizlerine tabi tutulmuştur. Toksin varlığı saptanan örneklerden bazıları seçilerek son doğrulama için LC-MS/MS'e gönderilmiştir.

3.6.2. ELISA ve RBA ile toksin analizleri

ELISA, monoklonal (Zeck ve ark. 2001) veya poliklonal (Metcalf ve ark. 2000; Yu ve ark. 2002) antikorlarla antijenlerin arasındaki reaksiyona dayalı renk değişiminin, işaretli enzimler aracılığı ile belirlenerek örneklerdeki hedef molekül miktarının belirlendiği biyoanalitik bir analizdir. Yanlış pozitif sonuçlara sebep olabilen toksik olmayan bileşiklerle çapraz reaktivite problemi kompetitif ELISA metodları ile minimize edilmiştir (De Figueiredo ve ark. 2004). Ayrıca ELISA analizi için kullanılan kitlerin tespit limitlerinin düşük olması, bu analizi WHO'nun içme sularında MC için kılavuz değer olarak belirttiği $1 \mu\text{g L}^{-1}$ altındaki gibi çok düşük toksin değerlerini bile saptamada olanaklı kılmaktadır.

Reseptörler, hücre içinden veya dışından sinyallerin alınması ile ilgili plazma membranında bulunan proteinlerdir. Bu makromoleküller, spesifik moleküller (ligand) ile birlikte hücrenin düzenlenmesinde önemli rollere sahiptir (Anonim 2013). RBA'nın temel ilkesi, sınırlı sayıda belirli reseptör bağlanma alanları için bir analit (analiz edilecek örnekteki işaretlenmemiş toksin) ve bir etiketli ligand (etiketli toksin) arasındaki rekabete dayanmaktadır (Dechraoui Bottein ve Clausing 2017). RBA, toksin varyantlarından bağımsız olarak örnekteki birleşik toksisiteyi ölçmek için kullanılabilir (Anonim 2013).

Yapılan doktora tez çalışmasında su kolonu örnekleri, plankton çekimi örnekleri ve izole edilen suşlara ait kültür örneklerinin MC, STX ve CYN analizleri ELISA, ATX-a analizleri ise RBA testi ile gerçekleştirilmiştir. ELISA ve RBA analizleri, kitlerdeki

üretici firma talimatlarına uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Numunelerin absorpsansları, Epoch mikropilaka okuyucusunda (BioTek, VA, ABD) okunmuştur. Kullanılan kitler aşağıda özellikleri ile birlikte belirtilmiştir.

Mikrosistin-ADDA ELISA kiti (Microcystins-ADDA ELISA Kit, Abraxis 520011):

Microcystins-Adda ELISA (Abraxis, 520011), su örneklerinde bulunan MC'lerin ve NOD'ların varyantlarından bağımsız olarak kalitatif ve/veya kantitatif tespitini sağlayan bir indirekt kompetitif ELISA'dır. Test; MC'lerin, NOD'ların ve türdeşlerinin spesifik antikorlar tarafından tanınmasına dayanmaktadır. MC'lerin ve NOD'un çoğunun yapısında bulunan karakteristik Adda grubunu tanıyan spesifik antikorlar kullanılmaktadır (Fischer ve ark. 2001). Toksin (incelenen numunede bulunduğu) ve plaka üzerinde immobilize edilmiş bir mikrosistin-protein analogu, çözelti içindeki anti-MC/NOD antikorlarının bağlanma bölgeleri için rekabet eder. Plaka daha sonra yıkanır ve ikinci bir antikor-HRP etiketi eklenir. İkinci bir yıkama aşamasından ve substrat çözeltisinin eklenmesinden sonra, bir renk sinyali meydana gelir. Mavi rengin yoğunluğu, numunede bulunan MC'lerin konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Renk reaksiyonu belirli bir süre sonra durdurulur. Bir mikropilaka okuyucu kullanılarak 450 nm dalga boyundaki absorpsans okunur ve renk değerlendirilir. Numunelerin konsantrasyonları, her çalışma için ayrı oluşturulan standart eğri kullanılarak interpolasyonla belirlenir. Bu ELISA kiti için, MC-LR'ye dayanan tespit sınırı, 0,10 ppb'dir ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Silindrospermopsin ELISA kiti (Cylindrospermopsin ELISA Kit, Abraxis 522011):

Abraxis Cylindrospermopsin ELISA (522011), su örneklerinde CYN'nin kantitatif ve hassas olarak tespit edilebilmesi için direkt kompetitif bir ELISA'dır. Analiz, CYN'nin spesifik antikorlar tarafından tanınması esasına dayanır. Bir örnekte CYN mevcut olduğunda CYN ve CYN-HRP analogu, çözeltideki anti-CYN antikorlarının bağlanma alanları için rekabet eder. Anti-CYN antikorları daha sonra, mikrotitre plakasının kuyuları üzerinde immobilize olan ikincil bir antikora bağlanır. İlk yıkama aşamasından sonra substrat çözeltisinin eklenmesiyle bir renk oluşumu meydana gelir. Mavi rengin yoğunluğu, örnekte bulunan CYN konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Renk reaksiyonu,

belirli bir süre sonra durdurulur. Bir mikrolaka okuyucu kullanılarak 450 nm dalga boyundaki absorbans okunur ve renk değerlendirilir. Örneklerdeki CYN konsantrasyonları, her çalışma için ayrı olarak oluşturulan standart eğri kullanılarak interpolasyon ile belirlenir. Kitin tespit sınır değeri, 0,040 ppb ($\mu\text{g L}^{-1}$)'dir. Kullanılan ELISA kiti, CYN ve ilgili bileşikleri değişen derecelerde (CYN % 100, deoksi-silindropermopsin % 112 spesifitesinde) tanımaktadır.

Saxitoxin ELISA kiti (Saksitoksin ELISA Kit, Abraxis 52255B):

Saksitoksin ELISA, STX'in kantitatif ve/veya kalitatif tespiti için bir immünoassaydır. STX, PSP ile ilişkili toksinlerden biridir. Test, STX'in spesifik antikolar tarafından tanınmasına dayanan direkt kompetitif bir ELISA'dır. STX (bir örnekte bulunduğu) ve STX-enzim konjugatı, çözelti içindeki tavşan anti-STX antikolarının bağlanma yerleri için rekabet eder. STX antikoları daha sonra mikrotitre plakası üzerinde immobilize edilmiş ikinci bir antikor (anti-tavşan) ile bağlanır. Bir yıkama aşamasından ve substrat çözeltisinin eklenmesinden sonra, bir renk sinyali üretilir. Mavi rengin yoğunluğu, numunede bulunan STX konsantrasyonuyla ters orantılıdır. Renk reaksiyonu belirli bir süre sonra durdurulur. Bir mikrolaka okuyucu kullanılarak 450 nm dalga boyundaki absorbans okunur ve renk değerlendirilir. Numunelerin konsantrasyonları, her işlem için oluşturulan standart eğri kullanılarak interpolasyonla belirlenir. STX için tespit limiti 0,015 ng mL⁻¹'dir. Kullanılan kitin farklı derecelerde tanıdığı STX ve diğer PSP toksinleri: Saksitoksin (% 100), dekarbamil saksitoksin (% 29), gonyatoksin-5B (% 23), gonyatoksin 2&3 (% 23), lyngbyatoksin (% 13), sülfö gonyatoksin 1&2 (% 2), dekarbamil gonyatoksin 2&3 (% 1,4), neosaksitoksin (% 1,3), gonyatoksin 1&4 (< % 0,2), dekarbamil neosaksitoksin (% 0.6).

Anatoksin-a Reseptör Bağlanma Analizi Kiti (Anatoxin-a Receptor-Binding Assay, RBA, Abraxis 520050):

Abraxis Anatoxin-a Reseptör Bağlanma Analizi, tatlı su örneklerinde ATX-a'nın kantitatif ve/veya kalitatif tespiti için uygun patentli bir reseptör bağlanma analizidir. Bu test, ATX-a'nın nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChRs) için afinitesine dayanan bir

reseptör bağlanma analizidir. ATX-a'nın bir örnekte bulunduğu, mikrotitre plakaları üzerine kaplanmış nAChRs'lerin asetilkolin bağlanma alanları için biyotinlenmiş α -bungarotoksin ile rekabet edecektir. İlk yıkama aşamasından sonra, reseptöre bağlı biyotinlenmiş α -bungarotoksinin kolorimetrik olarak tespit edilebilmesi için streptavidin-HRP çözeltisi eklenir. İkinci yıkama aşamasından sonra, substrat (renk) çözeltisi eklenir ve renk oluşumu meydana gelir. Mavi rengin yoğunluğu (şiddeti), örnekte bulunan ATX-a'nın konsantrasyonuyla ters orantılıdır. Renk reaksiyonu belirli bir süre sonra durdurulur ve sarı renk oluşur. Bir mikropilaka okuyucu kullanılarak 450 nm dalga boyundaki absorbans okunur ve oluşan renk değerlendirilir. Doğal ve yapay ışığa maruz kalma ATX-a'nın yapısında bozunmaya neden olacağından dolayı analiz mümkün olduğunca karanlık bir ortamda yapılmalıdır. Bu kitte ATX-a için tespit sınırı 10 ng mL^{-1} 'dir. Analiz aralığı ise 10 ng mL^{-1} ile 500 ng mL^{-1} 'dir.

ELISA ve RBA, örneklerdeki toksinlerin varlığı/yokluğu için hızlı bir tarama sağlayan testlerdir. Çevresel örneklerde bulunabilecek bileşik çeşitliliğinin yüksek olması nedeniyle, örneklerde matris etkilerinden kaynaklanan veya çeşitli bileşiklerin ilgili toksin ile aynı reseptöre bağlanması sonucu yanlış pozitif sonuçlar saptanabilir. Bu yüzden ilgili toksinler için örneklerde saptanan pozitif sonuçların, alternatif yöntemlerle doğrulanması (PCR, HPLC, GC, LC/MS vs.) gerekmektedir. Bu yüzden ELISA ve RBA testleri ile ilk taraması yapılan plankton çekimi ve kültür örneklerinin pozitif sonuç verenlerinin PCR ile ikinci bir taramaları yapılmıştır. Toksin genlerine özgü primerler aracılığı ile yapılan PCR'da *M. aeruginosa* Aquameb 24 kültür örneğinde gözlenen *mcyA* toksin geni agaroz jelden saflaştırılarak dizilemeye gönderilmiştir. Plankton çekimi örneklerinde ise PCR ile saptanan toksin genlerinin klonlaması yapılarak hangi potansiyel toksik türe ait olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. PCR'da toksin geni saptanan, ELISA sonucu mikrosistin tespit edilen örnekler içerisinde *M. aeruginosa* Aquameb 24 suşu ve bu suşun izole edildiği plankton çekimi örneği (22.07.2015 Nokta 1) son doğrulama için LC-MS/MS'e gönderilmiştir. LC-MS/MS analizlerinde, ELISA analizi ile belirlenemeyen toksin varyantları da saptanmıştır. Diğer yandan ELISA ve RBA ile yanlış negatif sonuçlar da elde edilebileceğinden analizlerde saptanan negatif sonuçların da PCR ile ikinci taraması yapılmıştır.

3.6.3. LC-MS/MS ile toksin analizleri

22.07.2015 tarihli Nokta 1 plankton çekimi örneğinde ve *M. aeruginosa* AQUAMEB-24 kültüründe mikrosistin çeşitleri ve miktarları LC-MS/MS yöntemi ile 114Y641 no'lu TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında Greenwater Labs/CyanoLab'dan (Florida, ABD) hizmet alımı ile belirlenmiştir.

3.7. Genetik ve Filogenetik Analizler

3.7.1. Genomik DNA izolasyonu

DNA'nın saf olarak izole edilmesi ile genetik ve moleküler analizler yapılmaktadır. DNA izolasyonu; çeşitli enzimler ve kimyasallar vasıtasıyla hücre duvarı, hücre zarı ve proteinlerin uzaklaştırılıp DNA'nın saf olarak elde edilmesi işlemidir. Tez çalışmamda genetik analizleri gerçekleştirmek için ilk olarak plankton çekimi ve monosiyanobakteriyel kültür örneklerinin genomik DNA'ları Promega Wizard Genomik DNA kiti, MO BIO PowerWater DNA İzolasyon Kiti ve Thermo Scientific GeneJET Bitki Genomik DNA İzolasyonu Mini Kiti ile kit protokollerine göre ufak modifikasyonlarla izole edilmiş olup, izole edilen genomik DNA'lar diğer analizlere kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Yılmaz ve ark. 2008, Yılmaz ve Philips 2011a, b). Kullanılan kit protokolleri aşağıda sıralanmıştır.

Promega Wizard Genomik DNA İzolasyonu kit protokolü:

Plankton çekimi örneklerinden elde edilen pelletler üzerine 600 µL Nuclei Lysis Solüsyonu eklenir ve vortekslenir. 65 °C'de 30 dk inkübasyon sonrasında karışım üzerine 3 µL RNase Solüsyonu eklenerek 37 °C'de 20 dk tekrar inkübe edilir. Tüpteki karışım üzerine 200 µL Protein Precipitation Solüsyonu eklenip vortekslenir. 16000 × g'de 3 dk santrifüj edilerek proteinlerin sıkı bir pellet şeklinde çökmesi sağlanır. DNA'yı içeren süpernatant yeni bir tüpe aktarılır. 600 µL izopropanol ilavesinden sonra 16000 × g'de 2 dk santrifüj edilerek DNA sıkı bir pellet şeklinde tüpe yapıştırılır. Süpernatant atılarak pellet üzerine 600 µL % 70'lik etanol ilave edilmesiyle DNA'nın yıkanması sağlanır.

16000 × g'de 3 dk santrifüj ile etanol tüpten uzaklaştırılır. Tüpteki DNA üzerine 50-100 µL ultra saf su eklenerek 30 dk 65 °C'de inkübe edilir. Hazır olan DNA analizlere kadar -20 °C'de saklanır.

MO BIO PowerWater DNA İzolasyon Kiti Protokolü:

PW1 ve PW3 solüsyonları 5-10 dk 55 °C'de önceden ısıtılır. Plankton çekimlerinden elde edilen ependorf tüplerdeki pelletler, 1 mL PW1 solüsyonu ile inkübasyondan sonra 16000 × g'de 1 dk oda sıcaklığında santrifüj edilir. Süpernatant temiz bir toplama tüpüne aktarılır. Tekrar 13000 × g'de 2 dk santrifüjden sonra süpernatant temiz bir toplama tüpüne aktarılır. Süpernatant üzerine 200 µL PW2 solüsyonundan ilave edilir. Karışım, kısa bir süre vortekslenildikten sonra 4 °C'de 5 dk inkübe edilir. Tüpler 13000 × g'de 1 dk santrifüj edilir. Süpernatant, tekrar temiz bir toplama tüpüne aktarılır. Süpernatant üzerine 650 µL PW3 solüsyonu eklenir ve karışım tekrar vortekslenir. Karışım, Spin Filter basket'e aktarılır. 13000 × g'de 1 dk santrifüj edilir. Santrifüjden sonra Spin Filter basket, temiz bir toplama tüpüne transfer edilir. Daha sonra 650 µL PW4 solüsyonu eklenir ve 13000 g'de 1 dk santrifüj edilir. Süzüntü atılır. 650 µL PW5 solüsyonu eklenir ve 13000 × g'de 1 dk santrifüj edilir. Süzüntü tekrar atılır. Kalan çözeltilerin tamamen uzaklaştırılması için 13000 × g'de 2 dk daha santrifüj edilir. Temiz bir toplama tüpüne aktarılan Spin Filter baskete 100 µL ultra saf su eklenir. 13000 × g'de 1 dk santrifüjden sonra tüpte hazır olan DNA analizlere kadar -20 °C'de saklanır.

Thermo Scientific GeneJET Bitki Genomik DNA İzolasyonu Mini Kiti Protokolü:

Plankton çekimlerinden elde edilen ependorf tüplerdeki pelletler üzerine bir miktar cam bilye eklenir. Daha sonra 350 µL Lysis Buffer A solüsyonu, 50 µL Lysis Buffer B, 20 µL RNase solüsyonu eklenir ve 1 dk vortekslenir. Karışım, 65 °C'de 10 dk ara sıra vortekslenerek inkübe edilir. 130 µL Precipitation solüsyonu eklenip alt üst edilen tüp 5 dk buz üzerinde inkübasyona bırakılır. 14800 rpm'de 5 dk santrifüj edilir. Süpernatant temiz bir ependorfa aktarılır. Üzerine 400 µL Plant gDNA Binding Solüsyonu ve 400 µL % 96'lık etanol eklenir ve karıştırılır. Spin kolona aktarılan karışım, 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir. Süzüntü atıldıktan sonra 500 µL Wash Buffer I solüsyonu, spin kolona

eklenir ve 10000 rpm'de 1 dk santrifüj edilip süzüntü atılır. Spin kolona 500 µL Wash Buffer II eklenir, 14800 rpm'de 3 dk santrifüj edilir. Kalan etanolün uzaklaşması için 14800 rpm'de 1 dk daha santrifüj edilir. Temiz bir ependorfa konulan Spin kolonun üzerine 100 µL ultra saf su eklenir. Oda sıcaklığında 5 dk inkübe edildikten sonra 10000 rpm'de 1 dk santrifüj edilir. Tüpte hazır olan DNA analizlere kadar -20 °C'de saklanır.

3.7.2. DNA Miktarı ve saflığının belirlenmesi

Plankton çekimi örneklerinin genomik DNA miktarları ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) ve saflıkları (optik yoğunluk (OD) 260/280 oranı), mikro-hacim plakası (Biotek Take3™) ile Epoch mikrolaka okuyucusu (Biotek)'nda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. DNA 260 nm dalga boyunda, proteinler ise 280 nm dalga boyunda maksimum absorbansa sahiptir. ~ 1,8 oranı genellikle saf DNA'yı temsil ettiğinden bu değere sahip genomik DNA örnekleri, genetik analizlerde kullanılmıştır. OD 260/280 oranının 1,8'in altındaki değerlerde protein veya diğer kontaminantların varlığı; 2'nin üstündeki değerlerde ise RNA kontaminasyonunun olduğu düşünülmüştür (Sambrook ve ark. 1989, Yeates ve ark. 1998, Okamoto ve Okabe 2000).

3.7.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

İlk kez 1985 yılında ortaya atılıp geliştirilen PCR yöntemi (Saiki ve ark. 1985, Mullis 1990); hedef bir DNA parçasının, ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz enzimi ve spesifik primerler kullanılarak çok sayıda kopyasının üretildiği in-vitro bir yöntemdir. PCR basamakları: a) Denatürasyon (yüksek ısı altında çift sarmal yapıdaki DNA ipliklerinin birbirinden ayrılması), b) Bağlanma (özgün primerlerin kalıp DNA'nın tek ipliklerine bağlanması), c) Uzama (enzim yardımıyla zincirin uzaması)'dır. Bu basamakların ardışık olarak belirli sayıda tekrarlanması ile istenen DNA bölgesinin milyarlarca kopyasının üretilbildiği bir metottur.

Plankton çekimi ve monosiyanobakteriyel kültür örneklerinden izole edilen genomik DNA örneklerinde, 16S rRNA geninin yaklaşık 1500 baz çifti uzunluğundaki bölgesi, 27F1-1516R evrensel primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır (Neilan ve ark. 1997,

Yılmaz ve ark. 2008). Prokaryotik ribozomların bir kısmını kodlayan 16S rRNA geni, korunmuş nükleotit dizisi ve yatay gen transferlerine karşı direnci nedeniyle farklı siyanobakteriyel cinslerin taksonomik olarak ayırt edilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Neilan ve ark. 1997). Yapılan tez çalışmasında, 16S rRNA gen bölgesinin dizilenmesi ile filogenetik ağaçlar oluşturularak izole edilen bazı kültür örneklerinin genetik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca siyanobakterilere özgü 16S rRNA gen bölgesinin PCR ile tespit edilmesi, çalışılan örneklerde siyanobakteri varlığını doğrulamak için yapılmıştır.

Diğer yandan toksin genlerine özgü primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilen PCR'lar ile örneklerde toksin genlerinin varlığı veya yokluğu saptanmıştır. Böylece toksin oluşturabilme potansiyeline sahip türler belirlenmeye çalışılmıştır. MC sentezinden sorumlu MC sentetaz kompleksinde bulunan iki gen bölgesinden *mcyA* geni epimerizasyon domaininin 950-970 bç uzunluğundaki gen fragmenti, MA1F-MA1R primer çifti; *mcyB* geninin 780 bç uzunluğundaki kısmı ise MB1F ve MB1R primerleri ile amplifiye edilmiştir (Yılmaz ve Philips 2011a). STX sentezinde ilk basamağı katalize eden *sxtA* genindeki *sxtA4* domaininin 657 bç'lik bölgesini çoğaltmak için sxtAF-sxtAR primer çiftleri kullanılmıştır (Yılmaz ve Philips 2011a). 700 bç'lik *sxtG* gen fragmenti ise sxtGF ve sxtGR primerleri ile amplifiye edilmiştir (Foss ve ark. 2012). *SxtG*, bir amidino grubunu arjininden *sxtA*'nın ürününe aktarmaktadır (Kellmann ve ark. 2008b). CYN sentezinden sorumlu genlerden *cyrC* geninin 601 bç'lik bölgesi, M4 ve M5a primerleri (Schembri ve ark. 2001, Yılmaz ve Philips 2011a); *cyrB* geninin (adenilasyon domain) 596 bç'lik bölgesi M13 ve M14 primerleri (Schembri ve ark. 2001); ATX sentezinde etkili *anaC* geninin 366 bç uzunluğundaki fragmenti ise anaCgenF ve anaCgenR primerleri (Rantala-Ylien ve ark. 2011) ile amplifiye edilmiştir. Monosiyanobakteriyel kültür örneklerinin toksin genleri taramasında, bahsedilen tüm primer çiftleri kullanılırken plankton çekimi örneklerinde MC, CYN, STX ve ATX toksinlerinin sentezinden sorumlu gen bölgelerine özgü birer primer çifti kullanılmıştır. PCR'larda kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

ELISA analizlerinde MC için pozitif sonuç veren plankton çekimi örneklerinin on dört tanesinde, farklı MC üreticilerinin varlığını belirlemek için *mcyE* gen bölgesi amplifiye

edilmiştir. *McyE* gen bölgesine ait fragmentlerin amplifiye edilmesinde genel primerler *mcyEF2* (Vaitomaa ve ark. 2003) ve *mcyER4* (Rantala ve ark. 2004), *Planktothrix*'e özgü *mcyEplaR3* (Rantala ve ark. 2006), *Anabaena*'ya özgü *AnamcyE12R* (Vaitomaa ve ark. 2003) ve *Microcystis*'e özgü *MicmcyER8* (Vaitomaa ve ark. 2003) primerleri kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Bu tez çalışması kapsamında yapılan PCR'larda farklı markalara ait çeşitli DNA polimeraz enzimleri ve PCR kitleri kullanılmıştır. GoTaq G2 Flexi DNA Polymerase (Promega, WI, USA) ve Taq DNA polymerase (Thermo Scientific, California, US) kullanılarak gerçekleştirilen 50 µL'lik her PCR reaksiyonu yaklaşık olarak 1-20 ng genomik DNA, 10 veya 20 pmol primer (her birinden, Integrated DNA Technologies, USA), 0,2 mM dNTP (her biri, Fisher Scientific Company LLC, PA, USA), 1,5 mM veya 2,5 mM MgCl₂, 1X Taq Buffer ve 1,25 u enzim içermiştir. Sadece plankton çekimlerinde *sxtAF-sxtAR* primer çifti ile *sxtA4* geninin saptanması için GoTaq G2 Flexi DNA Polymerase (Promega, WI, USA) ile yapılan her PCR reaksiyonu karışımında 2 u enzim kullanılmıştır. Taq DNA Polymerase (Ampliqon, Stenhusgervej, Denmark)'ın kullanıldığı PCR karışımları, farklı olarak 50 µL'de 1 u enzim ve 10-20 ng genomik DNA içermiştir. Thermo Scientific Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific, California, US) ile her PCR reaksiyonu ise toplam 50 µL hacimde; 1-20 ng genomik DNA, 0,5 µM primer (her biri), 0,2 mM dNTP (her biri, Fisher Scientific Company LLC, PA, USA), 1 u enzim ve 1X Phusion HF Buffer kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Diğerlerine göre farklı bir kit olan KAPA HiFi HotStart ReadyMix PCR kiti (KAPABIOSYSTEMS, Boston, US) ile yapılan 25 µL'lik PCR reaksiyonu karışımları; 0,5-10 ng genomik DNA, 0,3 µM primer (her biri) ve 1X KAPA HiFi HotStart ReadyMix içermiştir. Her primer çifti için uygulanan amplifikasyon koşulları ve PCR enzimleri Çizelge 3.3'de verilmiştir. Hedeflenen DNA bölgelerinin amplifikasyonu, T-100 model ısı döngüsü (Thermal cycler, BioRad, Hercules, CA, USA) cihazında yapılmıştır.

Çizelge 3.2. 16S rRNA gen bölgesi ve toksin genleri için kullanılan primerler

Primer Adı	Primer Dizisi (5'-3')	Referans
27F1 1516R	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG ATCCAGCCACACCTTCCGG	Neilan ve ark. 1997 Yılmaz ve ark. 2008
MA1F MA1R MB1F MB1R	TGGTTTTTTGAGCAAAATCG GGAATAGCTCGTAACTGTTCTT TTTTTGGTTCTCAGACAGAATTTG CCTCCGAGTTCAAAAAATGACTG	Yılmaz ve Phlips 2011a
sxtAF sxtAR sxtGF sxtGR	AGCTGGACTCGGCTTGTTGCTTC CACTTGCCAAACTCGCAACAGG ATTGAAGCACCAATGGCAGATCG AGAGTTCCGCGTCCGGCGAAC	Yılmaz ve Phlips 2011a Foss ve ark. 2012
M4 M5a M13 M14	GAAGCTCTGGAATCCGGTAA ATCCGGTGCAATACCTGCTC GGCAAATTGTGATAGCCACGAGC GATGGAACATCGCTCACTGGTG	Schembri ve ark. 2001 Yılmaz ve Phlips 2011a Schembri ve ark. 2001
anaCgenF anaCgenR	TCTGGTATTCAGTCCCCTCTAT CCCAATAGCCTGTCATCAA	Rantala-Ylien ve ark. 2011
mcyEF2 mcyER4 mcyEplaR3 AnamcyE12R MicmcyER8	GAAATTTGTGTAGAAGGTGC AATTCTAAAGCCCAAAGACG CTCAATCTGAGGATAACGAT CAA TCT CGG TAT AGC GGC CAA TGG GAG CAT AAC GAG	Vaitomaa ve ark. 2003 Rantala ve ark. 2004 Rantala ve ark. 2006 Vaitomaa ve ark. 2003

Çizelge 3.3. Primer çiftleri için amplifikasyon koşulları ve kullanılan PCR enzimleri, a: GoTaq G2 Flexi DNA Polymerase (Promega, WI, USA); b: Taq DNA Polymerase (Thermo Scientific, California, US); c: Taq DNA Polymerase (Ampliçon, Stenhuggervej, Denmark); d: Thermo Scientific Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific, California, US); e: KAPA HiFi HotStart ReadyMix PCR Kit (KAPABIOSYSTEMS, Boston, US)

PCR Koşulları	Kullanılan PCR enzimi	Ön Denatürasyon		Denatürasyon		Bağlanma		Uzama		Döngü	Son Uzama	
		Sıcaklık	Süre	Sıcaklık	Süre	Sıcaklık	Süre	Sıcaklık	Süre		Sıcaklık	Süre
27F1-1516R	a, b, c	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	60 °C	30 sn	72 °C	1,5 dk	30	72 °C	5 dk
MA1F-MA1R	a, b, c, d	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	55 °C	30 sn	72 °C	1 dk	30	72 °C	5 dk
	e			98 °C	20 sn							
MB1F-MB1R	b, d	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	55 °C	30 sn	72 °C	1 dk	30	72 °C	5 dk
	e			98 °C	20 sn							
M4-M5a	a, b	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	55 °C	30 sn	72 °C	1 dk	30	72 °C	5 dk
	e			98 °C	20 sn							
M13-M14	b	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	55 °C	30 sn	72 °C	1 dk	30	72 °C	5 dk
sxtAF-sxtAR	a, b	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	58 °C	30 sn	72 °C	1 dk	33	72 °C	5 dk
	e			98 °C	20 sn							
sxtGF-sxtGR	b	95 °C	3 dk	95 °C	30 sn	58 °C	30 sn	72 °C	1 dk	33	72 °C	5 dk
AnaGenC-AnaGenR	e	95 °C	3 dk	98 °C	20 sn	61 °C	15 sn	72 °C	15 sn	30	72 °C	1 dk
mcyE-F2, mcyE-R4	d	95 °C	3 dk	94 °C	30 sn	60 °C	30 sn	72 °C	1 dk	30	72 °C	10 dk
mcyE-F2, MicmcyE-R8												
mcyE-F2, mcyE-plaR3	e	95 °C	3 dk	94 °C	30 sn	58 °C	30 sn	72 °C	1 dk	30	72 °C	10 dk
mcyE-F2, AnamcyE-12												

3.7.4. PCR ürünlerinin elektroforezi ve görüntülenmesi

Plankton çekimi ve kültür örneklerinden elde edilen tüm PCR ürünleri, % 1,5'luk agaroz jelde TBE (Tris-Borat-EDTA) çözeltisi içeren yatay elektroforez tankında bir güç kaynağı vasıtasıyla (Sub-Cell GT Cell, Electrophoresis Power Supplies, Biorad, Hercules, CA, USA) yürütülmüştür. Toksin genlerine ait bantların varlığı veya yokluğu, UV jel görüntüleme cihazlarında (Slite 200W RGBW jel görüntüleme ve dokümantasyon cihazı veya UVView™ Mini Transilluminator, BioRad, Hercules, CA, USA) belirlenmiştir.

3.7.5. Agaroz jelden DNA ekstraksiyonu

Hedeflenen gen bölgesini içeren PCR ürünleri; Wizard SV gel and PCR clean-up system (Promega, WI, USA), GeneJet Gel Extraction Kiti (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA) ve EZ-10 Spin Column Gel and PCR Extraction Kiti (Bio Basic, Markham ON, Canada) kullanılarak üreticinin talimatlarına göre agaroz jelden saflaştırılmıştır.

3.7.6. pGEMT-Easy vektör ile klonlama

Plankton çekimi örnekleri bünyesinde farklı türleri barındırdığı için bu örneklerden izole edilen DNA, komünite DNA'dır. Farklı organizmalardan gelen DNA'ları içermektedir. Plankton çekimlerinde MA1F ve MA1R primerleri ile yapılan PCR'larda, pek çok türden gelebilme ihtimali olan *mcvA* gen bölgesi saptanmıştır. Bu toksin geni parçalarının ait olduğu türleri belirlemek amacıyla klonlama yapılmıştır.

Klonlama için on üç plankton çekimi örneği seçilmiştir. İlgili primerlerle amplifikasyondan elde edilen PCR ürünleri, agaroz jelden izole edildikten sonra pGEM-T vector system II (Promega, Madison, WI, USA) ile kit protokolündeki talimatlara uygun bir şekilde klonlanmıştır. Klonlamada ilk olarak ligasyon ile hedef gen bölgesini içeren DNA parçası, pGEM-T Easy Vector içerisine sokulur. Her bir vektör sadece bir gen fragmentini alır. Daha sonra transformasyon ile rekombinant DNA molekülü, genellikle bir *Escherichia coli* (JM109 Competent Cells) konak hücresine aktarılır. Konak hücrenin çok sayıda bölünmesi sonucu, hedef gen bölgesini içeren rekombinant

DNA molekülünün kopyaları döllere aktarılır ve özdeş bir koloni (klon) oluşur. Her özgün klon ve klondaki her hücre, sadece tek bir rekombinant DNA molekülünün (rekombinant plazmid) bir veya çok sayıda kopyasını içerir. Böylece komünite DNA içerisinden PCR ile farklı türlerden gelebilme ihtimali olan hedef gen bölgeleri, birbirinden ayrılmış olur. Plazmidler, *E. coli* hücrelerinden EZ-10 Spin Column Plasmid DNA Minipreps Kiti (Bio Basic, Markham ON, Canada) ile üreticinin talimatlarına göre saflaştırıldıktan sonra PCR'larda kullanılan aynı primerlerle bir ABI 3500 Genetik analizör (Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)'de hizmet alımı ile dizilenmiştir.

3.7.7. Sekanslama ve filogenetik analizler

Proje bütçesi dahilinde monoalgal kültürlerden PCR ile elde edilen bazı suşlara (toksik olabilme potansiyeli olan) ait 16S rRNA gen bölgeleri ve *mcyA* toksin genleri, ayrıca plankton çekimi örneklerinden elde edilen toksin genlerinin klonlanmasıyla plazmidlerden saflaştırılan *mcyA* dizileri hizmet alımı ile sekanslanmıştır. Sekanslamada 16S rRNA gen bölgesi için ilaveten 243F, 334R, 773F ve 1332R içsel primerleri kullanılmıştır (Yılmaz ve ark. 2008). Elde edilen ham diziler, Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Mega) 6 yazılımında elle düzeltilmiştir (Tamura ve ark. 2013). Homolog diziler, National Center for Biotechnology Information (NCBI) veri bankasındaki, Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Anonim 2019) kullanılarak elde edilmiştir. Homolog dizilerin hizalaması, Mega 6 yazılımında (Tamura ve ark. 2013) uygulanan Muscle (Edgar, 2004) ile gerçekleştirilmiştir. Hizalama, 16S rRNA geni bölgesi için nükleotidler üzerinden gerçekleştirilirken, *mcyA* genleri için amino asit dizileri üzerinden yapılmış, sonrasında nükleotid dizilerine geri çevrilmiştir. Filogenetik ağaçlar; Neighbor-Joining (NJ) (Saitou ve Nei 1987), Maximum Likelihood (ML) nükleotid değişim modeli ile oluşturulmuş ve bu çalışmadan elde edilen yeni diziler, dünya üzerindeki diğer siyanobakteri türlerinin gen dizileri ile karşılaştırılmıştır. Verilere en uygun model, Mega 6 yazılımındaki model seçim aracı kullanılarak tahmin edildikten sonra (Tamura ve ark. 2013) ML ağaçları, bu modele göre oluşturulmuştur. ML yöntemi ile filogenetik ilişkilerin belirlenmesinde Kimura 2-parametre modeli kullanılmıştır (Kimura 1980). Evrimsel oran farklılıklarını belirlemek için Gama dağılımı

kullanılmıştır. 16S rRNA gen bölgesine dayalı oluşturulan NJ ve ML filogenetik ağaçlarında kırk, Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden elde edilen *mcyA* klonu dizilerine dayalı oluşturulan filogenetik ağaçlarda elli bir nükleotid dizisi kullanılmıştır. Bütün filogenetik ağaçlarda 2000 tekrarlı bootstrap testi uygulanmıştır. Bootstrap testinde birlikte kümelenen ilişkili taksonlara ait ağaçların tekrarlanma yüzdesi, dalların yanında gösterilmiştir (Felsenstein 1985). % 50'nin altındaki bootstrap değerleri, filogenetik ağaçlarda gösterilmemiştir. Ağaçlarda kök kullanılmamıştır. Tüm filogenetik analizler Mega 6 yazılımında gerçekleştirilmiştir (Tamura ve ark. 2013). Filogenetik ağaçlarda % 95'ten az yer kaplayan tüm pozisyonlar elenmiştir. Son veri setinde; 16S rRNA genine dayalı filogenetik ağaçlarda altı yüz yetmiş üç, *McyA* klonu dizilerine dayalı filogenetik ağaçlarda toplam sekiz yüz kırk altı pozisyon bulunmaktadır. Ağaçlar, ölçeklere göre çizilmiştir; dal uzunlukları, birim alandaki süstitüsyonların sayısını göstermektedir. Filogenetik ağaçlarda kullanılan *Microcystis* taksonuna ait *mcyA* dizilerinin aksesyon numaraları tür isimlerinin yanında ağaçlarda verilmiştir. 16S rRNA gen bölgesine dayalı filogenetik ağaçlar, türler arasındaki filogenetik ilişkiler hakkında değerlendirmeye olanak sağlarken diğer yandan morfolojik olarak teşhis edilen türlerin doğrulanmasını sağlamıştır.

4. BULGULAR

4.1. Fiziksel ve Kimyasal Bulgular

Uluabat Gölü'nde genellikle öğleden sonraları rüzgarlı bir havanın ortaya çıkmasının; arazi şartlarını zorlaştırması ve sudaki fitoplankton komünitesinin dağılmasına sebep olması nedenleriyle 2015 ve 2016 yılına ait dört farklı noktada yapılan arazilerde örnekleme sabahın erken saatlerinde başlanmış ve örnekleme saat 13:00'ye kadar bitirilmeye çalışılmıştır. Çizelge 4.1'de 2015, Çizelge 4.2'de ise 2016 yılına ait arazi tarihleri, bu tarihlerde gölde saptanan derinlikler ve örnekleme saatleri verilmiştir. 2015 yılında yapılan arazilerde gözlenen en yüksek derinlik değerlerine sahip örnekleme noktası Nokta 2 olarak (derinlik > 3 m) belirlenmiş, yaz aylarının ortasından itibaren ise bu noktanın derinliğinde bir azalma gözlenmiştir. En düşük derinlik değerine ise Nokta 3'ün Ağustos ve Eylül aylarında rastlanmış olup bu değer 0,9 m olarak belirlenmiştir. Genel olarak Nokta 3'ün diğer noktalara göre daha sığ olduğu saptanmıştır. 2016 yılında da benzer şekilde en düşük derinlik değerleri Nokta 3'te görülmüştür. Su seviyesi, 09.09.2016 tarihinde 0,45 m'ye kadar düşmüştür. 16.06.2016 tarihinde ise Nokta 2'de 2,5 m ile 2016 yılına ait yapılan arazilerde gözlenen en yüksek değere ulaşılmıştır. Genel olarak 2016 yılında derinlik değerleri, bir önceki yıla göre azalma göstermiştir. 2015 yılında Uluabat Gölü'nün derinliği ortalama $2,13 \pm 0,71$ m iken 2016 yılında ortalama derinlik $1,53 \pm 0,57$ m olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre 2016 yılında 2015 yılına göre yaz aylarında Uluabat Gölü'nün derinliğinde ortalama 0,6 m bir azalma görülmüştür. Su seviyesindeki azalmadan dolayı 13.07.2016 tarihinden sonra Nokta 3'e ulaşamadığı için bu noktanın koordinatları $40^{\circ}09'54.1''$ N, $28^{\circ}34'45.0''$ E olarak değiştirilmiştir. Örneklerin alınması için seçilen bu yeni nokta, Nokta 3 ile aynı hizadadır.

Çizelge 4.1. 2015 yılına ait arazi tarihleri, örnekleme saatleri ve örnekleme noktalarında gözlemlenen derinlikler

Arazi tarihi		Nokta adı			
		1	2	3	4
23.06.2015	Örnekleme saati	12:53	11:40	10:47	09:30
	Derinlik	3 m	> 3 m	1,3 m	2,5 m
10.07.2015	Örnekleme saati	10:30	09:07	11:45	12:45
	Derinlik	2,5 m	> 3 m	1,2 m	2,5 m
22.07.2015	Örnekleme saati	09:30	08:50	10:45	12:00
	Derinlik	2,4 m	2,7 m	1 m	2,2 m
06.08.2015	Örnekleme saati	08:55	07:49	10:00	11:10
	Derinlik	2,5 m	2,8 m	0,9 m	1,9 m
20.08.2015	Örnekleme saati	09:00	08:10	10:50	11:55
	Derinlik	2,3 m	2,8 m	0,9 m	2 m
03.09.2015	Örnekleme saati	08:55	07:50	10:16	11:25
	Derinlik	2,2 m	2,6 m	0,9 m	2,1 m

Çizelge 4.2. 2016 yılına ait arazi tarihleri, örnekleme saatleri ve örnekleme noktalarında gözlemlenen derinlikler

Arazi tarihi		Nokta adı			
		1	2	3	4
16.06.2016	Örnekleme saati	10:00	09:10	11:30	12:40
	Derinlik	2,15 m	2,5 m	0,65 m	2 m
30.06.2016	Örnekleme saati	08:57	07:58	10:10	11:18
	Derinlik	2 m	2,4 m	0,5 m	1,8 m
13.07.2016	Örnekleme saati	08:44	07:53	10:00	11:00
	Derinlik	1,8 m	2 m	1,0 m	1,6 m
01.08.2016	Örnekleme saati	08:50	08:00	10:00	11:00
	Derinlik	1,5 m	2 m	1,1 m	1,4 m
11.08.2016	Örnekleme saati	08:50	08:00	10:02	11:04
	Derinlik	1,4 m	1,9 m	0,9 m	1,3 m
09.09.2016	Örnekleme saati	09:00	08:12	10:05	11:20
	Derinlik	1,4 m	1,8 m	0,45 m	1,15 m

Diğer yandan 23.06.2015 ile 09.09.2016 tarihleri arasında yapılan arazi çalışmalarında ölçülen fiziksel ve kimyasal parametre değerleri, örnekleme noktalarına göre aşağıdaki Çizelge 4.3-4.10 arasında verilmiştir.

Çizelge 4.3. Nokta 1 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler

Parametreler	23.06.2015			10.07.2015			22.07.2015			06.08.2015			20.08.2015			03.09.2015		
	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m
pH	8,26	8,22	8,2	8,43	8,42	8,35	8,31	8,27	8,21	8,26	8,25	8,25	8,31	8,3	8,29	8,48	8,48	8,26
Sıcaklık (°C)	23,4	23,4	23,4	27,2	27	26,6	24,8	24,6	24,4	27,1	27,1	27,1	28	28	28	25,6	25,6	25
Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	563	563	563	598	596	593	590	578	576	597	596	597	633	633	633	603	603	594
Tuzluluk (ppt)	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Çözünmüş Oksijen (mg L^{-1})	7,25	7,2	7,13	8,45	8,32	6,97	7,1	6,85	6,12	5,89	5,72	5,6	4,44	4,33	4,31	6,95	7,12	3,41
Çözünmüş Oksijen (%)	85,5	84,4	84	106,7	105,8	88,3	85,1	82,2	73,4	74	72	70,9	56,4	55,8	55,1	84,8	87,7	41,6
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	-	-	-	1300	370	100,4	1200	520	135	800	275	54,01	956	445,4	68,09	806	520	145
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)		
	-			1657			1300			940			1236			1120		
Seki Derinliği (cm)	-			70			125			65			80			85		

Çizelge 4.4. Nokta 2 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler

Parametreler	23.06.2015				10.07.2015				22.07.2015			
	Yüzey	1m	2m	3m	Yüzey	1m	2m	3m	Yüzey	1m	2m	3m
pH	8,31	8,33	8,32	8,32	8,38	8,4	8,39	8,28	8,46	8,47	8,45	-
Sıcaklık (°C)	23,2	23,2	23,1	23,2	26,5	26,3	26,1	25,9	25	24,8	24,7	-
Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	555	556	556	555	593	591	585	585	575	575	574	-
Tuzluluk (ppt)	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	-
Çözünmüş Oksijen (mg/L)	7,37	7,2	7,23	7,22	7,3	7,09	6,64	4,51	7,35	6,48	6,08	-
Çözünmüş Oksijen (%)	86,6	85	84,8	84	90,6	87,8	82,7	54,5	88,9	77,8	73,2	-
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	-	-	-	-	530	140	16,5	4,5	960	120	4,5	-
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Yüzey (Tek Yön)				Yüzey (Tek Yön)				Yüzey (Tek Yön)			
	-				600-1200 arası				650			
Seki Derinliği (cm)	-				60				60			

Çizelge 4.4. Nokta 2 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (devam)

Parametreler	06.08.2015				20.08.2015				03.09.2015			
	Yüzey	1m	2m	3m	Yüzey	1m	2m	3m	Yüzey	1m	2m	3m
pH	8,45	8,51	8,52	-	8,44	8,51	8,49	8,49 (2,5m'de)	8,4	8,55	8,56	8,5 (2,5m'de)
Sıcaklık (°C)	27,2	27,2	27,2	-	27,5	27,5	27,5	27,5 (2,5m'de)	25,1	25,1	25,1	25 (2,5m'de)
Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	582	582	583	-	596	592	591	591 (2,5m'de)	599	599	599	599 (2,5m'de)
Tuzluluk (ppt)	0,27	0,27	0,27	-	0,27	0,27	0,27	0,27 (2,5m'de)	0,29	0,29	0,29	0,29 (2,5m'de)
Çözünmüş Oksijen (mg L^{-1})	6,3	6,11	5,56	-	5,81	5,57	5,23	5,05 (2,5m'de)	6,91	6,71	6,7	5,01 (2,5m'de)
Çözünmüş Oksijen (%)	78,3	77,4	70,4	-	73,8	70,7	66,2	64,9 (2,5m'de)	84	81,8	80	60,7 (2,5m'de)
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	440	52	2,3	-	655	113,4	5,61	1,84 (2,5m'de)	500	132	16	5,61 (2,5m'de)
	Yüzey (Tek Yön)				Yüzey (Tek Yön)				Yüzey (Tek Yön)			
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	665				732				500			
Seki Derinliği (cm)	35				25				40			

Çizelge 4.5. Nokta 3 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (06.08.2016 ve 20.08.2016 tarihlerindeki 1m ölçümleri 80 cm’de yapılmıştır)

Parametreler	23.06.2015		10.07.2015		22.07.2015		06.08.2015		20.08.2015		03.09.2015	
	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m
pH	8,27	8,23	8,34	8,02	8,33	8,19	8,36	8,23	8,29	8,2	8,39	8,24
Sıcaklık (°C)	21,9	21,8	27,3	24,6	25,9	25,8	27,9	27,2	27,9	27,5	26,3	25,7
Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	570	572	685	685	755	755	605	685	763	761	762	838
Tuzluluk (ppt)	0,29	0,3	0,32	0,34	0,36	0,36	0,28	0,31	0,35	0,35	0,36	0,4
Çözünmüş Oksijen (mg L^{-1})	7,65	7,6	9,78	6,79	7,05	6,4	6,62	5,7	6,41	6,07	10,67	11,03
Çözünmüş Oksijen (%)	88,7	86,9	121,8	82,1	86,4	78,7	84,8	71,4	83,1	77,5	132	136
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	-	-	1488	600,2	1370	505	250	65	1247	462	1030	370
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)	
	-		1985		1635		400		1689		1280	
Seki Derinliği (cm)	-		60		65		25		35		55	

Çizelge 4.6. Nokta 4 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve Seki diski ile ölçülen 2015 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler

Parametreler	23.06.2015			10.07.2015			22.07.2015			06.08.2015			20.08.2015			03.09.2015		
	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m
pH	8,3	8,35	8,34	8,46	8,48	8,15	8,24	8,19	8,08	8,78	8,61	8,48	8,54	8,56	8,38	8,51	8,51	8,11
Sıcaklık (°C)	23,8	23,8	23,6	29,9	27,4	25	27,4	26,7	26	30,4	28,7	28,5	29,6	28,5	27,6	27,4	26,2	24,5
Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	538	538	545	618	593	583	614	614	619	609	598	599	637	630	629	653	638	662
Tuzluluk (ppt)	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,26	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,3	0,3	0,32
Çözünmüş Oksijen (mg L^{-1})	7,3	6,97	6,12	11,9	12,3	7,6	10,12	8,56	5,95	11,4	8,14	5,35	8	7,97	4,78	8,8	9,19	5,79
Çözünmüş Oksijen (%)	88	82,4	72,8	157,1	154,8	94,9	128,8	106,7	73,3	153,7	107	70	105,9	103	60,4	111,8	113,6	70
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	-	-	-	1434	698,5	172,1	1570	275	22	1490	387	15,2	1495	308	108	1380	590	150
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)			Yüzey (Tek Yön)		
	-			1865			1735			1690			1890			1735		
Seki Derinliği (cm)	-			95			40			50			30			50		

Çizelge 4.7. Nokta 1 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (Su seviyesindeki azalmadan dolayı derinliğin 2 m'nin altına düştüğü tarihlerde ölçümler 1,5 veya 1,3 m'de yapılmıştır)

Parametreler	16.06.2016			30.06.2016			13.07.2016			01.08.2016			11.08.2016			09.09.2016		
	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m
pH	8,22	8,13	8,03	8,51	8,46	8,43	8,38	8,29	8,22	8,78	8,76	8,76	8,35	8,33	-	8,62	8,62	-
Sıcaklık (°C)	25,2	24,4	24,2	26,5	26,5	26,5	24,4	24,1	24	25,5	25,3	25,3	26,8	26,7	-	24,2	24,1	-
Elektriksel İletkenlik (µS cm ⁻¹)	643	633	629	650	649	650	620	619	619	632	634	634	663	663	-	671	670	-
Tuzluluk (ppt)	0,31	0,31	0,31	0,30	0,30	0,31	0,3	0,3	0,31	0,3	0,3	0,3	0,31	0,31	-	0,33	0,33	-
Çözünmüş Oksijen (mg L ⁻¹)	7,34	6,35	5,88	6,93	6,54	6,22	7,26	6,17	5,49	7,2	5,43	5,44	5,5	4,95	-	5,4	4,33	-
Çözünmüş Oksijen (%)	89,2	74,5	70,2	86,3	82,4	77,5	87,2	73,7	65,5	88,8	66,4	65,9	69,1	62	-	64,7	51,7	-
Işık Yoğunluğu (µmol photons m ⁻² s ⁻¹)	1000	560	450	175	90	47	1000	250	70	750	330	135	850	210	-	500	230	-
Işık Yoğunluğu (µmol photons m ⁻² s ⁻¹)	Yüzey (Tek Yön) 1680			Yüzey (Tek Yön) 282			Yüzey (Tek Yön) 1150			Yüzey (Tek Yön) 1170			Yüzey (Tek Yön) 1195			Yüzey (Tek Yön) 790		
Seki Derinliği (cm)	175			140			50			70			60			130		

Çizelge 4.8. Nokta 2 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (Derinliğin <2 m olduğu tarihlerde ölçümler 1,5 m’de yapılmıştır)

Parametreler	16.06.2016			30.06.2016			13.07.2016			01.08.2016			11.08.2016			09.09.2016		
	Yüzeý	1m	2m	Yüzeý	1m	2m	Yüzeý	1m	2m	Yüzeý	1m	2m	Yüzeý	1m	2m	Yüzeý	1m	2m
pH	8,23	8,31	8,29	8,55	8,5	8,47	8,72	8,59	8,53	8,47	8,49	8,49	8,34	8,37	8,39	8,76	8,63	8,6
Sıcaklık (°C)	24,6	24,1	24	26,6	26,6	26,6	24,4	24,3	24,3	25,3	25,2	25,2	26,9	26,9	26,9	24,2	24,2	24,2
Elektriksel İletkenlik (µS cm ⁻¹)	626	619	619	653	654	653	627	626	626	652	651	652	670	670	670	692	693	693
Tuzluluk (ppt)	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,34	0,34	0,34
Çözünmüş Oksijen (mg L ⁻¹)	8,5	7,92	7,63	6,34	6,1	5,7	7,41	7,08	6,85	7,24	6,76	6,63	6,83	6,55	6,36	7,03	6,52	6,41
Çözünmüş Oksijen (%)	102,4	94	90,8	78,4	75,9	71,2	89	84,7	82,2	88,5	82,5	81,3	86,3	82,5	80	84,2	78,1	76,8
Işık Yoğunluğu (µmol photons m ⁻² s ⁻¹)	1200	150	40	200	40	2,1	620	13	0,25	700	9	0,1	530	7	0,28	370	20	1,3
Işık Yoğunluğu (µmol photons m ⁻² s ⁻¹)	Yüzeý (Tek Yön) 1576			Yüzeý (Tek Yön) 196			Yüzeý (Tek Yön) 700			Yüzeý (Tek Yön) 840			Yüzeý (Tek Yön) 600			Yüzeý (Tek Yön) 490		
Seki Derinliği (cm)	50			30			12,5			10			12,5			12,5		

Çizelge 4.9. Nokta 3 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (Derinliğin <1 m olduğu tarihlerde ölçümler 0,5 m veya 0,4 m’de yapılmıştır. Eylül ayında ise sadece yüzeyde ölçüm yapılmıştır)

Parametreler	16.06.2016		30.06.2016		13.07.2016		01.08.2016		11.08.2016		09.09.2016	
	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m	Yüzey	1m
pH	8,25	8,09	8,37	8,23	8,37	8,34	8,55	8,47	8,51	8,52	8,4	-
Sıcaklık (°C)	24,4	23,5	25,7	25,7	25,2	24,5	26,5	25,1	28	27,7	24,5	-
Elektriksel İletkenlik ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	698	685	794	793	650	642	680	660	688	684	704	-
Tuzluluk (ppt)	0,34	0,34	0,38	0,38	0,31	0,31	0,32	0,32	0,31	0,31	0,35	-
Çözünmüş Oksijen (mg L^{-1})	7,15	7,66	8,26	7,71	5,27	4,87	6,07	3,75	5,86	5,4	4,78	-
Çözünmüş Oksijen (%)	85,6	90,2	101,5	94,7	64	58,5	75,9	45,7	75,3	69	57,4	-
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1300	1060	1200	810	1450	550	1100	80	1350	270	1040	-
	Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)		Yüzey (Tek Yön)	
Işık Yoğunluğu ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1900		900		1700		1780		1640		1535	
Seki Derinliği (cm)	50		50		20		25		15		45	

Çizelge 4.10. Nokta 4 için YSI multiparametre cihazı, Li-Cor Pro Plus ve seki diski ile ölçülen 2016 yılına ait fiziksel ve kimyasal değerler (Derinliğin <2 m olduğu tarihlerde ölçümler 1,5 m veya sadece 1 m’de yapılmıştır)

Parametreler	16.06.2016			30.06.2016			13.07.2016			01.08.2016			11.08.2016			09.09.2016		
	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m	Yüzey	1m	2m
pH	8,35	8,11	7,97	8,48	8,37	8,29	8,42	8,13	8,1	8,65	8,51	-	8,57	8,47	-	8,57	8,42	-
Sıcaklık (°C)	28,5	25	24,3	27,9	27,2	27,2	27,5	25,4	25,3	28	26,2	-	29,9	28,1	-	27	25,9	-
Elektriksel İletkenlik (µS cm ⁻¹)	702	653	642	653	640	640	678	663	664	699	667	-	718	696	-	742	739	-
Tuzluluk (ppt)	0,32	0,32	0,32	0,3	0,3	0,3	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32	-	0,32	0,32	-	0,35	0,35	-
Çözünmüş Oksijen (mg L ⁻¹)	9,6	7,99	5,56	10,52	6,5	5,3	11,18	5,87	4,72	9,95	5,31	-	11,07	5,5	-	9,2	6,82	-
Çözünmüş Oksijen (%)	123,8	96,6	66,3	135,5	82	67,1	142,2	71,8	57,7	127,7	66	-	147,4	70,7	-	115,8	84,3	-
Işık Yoğunluğu (µmol photons m ⁻² s ⁻¹)	1200	310	150	1500	100	9	1350	60	5	1200	30	-	1400	50	-	1280	150	-
Işık Yoğunluğu (µmol photons m ⁻² s ⁻¹)	Yüzey (Tek Yön) 2040			Yüzey (Tek Yön) 2000			Yüzey (Tek Yön) 1750			Yüzey (Tek Yön) 1850			Yüzey (Tek Yön) 1905			Yüzey (Tek Yön) 1545		
Seki Derinliği (cm)	50			25			15			15			12,5			24		

Bu değerler incelendiğinde, gölün pH'ı 2015-2016 yıllarında genellikle 8,2-8,5 arasında olup; 2015 yılında ortalama $8,36\pm 0,14$ iken 2016 yılında ortalama $8,42\pm 0,19$ olarak belirlenmiştir. 2015 yılında en yüksek pH değeri 8,78 (06.08.2015, Nokta 4, yüzey) iken, en düşük pH değeri 8,02 (10.07.2015, Nokta 3, 1 m) olarak saptanmıştır. 2016 yılında ise en yüksek pH değeri 8,78 (01.08.2016, Nokta 1, yüzey) iken, en düşük değer 7,97 (16.06.2016, Nokta 4, 2 m) olarak belirlenmiştir. Bazı noktalarda yüzeyde daha yüksek pH değerleri gözlenmiştir. Bunun muhtemel nedeni yaz aylarında aşırı çoğalan fitoplankton komünitesinin yüzeyde toplanıp, yüksek oranda fotosentez yapması sonucu ortamdaki CO₂'i tknetmesidir. Buna bağlı olarak da ortamın pH'ı bazik karaktere doğru bir değişim göstermektedir (Karacaoğlu ve ark. 2004, Sndegaard 1988, Welch ve Cooke 1995).

Sıcaklık değerleri her iki yılda da genel olarak mevsimsel sıcaklık değerleriyle paralel bir değişim göstermiştir. 2015 yılında sıcaklık değerleri ortalama $26,1\pm 1,88$ °C civarında olup en yüksek değer 06.08.2015 tarihinde Nokta 4'te yüzeyde (30,4 °C) gözlenirken en düşük değer 23.06.2015 tarihinde Nokta 3'te 1 m'de (21,8 °C) belirlenmiştir. 2016 yılında ise ortalama sıcaklık değeri $25,7\pm 1,43$ °C olarak belirlenmiştir. Gözlenen en yüksek sıcaklık değeri olan 29,9 °C, 11.08.2016 tarihli arazide Nokta 4'te yüzeyde saptanmıştır. Diğer yandan en düşük sıcaklık değeri 23,5 °C olup 16.06.2016 tarihinde Nokta 3'te 1 m'de belirlenmiştir.

DO değerleri hem mg L⁻¹ hem de % olarak ölçülmüştür. 2015 yılında ortalama $7\pm 1,77$ mg L⁻¹ olan DO değerleri, en yüksek değerlere 10.07.2015 tarihinde Nokta 4'te 1 m'de (12,3 mg L⁻¹) ve yüzeyde (11,9 mg L⁻¹) ulaşırken, en düşük değere 03.09.2015'te Nokta 1'de 2 m derinlikte (3,41 mg L⁻¹) ulaşmıştır. 2016 yılında ise ortalama $6,7\pm 1,56$ mg L⁻¹ olan DO değerleri, en yüksek değerlere Nokta 4'te yüzeyde 13.07.2016 (11,18 mg L⁻¹) ve 11.08.2016 (11,07 mg L⁻¹) tarihlerinde ulaşmıştır. DO doygunluğu, 2015 yılında ortalama % $86,88\pm 23,11$ iken, 2016 yılında ortalama % $82,61\pm 20,63$ olarak ölçülmüştür. En düşük DO doygunluğuna 2015 yılında % 41,6 değeri ile 03.09.2015 tarihinde Nokta 1'de 2 m'de rastlanmıştır. En yüksek DO doygunluğu ise DO miktarı gibi % 157,1 ve % 154,8 ile 10.07.2015 tarihinde Nokta 4'te sırasıyla yüzeyde ve 1 m'de belirlenmiştir. 2016 yılında da en düşük DO doygunluğu % 45,7 olup 01.08.2016 tarihinde Nokta 3'te 1 m'de; en

yüksek değerler Nokta 4'te sırasıyla 11.08.2016 tarihinde (% 147,4) ve 13.07.2016 tarihinde yüzeyde (% 142,2) ölçülmüştür. DO değerleri, çoğunlukla yüzeyde yüksek değerler gösterirken, bu değerlerde derinlikle beraber bir azalma göstermiştir. Özellikle de yüzeyin altında 1 m'de gözlenen düşüş bazı noktalarda oldukça belirgindir. Gölün yüzeye yakın kısımlarındaki yüksek DO değerleri, yaz aylarında yüzeyde artan siyanobakteri popülasyonunun fotosentetik aktivitesinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Şekil 4.1'de 10.07.2015 tarihinde gölün neredeyse tüm yüzeyinin siyanobakteri popülasyonu ile kaplı olduğu görülmektedir. Bu tarihte bazı noktalardaki siyanobakteri çoğalması daha da yoğun olarak gözlenmiştir (Şekil 4.2). Diğer yandan bazı noktalarda 1 m'de görülen DO değerleri, yüzeye göre daha yüksek değerlerde seyretmiştir.



Şekil 4.1. Uluabat Gölü'nde 10.07.2015 tarihinde yüzeyde görülen siyanobakteri artışı



Şekil 4.2. Uluabat Gölü'nde 10.07.2015 tarihindeki yoğun siyanobakteri artışı

Işık yoğunluğu, tüm örnekleme tarihlerinde ve noktalarında derinlikle beraber azalma göstermiştir. 2015 yılında gözlenen en yüksek değer $1570 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olup 22.07.2015'te Nokta 4'te yüzeyde saptanırken, en düşük değer $1,84 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olup 20.08.2015 tarihinde Nokta 2'de 2,5 m'de belirlenmiştir. Aynı yıldaki ortalama ışık yoğunluğu, $497,86 \pm 494,7 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak saptanmıştır. 2015 yılına ait tek yönde yüzeyde ölçülen ışık yoğunluğu ise en yüksek değerine ($1985 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 10.07.2015 tarihinde Nokta 3'te ulaşırken, en düşük değere ($400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) yine aynı noktada 06.08.2015'te ulaşmıştır. Tek doğrultuda ölçülen yüzeydeki ortalama ışık yoğunluğu $1280,2 \pm 511,71 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

2016 yılında rapor edilen en yüksek ışık yoğunluğu değeri $1500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (30.06.2016, Nokta 4, yüzey) iken en düşük değer $0,1 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (01.08.2016, Nokta 2, 2 m) olup, ortalama ışık yoğunluğu $492,57 \pm 501,56 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Yüzeyde tek yönde ölçülen ışık yoğunluğu ise en yüksek değere ($2040 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 16.06.2016, Nokta 4'te yüzeyde ulaşırken, en düşük değere ($196 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 30.06.2016, Nokta 2'de yüzeyde ulaşmıştır. Ortalama $1300,58 \pm 573,09 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ düzeyinde saptanmıştır.

Seki diski derinliği, 2015 yılında ortalama $57,5\pm 25,26$ cm; 2016 yılında ise ortalama $45,79\pm 43,91$ cm'dir. 2015 yılındaki en yüksek seki diski değeri 125 cm (22.07.2015 Nokta 1) iken 2016 yılında 175 cm (16.06.2016 Nokta 1) olarak belirlenmiştir. Her iki yıla ait seki diski değeri bakıldığında yüksek değeri köklü sucul bitkilerin hakim olduğu Nokta 1'de saptanmıştır. Sucul bitkilerce zengin bu örnekleme noktasında suyun diğer noktalara göre daha berrak olduğu görülmüştür. Ancak 2016 yılında 2015 yılına göre su seviyesinde görülen önemli düşüş, bazı aylarda bu bitkilerin bazı kısımlarının su üstünde kalmasına neden olmuştur (Şekil 4.3). Diğer yandan en düşük seki diski değeri 25 cm (20.08.2015) ve 10 cm (01.08.2016) olarak Nokta 2'de görülmüştür.



Şekil 4.3. Uluabat Gölü'nde örnekleme noktası 1'de zengin sucul bitki örtüsü ve su seviyesindeki belirgin azalma

EC değerlerine bakıldığında, 2015 yılına ait arazilerde belirlenen en yüksek değeri $838 \mu\text{S cm}^{-1}$ (03.09.2015, Nokta 3, 1 m) olarak gözlenirken en düşük değeri $538 \mu\text{S cm}^{-1}$ (23.06.2015, Nokta 4, yüzey ve 1 m) olmuştur. Ortalama EC değeri ise $612,5\pm 58,93 \mu\text{S cm}^{-1}$ olarak kaydedilmiştir. Diğer yandan 2016 yılında göldeki EC değerlerinde, 2015 yılına göre genel olarak bir artış gözlenmiş ve ortalama EC değeri $665\pm 37,8 \mu\text{S cm}^{-1}$ olarak rapor edilmiştir. En düşük değeri, 13.07.2016 tarihinde Nokta 1'de 1m ve 2m derinlikte görülürken ($619 \mu\text{S cm}^{-1}$) en yüksek değeri 30.06.2016 tarihinde Nokta 3'te yüzeyde ($794 \mu\text{S cm}^{-1}$) belirlenmiştir. Tuzluluk değeri açısından değerlerin hem 2015 hem de 2016 yılı boyunca çok değeri göstermediği kaydedilmiştir. Tuzluluk değeri 2015 yılında

ortalama $0,29\pm0,03$ ppt, 2016 yılında ortalama $0,32\pm0,02$ ppt olarak belirlenmiş ve derinlikle beraber bir azalma gözlenmemiştir. 2015 ve 2016 yılında sırasıyla gözlenen en yüksek tuzluluk değerleri; 0,4 ppt (Nokta 3, 03.09.2015, 1m'de), 0,38 ppt (Nokta 3, 30.06.2016, yüzey ve 10'de) olmuştur. 2015 yılındaki en düşük değer 0,26 ppt (Nokta 4, 06.08.2015, yüzey) olarak saptanırken 2016 yılında bu değer 0,3 ppt olarak belirlenmiş ve pek çok nokta ve derinlikte gözlenmiştir.

4.2. Klorofil a miktarı

Klorofil a değerleri, 2015 ve 2016 yıllarına ait arazilerde dört farklı örnekleme noktasından alınan 47 su kolonu örneğinde $1,4 \mu\text{g L}^{-1}$ ile $124,9 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4.11). 2015 yılına ait örneklerde görülen en yüksek Chl a değeri, $40,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (06.08.2015 Nokta 4) iken en düşük $2,8 \mu\text{g L}^{-1}$ (23.06.2015 Nokta 1) olarak ölçülmüştür. Aynı yıla ait Chl a değeri, ortalama $17,2\pm10,7 \mu\text{g L}^{-1}$ 'dir. 10.07.2015 tarihi dışındaki tüm arazilere ait örneklerin Chl a değerleri, en düşük Nokta 1'de tespit edilmiştir. Nokta 1 ve 3 için ölçülen en düşük Chl a değerleri Haziran ayında (sırasıyla $2,8 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $12,12 \mu\text{g L}^{-1}$) saptanırken en yüksek Chl a değerleri 10.07.2015 tarihinde (sırasıyla $26,8 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $20,5 \mu\text{g L}^{-1}$) rapor edilmiştir. Her iki noktada da bu tarihten sonra Chl a değerlerinde sonbahar başına kadar dereceli bir azalma gözlenmiştir. Nokta 2'de ölçülen Chl a değerleri de benzer şekilde yaz başında düşük iken, en yüksek değerine 22.07.2015 tarihinde ulaşmış ($38,23 \mu\text{g L}^{-1}$), sonrasında kademeli bir azalma göstermiştir. 23.06.2015 tarihinde Nokta 4'ten alınan örneğin kaybı nedeniyle bu tarihe ait Chl a değeri hesaplanamamıştır. Nokta 4 için sonrasında ölçülen Chl a değerleri, Temmuz ayından Ağustos ayına doğru bir artış göstermiş, diğer noktalardan farklı olarak en yüksek değerine ($40,1 \mu\text{g L}^{-1}$) 06.08.2015 tarihinde ulaşmıştır. Diğer noktalar ile benzer olarak yaz sonu ve sonbahar başına doğru kademeli bir azalma göstermiştir.

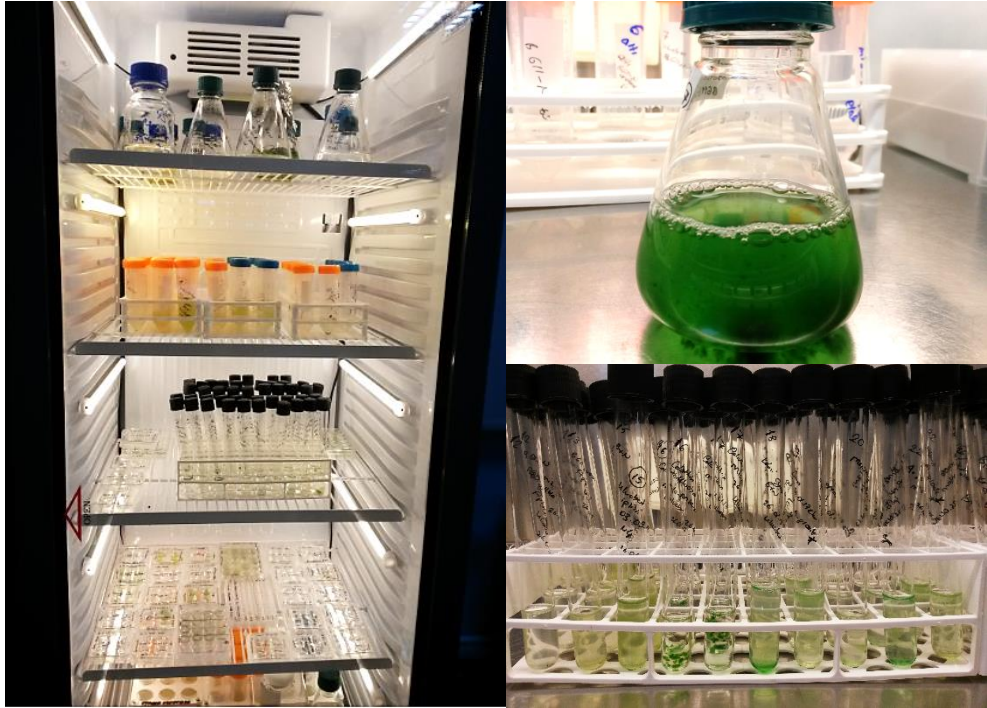
Çizelge 4.11. 2015 ve 2016 yıllarının Haziran ve Eylül ayları arasındaki periyotta dört farklı örnekleme noktasına ait klorofil a değerleri (Chl a değerleri, $\mu\text{g L}^{-1}$ cinsinden verilmiştir. Ort: ortalama, SD: Standart sapma)

Arazi Tarihi	Örnekleme Noktası				Ort±SD
	N1	N2	N3	N4	
23.06.2015	2,8	12,1	12,1		9,0±5,4
10.07.2015	26,8	12,8	20,5	20,1	20,0±5,7
22.07.2015	7,9	38,2	18,7	33,6	24,6±13,9
06.08.2015	6,1	28,0	15,9	40,1	22,5±14,8
20.08.2015	4,7	16,8	14,9	26,1	15,6±8,8
03.09.2015	3,3	7,5	14,9	11,2	9,2±5,0
16.06.2016	1,4	16,8	6,5	16,3	10,3±7,6
30.06.2016	6,1	38,2	31,7	124,9	50,2±51,7
13.07.2016	5,6	50,4	17,7	40,1	24,8±20,4
01.08.2016	2,8	32,6	19,4	56,9	27,9±22,8
11.08.2016	4,2	29,5	28,0	50,4	28,0±18,9
09.09.2016	6,1	25,6	3,3	21,0	14,0±11,0

2016 yılında Haziran ve Eylül ayları arasında gözlenen ortalama Chl a değeri $26,5\pm 26,7 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. En düşük Chl a değeri ($1,4 \mu\text{g L}^{-1}$) 16.06.2016 tarihinde Nokta 1’de tespit edilirken en yüksek değer ($124,9 \mu\text{g L}^{-1}$) 30.06.2016 tarihinde Nokta 4’te saptanmıştır (Çizelge 4.11). Genel olarak Nokta 1’de belirlenen Chl a değerleri, 2016 yılına ait tüm arazilerden toplanan su kolonu örneklerindeki Chl a değerlerine göre daha düşük miktarda rapor edilmiştir. Diğer yandan örnekleme tarihlerine ait farklı noktalarda ölçülen en yüksek Chl a değerlerine, Nokta 2 ve 4’te rastlanmıştır. Nokta 2’de tespit edilen Chl a değerleri, yaz mevsiminin başından itibaren 13.07.2016 tarihine kadar dereceli bir artış göstermiş ve bu tarihte $50,4 \mu\text{g L}^{-1}$ ’e ulaşmıştır. Bu tarihten sonra ise Chl a değerlerinde hafif bir düşme gözlenmiştir. Chl a değeri, 09.09.2016 tarihinde $25,6 \mu\text{g L}^{-1}$ değerine kadar gerilemiştir. Nokta 3’te ise 16.06.2016 tarihinde $6,5 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenen Chl a değeri, 30.06.2016 tarihinde bu nokta için saptanan en yüksek değere ($31,7 \mu\text{g L}^{-1}$) ulaşmıştır. $3,3 \mu\text{g L}^{-1}$ değeri (09.09.2016), Nokta 3 için saptanan en küçük Chl a değeri olmuştur. Diğer yandan Nokta 4 için tespit edilen en küçük Chl a değeri, Haziran ayı başında $16,32 \mu\text{g L}^{-1}$ iken en yüksek Chl a değeri Haziran ayı sonunda tespit edilen $124,9 \mu\text{g L}^{-1}$ ’dir. Temmuz ve Ağustos ayları arasında $49,1 \mu\text{g L}^{-1}$ seviyelerinde seyreden Chl a değerlerinin, 09.09.2016 tarihinde $21,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ’ye kadar azaldığı gözlenmiştir.

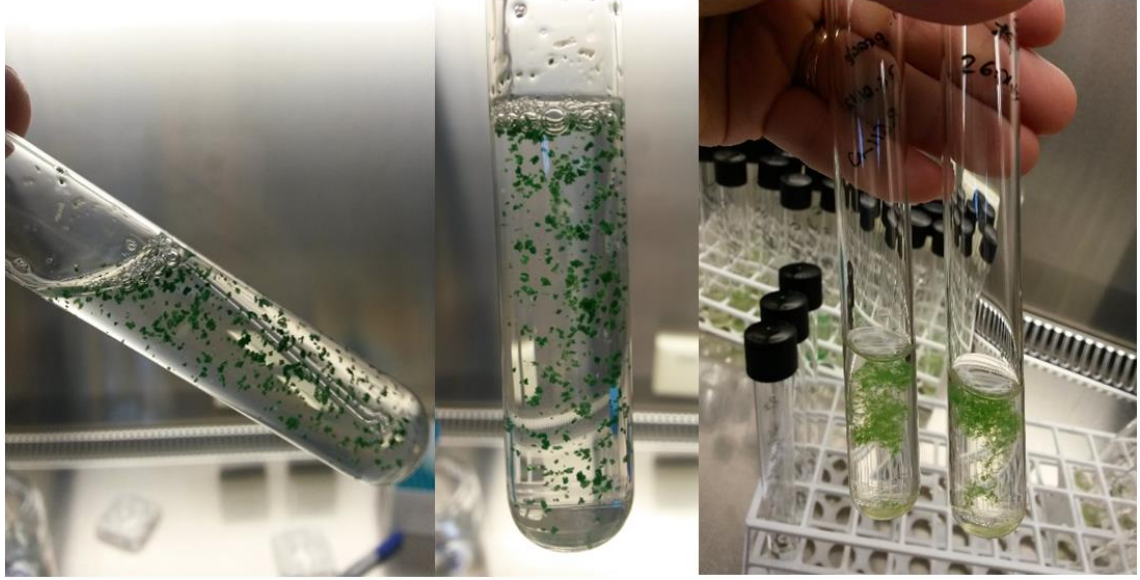
4.3. İzole Edilen Siyanobakteri Suşlarının Kültürü ve Morfolojik Tanımlaması

Uluabat Gölü'nde belirlenen dört farklı noktadan toplamda on sekiz suş izole edilip kültüre alınmıştır. Bunlardan on iki tanesi 2015, altı tanesi 2016 yılına ait arazilerden toplanan örneklerdir. İzole edilen on sekiz suş içerisinde Suş 1, 3, 5, 7, 8, 9, 10'un elde edildiği monosiyanobakteriyel kültürlerin oluşturulması için arazi sonrasındaki ilk izolasyonlar Muharrem Balcı tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu suşlara ait tek hücre izolasyonları ve temizleme çalışmaları bu tez çalışması kapsamında tekrar yapılmıştır. Kültüre alınan on sekiz suş içerisinde tek hücreli, kolonial, heterosist oluşturan ve oluşturmayan iplikli yapıdaki tallus yapısına sahip formlar bulunmaktadır. İzole edilen suşlar önce 96 kuyucuklu mikropalakalarda sonra cam tüp ve erlenlerde hacim artırılarak iklim kabininde kültüre alınmıştır (Şekil 4.4., Şekil 4.5). Suşların en iyi gelişim gösterdikleri kültür ortamları belirlenmiş ve bu ortamlarda yetiştirilmiştir. Gerekli hacime ulaşan monosiyanobakteriyel kültürler, moleküler (16S rRNA ve toksin genleri) analizlerde ve toksin analizleri (ELISA, LC-MS/MS)'nde kullanılmıştır.



Şekil 4.4. Farklı hacimlerde ve iklim kabininde kültüre alınan suşlar

Uluabat Gölü'nden izole edilen siyanobakteri suşlarından on tanesi Aquameb kodları ile Bursa Teknik Üniversitesi Alg ve Siyanobakteri Kültür koleksiyonuna dahil edilmiştir (Anonim 2020a).



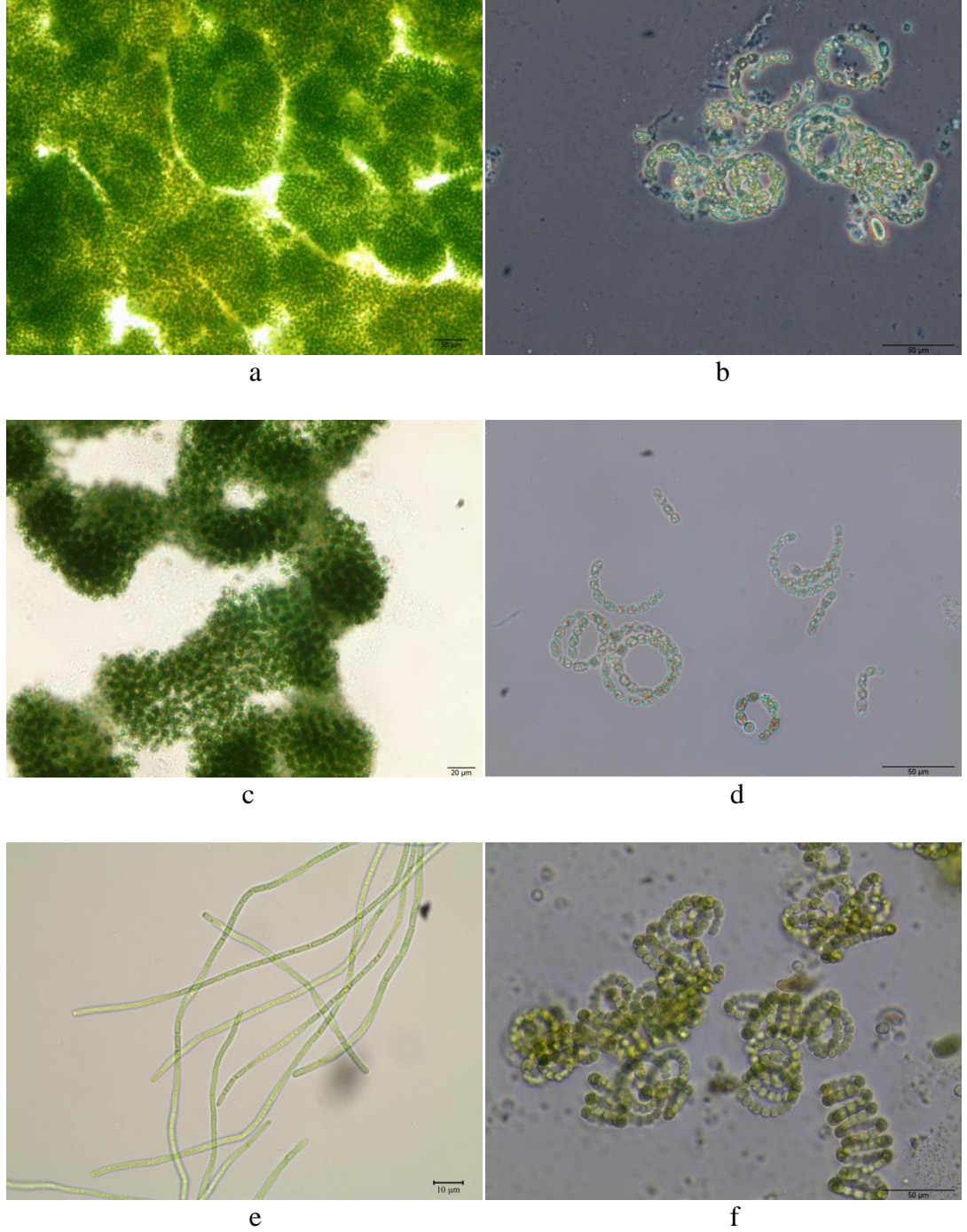
Şekil 4.5. Cam tüplerde monosiyanobakteriyel kültürü oluşturulmuş suşlar

Gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında monosiyanobakteriyel kültürü oluşturulan suşlar hakkındaki bilgiler, Çizelge 4.12’de verilmiştir. Yapılan morfolojik incelemelere göre izole edilen siyanobakteri taksonları arasında; *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing taksonuna ait üç suş belirlenirken *Dolichospermum cf. sigmoideum* (Nygaard) Wacklin, L. Hoffmann & Komárek, *Limnothrix planctonica* (Woloszynska) Meffert, *Cuspidothrix issatschenkoi* (Usachev) P. Rajaniemi, Komárek, R. Willame, P. Hrouzek, K. Kastovská, L. Hoffmann & K. Sivonen, *Calothrix elenkinii* Kossinskaja, *Planktothrix isothrix* (Skuja) Komárek & Komárková taksonlarına ait ikişer suş tanımlanmıştır. *Dolichospermum ellipsoides* (Bolochoincev ex Woronichin) Wacklin, Hoffmann & Komárek, *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* (Forti) Zapomelová, Jezberová, Hrouzek, Hisem, Reháková & Komárková, *Synechocystis aquatilis* Sauvageau, *Aphanocapsa grevillei* (Berkeley) Rabenhorst, *Microcystis smithii* Komárek & Anagnostidis taksonlarına ait ise birer suş tespit edilmiştir.

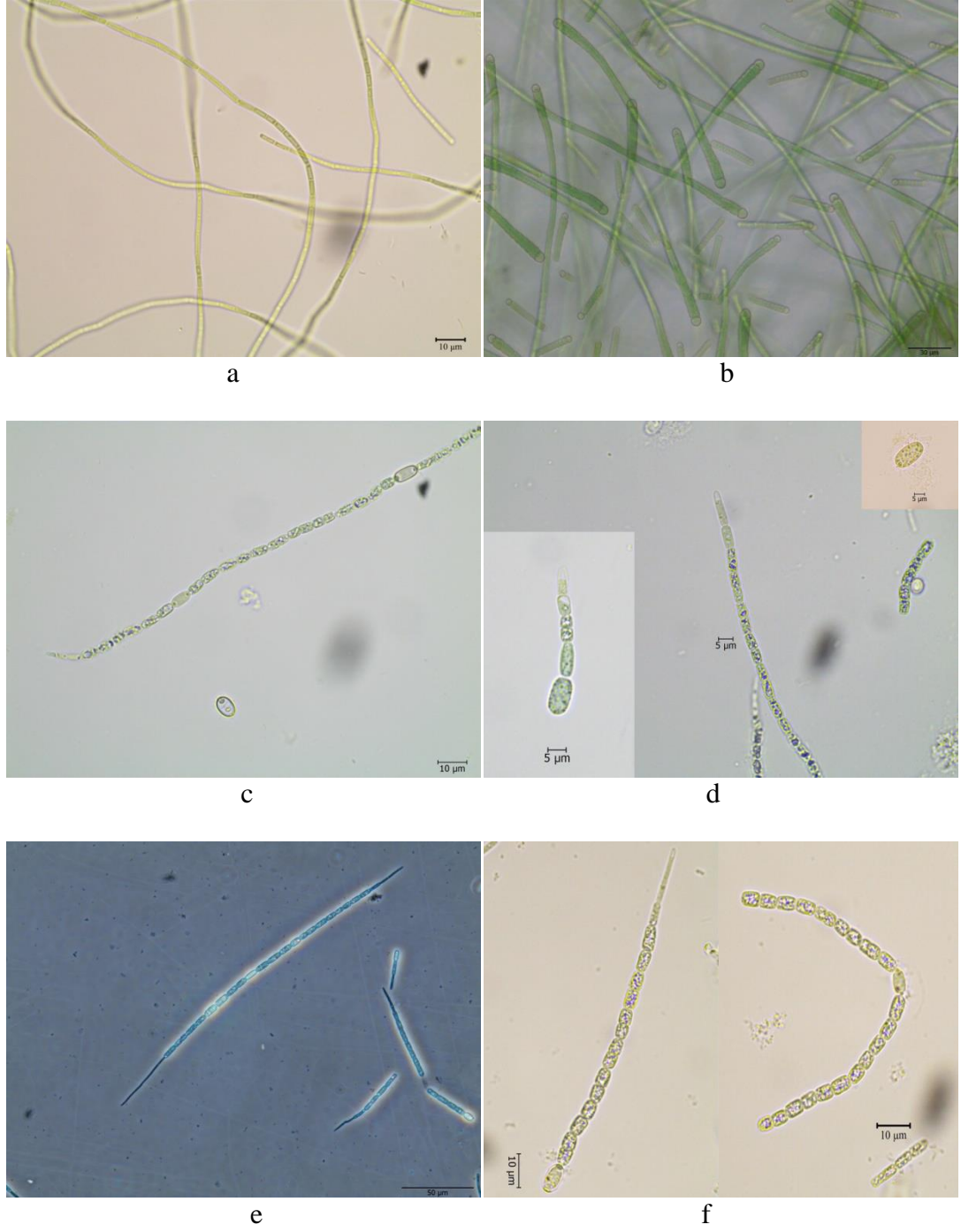
Çizelge 4.12. İzole edilen suşlar, suşların izole edildikleri yer ve tarihler, yetiştikleri kültür ortamları, kültür koleksiyonundaki kodları (Suşların morfolojik karakterizasyonuna dayalı takson adları)

Suş	Takson Adı	İzole Edildiği Yer	İzole Edildiği Tarih	Kültür Ortamı	Aquameb Kodu
1	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Nokta 1	22.07.15	BG11(+N)	Aquameb 24
2	<i>Dolichospermum cf. sigmoideum</i>	Nokta 3	22.07.15	BG11(-N)	-
3	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Nokta 1	22.07.15	BG11(+N)	Aquameb 25
4	<i>Dolichospermum cf. sigmoideum</i>	Nokta 3	22.07.15	BG11(-N)	-
5	<i>Limnothrix planctonica</i>	Nokta 1	03.09.15	BG11(+N)	Aquameb 27
6	<i>Dolichospermum ellipsoides</i>	Nokta 3	03.09.15	MLA(-N)	-
7	<i>Limnothrix planctonica</i>	Nokta 1	03.09.15	BG11(+N)	Aquameb 28
8	<i>Calothrix elenkinii</i>	Nokta 3	03.09.15	MLA(-N)	Aquameb 29
9	<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>	Nokta 4	06.08.15	BG11(-N)	Aquameb 26
10	<i>Cuspidothrix issatschenkoi</i>	Nokta 4	23.06.15	BG11(-N)	Aquameb 23
11	<i>Sphaerospermopsis aphanizomenoides</i>	Nokta 4	03.09.15	BG11(+N)	Aquameb 30
12	<i>Calothrix elenkinii</i>	Nokta 4	03.09.15	MLA(-N)	Aquameb 31
13	<i>Planktothrix isothrix</i>	Nokta 3	09.09.16	MLA(+N)	-
14	<i>Planktothrix isothrix</i>	Nokta 3-4 arası	30.06.16	BG11(+N)	Aquameb 34
15	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Nokta 4	11.08.16	BG11(+N)	-
16	<i>Synechocystis aquatilis</i>	Nokta 4	01.08.16	BG11(+N)	-
17	<i>Aphanocapsa grevillei</i>	Nokta 3	09.09.16	MLA(+N)	-
18	<i>Microcystis smithii</i>	Nokta 3	09.09.16	MLA(+N)	-

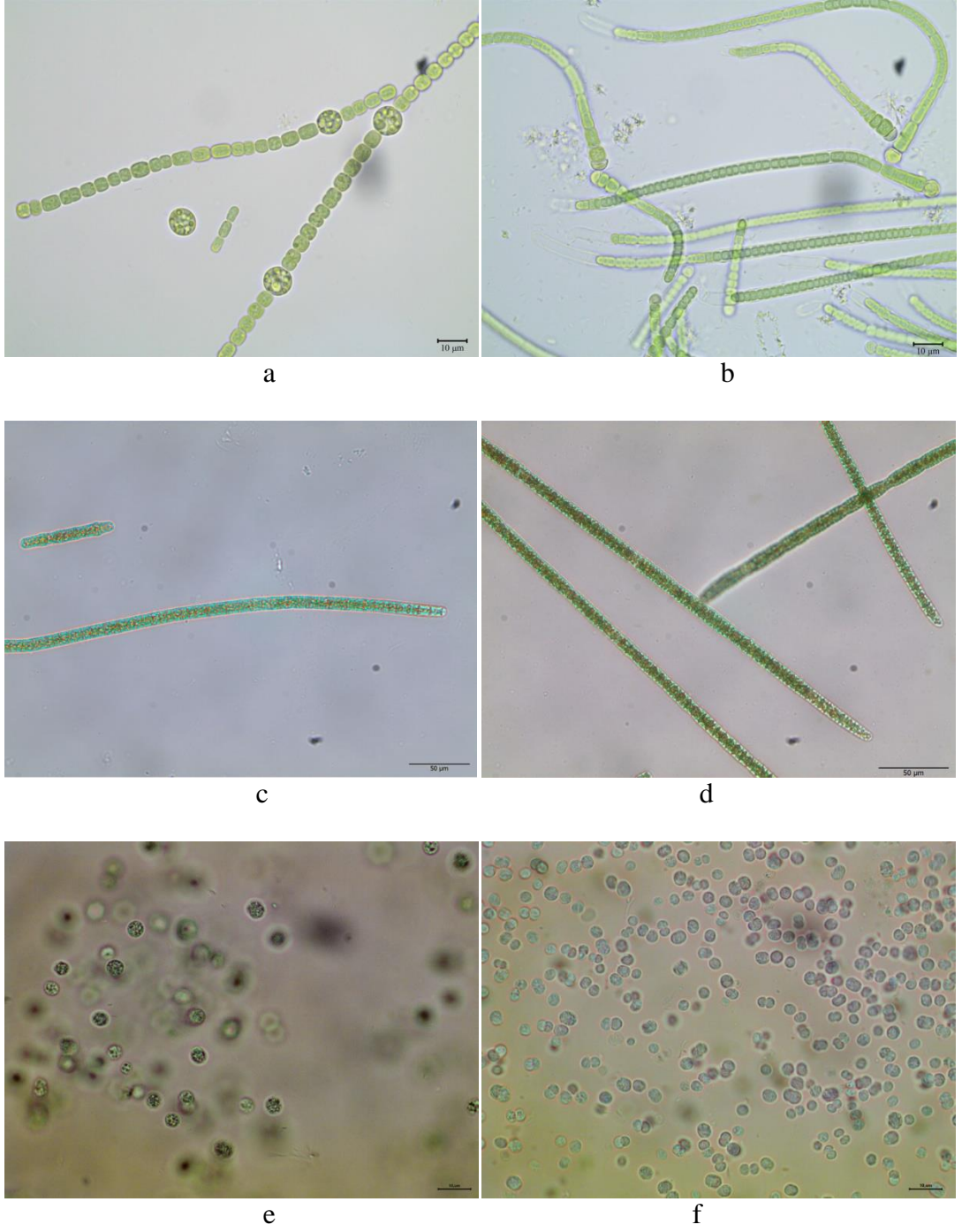
Monosiyanobakteriyel kültürleri oluşturulan suşların inverted veya ışık mikroskobu ile çekilen fotoğrafları, Şekil 4.6-4.9 arasında verilmiştir.



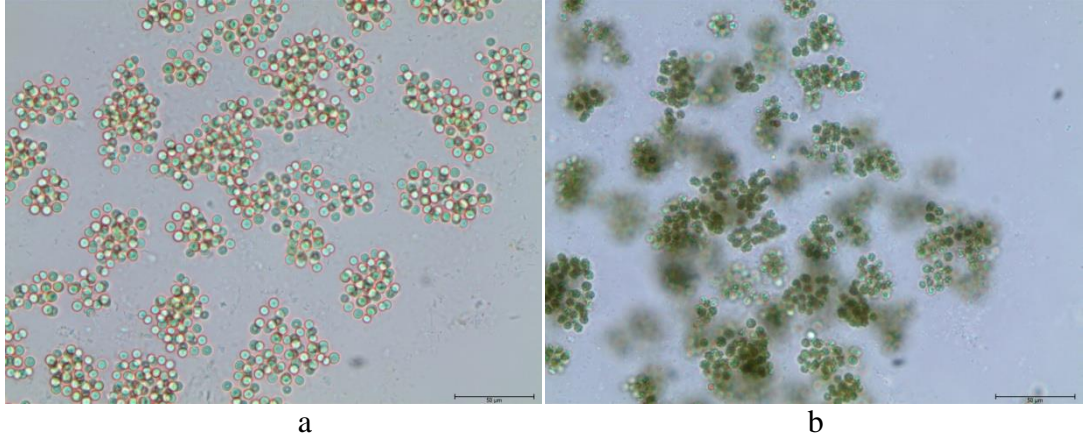
Şekil 4.6. İzole edilip kültüre alınan suşlar-I. a-Suş 1, c-Suş 3: *Microcystis aeruginosa*; b-Suş 2, d-Suş 4: *Dolichospermum cf. sigmoideum*; e-Suş 5: *Limnothrix planctonica*; f-Suş 6: *Dolichospermum ellipsoides*



Şekil 4.7. İzole edilip kültüre alınan suşlar-II. a-Suş 7: *Limnothrix planctonica*; b-Suş 8: *Calothrix elenkini*; c ve d-Suş 9, e ve f: Suş 10: *Cuspidothrix issatchenkoi*



Şekil 4.8. İzole edilip kültüre alınan suşlar-III. a-Suş 11: *Sphaerospermopsis aphanizomenoides*; b-Suş 12: *Calothrix elenkinii*; c-Suş 13 ve d-Suş 14: *Planktothrix isothrix*; e-Suş 15: *Microcystis aeruginosa*; f-Suş 16, *Synechocystis aquatilis*



Şekil 4.9. İzole edilip kültüre alınan suşlar-IV. a-Suş 17: *Aphanocapsa grevillei*; b-Suş 18: *Microcystis smithii*

Morfolojik incelemeler sonucu Suş 1, 3 ve 15'in genç kolonilerde mikroskobik boyutlarda iken olgun kolonilerde makroskobik boyutlarda gözlenebilen *M. aeruginosa* taksonu olduğu belirlenmiştir. Genellikle koloniler, ilk olarak subsferik (küresele yakın) şekilde iken daha sonrasında uzun, klatrat veya düzensiz şekillerde gözlenmiştir. Bu taksonda yoğun olarak paketlenmiş çok sayıda hücre, renksiz bir müsilaj içine gömülmüş olup hücreler müsilaj boyunca dağılmıştır. Koloniler, genellikle müsilajın en dış kenarlarında ışık mikroskobuyla da gözlenebilen hücrelerin bulunmadığı dar bir dış bölgeye sahiptir. Kültürden dolayı bazen serbest halde tek yüzen hücreler de gözlenmiştir. Planktonik özellik sergileyen hücrelerde gaz vakuelleri bulunmaktadır. *M. aeruginosa* taksonlarına ait hücreler, küresel veya subsferik şekillidir (Şekil 4.6, 4.8). Suş 1'in hücre çapı en yüksek 5,59 μm iken en düşük 3,56 μm olarak ölçülürken ortalama değer $4,75\pm 0,38$ μm olarak gözlenmiştir. Suş 3'e ait hücrelerin çapı, ortalama $5,28\pm 0,51$ μm uzunluğunda rapor edilmiştir. Bu suşa ait hücrelerin çaplarının en düşük ve en yüksek değerleri ise sırasıyla 4,25 μm ve 6,43 μm olarak ölçülmüştür. *M. aeruginosa* olarak teşhis edilen bir diğer suş olan Suş 15'in hücrelerinin çapı ortalama $5,10\pm 0,47$ μm olarak ölçülmüştür. Suş 15'e ait hücre çapı değerleri, 6,11 μm ile 4,22 μm arasında değişim göstermiştir.

İzole edilen suşlar arasında *D. cf. sigmoideum* taksonuna ait 2 suş (Suş 2 ve 4) tanımlanmıştır (Şekil 4.6). Serbest yüzebilen trikomların, çoğunlukla tek tek veya bazen birbiriyle karışmış kümeler oluşturduğu gözlenmiştir. Trikomlar, çoğunlukla kısa olup

filamentlerin kavisli fragmentlerinden oluşmaktadır. Aynı zamanda trikomlar düzensiz sarmallar oluşturmuştur. Sarmalların genişliği, Suş 2'de 27,1 µm ile 47,3 µm aralığında değişim sergilerken (ortalama 37,5±4,3 µm), benzer şekilde Suş 4'te de 33,3 µm ile 46,8 µm (ortalama 41,6±4,0 µm) arasında değişim göstermiştir. Her iki suşa ait trikomların da enine duvarlarında daralma mevcut olup trikom uçlarına doğru bir incelmeye belirlenmemiştir. Vejetatif hücreler; elipsoid veya tipik fiçı şeklinden silindiriğe kadar olabilen şekillerde, genellikle hücre boyu eninden çok az daha uzun, mavi-yeşil veya sarımtırak renge sahip hücrelerdir. Hücre boyutları Suş 2'de 7-9,9 x 5,5-7,3 µm (ortalama 8,7±0,9 x 6,5±0,5), Suş 4'te 6,7-10,1 x 5,1-6,9 µm (ortalama 8,5±0,8 x 6,1±0,4 µm)'dur. Apikal hücreler, vejetatif hücreler ile aynı şekil ve büyüklüktedir. Heterosistler, tek ve interkalar (sadece fragmentasyondan sonra nadiren terminal pozisyonda), oval veya küresele yakın şekilde belirlenmiştir. Suş 2'de gözlenen heterosistlerin eni ortalama 7,1±0,5 µm olup en yüksek değer 8,1 µm iken 6,1 µm en düşük değerdir. Diğer yandan bu suş için heterosist boyu ortalama 7,5±0,5 µm ve en yüksek değer 8,7 µm iken 6,8 µm en düşük değerdir. Suş 4'te de heterosist boyutları için saptanan değerler Suş 2'ninkilere çok benzerlik göstermiştir. Gözlenen en yüksek heterosist boyu değeri 9,1 µm iken en düşük 6,2 µm'dur. Heterosist eni ise 8,5 µm ile 6,1 µm arasında değişim sergilemiştir. Suş 4'ün heterosist boyutları ortalama 7,7±0,8 x 7,1±0,6 µm olarak tespit edilmiştir. Tek ve interkalar akinetler, genellikle heterosistten 1-4 hücre ile ayrılmaktadır. Akinetler, çoğunlukla yuvarlak sonlanan silindirik şekilde iken bazen de hafif kavisli olarak gözlenmiştir. Suş 2'nin akinet boyutları 16,9-17,9 x 8,5-8,6 µm arasında (ortalama 17,4±0,5 x 8,6±0,1 µm), Suş 4'ün ise 17,8-20,3 x 9,4-10,4 µm (ortalama 19,3±1 x 10±0,3 µm) arasında tespit edilmiştir.

Yapılan morfolojik tanımlamalara göre Suş 5 ve 7, *L. planctonica* taksonu olarak tespit edilmiştir. Her iki suşa ait monosiyano bakteriyel kültürlerde gözlenen trikomlar; düz veya hafif kavisli şekilde, mat mavi-yeşil veya küllü sarımsı renkte özellik sergilemiş olup trikomların kılıf veya kaliptra taşımadıkları gözlenmiştir (Şekil 4.6, 4.7). Enine duvarlar çok belirgin olmamakla birlikte bu kısımlarda daralma belirlenmemiştir. Trikomlar genellikle bireysel olmakla birlikte bazen kültürde bir araya gelerek yığın halde kümeler oluşturmuş ve kültür tüplerinin dibine yerleşmiştir. Trikomların yavaş bir şekilde salınarak kayma hareketi yaptığı gözlenmiştir. Bu özellik bu taksonun tespitinde

önemli ayırt edici karakterlerden biridir. Genellikle hücre kutuplarında veya merkezinde gaz vakuolleri taşıyan trikomlar serbest yüzücü formda iken kültürdeki koşullara bağlı olarak gaz vakuolü bulundurmayan trikomlar bentik karakter sergilemiştir. Suş 5'te trikomların uzunluğu 62,4 μm 'dan 879,9 μm 'a kadar ölçülürken (ortalama 313,1 \pm 168 μm) Suş 7'de 70,8 μm 'dan 1050,9 μm 'a kadar (ortalama 536 \pm 289,7 μm) değişim göstermiştir. Trikomlara ait hücrelerin boyunun, sıklıkla eninin 1,5-3,4 katı (silindirik şekilli) veya enine eşit (izodiyametik) olduğu belirlenmiştir. Hücre boyutları; Suş 5'te 3,2-7 x 1,8-2,6 μm (ortalama 5 \pm 0,9 x 2,1 \pm 0,2 μm) iken Suş 7'de de benzer şekilde 3,3-6,5 x 1,4-2,3 μm (4,6 \pm 0,7 x 1,8 \pm 0,2 μm)'dur. Hücre boy/en oranı, Suş 5'te 1,5 ile 3,2 arasında değişirken ortalama 2,4 \pm 0,4 olarak saptanmıştır. Suş 7'de ise 1,6 ile 3,4 arasında değişen boy/en oranı ortalama 2,6 \pm 0,4 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca her iki suşun da trikomlarındaki apikal hücrelerin, uçları yuvarlak silindirik şekilli hücrelerden oluştuğu tespit edilmiştir.

Suş 6'nın kültüründe trikomların; planktonik karakterlerinden dolayı serbest yüzen formda ve bireysel (nadiren birbiriyle karışmış kümeler halinde) olduğu, düzensiz ve gevşek sarmallar oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6). Müsilaj kılıfa sahip trikomların enine duvarlarında belirgin daralmalar mevcutken trikom uçlarına doğru bir inceleme belirlenmemiştir. Suş 6'nın hücre pigmentasyonu sarı-kahverengiden mavi-yeşile kadar değişim gösterebilmektedir. Vejetatif hücreler, \pm küreselden hafif oval ve uzamış hücrelere kadar değişen şekillerde olabilmektedir. Hücre boyu izole edilen bu suş için en yüksek 8,7 μm iken en düşük 5,4 μm olarak tespit edilmiştir. Ortalama hücre boyu ise 6,6 \pm 0,9 μm 'dur. Diğer yandan hücre eni 5,5 ile 7,8 μm arasında değişim sergilemiştir. Suş 6'nın 6,9 \pm 0,5 μm ortalama hücre eni değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Yuvarlak şekilde sonlanan terminal hücreler, diğer hücreler ile aynı boyuttadır. Heterosistlerin, vejetatif hücrelerden daha geniş olduğu gözlenmiştir. Çoğunlukla küresel (bazen hafif oval) şekilli heterosistler, tek olup trikomda interkalar olarak konumlanmıştır. Suş 6 için heterosist eni 6,5 μm ile 10,2 μm ; heterosist boyu 7,1 μm ile 9,6 μm arasında ölçülmüştür. Bu suş için tespit edilen ortalama heterosist eni ve boyu sırasıyla 7,7 \pm 0,9 μm ve 8,1 \pm 0,6 μm olarak rapor edilmiştir. Heterosistler gibi interkalar özellik sergileyen akinetler, tek ve heterosistten uzakta bulunmaktadır. Yuvarlak olarak sonlanan silindirik şekilli bu suşa ait olgun akinetler, bazen hafif kavisli bir yapı da sergilemiştir. Akinetler uzama

göstermiş olup boyları, genellikle eninin iki katı veya daha fazla uzunlukta gözlenmiştir. Akinet boyutları 19,1-32,6 x 8,9-12,6 µm (ortalama 23,9±3,6 x 11±0,8 µm) olarak ölçülmüştür. Bahsedilen morfolojik inceleme ve ölçümlere göre Suş 6'nın, *D. ellipsoides* taksonu olduğu teşhis edilmiştir.

İzolasyon sonrası kültürü yapılan suşlardan Suş 8 ve 12, morfolojik karakterlere göre *C. elenkinii* taksonu olarak tespit edilmiştir. Kültürlerde 635,5 µm ve 763,5 µm'a kadar değişik uzunluklarda görülen filamentler (sırasıyla Suş 8 ve 12); bireysel olabildiği gibi gruplar halinde bir araya gelerek uzun kümeler de oluşturabilmektedir. Şekil 4.7'da Suş 8, Şekil 4.8'de Suş 12 görülmektedir. Bu suşlara ait filamentler; bazal kısımlarında kavisli ve genişlemiştir. Her iki suşta da bazal ve orta kısımdaki filament ve trikom eni benzer boyutlarda ölçülmüştür. Bazal kısımda Suş 8'de 5,3-9,1 µm aralığında olan filament eni (ortalama 7,4±1 µm), Suş 12'de 4,1-9 µm (ortalama 6,4±0,9 µm) aralığında saptanmıştır. Orta kısımda ise filament biraz incelmeye gösterdiği için; Suş 8'de 4,1-6 µm (ortalama 5,2±0,5 µm), Suş 12'de 4,5-6,4 µm (ortalama 5,2±0,4 µm) enindedir. Müsilaj kılıf; ince, renksiz, lamelsiz, belli olgunluğa erişmiş filamentlerin apeksinde ucu açık ve genellikle trikomdan daha uzundur. Trikomların pigmentasyonu; mavi- veya zeytin-yeşili olarak gözlenmiştir. Trikomlar, saç benzeri yapılarla sonlanmamaktadır. Suş 8'de trikom eni, bazal kısımda 4-7,6 µm aralığında (ortalama 5,7±1,1 µm) iken orta kısımda 2,6-5,3 µm aralığında (ortalama 3,3±0,4 µm)'dır. Suş 12'de de benzer olarak trikom eni, bazal kısımda 3-7,7 µm aralığında (ortalama 4,9±1,1 µm) iken orta kısımda 2,7-3,9 µm aralığında (ortalama 3,2±0,3 µm)'dir. Trikomdaki hücrelerin bazal kısma yakın olanlarında enine duvarlarında hafif daralma gözlenirken, apikal bölgedeki hücrelerin enine duvarlarında daralma gözlenmemiştir. Her iki suşun trikomlarında da hücreler; dörtgen şekilli veya enleri uzunluklarından biraz daha kısadır. Fakat trikomun üst kısımlarındaki hücreler, dörtgenden boyu eninden daha uzun hücrelere kadar değişen şekillerde olabilmektedir. Apikal hücreler ise yuvarlak veya konik-yuvarlak uçlu olup daralma göstermiştir. Bazal ve tek olan heterosistler, sırasıyla Suş 8'de 4,5-7,1 µm (ortalama 5,5±0,9 µm), Suş 12'de 4,5-7,7 µm (ortalama 5,5±0,7 µm) eninde belirlenmiştir.

Suş 9 ve 10, gerçekleştirilen incelemeler sonucu *C. issatschenkoi* taksonu olarak teşhis edilmiştir. Bu taksonların trikomları kültürde; serbest yüzen formlarda ve tek olarak gözlenmiştir (Şekil 4.7). Düz veya eğimli olan trikomların uzunluğu Suş 9’da 33,6-232,3 µm aralığında olup ortalama 100,5±53,2 µm değerinde; Suş 10’da ise trikom uzunluğu 38,2-307,6 µm aralığında olup ortalama 148,3±78,7 µm değerinde ölçülmüştür. Trikollar, merkezi kısımlarında silindirik, devamında daralmış, gelişmiş trikollarda ise sonlara doğru sivrilme göstermiştir. Enine duvarlarda daralma yok veya çok azdır. Trikolların terminal hücrelerindeki teleskopik bağlantılar karakteristiktir. Hücreler; silindirik şekilden uzun-silindiriğe kadar değişen şekillerde, mavi-yeşil renkli, nadiren aerotoplu gözlenmiştir. Suş 9’un hücre ölçüleri 4,1-8,4 x 2,7-4,1 µm; Suş 10’un 4,0-8,3 x 2,0-4,2 µm’dur. Suş 9’un ortalama hücre eni 3,4±0,3 µm; hücre boyu ise 5,5±0,9 µm değerindedir. Suş 10’un da ortalama hücre boyutları neredeyse aynı olup ortalama hücre eni 3,4 ±0,6 µm; hücre boyu 5,9±1,0 µm değerinde belirlenmiştir. *C. issatschenkoi* taksonlarına ait bu trikolların son hücreleri neredeyse hiyalin yapısındadır ve daralma göstermiştir. Suş 9’a ait trikollardaki son hücrelerin boyutları 5,4-18,7 x 1,2-2,7 µm aralığında değişim sergilerken ortalama 11±3,3 x 1,8±0,4 µm değerlerinde saptanmıştır. Benzer şekilde Suş 10’a ait trikollardaki son hücrelerin boyutları 5,4-18,5 x 1,2-2,5 µm aralığında değişim gösterirken ortalama 11,1±3,5 x 1,8±0,3 µm değerlerinde saptanmıştır. Heterosist, genellikle tektir ve silindirik şekillidir. Heterosistten uzakta bulunan akinetler, yuvarlak uçlu uzun silindirik hücrelerdir. Genellikle tek veya ardışık 2-3 tane olabilmektedir. Heterosistler; Suş 9’da 4,2-7,8 x 2,5-5,5 µm aralığında (ortalama 6,3±0,9 x 4±0,7 µm), Suş 10’da 5,3-9,4 x 2,4-4,2 µm aralığında (ortalama 7,1±1,1 x 3,5±0,4 µm) tespit edilmiştir. Akinet boyutları ise Suş 9’da 8,4-17,7 x 4,1-6,6 µm aralığında ölçülmüş olup ortalama 11±2,1 x 5,6±0,6 µm değerindedir. Suş 10’un ise kültürde akinet oluşturmadığı gözlenmiştir.

S. aphanizomenoides olarak teşhis edilen Suş 11’e ait trikolların; bireysel, planktonik, serbest yüzen karakterde, 101 µm’den 793,1 µm’ye kadar değişen (ortalama 249,2±155,3 µm) uzunluklarda olduğu gözlenmiştir. Şekil 4.8’den de görüldüğü gibi düz veya hafif eğri olan trikollarda müsilaj kılıf bulunmamaktadır. Trikolların enine duvarlarında (hafiften belirginine kadar değişen derecelerde) ve uçlarına doğru daralmalar belirlenmiştir. Hücreler; fiçî şeklinden (izodiyametik) hemen hemen silindiriğe (uzunluğu eninin 1-2

katı) kadar değişen şekillerde olup aerotop taşımaktadır. Suş 11'in hücre boyutları, 3,4-6,9 x 3,2-6 µm (ortalama 5,5±0,9 x 4,7±0,8 µm)'dur. Trikomların konik şekilde sonlanan terminal hücreleri, hafif daralmış ve uzamıştır. Bu hücrelerin boyutları; 3,9-8,9 x 2,3-3,9 µm (ortalama 6,0±1,2 x 3,2±0,3 µm) olarak ölçülmüştür. İnterkalar, tek ve hemen hemen küreselden silindiriğe kadar değişik şekillerde olabilen heterosistler, bu suşa ait kültürlerde gözlenmemiştir. Akinetler; tek veya çiftler halinde, heterosistin her iki kenarında, (çok nadir olarak da heterosistten uzakta), küresel veya seyrek olarak geniş oval şekilli olup 8,2-12,1 x 8,3-11,5 µm (ortalama 9,9±1 x 9,7±1 µm) boyutlarında belirlenmiştir.

İzole edilip kültüre alınan suşlardan 13 ve 14, ipliksi formdaki siyanobakteri taksonlarından (Şekil 4.8). Her iki suşa ait trikomların pigmentasyonu da koyu mavi-yeşil veya gri-yeşil renkte olup kültürde trikomlar genellikle düz veya hafif eğimli olarak gözlenmiştir. Trikomlar çoğunlukla tektir, bazen de düzensiz bir şekilde küçük kümeler oluşturmuştur. Başlangıçta bentik olan filamentler daha sonraları planktonik hale gelmiştir. Trikomların enine duvarlarında, daralma ya yoktur ya da çok az vardır. Silindirik şeklindeki trikomların her iki kenarında da belirgin bir sıra granül bulunmaktadır. Uç kısımlara doğru ise trikomlarda belirgin bir daralma gözlenmeyip, trikomlar ya düz olarak sonlanmış ya da hafifçe incelerek sonlanmıştır. Trikom eni; Suş 13'te 10,50-7,08 µm, Suş 14'te ise 10,20-6,36 µm arasındaki değerlerde ölçülmüştür. Ortalama değerler ise birbirine çok yakın olup sırasıyla 8,89±0,88 µm ve 8,79±0,86 µm olarak belirlenmiştir. Her iki suşa ait trikomu oluşturan hücrelerin boyu, eninden daha kısa olarak gözlenmiştir. Her iki suşta da ortalama hücre boyu değerlerinin birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir (Suş 13 ve 14 için sırasıyla 3,90±0,70 µm ve 4,10±1,32 µm). Suş 13'te 6,55-2,71 µm aralığında değişen hücre boyu uzunluğu, Suş 14'te 7,76 ile 2,31 µm arasında değişim sergilemiştir. Hücrelerde, karakteristik olarak trikomun rengini etkileyen çok sayıda düzensiz bir şekilde dağılmış aerotop bulunmaktadır. Apikal hücreler; silindiriktir ve genellikle yuvarlak şekilde sonlanmıştır. Nadiren ise hafif konik şekildedir. Bu hücreler, kaliptra veya kalınlaşmış bir hücre duvarına sahip değildir. Yapılan morfolojik incelemelere göre her iki suş da *P. isothrix* (Skuja) Komárek & Komárková olarak tanımlanmıştır.

Monosiyanobakteriyel kültürü oluşturulup morfolojik kriterlere göre değerlendirilen bir diğer suş olan, Suş 16'nın *S. aquatilis* taksonu olduğu belirlenmiştir. Bu taksona ait hücrelerin çapı, 3,37-5,08 µm arasında ölçülmüştür. Hücrelerin ortalama çapı ise $4,09\pm 0,37$ µm olarak belirlenmiş olup hücreler küresel veya oval şekildedir. Hücrelerdeki pigmentasyon, soluk mavi-yeşil renkte gözlenmiştir. Ayrıca bu taksonda koloni oluşumu ve hücrelere ait belirgin bir müsilaj tespit edilmemiştir. *S. aquatilis* suşundaki hücreler serbest halde ve tek olarak bulunabildiği gibi ikiye bölünme sonucu ikili halde de gözlenmiştir (Şekil 4.8). Hemisferik şeklindeki yavru hücrelerin, bir sonraki bölünmeden önce orjinal büyüklüğe ve küresel şekile ulaştıkları belirlenmiştir.

Suş 17 ise yapılan morfolojik incelemeler sonucu *A. grevillei* olarak tespit edilmiştir. Koloniler; ilk zamanlar az veya çok amorf-küresel şekilde iken, sonrasında düzensiz şekiller göstermiştir. Müsilajlı ve amorf koloniler, yoğun ve düzensiz agregat hücrelerden oluşmaktadır. Bu taksona ait koloni çapı, 25,24 µm ile 65,56 µm arasında değişmekte olup ortalama $46,80\pm 10,13$ µm değerindedir. Küresel veya hafif oval şekilli koloni hücrelerinin ortalama çapı, $5,53\pm 0,52$ µm'dur. Diğer yandan en yüksek hücre çapı değeri 6,45 µm ölçülürken, en düşük değer 4,5 µm olarak saptanmıştır. *A. grevillei* suşuna ait hücrelerin, parlak mavi-yeşil renkte olduğu ve aerotop taşımadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.9). Dolayısıyla suş 17'nin bentik bir form olduğu tespit edilmiştir.

Planktonik karakter sergileyen Suş 18'in, tanımlayıcı özelliklerinin belirlenmesiyle *M. smithii* olduğu saptanmıştır. Suş 18'e ait hücre çapı 4,22-5,79 µm arasındadır. $5,31\pm 0,31$ µm ortalama hücre çapı değeri gösteren bu suşun hücreleri; küresel şekilli olup mavi-yeşilden zeytin yeşiline kadar değişen renklerde gözlenmiştir (Şekil 4.9). Her hücre bir veya birkaç kahverengimsi aerotop içermektedir. Kolonial bir form olan suş 18'te hücreler koloni içerisinde az veya çok aralıklı ve düzenli olarak dağılmaktadır, hücreler arasındaki mesafe genellikle hücre çapından büyüktür. Hücreler genellikle tekli bölünme sonrası ise çiftler halinde bulunmaktadır. Renksiz bir müsilaja sahip kolonilerin, az veya çok küresel veya hafif düzensiz şekilde olduğu gözlenmiştir. Bu suşa ait kolonilerin çapı 62,70-24,44 µm arasında değişmekte olup ortalama $43,76\pm 11,37$ µm olarak belirlenmiştir.

4.4. Toksin Analizleri

4.4.1. ELISA ve RBA analizleri

2015 yılına ait plankton çekimi ve su kolonu örneklerinin; MC, STX, CYN miktarları ELISA ile ATX-a miktarları RBA ile belirlenmiştir. 2015 yılına ait 24 su kolonu örneğinin 13'ü MC toksini için pozitif sonuçlar vermiştir (Çizelge 4.13). MC değerleri bu örneklerde $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$ ile $2,11 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında değişmiştir. 11 örnekte ise MC değerleri tespit limitinin altında kalmıştır. Sadece 06.08.2015 tarihindeki Nokta 4'te belirlenen MC değeri ($2,11 \mu\text{g L}^{-1}$), içme suları için WHO'nun belirlemiş olduğu maksimum değerden yüksek bulunmuştur ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Chorus ve Bartram 1999). Su kolonu 2015 verilerine göre, yaz başlangıcındaki örneklerde Uluabat Gölü'nde MC tespit edilemezken yaz ortasından itibaren MC seviyesinde genel olarak bir artış görülmüştür. Nokta 1 dışındaki noktalarda, yaz sonu ve sonbahar başlangıcındaki MC değerlerinde bir düşüş gözlenirse de bu noktalarda MC tespit edilmiştir. Nokta 1'de Ağustos başından itibaren tespit edilen MC, giderek artmış ve 03.09.2015 tarihinde en yüksek seviyesine ulaşmıştır ($0,31 \mu\text{g L}^{-1}$). Nokta 2, 3 ve 4'te ise en yüksek MC değerlerine 06.08.2015 tarihinde ulaşmıştır (sırasıyla $0,79 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$, $2,11 \mu\text{g L}^{-1}$). Diğer yandan aynı yıla ait su kolonu örneklerinden 7 tanesinde ATX-a, tespit alt limiti değerlerine yakın olarak saptanmıştır (Çizelge 4.13). ATX-a değerleri, $13,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (23.06.2015 Nokta 4) ile $17,61 \mu\text{g L}^{-1}$ (20.08.2015 Nokta 2) arasında değişmiştir. Nokta 1'de 06.08.2015 ($15,24 \mu\text{g L}^{-1}$) dışındaki tarihlerde ATX-a değerleri tespit limitinin altında kalmıştır. Nokta 2'de sadece Ağustos ayındaki su kolonu örneklerinde ATX-a belirlenmiştir ($14,86 \mu\text{g L}^{-1}$, $17,61 \mu\text{g L}^{-1}$). Nokta 3'teki ATX-a değerleri, 20.08.2015 tarihinde $15,86 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenen değer dışında genel olarak tüm tarihlerde tespit limitinin altında kalmış ve ATX-a belirlenmemiştir. Nokta 4'e ait farklı tarihlerde yapılan arazilerden toplanan örneklerin 3'ünde düşük miktarlarda ATX-a tespit edilmiştir. Nokta 4 için belirlenen en yüksek ATX-a değerine 22.07.2015 tarihinde $15,31 \mu\text{g L}^{-1}$ seviyesiyle ulaşılmıştır.

2015 yılı su kolonundan ELISA ile elde edilen STX verilerine göre 24 su kolonu örneğinden 18 tanesinde STX konsantrasyonları tespit limiti altında (TLA) saptanırken 6 örnekte $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Bu değer ($0,02 \mu\text{g L}^{-1}$), ELISA

analizinde STX için tespit alt limitidir. CYN ise aynı yıla ait su kolonu örneklerinin hepsinde TLA'da kalmıştır (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. 2015 yılında su kolonunda ELISA ile tayin edilmiş mikrosistin, saksitoksin, silindrospermopsin; RBA ile analiz edilmiş anatoksin konsantrasyonları

Örnekleme Noktası ve Tarihi	Mikrosistin Konsantrasyonu ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Anatoksin Konsantrasyonu ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Saksitoksin Konsantrasyonu ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Silindrospermopsin Konsantrasyonu ($\mu\text{g L}^{-1}$)
23.06.2015				
Nokta 1	TLA	TLA	TLA	TLA
Nokta 2	TLA	TLA	TLA	TLA
Nokta 3	TLA	TLA	TLA	TLA
Nokta 4	TLA	13,12	TLA	TLA
10.07.2015				
Nokta 1	TLA	TLA	TLA	TLA
Nokta 2	TLA	TLA	TLA	TLA
Nokta 3	TLA	TLA	TLA	TLA
Nokta 4	TLA	TLA	TLA	TLA
22.07.2015				
Nokta 1	TLA	TLA	0,02	TLA
Nokta 2	0,24	TLA	TLA	TLA
Nokta 3	TLA	TLA	0,02	TLA
Nokta 4	0,21	15,31	TLA	TLA
06.08.2015				
Nokta 1	0,16	15,24	TLA	TLA
Nokta 2	0,79	14,86	TLA	TLA
Nokta 3	0,50	TLA	TLA	TLA
Nokta 4	2,11	TLA	TLA	TLA
20.08.2015				
Nokta 1	0,18	TLA	TLA	TLA
Nokta 2	0,44	17,61	0,02	TLA
Nokta 3	TLA	15,86	0,02	TLA
Nokta 4	0,69	TLA	0,02	TLA
03.09.2015				
Nokta 1	0,31	TLA	TLA	TLA
Nokta 2	0,45	TLA	0,02	TLA
Nokta 3	0,24	TLA	TLA	TLA
Nokta 4	0,43	14,42	TLA	TLA

2015 yılı plankton çekimi örneklerine bakıldığında, 23 Haziran'da Nokta 3'ten örnek alınamamıştır. Diğer yandan 10 Temmuz 2015'te ise sadece Nokta 3'te plankton çekimi

örnekleme yapılabilmektedir. 2015 yılının Haziran ve Eylül ayları arasındaki süreçte, toplam 20 plankton çekimi örneğine ait birim kuru ağırlıktaki toksin (MC, ATX-a, STX ve CYN) değerleri Çizelge 4.14'te verilmiştir. Bu değerler, ELISA ve RBA kitleri ile elde edilmiştir. Tüm arazi tarihlerindeki bütün noktalarda MC tespit edilmiştir. ELISA ile saptanan en düşük MC konsantrasyonu 10.07.2015 tarihinde Nokta 3'te $0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık iken en yüksek MC konsantrasyonları Nokta 4'ün 20.08.2015 ve 03.09.2015 tarihli arazilerinde gözlenmiştir (sırasıyla $494,94 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, $459,25 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık). Plankton çekimi verilerinden elde edilen bilgilere göre, Uluabat Gölü'nde ortalama $12,60 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak belirlenen Haziran ayındaki MC konsantrasyonu, Temmuz başında en düşük seviyeye ($0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık) ulaşmıştır. MC miktarı, Temmuz sonunda bütün noktalarda artış göstermiş ve yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. 22.07.2015 tarihinde Uluabat Gölü'nde rapor edilen MC miktarı, gram kuru ağırlıkta ortalama $98,35 \mu\text{g}$ 'dır. Ağustos ayının başındaki plankton çekimi örneklerinde en yüksek MC değeri, Nokta 2'de $220 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak saptanmıştır. 20.08.2015 tarihinde göldeki ortalama MC miktarı, 06.08.2015 tarihine göre yaklaşık 2,5 kat artmıştır. MC değerleri, Eylül başında da tüm noktalarda Uluabat Gölü'ndeki yüksek seviyesini korumuştur. Diğer yandan RBA analizi ile 2015 yılındaki plankton çekimi örneklerinin hiçbirinde ATX-a belirlenmemiştir.

Yirmi plankton çekimi örneğinden üç tanesinde ise düşük miktarlarda STX varlığı rapor edilmiştir (Çizelge 4.14). ELISA analizinde STX için pozitif sonuç veren en düşük değer, $0,0019 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olup 23.06.2015 tarihinde Nokta 2'den toplanan plankton çekimi örneğinde gözlenmiştir. En yüksek STX değeri ise $0,0139 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olup 10.07.2015 tarihinde Nokta 3'te belirlenmiştir. Analizi yapılan plankton çekimi örneklerinde pozitif sonuç veren STX değerlerinin, tespit alt limitine ($0,015 \text{ ng mL}^{-1}$) çok yakın olduğu gözlenmiştir.

Plankton çekimlerinde varlığı veya yokluğu araştırılan bir diğer toksin olan CYN, 2015 yılına ait 18 örnekte pozitif sonuç vermiştir fakat tespit edilen değerler, MC'ye göre daha düşük düzeydedir. ELISA analizinde belirlenen en yüksek CYN değeri, 22.07.2015 tarihinde Nokta 1'deki örneklerde saptanmış olup bu değer $0,0163 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlıktır. Plankton çekimi örneklerinde gözlenen en düşük CYN değeri ise $0,0009 \mu\text{g g}^{-1}$ olup yine

aynı tarihte Nokta 4’te belirlenmiştir. Bu değer ELISA tespit alt limitine yakındır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. 2015 yılında plankton çekimi örneklerinde ELISA ile tayin edilmiş mikrosistin, saksitoksin, silindrospermopsin; RBA ile analiz edilmiş anatoksin konsantrasyonları

Örnekleme Noktası ve Tarihi	Toksin konsantrasyonları			
	Mikrosistin ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık)	Anatoksin ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık)	Saksitoksin ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık)	Silindrospermopsin ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık)
23.06.2015				
Nokta 1	6,82	TLA	0,0109	0,0076
Nokta 2	30	TLA	0,0019	0,0145
Nokta 4	0,97	TLA	TLA	0,0115
10.07.2015				
Nokta 3	0,30	TLA	0,0139	0,0089
22.07.2015				
Nokta 1	100	TLA	TLA	0,0163
Nokta 2	94	TLA	TLA	0,0148
Nokta 3	99,39	TLA	TLA	0,0093
Nokta 4	100	TLA	TLA	0,0009
06.08.2015				
Nokta 1	73	TLA	TLA	0,0140
Nokta 2	220	TLA	TLA	0,0140
Nokta 3	40	TLA	TLA	TLA
Nokta 4	71	TLA	TLA	0,0110
20.08.2015				
Nokta 1	158,16	TLA	TLA	0,0079
Nokta 2	120	TLA	TLA	TLA
Nokta 3	269,73	TLA	TLA	0,0076
Nokta 4	494,94	TLA	TLA	0,0076
03.09.2015				
Nokta 1	110	TLA	TLA	0,0124
Nokta 2	97	TLA	TLA	0,0117
Nokta 3	208,01	TLA	TLA	0,0159
Nokta 4	459,25	TLA	TLA	0,0108

2015 yılına ait su kolonu ve plankton çekimi örneklerinin verileri incelendiğinde, MC dışındaki toksinlerin (STX, CYN ve ATX-a) genellikle TLA’da veya tespit limit değerlerine yakın düşük değerlerde olduğu gözlenmiştir. Proje bütçesinin kısıtlı olmasından dolayı 2016 yılına ait su kolonu ve plankton çekimi örneklerinde ELISA ile

sadece MC konsantrasyonları belirlenmeye çalışılmıştır (Çizelge 4.15). 2016 yılına ait 24 su kolonu örneğinden 13 tanesi ELISA ile pozitif sonuç vermiştir. MC değerlerinin 0,16 $\mu\text{g L}^{-1}$ ile 1,37 $\mu\text{g L}^{-1}$ arasında değiştiği saptanmıştır. 2016 yılında su kolonundaki MC değerlerinin, Haziran ayından Temmuz sonuna kadar olan süreçte bir önceki yıl ile benzer değişim sergilediği gözlenmiştir. Haziran ayında hiçbir noktada MC tespit edilmemiştir. Temmuz ayındaki örneklerde ise MC sadece Nokta 2’de 0,23 $\mu\text{g L}^{-1}$ olarak saptanmıştır. Yaz sonu ve sonbahar başındaki aylara ait örneklerde ise 2015 yılındaki verilerle uyumlu olarak gölde tüm noktalarda MC saptanmıştır. 2015 yılına benzer olarak, 01.08.2016 tarihli su kolonu örneklerinde belirlenen en yüksek değer, Nokta 4’te (0,83 $\mu\text{g L}^{-1}$) ölçülmüştür. Uluabat Gölü’nde Ağustos başındaki ortalama MC seviyesi, 11.08.2016 tarihinde 1,3 katlık bir artış ile 0,77 $\mu\text{g L}^{-1}$ ’ye ulaşmıştır. 09.09.2016 tarihinde ise 11.08.2016 tarihine göre bütün noktalarda bir azalma gözlenirse de MC varlığı tüm noktalarda rapor edilmiştir. Eylül ayındaki su kolonu örneklerinin verilerine göre, göldeki ortalama MC 0,29±0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$ seviyelerinde tespit edilmiştir.

2016 yılı plankton çekimi örneklerinin ELISA ile elde edilen MC değerleri, su kolonu değerlerine göre oldukça yüksek miktarlarda tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). 16.06.2016 tarihli arazinin Nokta 3 ve 4’teki plankton çekimi örneklerinin MC konsantrasyonları sırasıyla 0,18 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık ve 0,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak saptanmıştır. 30.06.2016 tarihinde ise Nokta 1’de MC konsantrasyonu 0,12 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak belirlenmiş ve 2016 yılına ait örneklerde gözlenen en düşük değer olarak rapor edilmiştir. Bu tarihlerdeki üç nokta dışında kalan bütün örneklerde, MC ise tespit limitinin üstünde belirlenmiştir.

Çizelge 4.15. 2016 yılına ait plankton çekimi ve su kolonu örneklerinde ELISA ile tayin edilmiş mikrosistin konsantrasyonları

Örnekleme Noktası ve Tarihi	Plankton çekimi mikrosistin konsantrasyonu ($\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık)	Su kolonu mikrosistin konsantrasyonu ($\mu\text{g L}^{-1}$ kuru ağırlık)
16.06.2016		
Nokta 1	> 0,75	TLA
Nokta 2	> 0,75	TLA
Nokta 3	0,18	TLA
Nokta 4	0,14	TLA
30.06.2016		
Nokta 1	0,12	TLA
Nokta 2	> 0,75	TLA
Nokta 3	> 0,75	TLA
Nokta 4	> 0,75	TLA
13.07.2016		
Nokta 1	> 0,75	TLA
Nokta 2	> 0,75	0,23
Nokta 3	> 0,75	TLA
Nokta 4	> 0,75	TLA
01.08.2016		
Nokta 1	> 0,75	0,24
Nokta 2	> 0,75	0,77
Nokta 3	> 0,75	0,48
Nokta 4	> 0,75	0,83
11.08.2016		
Nokta 1	> 0,75	0,50
Nokta 2	> 0,75	1,37
Nokta 3	> 0,75	0,64
Nokta 4	> 0,75	0,56
09.09.2016		
Nokta 1	> 0,75	0,16
Nokta 2	> 0,75	0,39
Nokta 3	> 0,75	0,26
Nokta 4	> 0,75	0,33

Proje bütçesi dahilinde, izole edilip monosiyanobakteriyel kültürü oluşturulan on suşun ELISA ve RBA analizi ile dört toksin açısından taraması yapılmıştır. Analizlerde ilk olarak suşlara ait kültür örneklerinin yaş ağırlıkları kullanılmış, sonrasında toksin açısından pozitif olduğu düşünülen kültür örneklerinin, tekrar kuru ağırlıklarına göre ELISA analizi yapılmıştır. ELISA ile elde edilen dört toksine ait birim kuru ağırlık ve yaş ağırlıktaki konsantrasyonlar, Çizelge 4.16’da verilmiştir. *M. aeruginosa* taksonuna ait Suş 1 ve 3’te yüksek miktarlarda MC varlığı tespit edilmiştir (sırasıyla 439,69 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık ve 539,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık). Düşük konsantrasyonlarda da olsa MC saptanan diğer suşlar ise *C. issatschenkoi* taksonuna ait Suş 9 ve 10’dur. Suş 9’da MC konsantrasyonu 0,30 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, Suş 10’da ise 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlıktır. Tespit edilen en düşük MC konsantrasyonu 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olup bu değer Suş 7’de saptanmıştır. Kültürü yapılan diğer beş suшта ise MC konsantrasyonları TLA’da belirlenmiştir. Diğer yandan kültür örneklerinin hiçbirinde ATX-a ve CYN varlığına rastlanmamıştır. ELISA STX verilerine göre ise STX; Suş 1’de 0,0004 $\mu\text{g g}^{-1}$ yaş ağırlık, Suş 2’de 0,0018 $\mu\text{g g}^{-1}$ yaş ağırlık, Suş 3’te ise 0,0013 $\mu\text{g g}^{-1}$ yaş ağırlık konsantrasyonlarında ölçülmüştür. Bu değerler oldukça düşüktür. Bahsi geçen bu üç suş dışındaki yedi suшта ise STX tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.16. Kültüre alınan suşların ELISA analizlerine göre mikrosistin, saksitoksin ve silindrospermopsin; RBA analizine göre anatoksin konsantrasyonları (*Kuru ağırlıkta tespit edilen mikrosistin miktarları)

Siyanobakteri kültürleri	Mikrosistin ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Anatoksin ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Saksitoksin ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Silindrospermopsin ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Suş 1 (<i>M. aeruginosa</i>)	439,69 *	TLA	0,0004	TLA
Suş 2 (<i>D. cf. sigmoideum</i>)	TLA	TLA	0,0018	TLA
Suş 3 (<i>M. aeruginosa</i>)	539,25 *	TLA	0,0013	TLA
Suş 4 (<i>D. cf. sigmoideum</i>)	TLA	TLA	TLA	TLA
Suş 5 (<i>L. planctonica</i>)	TLA	TLA	TLA	TLA
Suş 6 (<i>D. ellipsoides</i>)	TLA	TLA	TLA	TLA
Suş 7 (<i>L. planctonica</i>)	0,04 *	TLA	TLA	TLA
Suş 8 (<i>C. elenkinii</i>)	TLA	TLA	TLA	TLA
Suş 9 (<i>C. issatschenkoi</i>)	0,30 *	TLA	TLA	TLA
Suş 10 (<i>C. issatschenkoi</i>)	0,10 *	TLA	TLA	TLA

Örneklerde ELISA ile belirlenen yüksek toksin değerleri, gölde MC üreticilerinin varlığını göstermiştir. Diğer yandan çok düşük miktarlarda saptanan CYN, STX ve ATX-a konsantrasyonları, gölde bu toksinlere ait üreticilerin varlığını gösterebileceği gibi ELISA analizlerinde gözlenen yanlış-pozitif sonuçlara da işaret edebilmektedir. ELISA sonuçları, hataları en aza indirmek ve toksinlerin varlığından emin olmak için genetik analizlerle birlikte değerlendirilmiştir. Sonrasında genetik analizlerle de toksin genleri saptanan örneklerden bazıları LC-MS/MS'e gönderilmiştir.

4.4.2. LC-MS/MS analizleri

22.07.2015 tarihindeki Nokta 1 plankton çekimi örneğinde ve Aquameb 24 *M. aeruginosa* suşunda kalibrasyon standartları kullanılarak LC-MS/MS metodu ile toplam on dört MC varyantı ve NOD-R'nin tespiti hedeflenmiştir. Çizelge 4.17, LC-MS/MS metodu ile bu iki örnekteki hedeflenen MC varyantlarını ve bu varyantların örneklerdeki tespit edilen miktarlarını $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık cinsinden göstermektedir. MC-LA, [D-Leu¹]MC-LR ve NOD-R, hem kültür hem de plankton çekimi örneğinde saptanmamıştır. Aquameb 24 suşunda hedeflenmiş dokuz MC varyantı tespit edilmiştir. Dokuz varyant içinde MC-RR, -YR, -LR varyantları diğerlerine göre daha yüksek konsantrasyonlarda belirlenmiştir (sırasıyla 140 $\mu\text{g/g}$ kuru ağırlık, 140 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, 95 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık). Aquameb 24 suşunun izole edildiği nokta olan 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde de MC-LR, -RR, -YR varyantları diğer varyantlara göre daha yüksek konsantrasyonlarda saptanmış (sırasıyla 29 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, 25 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık, 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık) olup bu örnekte toplam on iki MC varyantı tespit edilmiştir. MC-LR, -RR, -YR varyantlarının her iki örnekte de toplam MC konsantrasyonuna en büyük katkıyı yaptığı belirlenmiştir. Bahsedilen varyantlar dışında hem plankton çekimi örneğinde hem de kültür örneğinde [D-Asp³]MC-RR, MC-HtyR, [D-Asp³]MC-LR, [Dha⁷]MC-LR, MC-HilR, MC-WR varyantları belirlenmiştir. MC-LY, -LW, -LF varyantları ise 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde düşük konsantrasyonlarda tespit edilirken Aquameb 24 kültür örneğinde bu varyantların mevcudiyetine rastlanmamıştır.

Çizelge 4.17. LC-MS/MS metodu ile hedeflenmiş mikrosistinlerin analiz sonuçları (Mikrosistin varyantlarının konsantrasyonları $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak verilmiştir)

22.07.2015 Nokta 1	[D-Asp ³] MC-RR	MC-RR	MC-YR	MC-HtyR	MC-LR	[D-Asp ³] MC-LR	[Dha ⁷] MC-LR
	0,34	25	15	1,0	29	0,81	0,96
	MC-HilR	MC-WR	MC-LA	MC-LY	MC-LW	MC-LF	[D-Leu ¹] MC-LR
	0,69	1,6	TLA	0,13	0,24	0,14	TLA
Aquameb 24	[D-Asp ³] MC-RR	MC-RR	MC-YR	MC-HtyR	MC-LR	[D-Asp ³] MC-LR	[Dha ⁷] MC-LR
	7,2	140	140	0,7	95	6,7	1,8
	MC-HilR	MC-WR	MC-LA	MC-LY	MC-LW	MC-LF	[D-Leu ¹] MC-LR
	21	19	TLA	TLA	TLA	TLA	TLA

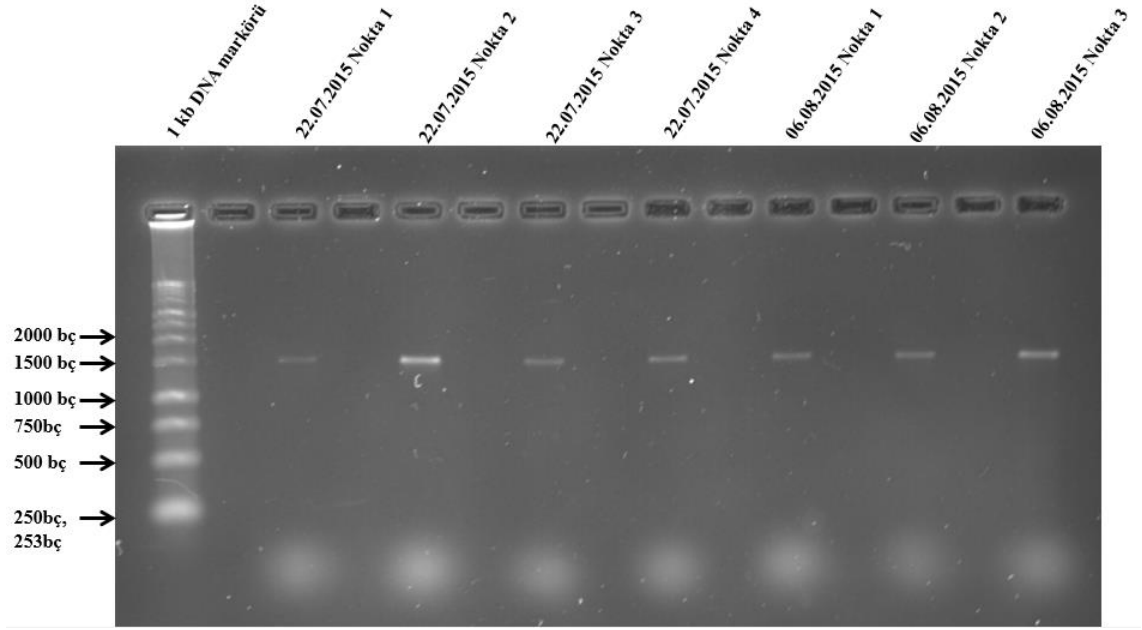
Analiz edilen örneklerde standartlar kullanılarak doğrulanmış [D-Asp³]MC-RR, [D-Asp³]MC-LR, [Dha⁷]MC-LR varyantları ile çoklu desmetillenmiş MC (dmMC) varyantları belirlenmiştir. Aquameb 24 örneğinde ayrıca dmMC-RR (0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık), dmMC-LR (0,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık) denilen varsayılan tanımlanmamış dmMC'ler gözlenmiştir. Tespit edilmiş varsayılan tanımlanmamış dmMC varyantlarının daha gelişmiş LC-HRMS metodları ile de doğrulanması gerekmektedir.

LC-MS/MS analizi ile Aquameb 24 *M. aeruginosa* kültüründe tespit edilen MC'lerin konsantrasyonu toplam 430 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. Hedeflenen varyantlar, ELISA analizi ile *M. aeruginosa* Aquameb 24 kültüründe tespit edilen toplam MC'lerin % 98'ini oluşturmuştur. 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde ELISA analizi ile belirlenen toplam MC konsantrasyonunun % 75'inden sorumlu olan hedeflenmiş MC varyantlarının toplamı, LC-MS/MS analizi sonucu 75 $\mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık olarak saptanmıştır.

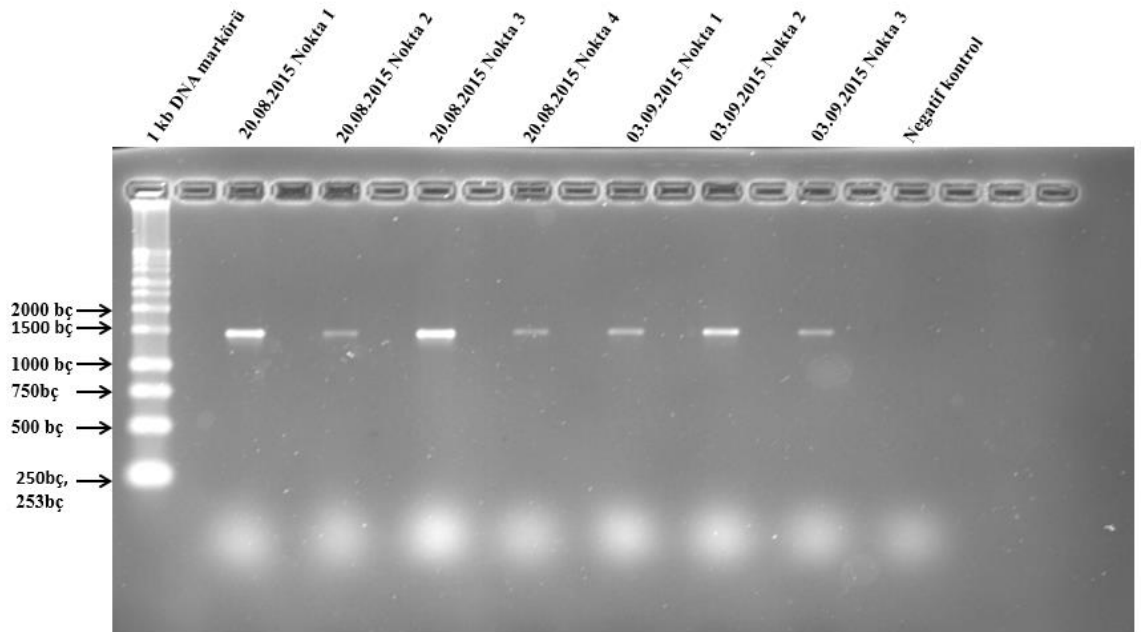
4.5. Genetik ve Filogenetik Analizler

4.5.1. 16S rRNA ve toksin genlerinin belirlenmesi

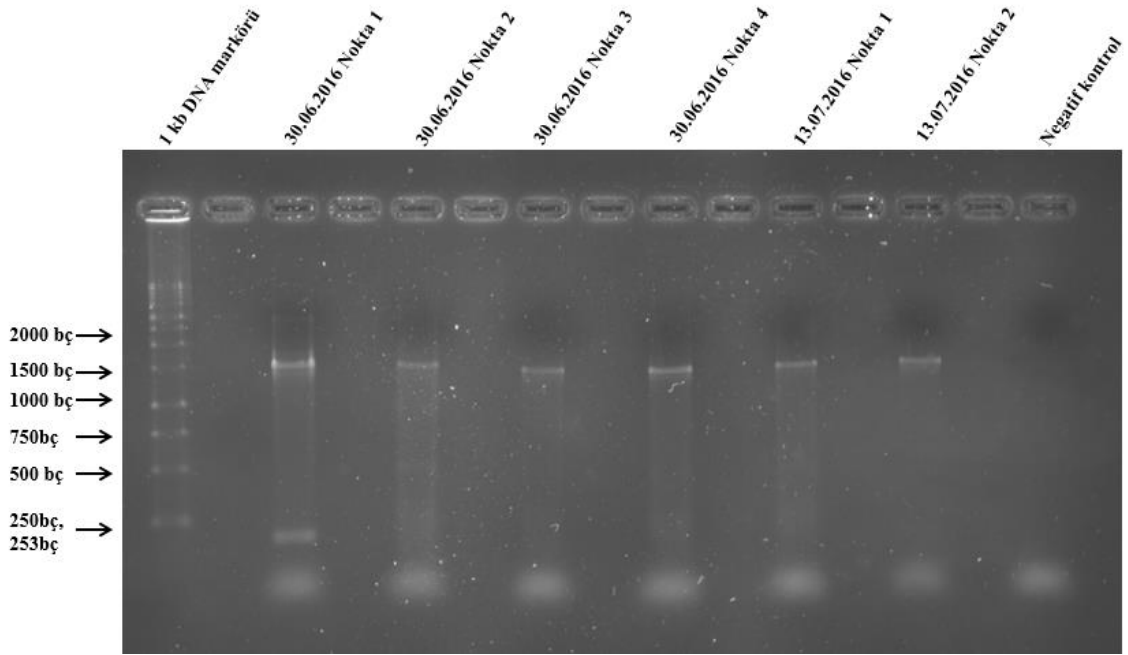
2015-2016 yıllarına ait plankton çekimi ve su kolonu örneklerinde gerçekleştirilen toksin analizleri sonucu Uluabat Gölü'nde MC varlığı tespit edilmiştir. Diğer toksinler ise örneklerde ya tespit edilmemiş ya da çok düşük konsantrasyonlarda saptanmıştır. Hassas bir yöntem olan PCR, toksin mevcudiyeti çok düşük olduğu için toksin tespit edilemeyen örneklerde gözden kaçabilecek durumları tespit etmede kullanılmıştır. Diğer yandan yapılan PCR'lar, düşük (tespit alt limitine yakın) ve yüksek konsantrasyonlarda toksin saptanan örnekler için ikinci bir analiz niteliğinde yapılmıştır. PCR'lar, örneklerde toksin genlerinin hızlıca taranması ve ELISA gibi analiz sonuçlarının doğrulanması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Plankton çekimi örneklerinde su kolonu örneklerine göre yüksek miktarlarda MC saptandığı için PCR ile toksin genlerinin taraması sadece plankton çekimi örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2015 yılına ait 23, 2016 yılına ait 24 plankton çekimi örneğinin, toplam genomik DNA'ları izole edilmiştir. Nükleik asitlerin amplifikasyonu, organik veya inorganik pek çok madde mevcudiyetinde inhibe edilebildiği (Wilson 1997) için örneklerden izole edilen genomik DNA'larda, PCR inhibitörlerinin varlığı veya yokluğunu test etmek amacıyla PCR ile 16S rRNA geni belirlenmiştir. Şekil 4.10-4.13'te, 2015 ve 2016 yıllarının bazı arazi tarihlerinde farklı örnekleme noktalarından alınmış plankton çekimi örneklerinde saptanmış 16S rRNA gen fragmentlerinin agaroz jeldeki görüntüsü verilmiştir.



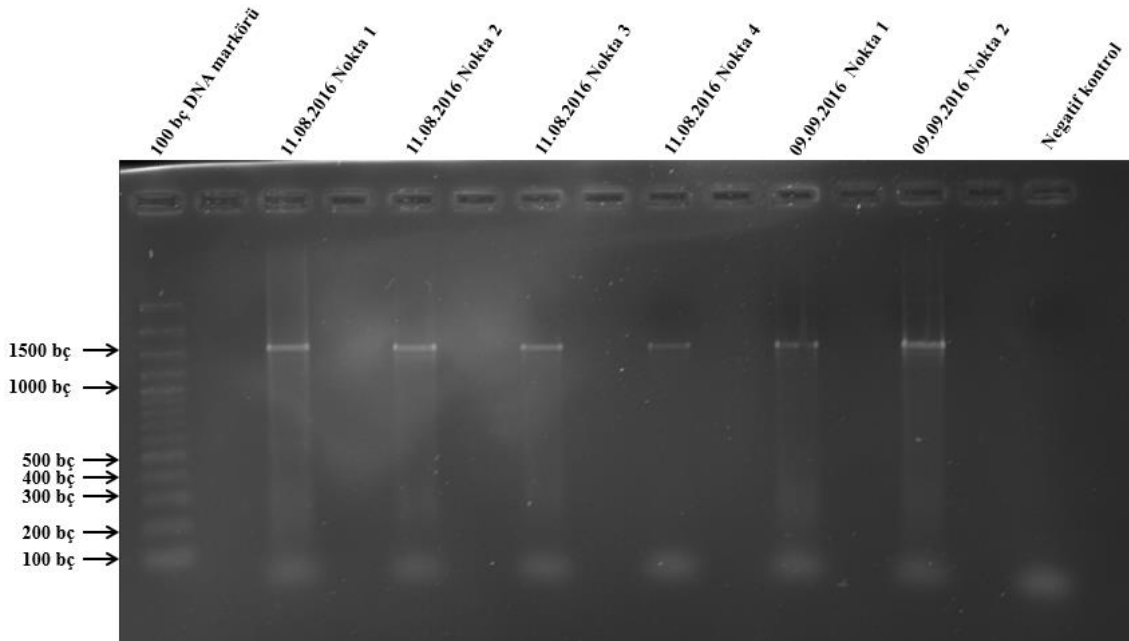
Şekil 4.10. 2015 yılının Temmuz ve Ağustos aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 1 kb DNA markörü kullanılmıştır. bç, baz çifti)



Şekil 4.11. 2015 yılının Ağustos ve Eylül aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 1 kb DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)



Şekil 4.12. 2016 yılının Haziran ve Temmuz aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 1 kb DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)



Şekil 4.13. 2016 yılının Ağustos ve Eylül aylarına ait plankton çekimi örneklerinde PCR ile amplifiye edilmiş 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA genlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

Örneklerde amplifiye edilen 16S rRNA gen bölgesi yaklaşık 1500 bp uzunluğundadır. 2015 yılına ait örneklerin tamamında (Çizelge 4.18), 2016 yılına ait örneklerin ise ikisi hariç yirmi iki tanesinde (Çizelge 4.19) 16S rRNA gen bölgesi saptanmıştır. 16S rRNA gen bölgesinin mevcudiyeti, o noktadaki siyanobakteri varlığını göstermekte ve PCR'ı engelleyecek miktarda inhibitör olmadığını işaret etmektedir. Diğer yandan 16.06.2016 tarihinde Nokta 3 ve 4'te bu genin saptanmaması, bu iki örnekte PCR inhibitörlerinin olduğunu düşündürmüştür.

Çizelge 4.18. 2015 yılına ait plankton çekimi örneklerinde 16S rRNA, *mcyA*, *cyrC*, *sxtA* ve *anaC* genlerinin taranması

Arazi tarihi	Nokta	16S geni	rRNA	<i>mcyA</i> geni	<i>sxtA</i> geni	<i>cyrC</i> geni	<i>anaC</i> geni
23.06.2015	1		+	+	-	-	-
	2		+	+	-	-	-
	4		+	+	-	-	-
10.07.2015	1		+	-	-	-	-
	2		+	+	-	-	-
	3		+	-	-	-	-
	4		+	-	-	-	-
22.07.2015	1		+	+	-	-	-
	2		+	+	-	-	-
	3		+	+	-	-	-
	4		+	+	-	-	-
06.08.2015	1		+	+	-	-	-
	2		+	+	-	-	-
	3		+	+	-	-	-
	4		+	+	-	-	-
20.08.2015	1		+	-	-	-	-
	2		+	+	-	-	-
	3		+	+	-	-	-
	4		+	+	-	-	-
03.09.2015	1		+	+	-	-	-
	2		+	+	-	-	-
	3		+	+	-	-	-
	4		+	+	-	-	-

2015-2016 yıllarına ait plankton çekimi örneklerinde 16S rRNA gen bölgesinden başka PCR ile *mcyA*, *sxtA*, *cyrC* ve *anaC* gen bölgelerinin varlığı veya yokluğu belirlenmiştir (Çizelge 4.18 ve 4.19). MC sentezinden sorumlu *mcyA* geni 2015 yılında on dokuz, 2016 yılında yirmi plankton çekimi örneğinde tespit edilmiştir. 2015 yılındaki bazı plankton

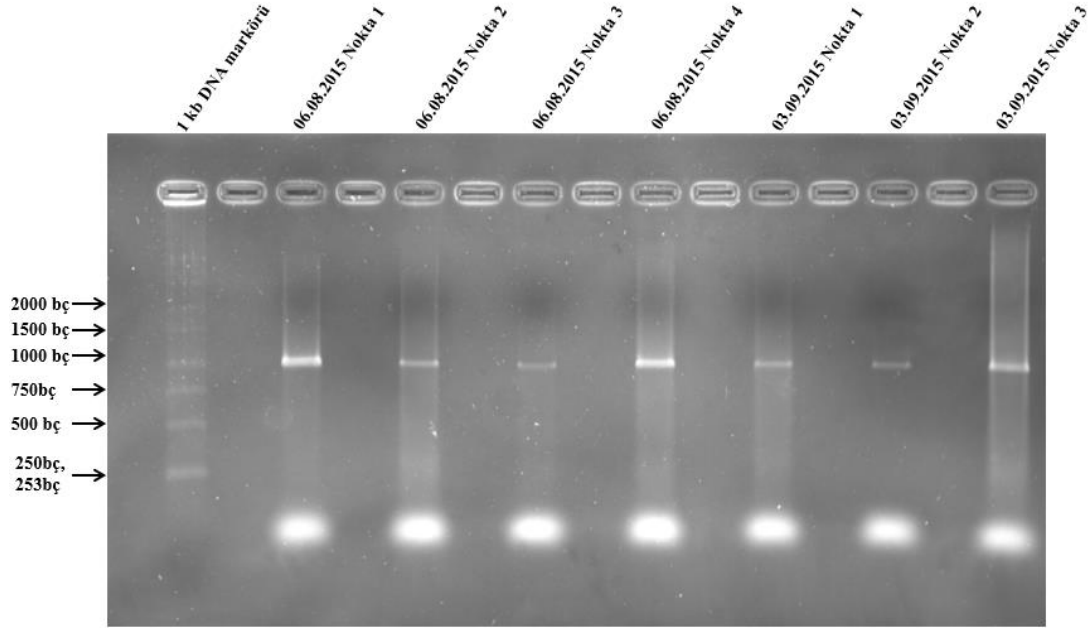
çekimi örneklerine ait amplifiye edilen *mcyA* geninin agaroz jeldeki görünümü Şekil 4.14 ve 4.15'te verilmiştir. Diğer yandan hiçbir örnekte ATX-a, CYN ve STX genleri belirlenmemiştir.

Çizelge 4.19. 2016 yılına ait plankton çekimi örneklerinde 16S rRNA, *mcyA*, *cyrC*, *sxtA* ve *anaC* genlerinin taranması

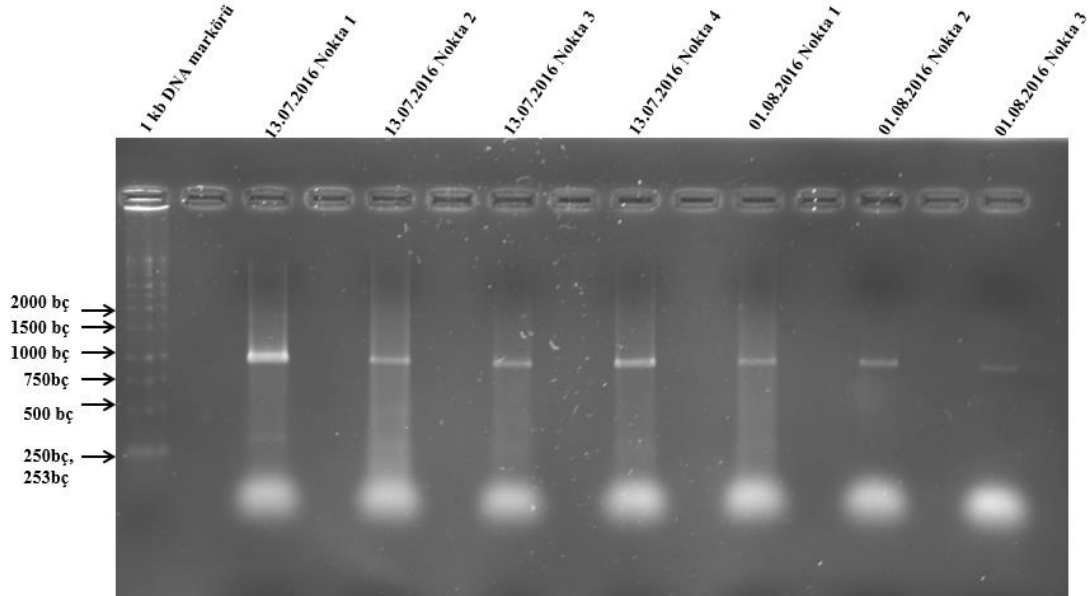
Arazi tarihi	Nokta	16S rRNA geni	<i>mcyA</i> geni	<i>sxtA</i> geni	<i>cyrC</i> geni	<i>anaC</i> geni
16.06.2016	1	+	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
30.06.2016	1	+	-	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
13.07.2016	1	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
01.08.2016	1	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
11.08.2016	1	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
09.09.2016	1	+	+	-	-	-
	2	+	+	-	-	-
	3	+	+	-	-	-
	4	+	+	-	-	-

Yapılan tez çalışması kapsamında, 2015 yılında toplanan plankton çekimi örneklerinden on dört tanesinde, MC sentezinden sorumlu bir diğer gen bölgesi olan *mcyE* geninin varlığı veya yokluğu araştırılmıştır. *McyE* gen bölgesinin amplifiye edilmesi için hem genel primerler hem de *Microcystis*, *Planktothrix* ve *Anabaena/Dolichospermum* taksonlarına özgü primerler kullanılmıştır. *McyE* gen bölgesine özgü genel primerler ile yapılan PCR sonuçlarında, on dört örneğin on biri *mcyE* geni için pozitif sonuç vermiştir. *Microcystis*'e özgü primerler ile yapılan PCR sonuçlarına göre ise on üç örnekte *mcyE* gen bölgesi saptanmıştır. 22.07.2015 tarihli Nokta 1 ve 20.08.2015 tarihli Nokta 2 örneklerinde, *mcyE* geninin saptanması için genel primerlere göre *Microcystis*'e özgü primerler daha iyi sonuç vermiştir. Diğer yandan *Planktothrix*'e ve *Anabaena/Dolichospermum*'a özgü primer çiftleri ile yapılan PCR analizlerinin

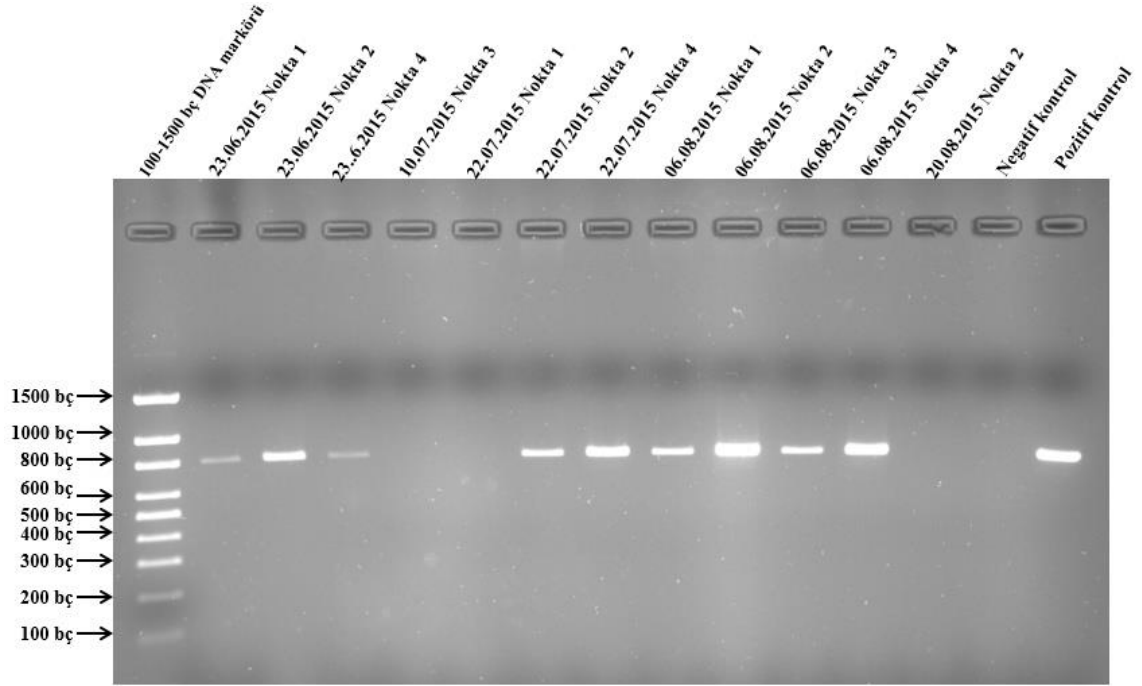
hiçbirinde, *mcyE* genine ait ampliconlar tespit edilmemiştir (Çizelge 4.20). Şekil 4.16 ve 4.17’de on dört plankton çekimi örneğinde genel ve *Microcystis*’e özgü primerlerle elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüleri verilmiştir.



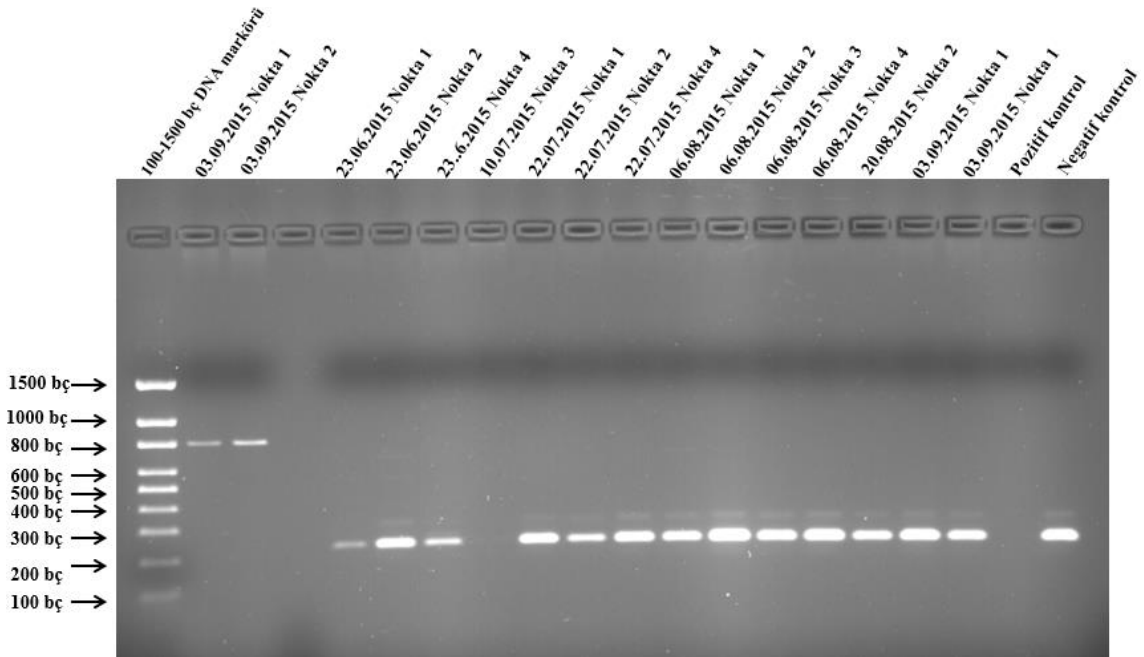
Şekil 4.14. 2015 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde PCR sonucu elde edilen *mcyA* geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 1 kb DNA markörü kullanılmıştır. bç, baz çifti)



Şekil 4.15. 2016 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde PCR sonucu elde edilen *mcyA* geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 1 kb DNA markörü kullanılmıştır. bç, baz çifti)



Şekil 4.16. 2015 yılına ait 14 plankton çekimi örneğinde *mcyE* gen bölgesine özgü genel primerler ile elde edilen amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100-1500 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

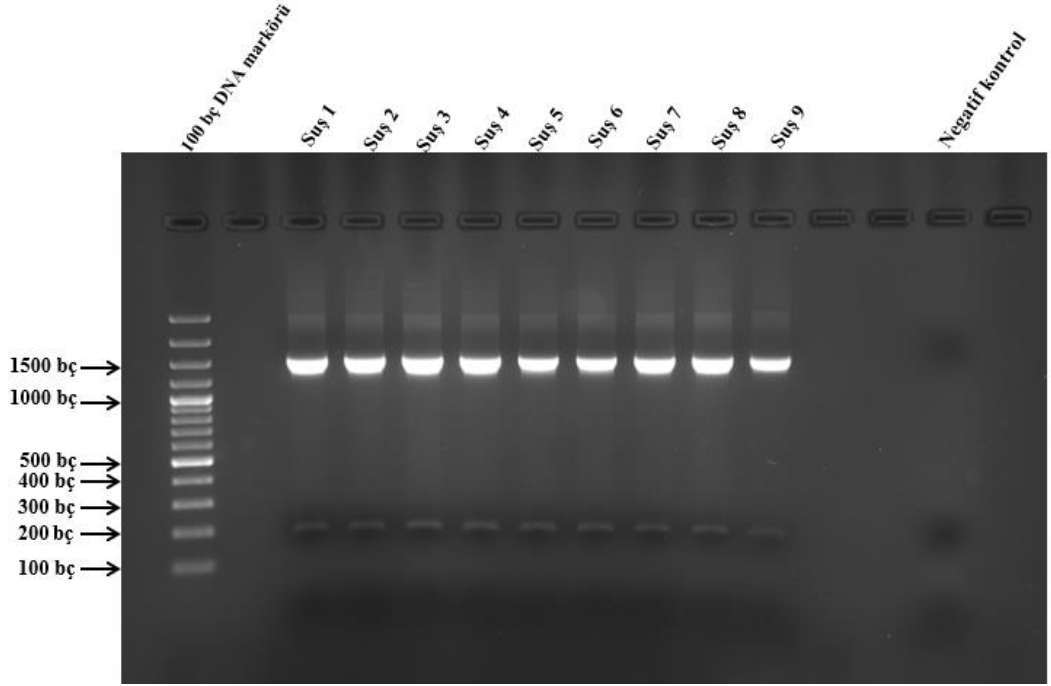


Şekil 4.17. 2015 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde *mcyE* geni amplifikasyon sonuçları (Amplifiye edilmiş 800 bç'lik ürünler genel primerler ile 250 bç'lik ürünler *Microcystis*'e özgü primerler ile yapılan PCR sonuçlarına aittir. PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100-1500 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

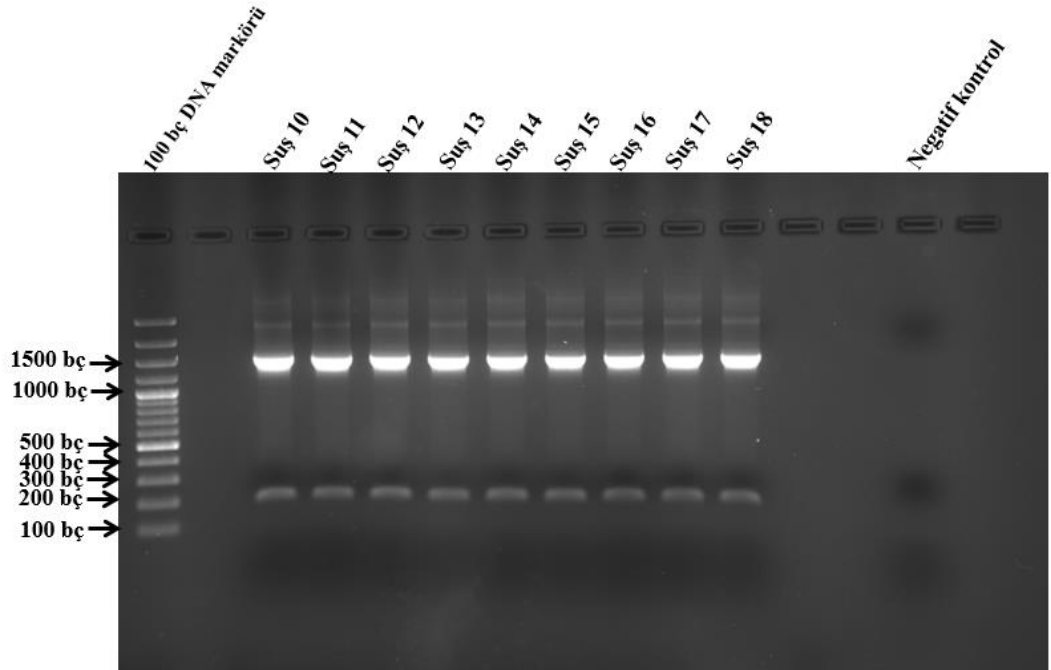
Çizelge 4.20. Genel ve cinse özgü primerler ile 2015 yılına ait bazı plankton çekimi örneklerinde *mcyE* gen bölgesinin taranması

Arazi Tarihi	Nokta	<i>mcyE</i>	<i>mcyE</i> - <i>Microcystis</i>	<i>mcyE</i> - <i>Planktothrix</i>	<i>mcyE</i> - <i>Anabaena/Dolichospermum</i>
23.06.2015	N1	+	+	-	-
	N2	+	+	-	-
	N4	+	+	-	-
10.07.2015	N3	-	-	-	-
22.07.2015	N1	-	+	-	-
	N2	+	+	-	-
	N4	+	+	-	-
06.08.2015	N1	+	+	-	-
	N2	+	+	-	-
	N3	+	+	-	-
	N4	+	+	-	-
20.08.2015	N2	-	+	-	-
03.09.2015	N1	+	+	-	-
	N2	+	+	-	-

Plankton çekimi örneklerinden başka, Uluabat Gölü'nden izole edilen on sekiz suşta da PCR ile öncelikle 16S rRNA gen bölgelerinin varlığı tespit edilmiş, sonrasında ise bu suşlardaki toksin genlerine ait bölgelerin taraması yapılmıştır (Çizelge 4.21). Suşların tamamında 16S rRNA gen bölgesinin varlığını gösteren 1470 bp'lik gen parçaları agaroz jelde görüntülenmiştir (Şekil 4.18 ve 4.19). Böylelikle hem yapılan PCR'ların inhibisyon olmadan çalıştığı, hem de izole edilen suşların siyanobakteri olduğu doğrulanmıştır. Proje bütçesi dahilinde, farklı suşlara ait 16S rRNA genine ait bantların bazıları agaroz jelden ekstrakte edilip saflaştırılmış ve moleküler karakterizasyon için dizilemeye gönderilmiştir. Diğer taraftan on sekiz suşta yedi farklı primer çifti ile yedi farklı toksin geninin PCR ile varlığı veya yokluğu araştırılmıştır. İzole edilen suşların hiçbirinde; STX sentezinde rol alan *sxtA* veya *sxtG* geni, CYN sentezinde rol alan *cyrC* veya *cyrB* geni ve ATX üretiminde görevli *anaC* geni tespit edilmemiştir (Çizelge 4.21).



Şekil 4.18. İzole edilen suşların 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA gen parçalarının agaroz jeldeki görüntüsü (Suş 1-9) (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

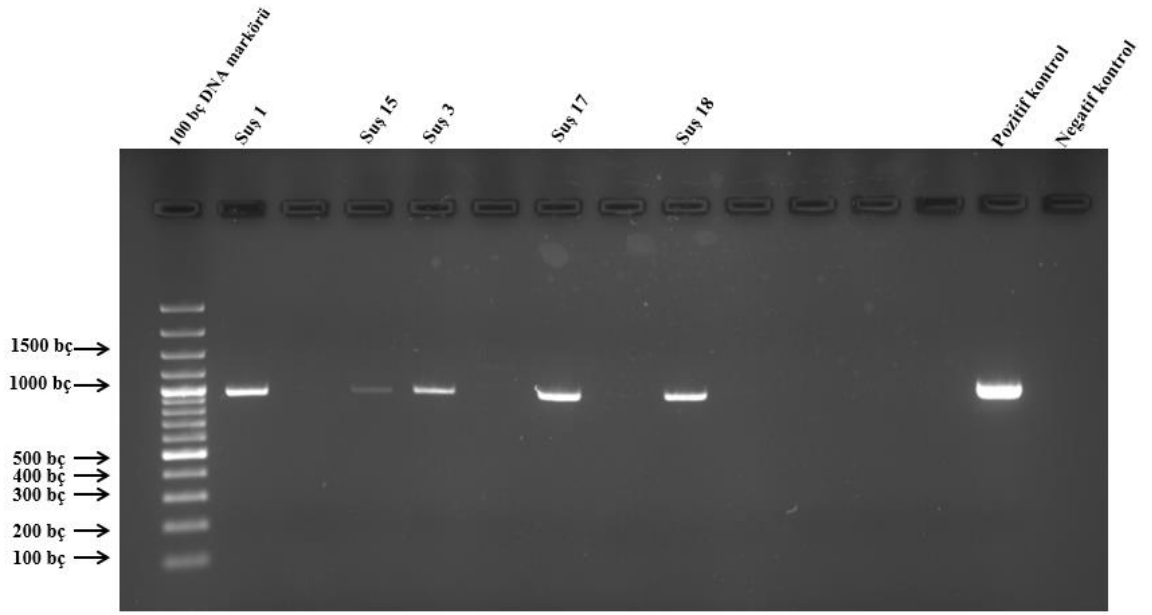


Şekil 4.19. İzole edilen suşların 1470 bç uzunluğundaki 16S rRNA gen parçalarının agaroz jeldeki görüntüsü (Suş 10-18) (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

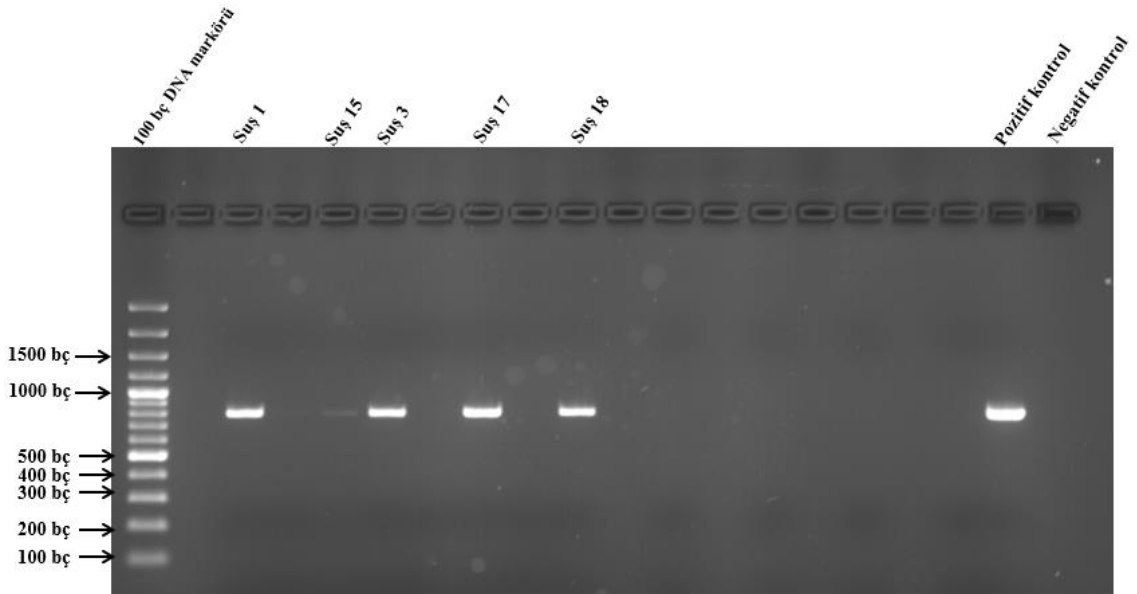
Çizelge 4.21. İzole edilen suşlarda PCR ile belirlenen 16S rRNA, mikrosistin, saksitoksin, silindrospermopsin ve anatoksin genleri

İzole edilen Suş	16S rRNA	<i>McyA</i>	<i>McyB</i>	<i>SxtA</i>	<i>SxtG</i>	<i>CyrC</i>	<i>CyrB</i>	<i>AnaC</i>
Suş 1	+	+	+	-	-	-	-	-
Suş 2	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 3	+	+	+	-	-	-	-	-
Suş 4	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 5	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 6	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 7	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 8	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 9	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 10	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 11	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 12	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 13	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 14	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 15	+	+	+	-	-	-	-	-
Suş 16	+	-	-	-	-	-	-	-
Suş 17	+	+	+	-	-	-	-	-
Suş 18	+	+	+	-	-	-	-	-

MC sentezinde sorumlu genlerden *mcyA* ve *mcyB* genleri ise izole edilen suşların beşinde PCR sonucu saptanmıştır. MC genlerine sahip olan suşlardan üçü (Suş 1, 3 ve 15) *M. aeruginosa* taksonuna ait iken diğer ikisi *A. grevillei* ve *M. smithii* taksonlarına aittir (sırasıyla Suş 17 ve 18). PCR sonucu MC genlerini taşıyan suşlara ait agaroz jel görüntüleri Şekil 4.20 ve 4.21’de verilmiştir. *McyA* genini taşıyan suşun aynı zamanda *mcyB* genini de taşıdığı belirlenmiştir. Suş 1’e ait *mcyA* geni, agaroz jelden izole edilip saflaştırılmış ve dizilemeye gönderilmiştir.



Şekil 4.20. İzole edilen suşların bazılarında PCR sonucu elde edilen *mcyA* geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

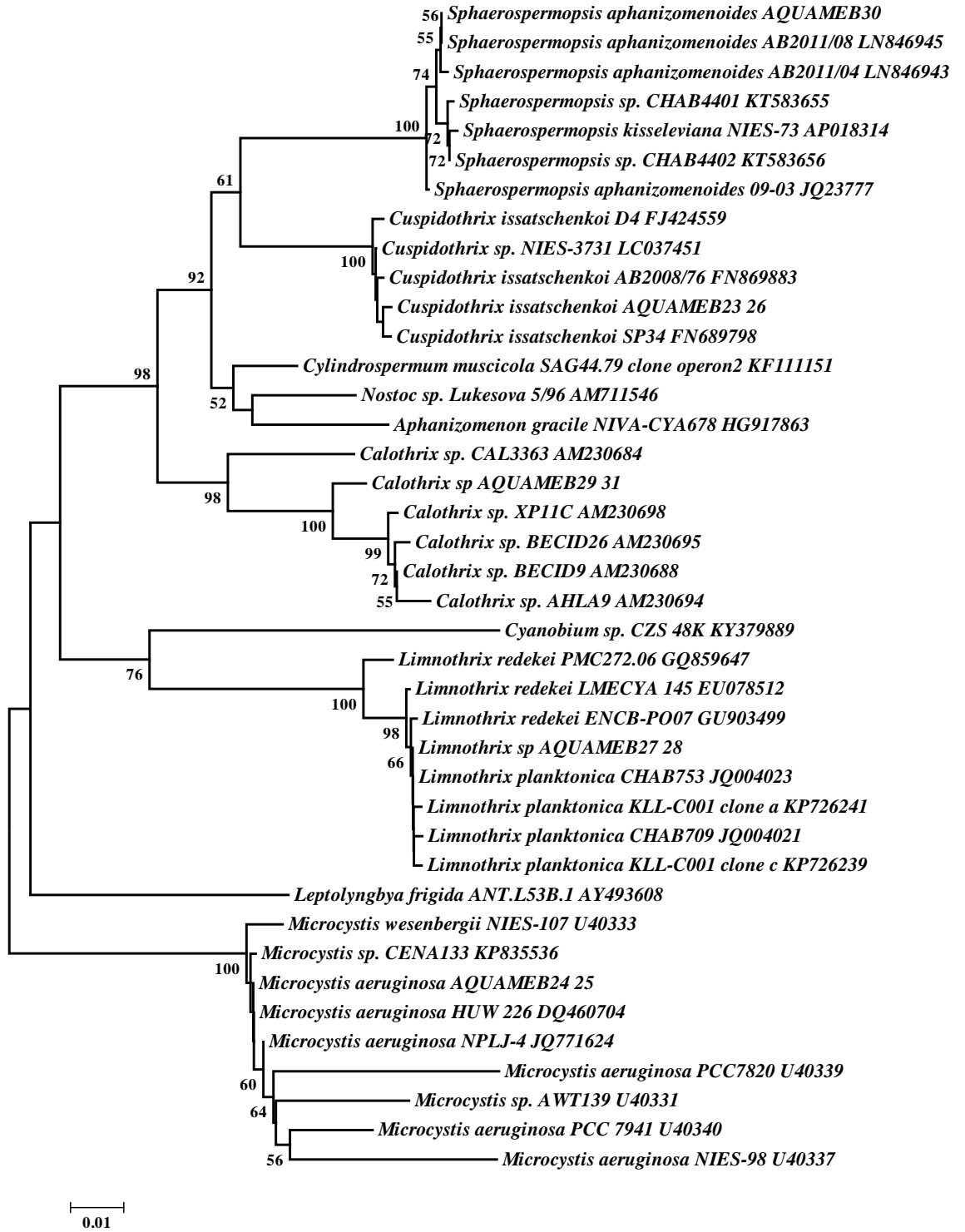


Şekil 4.21. İzole edilen suşların bazılarında PCR sonucu elde edilen *mcyB* geni amplifikasyon ürünlerinin agaroz jeldeki görüntüsü (PCR ürünlerinin boyutlarını belirlemek için 100 bç DNA markörü, negatif kontrol için ultra saf su kullanılmıştır. bç, baz çifti)

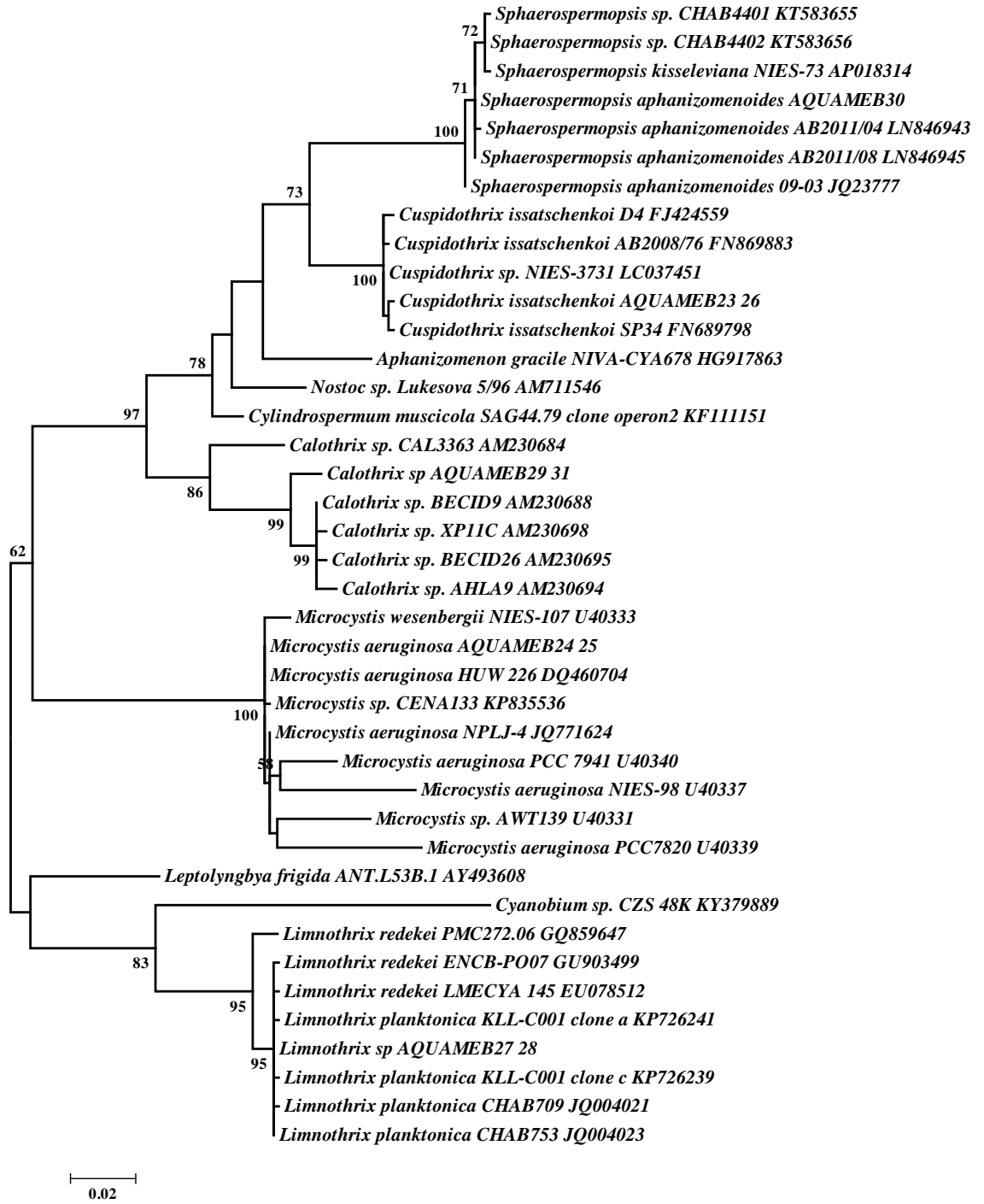
4.5.2. İzole edilen suşların 16S rRNA genine dayalı filogenetik analizleri

Uluabat Gölü'nden izole edilen dokuz siyanobakteri suşunun 16S rRNA genine dayalı filogenetik ağaçları aşağıda gösterilmektedir (Şekil 4.22 ve 4.23). Şekil 4.22'de, filogenetik ilişkiler NJ yöntemi (Saitou ve Nei 1987) ile hesaplanmıştır (Tamura ve ark. 2004). Şekil 4.23'de ise izole edilen siyanobakteri suşlarının 16S rRNA genine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç, ML yöntemi ile Kimura 2-parametre modeli kullanılarak belirlenmiştir (Kimura 1980). NJ ve ML yöntemleri ile oluşturulan ağaçlar, birbirine benzer sonuçlar vermiştir. Filogenetik analizler ile izole edilen suşların 16S rRNA gen dizileri dünyadaki diğer türlerin dizileri ile karşılaştırılmıştır.

Uluabat Gölü'nden izole edilen Aquameb 24 ve 25 suşlarının dizileri birbirine % 100 benzerlik göstermiştir. 16S rRNA gen dizi analizlerine göre bu iki suşun dizileri, dünyadaki diğer *M. aeruginosa* suşlarıyla % 95-100 oranlarında nükleotid benzerliği göstererek beraber gruplanmıştır. Aquameb 27 ve 28 suşları ise *L. planctonica* ve *L. redekei* taksonlarıyla benzerlik göstererek beraber gruplanmıştır (sırasıyla % 99-100, % 99 benzerlik). Aynı şekilde Aquameb 30 (*S. aphanizomenoides*), Aquameb 23 ve 26 (*C. issatschenkoï*) suşları da % 99 ile % 100 benzerlik oranıyla filogenetik ağaçta dünyadaki benzer türlerle birlikte gruplanmıştır. Aquameb 29 ve 31 suşları ise *Calothrix* sp. taksonlarıyla birlikte kümelenemiştir. Her iki suş da *Calothrix* sp. taksonlarına % 95-100 benzerlik göstermiştir. Gen bankasında *Calothrix* cinslerine ait gen bilgileri kısıtlı olduğu için 16S rRNA filogenetik ağacına dayalı olarak *Calothrix* suşlarında tür ayırımına gidilememiştir. Aquameb 27 ve 28 suşları da filogenetik ağaçlarda *L. redekei* ve *L. planctonica* taksonlarıyla birlikte gruplandığı için bu suşlarda da 16S rRNA genine dayalı tür ayırımına gidilememiş, Aquameb 27 ve 28 suşları genetik olarak *Limnothrix* sp. olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.22. İzole edilen suşların neighbor-joining yöntemi ile oluşturulan 16S rRNA genine dayalı filogenetik ağacı



Şekil 4.23. İzole edilen suşların maximum likelihood yöntemi ile oluşturulan 16S rRNA genine dayalı filogenetik ağacı

4.5.3. Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden klonlanan *mcyA* dizilerinin filogenetik analizleri

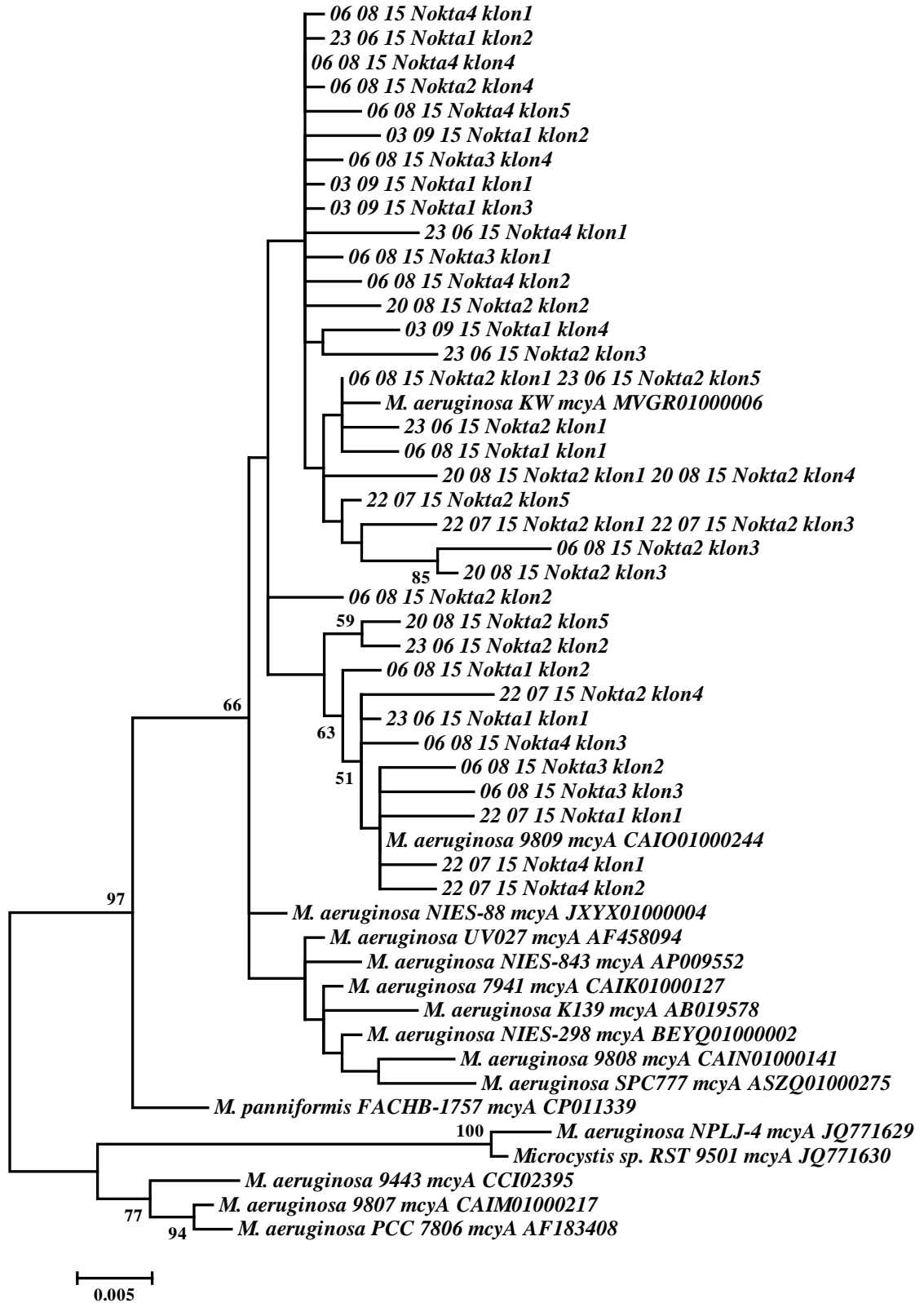
Uluabat Gölü'ndeki potansiyel MC üreticilerini saptamak için on üç plankton çekimi örneğinden kırk bir *mcyA* klonu dizilenmiştir. Nokta 2'ye ait 22.07.2015 ve 03.09.2015 tarihli örneklerden elde edilen iki dizi, dizilerinin son kısımlarına yakın bir yerde 11 bç'lik insersiyona (ACAGTAGCGAC) sahip olduğu için filogenetik ağaca katılmamıştır. Bu insersiyonun, bir nonfonksiyonel *mcyA* epimerizasyon domainine neden olabilen bir çerçeve kayması mutasyonuna neden olduğu düşünülmektedir. İnsersiyon baz dizisi dikkate alınmazsa bu iki örneğe ait klon dizisinin geri kalan kısımları, klonlanan diğer dizilere % 97,5 - % 99,5 arasında benzerlik göstermiştir. Bu iki diziye ilaveten 23.06.2015 Nokta 2'den klonlanan bir dizinin ise G-A süstitüsüyonu nedeniyle, dizinin başına yakın bir yerde erken bir stop (durdurma) kodonuna sahip olduğu gözlenmiştir. Bu klonun nükleotid dizisi, diğer klon dizilerine % 98'in üzerinde benzerlik göstermiştir. Sonuçta bu üç dizi fonksiyonel olmayan proteinleri kodlayabilecekleri için filogenetik analizlere dahil edilmemiştir. Filogenetik ağaçlarda kullanılan otuz sekiz *mcyA* klon dizisi; en yüksek % 99,9, en düşük % 97,3 oranında nükleotid benzerliği göstermiştir. Ortalama nükleotid benzerliği ise % 98,8 olarak saptanmıştır.

Hizalama, plankton çekimlerinden elde edilen klon dizileri ve on altı *Microcystis mcyA* dizisi kullanılarak yapılmıştır. BLAST sonuçlarına göre, *Microcystis* dışındaki diğer taksonlar, klon dizilerine *Microcystis* taksonlarına ait *mcyA* dizilerine göre daha az benzerlik gösterdiği için hizalamaya katılmamıştır. Diğer yandan otuz sekiz klon dizisi, *Microcystis* taksonlarına ait *mcyA* dizilerine % 95,3'in üzerinde nükleotid benzerliği göstermiştir. Klon ve *Microcystis mcyA* dizileri, ortalama % 98,3 nükleotid benzerliği göstermiştir. Bu diziler arasında ikili (pairwise) nükleotid benzerliği ise % 95,3 ile % 99,9 arasında değişmiştir.

Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden elde edilen *mcyA* klonu dizilerinin filogenetik ağaçları NJ (Şekil 4.24) ve ML (Şekil 4.25) yöntemleri ile oluşturulmuştur.



Şekil 4.24. Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden elde edilen *mcyA* klonu dizilerinin, *Microcystis* taksonlarına ait *mcyA* dizileriyle filogenetik ilişkilerini gösteren NJ ağacı



Şekil 4.25. Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinden elde edilen *mcyA* klonu dizilerinin, *Microcystis* taksonlarına ait *mcyA* dizileriyle filogenetik ilişkilerini gösteren ML ağacı

ML ve NJ yöntemlerine göre oluşturulan filogenetik ağaçlar birbiriyle uyumlu sonuçlar vermiştir. Uluabat Gölü'nden elde edilen tüm *mcyA* klon dizileri, on bir *Microcystis mcyA* epimerizasyon-domaini nükleotid dizileri ile birlikte kümelenmiştir. Kümelenmeye bakıldığında yüksek bootstrap desteği görülmüştür (Şekil 4.25). Bu küme içindeki dallanma sırası, düşük bootstrap desteğinden dolayı dikkate alınmamıştır. On bir *Microcystis mcyA* dizisine % 97,9'dan daha az benzerliğe sahip olan diğer beş *Microcystis mcyA* nükleotid dizisi ise ortadan yükseğe kadar değişen bootstrap desteği ile bu gruptan ayrılmıştır.

Diğer yandan Uluabat Gölü'nden izole edilen *M. aeruginosa* Aquameb 24 izolatına ait dizilenebilen *mcyA* nükleotid dizisi, plankton çekimi örneklerinden klonlanan *mcyA* dizilerine göre yaklaşık 150 bp daha kısa olduğu için filogenetik analizlere katılmamıştır. Diğer yandan *M. aeruginosa* Aquameb 24 *mcyA* dizisi, diğer dizilerle birlikte analiz edildiğinde, hem NJ hem de ML filogenetik ağaçlarında klon dizilerinin geri kalanıyla kümelenme gösterdikleri saptanmıştır. Aquameb 24 izolatına ait *mcyA* dizisinin *mcyA* klon dizilerine ikili benzerliği % 96,7 ile % 100 arasında değişim gösterirken ortalama nükleotid benzerliği % 98,7 olarak belirlenmiştir. Klon ve *Microcystis mcyA* dizilerinin ortalama nükleotid benzerliği ise % 97,5 olarak saptanmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğal ve antropojenik kaynaklı sera gazlarının salınımı, özellikle sanayi devriminden sonra atmosferde her geçen gün giderek artmaktadır. Atmosferik sera gazı konsantrasyonlarının yükselmesi, 1880 yılından bu yana ortalama küresel sıcaklıkta yaklaşık 0,8 °C'lik bir artışa neden olmuştur. Küresel ısınma son kırk yıl boyunca, her on yılda yaklaşık 0,15-0,20 °C oranında artarak hızlanmıştır (Stocker ve ark. 2013, Scholz ve ark. 2017). Günümüzde küresel ısınma, iklim değişimi, kentsel, tarımsal ve endüstriyel gelişmeler; suların sıcaklığında (özellikle de yüzey sularının), su seviyelerinde, trofik seviyede, atmosferik CO₂ seviyesinde ve suların asidifikasyonunda artışa neden olmaktadır. Bunlara ilaveten sulara aşırı nütrient girdisi, özellikle içsulara vertikal tabakalaşmanın artması ve tabakalaşma süresinin uzaması, rüzgar hareketlerinin azalması, yaz süresinin uzaması, suyun viskozitesinin azalması, sucul çevrelerde tuzluluğun artması gibi faktörler su kaynaklarında primer üretimi ve ötrofikasyonu hızlandırmaktadır (Hutchinson 1957, Heisler ve ark. 2008, Paerl ve Huisman 2009, Merel ve ark. 2013). Diğer yandan siyanobakteriler, dünyada yaklaşık 3,5 milyar yıl önce ortaya çıkan (Tomitani ve ark. 2006) ve atmosferik oksijenin üretilmesinde önemli bir yere sahip olan, kutuplar gibi çok soğuk ortamlardan çöl gibi çok sıcak ortamlara kadar çok farklı habitatlara adapte olup yaşayabilen canlı grubudur (Pinckney ve Paerl 1998, Potts ve Whitton 2000, Stomp ve ark. 2007). Siyanobakteriler; buyoyansı (Walsby 1975, Walsby ve ark. 1997), atmosferik azotu fikse edebilme (Paerl 1990, Karl ve ark. 2002), fotoinhibisyondan koruyan pigmentlere sahip olma ve yüksek ışık yoğunluklarında yaşama (Paerl ve ark. 1983, Mur ve ark. 1999) gibi olağanüstü ekofizyolojik adaptasyonlara sahiptirler (Huisman ve ark. 2005, Paerl ve Fulton 2006). Dolayısıyla küresel iklim değişimi ve ötrofikasyonun etkilerine bağlı olarak sularda oluşan ortam koşulları karşısında siyanobakteriler, diğer fitoplanktonik organizmalara göre avantajlara sahip oldukları için bu koşullar, daha çok siyanobakterilerin gelişmesini teşvik edici nitelik sergilemektedir.

Siyanobakterilerin aşırı çoğalması, sularda tat ve koku problemlerine (Falconer 1999), geceleri oksijenin aşırı tüketimiyle balık ölümlerine (Izaguirre ve Taylor 2004, Uwins ve ark. 2007), suların bulanık hale gelmesine (Scheffer 1998) neden olabilmektedir. Bunun

yanında bu organizmalar, ürettikleri siyanotoksinler ile diğer organizmalar ve tatlı su ekosistemleri üzerinde zararlı etkilere sebep olabilmektedir (Codd 1995, Carmichael 2001, Chorus 2001). İçme suyu, balıkçılık, tarımsal faaliyet veya rekreasyonel amaçlarla kullanılan suların siyanobakterilerle kontamine olması ve bu sularla doğrudan veya dolaylı olarak çeşitli şekillerde etkileşim sonucu pek çok hayvanın veya insanın sağlığı etkilenmektedir (Carmichael 2001, Cox ve ark. 2003, Huisman ve ark. 2005, Koreiviene ve Belous 2012, Merel ve ark. 2013). Siyanotoksinler, dünyanın çeşitli bölgelerinde hayvan ve insan zehirlenmesi ve ölümlerine neden olduğu için (Pouria ve ark. 1998, Kuiper-Goodman ve ark. 1999, Briand ve ark. 2003, Griffiths ve Saker 2003) son yirmi yılda çalışmalar, bu organizmaların ürettiği zararlı metabolitler üzerine odaklanmıştır. Siyanobakterilerin aşırı çoğalması ve siyanotoksinler, çevresel sağlığı ve halk sağlığını etkilediği için de her geçen gün araştırılmaları önem kazanmaktadır.

Antropojenik etkiler son yüzyılda dünya üzerinde pek çok tatlı su gölünde olduğu gibi Uluabat Gölü'nün ötrofikasyonunda da etkili olmuştur (Scholz ve ark. 2017, Dalkıran ve ark. 2006). Genellikle ötrofik tatlı sularda siyanobakteri çoğalmaları yaygın olarak görülmekte (Heisler ve ark. 2008, El-Shehawy ve ark. 2012) ve siyanobakteriler dominant organizma grubu haline gelmektedir (Fogg 1969, Huisman ve ark. 2005, Paerl ve Fulton 2006). Bazı siyanobakterilerin aşırı çoğalması ve bunu takiben toksik bileşiklerin üretimi, dünyada bulunan birçok ötrofikten hipertrofiğe kadar değişen göl, gölet ve nehirde rapor edilmiştir (Rastogi ve ark. 2014). Değişik çalışmalarda Uluabat Gölü'nde toksin oluşturma potansiyeli olan türlerin ve siyanobakteri çoğalmalarının saptanması (Karacaoğlu ve ark. 2004, Ulcay ve ark. 2010, Dalkıran ve ark. 2016a) nedeniyle bu tez çalışmasında Uluabat Gölü ayrıntılı bir şekilde toksik siyanobakteri ve siyanotoksinler açısından değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Ötrofikasyon; suların kalitesini, fiziksel ve kimyasal parametrelerini, sularda biyolojik çeşitliliği ve süksesyonu etkileyen önemli bir problemdir. Bu durum, sınırlayıcı nütrientlerin belirlenmesi ve trofik durum indekslerinin hesaplanmasıyla değerlendirilebilir. Göllerde trofik seviyenin belirlenmesinde; klorofil-a, toplam azot, toplam fosfor, seki diski derinliği gibi parametreler kullanılabilir.

Sığ bir göl olan Uluabat Gölü, atmosferik ve meteorolojik koşullardan kolayca etkilenen, fiziksel koşulların fitoplankton kompozisyonunu kolayca etkileyebildiği bir göldür (Karacaoğlu ve ark. 2006). Yapılan doktora tez çalışması kapsamında Uluabat Gölü'nde, 2015 ve 2016 yıllarına ait örnekleme noktalarının derinliğinde, genel olarak yaz başından sonbahara doğru bir azalma kaydedilmiştir. Her iki yılda da göl derinliğindeki bu azalma, en yüksek derinliğe sahip Nokta 2'de bile özellikle yaz aylarının ortasından itibaren belirgin olarak gözlenmiştir. Nokta 3'ün, 2015-2016 örnekleme periyodunda noktalar arasındaki en sığ nokta olduğu görülmüştür. Diğer yandan dört noktada yapılan ölçümler ile iki yıla ait göl derinlikleri karşılaştırıldığında, 2016 yılında bir önceki yıla göre göldeki su seviyesinde belirgin bir azalma kaydedilmiştir. 2015 yılında Uluabat Gölü'nde saptanan ortalama derinliğin $2,13 \pm 0,71$ m iken 2016 yılında $1,53 \pm 0,57$ m'ye düştüğü tespit edilmiştir. Sonuç olarak Uluabat Gölü'nün derinliğinde; yaz mevsimindeki yüksek sıcaklıklara, aşırı buharlaşmaya, yağış miktarında azalmalara, tarım arazileri için gölden çok fazla miktarda su çekilmesine, Mustafakemalpaşa Çayı ile göle ulaşan süspanse sediment yüküne bağlı olarak azalmalar meydana geldiği düşünülmektedir (Dalkıran ve ark. 2006). 2015 yılına göre 2016 yılındaki gölün su seviyesinde görülen azalma hakkında halk ile yapılan görüşmelerde, yerli halk tarafından 2016 yılında göle su takviyesi sağlayan Çınarcık Barajı'ndan su aktarımının çok az yapıldığı ve gölden su çıkışının çok fazla olduğu ifade edilmiştir. Kazancı ve ark. (2004) da çalışmalarında, göl içerisine dışarıdan taşınan AKM'ler nedeniyle göldeki su derinliğinin son yıllarda önemli oranda azaldığını, özellikle yaz aylarında derinliğin 1 m'ye kadar düştüğünü ifade etmişlerdir. Gölün sedimantasyonundaki başlıca etken faktörlerden biri olan Mustafakemalpaşa Çayı'nın süspanse sediment yükünün son otuz yılda 1 258 143 ton olduğunu, buna bağlı olarak da göldeki sedimantasyon oranının yılda 0,44 cm'ye ulaştığını belirtmişlerdir (Dalkıran ve ark. 2006). Nitekim yapılan tez çalışması verilerine göre de dört örnekleme noktası arasındaki en sığ noktanın Nokta 3 olması, bu noktanın Mustafakemalpaşa Çayı'na yakın olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca göl suyunun, Mustafakemalpaşa Ovası için bir sulama kaynağı olarak kullanılmasının da göldeki su seviyesinin azalmasında etkili olan faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir (Dalkıran ve ark. 2006). Erdoğan ve ark. (1999, 2000), sırasıyla 1998 ve 1999 yıllarında sulama amacıyla gölden $19,37 \times 10^6$ m³ ve $22,95 \times 10^6$ m³ su çekildiğini rapor etmişlerdir.

Sıcaklık sucul çevrelerde viskoziteyi, yoğunluğu, gazların sularındaki çözünürlüğünü, enzimatik reaksiyonları etkileyen önemli değişkenlerden biridir. Sucul ekosistemlerde her türün en iyi şekilde yaşayıp gelişebildiği optimum bir sıcaklık değeri bulunmaktadır. Benzer şekilde kritik sıcaklık değeri de çoğunlukla türe özgü olup canlının yaşamını etkileyen önemli bir fiziksel değişkendir. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda sıcaklığın, sığ göllerde önemli bir parametre olduğu belirtilmektedir (Liikanen ve ark. 2002, Xu ve ark. 2012). Yapılan tez çalışması kapsamında 23 Haziran 2015 ile 9 Eylül 2016 yılları arasında yapılan arazilerden elde edilen sıcaklık değerleri, örnekleme noktaları arasında belirgin bir değişim olmadığını göstermiştir. 2015 ve 2016 yılındaki ortalama sıcaklık değerleri sırasıyla $26,1 \pm 1,88$ °C; $25,7 \pm 1,43$ °C olarak belirlenmiş olup, dört noktadaki sıcaklık değerleri aylara göre mevsimsel sıcaklık değerleriyle paralel bir değişim sergilemiştir. En düşük sıcaklık değerleri, her iki yılda da Haziran ayının başındaki birbirine yakın arazi tarihlerinde Nokta 3'de 1 m'de belirlenmiştir. Bu durumun oluşmasında Nokta 3'ün, Uluabat Gölü'ne su girişinin yapıldığı bölgeye yakın olması ve mevsime bağlı olarak suların henüz ısınmamış olması etkili olmuş olabilir. Diğer yandan en yüksek sıcaklık değerlerinin her iki yılda da mevsimsel sıcaklıkların arttığı Ağustos ayının başlarında birbirine yakın tarihlerde ve Nokta 4'te yüzeyde tespit edilmesi, bu noktanın gölün kapalı kısmında kalmasına bağlı olarak göldeki suyun rüzgar hareketlerinden çok fazla etkilenmemesine ve durgun bir su külesinin oluşmasına bağlanabilir. Ayrıca sıcaklığın ve durgun hava şartlarının da etkisiyle yüzeyde fitoplanktonların yoğun olarak artması, artan organik madde ve mikrobiyal faaliyetler; sıcaklık için bir geri besleme (feedback) mekanizması olarak işlev görmüş ve sıcaklığı diğer nokta ve derinliklere göre biraz daha artırmış olabilir. Kâtip ve Karaer (2011) de Uluabat Gölü'nde Mayıs 2008-Mayıs 2009 arasında yaptıkları çalışmada gölde en yüksek sıcaklık değerini $28,9$ °C olarak tespit etmişlerdir. Yaz boyunca sıcaklığın yüksek değerlerde kalmasını, buharlaşma faktörüne dayandırmışlardır (Singh ve ark. 2008). Elmacı ve ark. (2010), 2003 Şubat-2004 Ocak arasındaki periyotta yaptıkları çalışmada sıcaklığın örnekleme noktaları arasında belirgin bir değişim göstermediğini ve mevsimsel değişimi takip ettiğini belirtmişlerdir. İleri ve ark. (2014), Haziran 2008-Mayıs 2009 arasında Uluabat Gölü'nde yaptıkları çalışmada yaz aylarında ortalama sıcaklığı $26,1$ °C olarak tespit etmişler ve mevsimlerin sıcaklığı etkilediğini ifade etmişlerdir. Ayrıca

akımın düşük olduğu gölün kapalı kısmında bulunan istasyonlarda bulgularımıza benzer şekilde yüksek sıcaklıklar ölçmüştür.

EC, sularda toplam çözünmüş madde miktarı ve iyon sayısı ile ilgili bilgi veren bir değişkendir (Ünlü ve ark. 2008, Elmacı ve ark. 2010). Yapılan çalışmada 2015 yılında ortalama EC değeri $612,5 \pm 58,93 \mu\text{S cm}^{-1}$; 2016 yılında $665 \pm 37,8 \mu\text{S cm}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Uluabat Gölü'nün hem 2015 hem de 2016 yıllarında saptanan EC değerleri, Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliği (YSKY) kriterlerine göre incelendiğinde dört noktadaki bütün arazi tarihlerinde ve derinliklerinde gölün II. Sınıf su kalitesinde olduğu tespit edilmiştir (Anonim 2016b). Tuzluluk, tatlı sularda önemli bir değişken olmamakla birlikte EC ile arasında bir ilişki bulunmaktadır. Her iki yıl boyunca yapılan arazilerde tuzluluk değerlerinin, derinliklere ve noktalara bağlı olarak çok değişim göstermediği ve EC değerleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Daha önceki çalışmalarda da Uluabat Gölü'ndeki EC değerleri benzer değerlerde saptanmıştır (Dalkıran ve ark. 2006, Kâtip ve Karaer 2011, İleri ve ark. 2014). Kâtip ve Karaer (2011) de Uluabat Gölü'nde 2008-2009 yıllarındaki çalışmalarında göl suyunun, Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği (SKKY) Teknik Usuller Tebliği'ne (Anonim 1991) göre EC ve tuzluluk değişkenleri açısından II. Sınıf su kalitesinde olduğunu rapor etmişlerdir.

Seki diski derinliği; trofik seviyenin belirlenmesinde kullanılan, suyun bulanıklığı ve buna bağlı olarak ortamdaki canlı kompozisyonunun değerlendirilmesi açısından önemli bir parametredir. YSKY (Anonim 2016b) ötrofikasyon kriterlerine göre Uluabat Gölü'nün 2015 ve 2016 yılı ortalama seki diski değerleri (sırasıyla $57,5 \pm 25,26$ cm; $45,79 \pm 43,91$ cm), gölün hipertrofik seviyede olduğunu göstermiştir. Gölün bu kadar düşük seki diski değerlerine sahip olması, göl suyunun bulanıklığının ve fitoplankton yoğunluğunun son yıllarda ne kadar arttığını göstermektedir. Bulanıklığı etkileyerek seki diski derinliğinin bu kadar düşük çıkmasına neden olabilecek bir diğer faktör de askıdaki toplam katı madde yüküdür. Özellikle Mustafakemalpaşa Çayı'ndan gelen girdiler ve rüzgar, sığ bir göl olan Uluabat Gölü'ndeki seki diski derinliğini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Yapılan çalışmada en düşük seki diski değerleri 2015 (25 cm) ve 2016 (10 cm) yıllarının Ağustos aylarında Nokta 2'de gözlenmiş ve Uluabat Gölü'nün bu ayda hipertrofik seviyede olduğu saptanmıştır. Diğer yandan Nokta 1'de gölün ötrofik

seviyede olduğunu gösteren en yüksek değerler olan 125 cm ve 175 cm (sırasıyla 22.07.2015 ve 16.06.2016) seki derinliği ölçülmüştür. Her iki yıla ait seki diski değerlerine bakıldığında Nokta 1’de gözlenen bu yüksek değerler, ortamda köklü sucul bitkilerin olmasından kaynaklanmıştır. Sucul bitkilerce zengin bu örnekleme noktasında, suyun diğer noktalara göre daha berrak olduğu gözlenmiştir. Bu durum su bitkilerinin kökleriyle sedimanın havalanmasını engellemelerinden kaynaklanabilmektedir. Ayrıca Nokta 1, Uluabat Gölü’nden su çıkışını sağlayan Kocasu Çayı’na yakın bir konumda bulunduğundan, akıntının etkisiyle bu bölgede fitoplankton sayısı daha az bulunabilmektedir. Nitekim Dalkıran ve ark. (2003), Temmuz 1998-Haziran 1999 arasındaki periyotta on istasyonda yaptıkları ölçümlerde, fizikokimyasal ve biyolojik faktörlerin Uluabat Gölü üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, bulgularımıza benzer şekilde Haziran ve Eylül ayları arasında göldeki ortalama seki diski derinliğinin 22,2 cm ile 80,4 cm arasında değişim gösterdiğini saptamışlardır. En yüksek seki diski değerlerini, Kocasu Çayı’na yakın istasyonlarda rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, yüksek seki diski derinliği bulunan noktalarda; fitoplanktonun az olduğunu ve dipte sucul bitkilerin su altı çayırları oluşturduklarını ifade etmişlerdir. Bu durumun da dengeli bir ekosistemin varlığını temsil ettiğini belirtmişlerdir.

Işık, fotosentetik aktiviteyi etkileyen önemli bir parametre olup sucul ekosistemlerde direkt ve indirekt solar ışığa ile su yüzeyine ulaşmaktadır. Su yüzeyine çarpan solar ışığın büyük bir kısmı ise geri yansımakta ve su içerisine nüfuz etmemektedir (Wetzel 2017). Uluabat Gölü’nde yüzeyde tek yönde ölçülen ışık yoğunluğu değerlerinin su yüzeyinde ölçülen değerlere göre çoğunlukla daha yüksek değerlerde çıkması, su yüzeyinden yansıyan ışıklardan ve su içerisine nüfuz etmeyen ışıklardan kaynaklanmaktadır. Diğer yandan ışık yoğunluğunun, tüm örnekleme tarihlerinde ve noktalarında derinlikle beraber azalma göstermesi ise; suyun yüzey kısımlarına yakın yerlerde fitoplanktonun artmasına, bölgesel olarak su kütlesinin bu kısmında artan fotosentetik aktiviteye ve ortamdaki artan çözünmüş organik maddelere bağlanabilir. Çünkü ışık enerjisinin su içerisinde ilerlemesi, absorpsiyon ve saçılma mekanizmalarına bağlı olduğu için özellikle iç sularda derinlikle birlikte ışık yoğunluğunda bir azalma meydana gelmektedir (Westlake 1965a,b). Göl sularında yüksek miktarlarda bulunan çözünmüş organik bileşikler (örneğin humik maddeler) de ışığın absorpsiyonunu önemli oranda etkileyerek ışık iletiminin azalmasına

neden olmaktadır (James ve Birge 1938). Ayrıca yüzeyde yoğun fitoplankton artışı olan örnekleme noktalarında yüzeyin alt kısımlarında ışık yoğunluğunun daha az değerlerde ölçülmesi; alglerin suyun üstünü örtü gibi örtmesi ve ortamda bulanıklığı etkileyen diğer faktörlerin bulunabilmesine bağlanabilmektedir. Bu durumda ışığın suyun alt tabakalara geçişi zorlaşabilmektedir.

Sudaki H⁺ iyonu konsantrasyonu ile ilgili bir değişken olan pH, göllerde genellikle 6 ile 8 arasında değişmektedir. Sucul çevrelerde pH; pek çok faktörden (örneğin fotosentez ve solunum gibi enzimatik reaksiyonlar, ortamdan CO₂ çekilmesi, denitrifikasyon, oksitlenme reaksiyonları) etkilenebilmektedir (Stumm ve Morgan 1996, Kâtip ve Karaer 2011). Yapılan çalışmada Uluabat Gölü'nde pH'ın, 2015 (ortalama 8,36±0,14) ve 2016 (ortalama 8,42±0,19) yılları arasında benzer değerlerde olduğu görülmüş ve YSKY (Anonim 2016b) kriterlerine göre gölün pH değişkeni açısından I. sınıf su kalitesinde olduğu belirlenmiştir. Bazı noktalarda derinliğe bağlı olarak pH'ın azalmasında, yaz aylarında yüzeyde aşırı çoğalan fitoplankton komünitesinin ve buna bağlı olarak artan birincil üretim ve fotosentezin etkisi olduğu düşünülmektedir. Fotosentez ile suyun yüzey kısımlarında bulunan fototrofik karakterli organizmalar, sucul çevredeki CO₂'yi tüketmekte ve ortamın pH'ını 9-10 kadar yüksek değerlere çıkarabilmektedir (Søndergaard 1988, Welch ve Cooke 1995). Nitekim 7 üzerindeki pH değerleri, ortamın alkali olduğunun bir göstergesidir (Karafistan ve Arık-Colakoglu 2005). Diğer yandan yüzeyde aşırı çoğalan fitoplanktonik organizmalar suyun yüzeyini bir örtü gibi örtmekte ve suyun alt kısımlarına ışığın geçişini engelleyerek bu kısımlarda fotosentez oranını düşürebilmektedir. Araştırmacılar, Uluabat Gölü'nde 2003 Şubat-2004 Ocak periyodunda beş istasyonda yaptıkları bir çalışmada yıllık ortalama pH değerini 8,69±0,16 olarak tespit etmişler ve SKKY (Anonim 2004)'ye göre pH açısından gölün III. Sınıf su kalitesinde olduğunu belirtmişlerdir (Elmacı ve ark. 2010). Kâtip ve Karaer (2011) ise SKKY (Anonim 1991)'a göre Uluabat Gölü'nün pH açısından I., II. ve III. Sınıf su kalitesinde olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca araştırmacılar benzer şekilde yaz aylarında sıcaklık ve su yüzeyine ulaşan ışık yoğunluğunun artması ile fotosentetik aktivitenin arttığını, buna bağlı olarak da yüksek pH değerlerinin kaydedildiğini açıklamışlardır (Kâtip ve Karaer 2011, İleri ve ark. 2014).

Sucul ekosistemlerde çözülmüş oksijen; aerobik canlılar başta olmak üzere pek çok canlının yaşamını, dağılımını ve davranışını etkileyen en temel faktörlerden biridir. Primer üretim ve atmosferik difüzyondan kaynaklanan oksijenin sulardaki çözünürlüğü, sıcaklık, basınç ve tuzluluk gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Oksijen doygunluğu ise daha çok iç su yüzeyindeki basınçla ilişkili bir kavramdır (Wetzel 2017). Aynı zamanda DO, iç suların kalite sınıflarının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan kriterlerden biridir. 2015 ve 2016 yıllarında Uluabat Gölü'nde DO doygunluğu, genellikle DO miktarı ile paralellik göstermiştir. Göldeki ortalama DO değeri; 2015 yılında $7\pm 1,77$ mg L⁻¹, 2016 yılında $6,7\pm 1,56$ mg L⁻¹'dir. Bu ortalama DO değerleri, YSKY (Anonim 2016b)'ye göre gölün her iki yılda da II. sınıf su kalitesinde olduğunu göstermiştir. Elmacı ve ark. (2010) da yaptıkları çalışmada DO açısından Uluabat Gölü'nün II. Sınıf su kalitesinde olduğunu saptamışlardır. Diğer taraftan yapılan tez çalışmasına ait 2015-2016 yıllarındaki örnekleme periyotlarında en yüksek DO değerlerine, yaz ortasında Nokta 4'te suyun üst kısımlarında rastlanmıştır. Göl genelinde de yüzeye yakın kısımlarda ölçülen yüksek DO değerleri, yaz aylarında yüzeyde artan fitoplankton popülasyonuna bağlı yüksek fotosentetik aktiviteyi temsil etmektedir. Nitekim Temmuz ayında bazı noktalarda su yüzeyinde aşırı siyanobakteri çoğalmaları da arazi esnasında iken gözlenmiştir. DO değerleri, çoğunlukla yüzeyde yüksek değerler gösterirken, bu değerlerde derinlikle beraber bir azalma gözlenmiştir. Diğer yandan bazı noktalarda 1 m'de görülen DO değerleri, yüzeye göre daha yüksek değerlerde seyretmiştir. Bu durum suyun yüzeye yakın kısımlarında artan ışık yoğunluğuna bağlı olarak siyanobakterilerde meydana gelen fotoinhibisyon nedeniyle olabileceği gibi siyanobakterilerin su kolonunda kendileri için uygun ışık yoğunluğunun bulunduğu derinliğe inmelerinden de kaynaklanabilmektedir. Ayrıca mikrobiyal aktivite sonucu organik maddelerin parçalanması da suyun bu kısımlarında DO miktarını düşürmüş olabilir.

Chl a, bütün fotosentetik organizmalarda bulunan temel pigmenttir. Sucul çevrelerde primer verimlilik, biyokütle, trofik seviye ve besin ağları ile ilgili bilgi veren biyokimyasal bir parametredir (Jeffrey ve Mantoura 1997). Bu çalışma kapsamında elde edilen verilere göre Uluabat Gölü, YSKY (Anonim 2016b) göl, gölet ve baraj gölleri ötrofikasyon kriterleri açısından değerlendirildiğinde; gölün 2015 yılındaki ortalama Chl a değerine ($17,2\pm 10,7$ µg L⁻¹) göre ötrofik, 2016 yılındaki ortalama Chl a değerine göre

ise ($26,5 \pm 26,7 \mu\text{g L}^{-1}$) hipertrofik seviyede olduğu belirlenmiştir. 2015 yılında genel olarak en düşük Chl a değerlerinin Nokta 1’de ölçülmesi, gölün bu noktasında sucul köklü bitkilerin hakim olmasına bağlı olarak fitoplanktonun diğer noktalara göre daha az miktarlarda olmasından kaynaklanmıştır. Diğer yandan Nokta 4, gölün kapalı kısmında kaldığı ve rüzgar hareketlerinden çok etkilenmediği için gölün bu noktasında artan fitoplankton yoğunluğuna bağlı olarak yüksek miktarda Chl a değerleri saptanmıştır. Nitekim buharlaşma olaylarının ve sıcaklığın fazla olduğu Ağustos ayının başında bu noktada Chl a, 2015 yılı için en yüksek değere ($40,1 \mu\text{g L}^{-1}$) ulaşmış ve YSKY (Anonim 2016b) ötrofikasyon kriterlerine göre hipertrofik durum göstermiştir. Genel olarak yaz başında düşük olan Chl a değerleri sıcaklıkların artması ile yaz ortası ve sonunda yüksek değerlere ulaşmıştır. Nokta 1 ve 3 için gözlenen en yüksek Chl a değerleri Temmuz başında (sırasıyla $26,8 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $20,5 \mu\text{g L}^{-1}$), Nokta 2 için Temmuz sonunda ($38,23 \mu\text{g.L}^{-1}$), Nokta 4 için Ağustos başında ($40,1 \mu\text{g L}^{-1}$) belirlenmiştir. 2015 yılında en yüksek Chl a değerlerinin görüldüğü dönemlerde gölün Nokta 3’te, YSKY (Anonim 2016b) kriterlerine göre ötrofik, diğer üç nokta için ise hipertrofik seviyede olduğu saptanmıştır. 2015 yılına benzer şekilde 2016 yılında da genellikle en düşük Chl a değerleri Nokta 1’de, en yüksek Chl a değerleri Nokta 4’te saptanmıştır. Aynı zamanda 2016 yılında Nokta 2 için saptanan en yüksek Chl a değerinin ($50,4 \mu\text{g L}^{-1}$) Temmuz başında, Nokta 3 ve 4 için (sırasıyla $31,7 \mu\text{g L}^{-1}$ $124,9 \mu\text{g L}^{-1}$) Haziran sonunda olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan arazi tarihlerine göre ortalama Chl a değerlerine bakıldığında (30.06.2016 hariç), hem 2015 hem 2016 yılında Temmuz ortasında ve Ağustos başında ortalama Chl a değerlerinin diğer tarihlere göre daha yüksek olması, yaz mevsiminin ortasında fitoplanktonun artışından kaynaklanabiliyor olacağını düşündürmüştür. Göl, 2015 yılında ise 23.06.2015 hariç tüm tarihlerdeki ortalama Chl a değerlerine göre ötrofik seviyede bulunmuştur. Diğer yandan Uluabat Gölünün özellikle 2016 yılının Haziran sonundaki ve Ağustos ayındaki arazilerden elde edilen verilere göre hipertrofik seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. 30.06.2016 tarihinde gözlenen yüksek Chl a değeri ($124,9 \mu\text{g L}^{-1}$) ise, Nokta 4’te oluşan aşırı fitoplankton artışına bağlı olabilmektedir. Kâtip ve ark. (2015) tarafından 2008-2009 yıllarının Mayıs ayları arasında bir yıl boyunca Uluabat Gölü’nde sekiz istasyonda yapılan çalışmada Chl a’nın yaz aylarında maksimum değerlere ulaştığı ve gölün trofik seviyesinin Chl a değerleri açısından ötrofik ve hipertrofik seviyeler arasında değiştiği ifade edilmiştir.

Yapılan doktora tez çalışması kapsamında Uluabat Gölü'nde izole edilip kültüre alınan siyanobakteri suşlarının morfolojik incelemeleri bu suşların *M. aeruginosa*, *D. cf. sigmoideum*, *L. planctonica*, *C. issatschenkoi*, *C. elenkinii*, *P. isothrix*, *D. ellipsoides*, *S. aphanizomenoides*, *S. aquatilis*, *A. grevillei*, *M. smithii* taksonlarına ait olduğunu göstermiştir. Gölde varlığı tespit edilen bu taksonlar, genellikle ılıman bölgelerde yaz aylarında nütrient ve trofik seviyesi yüksek (ötrofik-hipertrofik) su kütlelerinde yayılış gösteren taksonlardır (Komárek ve Anagnostidis 1999, 2005, John ve ark. 2003, Komárek 2013). Çeşitli araştırmacılar tarafından daha önce yapılan çalışmalarda da Uluabat Gölü'nde *M. aeruginosa*, *M. smithii*, *S. aquatilis*, *P. isothrix*, *C. issatschenkoi* taksonlarına ait bireylerin varlığı rapor edilmiştir (Ulcay ve ark. 2010, Karacaoğlu ve ark. 2004, Dalkıran ve ark. 2016a, Yılmaz ve ark. 2019). Aynı zamanda *Aphanizomenon*, *Calothrix*, *Dolichospermum*, *Aphanocapsa* cinslerine ait bireyler de gölde tespit edilmiştir (Dalkıran ve ark. 2016a, Yılmaz ve ark. 2019). Diğer yandan *L. planctonica* (Ersanlı ve Gonulol 2006, Ersanlı ve ark. 2006, Soylu ve Gönülol 2006, Elmacı ve Obalı 1998), *S. aphanizomenoides* (Gönülol 1993, Baytut ve ark. 2006, Taş ve Gönülol 2007), *A. grevillei* (Gezerler ve ark. 1996, Aysel ve ark. 2002, Çiçek ve ark. 2010), *C. elenkinii* (Aysel 2005), *D. sigmoideum* (Ersanlı ve Gonulol 2006, Akyüz ve ark. 2013, Çelik 2016) taksonlarına ait bireyler, Türkiye'de değişik su kütlelerinde tanımlanmıştır.

Siyanobakterilerin morfolojisi genellikle kararsız bir durum sergilemekte ve yüksek değişkenlik göstermektedir. Laboratuvar kültürü de türlere ait morfolojik özellikleri değiştirebildiği için türlerin doğru tanımlanmasını zorlaştırabilmektedir (Pearson and Kingsbury 1966, Palinska ve ark. 1996, Zapomělová 2006). Örneğin, kültürlerde aynı türün suşlarında bile morfolojik farklılıklar görülebilmektedir (Anand 1988, Nalewajko ve Murphy 2001, Zapomělova ve ark. 2008). Dolayısıyla kültür koşulları altında morfolojilerin ayırımında sadece morfolojik kriterler yeterli olmayabilmektedir (Otsuka ve ark. 2000). Türleri sadece morfolojik verilere göre tanımlama yapmak siyanobakterilerin kültürde yanlış tanımlanmasına yol açabilmektedir. Bu yüzden yapılan çalışmada türlerin doğru tanımlanabilmesi için morfolojik ve moleküler veriler birlikte değerlendirilmiştir. Tür içi ve türler arası farklılaşmaların tespiti için 16S rRNA gen bölgesi, çalışmalarda yaygın olarak kullanılabilir (Fox ve ark. 1992, Woese 1987). Uluabat Gölü'nden

izole edilen dokuz siyanobakteri suşunun 16S rRNA genine dayalı NJ ve ML analizleri ile oluşturulan filogenetik ağaçlar birbirine benzer sonuçlar vermiştir.

Aquameb 24 ve 25 suşları filogenetik ağaçlarda, *M. aeruginosa* HUW226 suşu (%100 benzerlik), ve *M. aeruginosa* NPLJ-4, *Microcystis* sp. CENA133 ve *M. wesenbergii* (%99) taksonlarıyla yakından ilişkili olarak kümelendiği. Ayrıca üç *M. aeruginosa*, bir *Microcystis* taksonu da % 95 ile % 98 arasında benzerlikle aynı kümede yer almıştır. Evrimsel ağaçta *M. aeruginosa* taksonunun monofiletik bir grup oluşturduğu görülmüştür. Moleküler veriler, morfolojik verilerle birlikte değerlendirildiğinde bu iki suşun *M. aeruginosa* taksonuna ait olduğu tespit edilmiştir. Rudi ve ark. (1997) da çalışmalarında benzer şekilde *Microcystis* suşlarının (*Microcystis* sp. ve *M. aeruginosa*) monofiletik olduğunu belirtmişlerdir. Neilan ve ark. (1997)'nin yaptığı çalışmada da *M. aeruginosa*, *M. wesenbergii* ve *M. viridis* taksonları birlikte gruplanarak monofiletik bir grup oluşturmuştur. Diğer yandan ise *Microcystis* cinsinin, *Synechococcus* ile birlikte kümelenen iki suş içerdiğini bu yüzden de polifiletik olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri analiz sonuçlarına göre, *M. wesenbergii* NIES112'nin *M. aeruginosa*'dan farklı bir tür olmadığını öne sürmüşlerdir. Diğer yandan hem *M. wesenbergii* NIES107 hem de *M. viridis* NIES102, *M. aeruginosa*'dan farklı bir tür olarak nitelendirilebileceğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, morfometrik değerler ile 16S rRNA gen bölgesi analizlerine göre ayırt edilemeyecek *M. aeruginosa* ve *M. wesenbergii* suşlarının birbirinden ayırt edilmesini sağlamışlardır. Nguyen ve ark. (2012) ise 16S rDNA dizi analizlerine göre *Microcystis* cinsine ait altı morfo-species'in filogenetik ağaçta % 99,2 ile % 100 benzerlik oranıyla birlikte kümelendiğini, *Microcystis* morfo-türlerinin hiçbirinin monofiletik olmadığını ifade etmişlerdir. Ayrıca bu altı morfo-türün, kültürde farklılık göstermediğini aksine benzer özelliklere sahip koloni varyantları sergilediğini saptamışlardır. Aynı zamanda da farklı kültür ortamları altında bazı suşların koloni varyantları oluşturduğunu gözlemişlerdir. Bu yüzden de altı morfo-species'in *M. aeruginosa* adı altında toplanması gerektiğini söylemişlerdir. Benzer şekilde başka bir çalışmada da araştırmacılar, beş kozmopolit morfo-türün (*M. aeruginosa*, *M. ichthyoblabe*, *M. novacekii*, *M. viridis* ve *M. wesenbergii*) genetik olarak ayrılmadığı ve türdeş oldukları için de hepsinin *M. aeruginosa* içinde bulunması gerektiğini ileri sürmüşlerdir (Otsuka ve ark. 2001). Kondo ve ark. (2000), *M. aeruginosa*, *M. viridis* ve

M. wesenbergii'ye ait dokuz suş arasında DNA-DNA hibridizasyonunu gerçekleştirmiştir. Bu suşların tümünün, en az % 70 DNA-DNA hibridizasyonu gösterdiğini ve bakteri kriterleri açısından değerlendirildiğinde bu suşların aynı türe ait olduğunu ileri sürmüşlerdir. Lepère ve ark. (2000) *Microcystis* cinsi içindeki morfolojik değişkenlik ve farklı pigment özelliklerine rağmen Almanya'dan gelen *M. wesenbergii*, *M. aeruginosa*, *M. viridis*, *M. flos-aquae* suşlarının kısmi 16S rDNA'sının analizine göre, hepsinin genetik olarak homojen bir *Microcystis* suşları kümesi oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan tez çalışmasında izole edilerek BTU kültür koleksiyonuna dahil edilen Aquameb 23 ve 26 suşları, yüksek bir bootstrap desteği ile filogenetik ağaçta dünyadaki diğer *C. issatschenkoi* suşları ile birlikte gruplanmıştır. Aquameb 23 ve 26 suşları, *C. issatschenkoi* D4, SP34, NIES-3731, AB2008/76 suşlarına % 99-100 oranında benzerlik göstermiştir. Aquameb 30 suşu da filogenetik ağaçlarda *Sphaerospermopsis* sp. (CHAB4401 ve CHAB4402), *S. aphanizomenoides* (AB2011/04, 09-03, AB2011/08) ve *S. kisseleviana* (NIES-73) suşlarıyla birlikte gruplanmıştır. Aquameb 30 suşu, *Sphaerospermopsis* suşlarına % 99-100 arasında 16S rRNA dizi benzerliği göstermiştir. Morfolojik verilerle birlikte değerlendirildiğinde Aquameb 30 suşunun *S. aphanizomenoides*, Aquameb 23 ve 26 suşlarının *C. issatschenkoi* olduğu doğrulanmıştır. De Figueiredo ve ark. (2010) da yaptıkları çalışmalarında 16S rRNA geninin filogenetik analizlerine göre *Aphanizomenon* cinsinin çok heterojen bir grup oluşturduğunu ve bu cinsin polifiletik olduğunu ileri sürmüşlerdir. Filogenetik ağaçta *C. issatschenkoi* suşlarının, diğer *Aphanizomenon* veya *Anabaena* türlerinden açıkça ayrıldığını belirtmişlerdir. Araştırmacıların bu bulguları, *Aphanizomenon issatschenkoi* türünün *Cuspidothrix* cinsine dahil edilmesine dair görüşleri desteklemiştir (Rajaniemi ve ark. 2005b, Komárek ve Komárková 2006, Willame ve ark. 2006). Çalışmalarında *A. issatschenkoi* UADFA1 suşu, dünyadaki diğer *A. issatschenkoi* (LMECYA 163, 190, 166, 31 ve Otu37s7) suşlarıyla birlikte kümelenmiştir. Diğer yandan bütün *A. aphanizomenoides* türüne benzer suşlar, *A. issatschenkoi* ve *A. gracile* suşlarını içeren kladlardan açıkça ayrılarak planktonik *Anabaena* türleri (*An. kisseleviana* ve *An. flos-aquae*) ile bir klad içerisinde birlikte kümelenmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri bulgulara göre *A. aphanizomenoides* benzeri suşların, tipik *Aphanizomenon* spp.'dan

ziyade *An. flos-aquae* ve *An. kisseleviana* gibi *Anabaena* spp. türlerinin dizileri ile daha yüksek benzerlik gösterdiğini ve bu türlere yakın olduğunu vurgulamışlardır. Hem moleküler hem fenotipik sonuçlar, çalışılan suşların *A. (Cuspidothrix) issatchenkoi*, *A. gracile* ve *A. aphanizomenoides* türlerine ait olduğunu doğrulamıştır (De Figueiredo ve ark. 2010). Li ve ark. (2003) ise araştırmalarında daha önceden *A. flos-aquae* LMECYA31 olarak tanımlanan suşun, *A. issatschenkoi* TAC419 suşuyla % 99 oranında kısmi 16S rRNA dizi benzerliği gösterdiğini saptamışlardır. Ayrıca yaptıkları filogenetik ağaçta LMECYA31 suşunun *A. issatschenkoi* TAC419 suşuyla birlikte kümelenmesi ve *A. issatschenkoi* türünün morfolojik özellikleri ile eşleşmesi nedeniyle *A. issatschenkoi* olarak yeniden tanımlanması gerektiğini ifade etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada morfolojik verilere göre *Raphidiopsis mediterranea* olarak tanımlanan CAWBG02 suşunun 16S rRNA'ya dayalı filogenetik analizleri suşun, Finlandiya'daki diğer *A. issatchenkoi* suşlarıyla birlikte gruplanması üzerine *A. issatschenkoi* türüne ait olduğunu göstermiştir (Wood ve ark. 2007).

Yapılan tez çalışmasında izole edilen Aquameb 29 ve 31 suşlarının kısmi 16S rRNA gen bölgesine dayalı olarak oluşturulan filogenetik ağaçlarında her iki suş da *Calothrix* sp. suşlarıyla birlikte kümelenmiştir. BLAST sonuçlarına göre her iki suş da *Calothrix* sp. suşlarına % 95-100 oranında benzerlik göstermiştir. Gen bankasında *Calothrix* cinslerine ait gen bilgileri kısıtlı olduğu için 16S rRNA filogenetik ağacına dayalı olarak *Calothrix* suşlarında tür ayırımına gidilememiş ve bu suşlar moleküler verilere göre *Calothrix* sp. olarak tanımlanmıştır. Diğer yandan yapılan morfolojik incelemeler Aquameb 29 ve 31 suşlarının *C. elenkinii* taksonuna ait özellikler sergilediğini göstermiştir.

Aquameb 27 ve 28 suşları ile birlikte gruplanan dünyadaki diğer *L. planctonica* ve *L. redekei* taksonları arasında 16S rRNA gen dizilerinin benzerliği % 99 ile % 100 arasında değişmiştir. Filogenetik analizlerde hem *L. redekei* hem de *L. planctonica* suşları ile birlikte gruplanan bu suşların 16S rRNA genine dayalı tür ayırımına gidilememiştir. Aquameb 27 ve 28 suşları, *Limnothrix* sp. olarak bırakılmıştır. Diğer yandan ayrıntılı morfolojik incelemeler, bu suşların *L. planctonica* taksonuna benzer özellikler sergilediğini göstermiştir. İki türün ayırımında kullanılan morfolojik kriterlerden biri olan gaz vakuelleri (Komárek ve Anagnostidis 2005), laboratuvar kültürlerinde yüksek ışığa

uzun süre maruz kalmaktan dolayı kaybolabilmektedir (Gkelis ve ark. 2005a). Gaz vakuollerinin konumu ve varlığı kültürde değişiklik gösterdiği için (Gkelis ve ark. 2005a) trikomların hareketli olup olmaması değerlendirilmiştir. *L. planctonica* taksonunda olduğu gibi suşlara ait trikomların yavaş bir şekilde salınarak kayma hareketi yaptığı gözlenmiştir. Aynı zamanda iki türün ayırımında önemli bir kriter olan boy/en oranı da *L. planctonica* taksonuyla uyum göstermiştir. Gkelis ve ark. (2005a) da çalışmalarında Kastoria Gölü'nden izole ettikleri üç *Limnothrix* suşunu morfolojik özelliklere ve 16S rRNA genine dayalı olarak karakterize etmişlerdir. Kültürdeki *Limnothrix* suşlarında gaz vakuollerinin, hücre kutuplarında veya nadiren hücre merkezinde konumlanabildiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca bu suşlara ait kültürlerde gaz vakuölü taşımayan trikomlara da rastlamışlardır. Gaz vakuollerinin kültüre alınmış *L. redekei* 007 suşunun hücrelerinde bulunurken *L. redekei* 165a suşunda bulunmadığını belirtmişlerdir. İzole edilen suşlara ait trikomların hareketsiz olduğunu, filogenetik ağaçta birlikte kümelenildiğini gözlemişlerdir. Üç suş da morfolojik verilerle birlikte değerlendirilmiş ve *L. redekei* olarak tanımlanmıştır. Zhu ve ark. (2012) çalışmalarında Donghu Gölü'nden izole ettikleri altı *Limnothrix* suşunun 16S rRNA'ya dayalı filogenetik ağacında bu suşların *Limnothrix* sp. ve *L. redekei* suşlarıyla birlikte gruplandığını belirlemişlerdir. Kültür koşulları altında altı suşun tamamında gaz vesiküllerinin kaybolduğunu veya küçük boyutlarda olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar izole ettikleri suşların tamamını en boy oranı, trikomların hareketli olması ve diğer morfolojik özelliklerden (Komárek ve Anagnostidis 2005) dolayı *L. planctonica* (CHAB 709, 751, 753, 756, 759, 763) olarak tanımlamışlardır. Başka bir çalışmada da araştırmacılar, Amazon bölgesindeki sulardan izole ettikleri suşlar arasında bulunan iki *Limnothrix* cinsine ait suşta gaz vesiküllerinin hücrenin ortasında değil de hücre kutuplarında meydana geldiğini gözlemişlerdir. Bu özellik dışındaki diğer morfolojik özellikler ile iki suşun *L. planctonica* türüne benzediğini ifade etmişlerdir. *Limnothrix* LEGE suşlarına ait trikomların hareketli olduğunu da tespit etmişlerdir. *Limnothrix* LEGE 15497, LEGE 15485 izolatlarının 16S rRNA gen dizileri, filogenetik olarak *L. planctonica* ve *Limnothrix* sp. suşlarıyla yakından ilişkili olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, moleküler ve morfolojik incelemeler sonucunda bu iki suşu *L. cf. planctonica* olarak tanımlamışlardır (De Oliveira ve ark. 2019).

Uluabat Gölü'nde potansiyel mikrosistin üreticilerini belirlemek için MC sentezinden sorumlu genlerden biri olan *mcyA* geni, plankton çekimi örneklerinden klonlanmıştır. Yapılan filogenetik analizler sonucu klonlanan *mcyA* dizilerinin, *Microcystis mcyA* dizileri ile ortalama % 98,3 benzerlik gösterdiği ve beraber gruplandığı görülmüştür. Ayrıca Uluabat Gölü'nden izole edilen Aquameb 24 (*M. aeruginosa*) suşuna ait *mcyA* dizisi de klonlanan *mcyA* dizileri ile birlikte kümelenmiştir. Filogenetik analizlerden elde edilen sonuçlar, Uluabat Gölü'ndeki başlıca MC üreticilerinin *Microcystis* spp. olduğunu düşündürmüştür.

Ülkemizin RAMSAR alanlarından biri olan Uluabat Gölü siyanotoksinler açısından değerlendirildiğinde 2015 yılı su kolonu örneklerinin % 54'ü MC için pozitif sonuç vermiştir. 06.08.2015 tarihinde Nokta 4'de $2,11 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenen MC konsantrasyonu, içme suları için WHO'nun belirlemiş olduğu maksimum değerden yüksek bulunmuştur ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Chorus ve Bartram, 1999). Su kolonu örneklerinin MC seviyesinde yaz ortasından itibaren genel olarak bir artış görülmüştür. Nokta 1'de en yüksek MC değerine Eylül ayında ulaşılırken Nokta 2, 3 ve 4'te Ağustos ayının başında ulaşmıştır. 2015 yılı plankton çekimi örneklerinin ise tamamında MC saptanmıştır. Plankton çekimi örneklerinde MC konsantrasyonu $0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık ile $459,25 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlık arasında değişmiştir. Plankton çekimi örneklerinde saptanan MC değerleri, su kolonu örneklerine benzer şekilde yaz ortasında (Temmuz sonunda) artış göstermiştir. Yaz sonunda ise Uluabat Gölü'ndeki ortalama MC miktarı, $260,1 \mu\text{g g}^{-1}$ kuru ağırlığa ulaşmış ve Eylül ayında bütün noktalarda yüksek seviyesini korumuştur. Yaz ortasında saptanan yüksek MC konsantrasyonlarının, Uluabat Gölü'nde siyanobakterilerin özellikle yaz aylarında artış göstermesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Dalkıran ve ark. 2006). Nitekim daha önce de Uluabat Gölü'nde özellikle Temmuz ve Ağustos aylarında *M. aeruginosa* ve *M. wesenbergii* türlerine ait siyanobakterilerin aşırı artış gösterdiği rapor edilmiştir (Ulcay ve ark. 2010). 06.08.2015 tarihinde Nokta 3'te göldeki dominant siyanobakterinin, siyanobakteri biyohacmine % 35'lik bir katkı yapan potansiyel MC üreticisi *M. aeruginosa* olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve ark. 2019). Ayrıca bu türün, siyanobakteri biyohacmine Temmuz sonunda % 11, Ağustos başında % 20, Eylül ayında da % 15'lik katkı yaptığı belirtilmiştir. Araştırmacılar, noktalarda tespit edilen MC konsantrasyonları ile *M. aeruginosa*

biyohacimleri arasında bir korelasyon olduğunu varsaymışlardır. Bu türün yanısıra Yılmaz ve ark. (2019) çalışmalarında Uluabat Gölü'nde yaz aylarında toksin oluşturma potansiyeli olan *Aphanocapsa*, *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Merismopedia*, *Oscillatoria*, *Pseudoanabaena* taksonlarına ait bireyleri rapor etmişlerdir. Yapılan tez çalışmasında 2016 yılına ait su kolonu örneklerinden elde edilen ELISA verileri de 2015 yılına benzerlik göstermiştir. Plankton çekimi örneklerindeki toksin konsantrasyonları su kolonu örneklerine göre yüksek miktarlarda olup genellikle tespit limiti üstünde belirlenmiştir. Uluabat Gölü örneklerinde ELISA ile belirlenen yüksek toksin değerleri, gölde MC üreticilerinin varlığını ifade etmiştir. Su kolonu örneklerinde ölçülen toksin konsantrasyonu, hem ekstrasellüler hem de intrasellüler toksin miktarının toplamını ifade etmektedir. Siyanobakteriler buyoyansı özelliklerinden dolayı daha çok su yüzeyine yakın kısımlarda toplandıkları için su kolonu örneklerindeki siyanobakteri hücrelerinin sayısı, plankton çekimi örneklerindeki göre daha azdır. Dolayısıyla su kolonu örneklerindeki hücreye bağlı toksinlerin konsantrasyonu daha az miktarlarda saptanmıştır. Plankton çekimi örneklerinden elde edilen toksin konsantrasyonları ise intrasellüler toksin miktarını ifade etmektedir. Plankton çekimi örneklerinde siyanobakteri hücreleri ve dolayısıyla hücreye bağlı toksin miktarı daha fazladır. Bu yüzden bu örneklerden elde edilen değerler, daha yüksek konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Diğer yandan genellikle hücreye bağlı MC'lerin konsantrasyonu, ekstrasellüler toksinlerin konsantrasyonundan daha fazla olup (Jüttner ve Lüthi 2008) siyanobakteri hücreleri parçalanmadığı sürece bu toksinler hücre içerisinde bulunmaktadır (Berg ve ark. 1987, Watanabe ve ark. 1992). Ekstrasellüler MC konsantrasyonları, aşırı artan alg hücrelerinin yaşlanarak parçalanması ile çevreye dağılmaktadır (Jähnichen ve ark. 2007, Jüttner ve Lüthi 2008, Shao ve ark. 2009, Sakai ve ark. 2009, Žegura ve ark. 2011). Bulgularımıza benzer şekilde değişik su kütlelerinde intrasellüler toksinlerin, ekstrasellüler toksinlerden fazla olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Nasri ve ark. 2004, Fahnenstiel ve ark. 2008, Papadimitriou ve ark. 2012).

Diğer yandan ELISA ve RBA analizlerine göre su kolonu ve plankton çekimi örneklerinde ATX-a, STX ve CYN konsantrasyonlarının genel olarak TLA'da kalması, Uluabat Gölü'nde bu toksinlerin bulunmadığını düşündürmüştür. Düşük değerlerin tespit edildiği örneklerde ise PCR analizleri ile bu üç toksine ait gen bölgelerinin saptanmaması,

tespit edilen bu değerlerin ELISA analizlerinde çapraz reaktiviteden kaynaklanabilecek yanlış pozitif sonuçları düşündürmüştür (Graham ve ark. 2010).

Diğer yandan PCR ile çevresel örneklerde ve kültür örneklerinde toksin genlerinin taranması, potansiyel toksik türlerin tespiti ve varlığının belirlenmesi için çalışmalarda erken bir uyarı metodu olarak kullanılabilir (Baker ve ark. 2001, Schembri ve ark. 2001, Baker ve ark. 2002, Nonneman ve Zimba 2002, Pan ve ark. 2002, Rantala-Ylinen ve ark. 2011). Hassas, basit ve ucuz bir yöntem olan PCR, örneklerin hızlıca taranmasını sağlamaktadır (Fergusson ve Saint 2003). Yapılan tez çalışması kapsamında Uluabat Gölü plankton çekimi örneklerinin hiçbirinde PCR analizleri ile gölde ATX, STX ve CYN biyosentezinde rol oynayan gen bölgeleri saptanmamıştır. ELISA ve PCR verileri birlikte değerlendirildiğinde Uluabat Gölü'nde ATX, STX ve CYN toksinleri ve bu toksinleri üretebilecek potansiyel türlerin olmadığı düşünülmüştür. Uluabat Gölü'nde günümüze dek bu üç toksine ait herhangi bir kayıt mevcut değildir. Diğer yandan Köker ve ark. (2017b) da Türkiye'de çeşitli su kütlelerinde yaptıkları araştırmada $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ile $9 \mu\text{g L}^{-1}$ arasındaki konsantrasyonlarda CYN bulunduğunu, su örneklerinde bu toksine % 23 sıklıkta rastladıklarını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada araştırmacılar, *Dolichospermum (Anabaena) mendotae* ve *Chrysochlorum (Aphanizomenon) ovalisporum* türlerine ait İznik Gölü'nden topladıkları bloom örneklerinde PCR ile CYN genlerini saptamışlardır. LC-MS/MS ile İznik Gölü'nde CYN varlığını doğrulamışlardır (Akçaalan ve ark. 2014). Yılmaz ve ark. (2018) ise son yıllarda İznik Gölü'nde yapmış olduğu çalışmada gölde *sxtA* ve *sxtG* genlerini taşıyan ve PST üreten *A. gracile* taksonunun varlığını Türkiye'de ilk kez rapor etmişlerdir.

2015 ve 2016 yılına ait toplam kırk yedi plankton çekimi örneğinin kırk beşinde 16S rRNA geni tespit edilmesi, hem PCR reaksiyonlarının çalıştığını hem de o örneklerdeki siyanobakteri varlığını göstermiştir. Diğer yandan 16S rRNA geni saptanmayan 16.06.2016 tarihine ait Nokta 3 ve 4 örneğinde diğer toksin genlerinin de hiçbirine rastlanmamıştır. ELISA analizlerinde de çok düşük MC değerleri tespit edilmiştir. Veriler birlikte değerlendirildiğinde; yaz başında bu noktalarda henüz toksik siyanobakterilerin artış göstermediğini veya örneklerde PCR analizlerini inhibe eden maddelerin varlığını düşündürmüştür (Wilson 1997). Her iki yıla ait toplam kırk yedi plankton çekimi

örneğin otuz dokuz tanesinde *mcyA* geni belirlenmiştir. MC sentezinden sorumlu genlerden biri olan *mcyA* geninin örneklerdeki varlığı Uluabat Gölü'nde MC üretebilme potansiyeline sahip türlerin mevcudiyetini ifade etmiştir. Diğer yandan 2015 yılına ait on dört plankton çekimi örneğinde *mcyE* gen bölgesinin araştırılması için genel ve cinse özgü (*Microcystis*, *Planktothrix* ve *Anabaena/Dolichospermum*) primerlerle gerçekleştirilen PCR sonuçları, Uluabat Gölü'ndeki MC üretiminin başlıca sorumlusunun *Microcystis* spp. olduğunu düşündürmüştür ki bu sonuç klonlama verileri ile uyumludur. MC sentezinden sorumlu genlerle (*mcyA-J*) ilgili yapılan çalışmaların giderek aydınlanması, *mcy* genleri ile MC üretme yeteneği arasında bir ilişkinin saptanması, MC üretiminden sorumlu türleri belirlemede bu genlerin yaygın bir moleküler belirteç olarak kullanılabileceğini belirtmektedir (Tillett ve ark. 2000, Hisbergues ve ark. 2003, Rantala ve ark. 2004, Tooming-Klunderud ve ark. 2008).

Yapılan tez çalışmasında Uluabat Gölü'nden izole edilip ELISA ve RBA analizleri yapılan suşlarda da ATX-a, STX ve CYN üretimi tespit edilmemiştir. Sadece üç suştaki düşük STX değerleri ise suşlarda STX genlerinin bulunmayışından dolayı ELISA analizindeki yanlış pozitif değerleri düşündürmüştür. Monosiyanobakteriyel kültürü yapılan on sekiz suşun tamamında 16S rRNA geninin pozitif sonuç vermesi ise bu suşların siyanobakteri olduğunu ve yapılan PCR'ların çalıştığını doğrulamıştır. Yedi farklı primer çifti ile gerçekleştirilen PCR analizlerine göre suşlarda yapılan toksin genleri taramasında anatoksin (*anaC*), saksitoksin (*sxtA* ve *sxtG*) ve silindrospermopsin (*cyrC* ve *cyrB*) biyosentezinde görevli genlere rastlanmamıştır. Sonuç olarak ELISA, RBA ve PCR analiz sonuçları birbiriyle uyumlu olup izole edilen suşların ATX, STX ve CYN üreticisi olmadıkları ve bu toksinlere ait genleri taşımadıkları düşünülmüştür.

McyA ve *mcyB* genleri ise *M. aeruginosa*, *A. grevillei* ve *M. smithii* taksonlarına ait beş suшта PCR sonucu belirlenmiştir. MC biyosentezinde rol alan bu genlerin saptanması, bu suşların Uluabat Gölü'nde potansiyel MC üreticisi olabileceklerini düşündürmüştür. Nitekim Aquameb 24 ve 25 (*M. aeruginosa*) suşlarında ELISA ile yüksek konsantrasyonlarda MC tespit edilmesi bu suşların toksik olduğunu doğrulamıştır. *M. aeruginosa* suşlarında (Aquameb 24; 439,69 µg g⁻¹ kuru ağırlık, Aquameb 25; 539,25 µg g⁻¹ kuru ağırlık) yüksek miktarlarda MC üretimi tespit edilmiştir. *Microcystis* spp.

dünyanın pek çok bölgesindeki tatlı sularda en yaygın bulunan ve aşırı çoğalma gösteren takson olarak rapor edilmektedir (Sivonen ve Jones 1999). Genellikle ötrofik sulardaki fitoplanktonun dominant bileşenidir. Araştırmacılar, yüksek MC konsantrasyonlarının bulunduğu örneklerde *Microcystis* cinsine özellikle de *M. aeruginosa* türüne ait bireylerin bol bulunduğunu vurgulamaktadırlar (Nasri ve ark. 2004, Fahnenstiel ve ark. 2008). Türkiye’de de *M. aeruginosa* türünün değişik su kütlelerinde aşırı çoğaldığı farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Taş ve ark. 2006, Sömek ve ark. 2008). Ömerli rezervuarında *M. aeruginosa* çoğalmalarına bağlı balık ölümleri de görülmesi üzerine incelenen su örneklerinde mikrosistin-LR tespit edilmiştir (Albay ve ark. 2003b). Eğirdir Gölü’nde su, sediman ve *M. aeruginosa* türüne ait bloom örneklerinde araştırmacılar MC’leri tespit etmişlerdir. Ayrıca MC’lerin göldeki iki balık türünün kas ve karaciğer dokularında birikim gösterdiğini belirlemişlerdir (Gürbüz ve ark. 2016). Yine bir başka çalışmada Kovada Gölü’nde 2006 yılının Ağustos ve Eylül aylarında *M. aeruginosa* türünün baskın olduğunu, gölde ELISA ile ölçülen toplam ekstrasellüler MC miktarlarının 0,73 ila 48,5 µg MC-LR eşdeğerleri L⁻¹ arasında değiştiğini saptamışlardır (Gürbüz ve ark. 2009). Albay ve ark. (2005), Küçükçekmece Lagünü’nde bloom örneklerinde *M. aeruginosa*’nın dominant tür olduğunu ve yüzey sularındaki MC konsantrasyonunun 0.06 ile 24,2 µg L⁻¹ MC-LR eşdeğeri arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. MC’ler, *M. aeruginosa* türünün çoğalma yaptığı su kütlelerinde değişik çalışmalarda saptanmıştır (Albay ve ark. 2003a). Köker ve ark. (2017a), Küçükçekmece Lagünü’nden izole ettikleri *M. aeruginosa* suşunun 6,8 µg/mg kuru ağırlık MC ürettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca Türkiye’de yapılan başka çalışmalarda *M. aeruginosa* dışında *Planktothrix rubescens* türüyle ilgili de MC kayıtları bildirilmiştir (Albay ve ark. 2003a, Akçaalan ve ark. 2006). Yapılan tez çalışmasına kadar Uluabat Gölü’nde ise daha önce *M. aeruginosa* çoğalmaları bildirilmesine (Ulcay ve ark. 2010) rağmen gölde MC varlığı rapor edilmemiştir (Yılmaz ve ark. 2019). Bu çalışma ile hem Uluabat Gölü’nde hem de gölden izole edilen *M. aeruginosa* suşlarında ilk kez MC varlığı rapor edilmiştir.

Diğer yandan yapılan tez çalışması kapsamında Uluabat Gölü’nden izole edilen *M. smithii* ve *A. grevillei* suşlarında ilk kez mikrosistin sentetazı kodlayan gen bölgeleri (*mcyA* ve *mcyB*) PCR ile saptanmıştır. *McyA* ve *mcyB* genlerinin varlığı bu suşların da potansiyel MC üreticisi olabileceklerini düşündürmüştür. Liu ve ark. (2011) da

çalışmalarında Dishui Gölü'ne ait bloom örneğinden izole ettikleri *M. smithii* CHAB 2183 suşunda, mikrosistin sentetazı kodlayan *mcyA* gen fragmentini saptamış ve HPLC analizleri ile de bu suşun MC-RR (1550 µg g⁻¹ kuru ağırlık hücre) ürettiğini doğrulamışlardır. *M. smithii* türünün bazı bloom örneklerinde bulunan ana türlerden biri olduğunu ve toplam MC içeriğindeki MC-RR oranına önemli bir katkı yapabileceğini vurgulamışlardır. Pavlova ve ark. (2006) ise Shabla Gölü'nden toplanan siyanobakteri biyokütlesi örneğinde dominant siyanobakteri türünün *A. grevillei* olduğunu ve bu biyokütlenin 40 µg g⁻¹ kuru ağırlık toplam MC miktarı içerdiğini rapor etmişlerdir. Bu türün mevcut olduğu biyokütle örneğinde dominant MC varyantının, mikrosistin-LR olduğunu belirlemişlerdir. Diğer yandan MC ve CYN biyosentez gen kümelerinde veya düzenleyici bölgelerde meydana gelen delesyon, insersiyon, nokta mutasyonu gibi değişimlerin bu genlerin inaktivasyonuna yol açarak toksin üretimini etkilediği bilinmektedir (Kaebernick ve ark. 2001, Kurmayer ve ark. 2004, Schatz ve ark. 2005, Christiansen ve ark. 2006, Christiansen ve ark. 2008, Rasmussen ve ark. 2008, Fewer ve ark. 2011). Mutant hücrelerde olduğu gibi toksin genine sahip olan her hücrenin, toksin üretemeyebileceği bilinmektedir (Kellmann ve ark. 2006). Genlerin mevcudiyeti her zaman toksin üretimi sağlayamadığından Uluabat Gölü'nün bu MC üreticileri açısından daha detaylı çalışılması gerekmektedir. *M. smithii* ve *A. grevillei* suşlarına ait veriler, Uluabat Gölü'nde *M. aeruginosa* dışında başka MC üreticilerinin olabileceğine dair bir ön veri niteliğinde olmuştur.

ELISA analizi ile MC üretimi tespit edilen, PCR ile de *mcy* gen bölgeleri saptanan Aquameb 24 *M. aeruginosa* suşunun LC-MS/MS analizi ile MC ürettiği doğrulanmıştır. Suşta tespit edilen hedeflenmiş dokuz MC varyantı içerisinde toplam MC konsantrasyonuna en büyük katkıyı yapan varyantların; MC-RR, MC-YR ve MC-LR olduğu belirlenmiştir. Aquameb 24 suşu, 22.07.2015 tarihinde Nokta 1'de toplanan plankton çekimi örneğinden izole edilmiştir. Bu yüzden LC-MS/MS analizine gönderilen 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde ise *M. aeruginosa* suşundan farklı olarak toplam on iki MC varyantının tespit edilmesi, Uluabat Gölü'nde *M. aeruginosa* dışında başka MC üreticilerinin varlığını düşündürmüştür. Ballot ve ark. (2014) da çalışmalarında izole ettikleri *Microcystis* suşlarından sadece birinde otuz beş mikrosistin varyantı tespit ederken, Hartbeespoort Barajı'ndan alınan çevresel örnekte kırk bir MC varyantı

saptamışlardır. Elde ettikleri bu bulgunun, barajda MC üreten başka suşların varlığına işaret ettiğini ifade etmişlerdir.

Ayrıca yapılan tez çalışmasında hem Aquameb 24 suşunda hem de 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde toplam MC konsantrasyonuna en büyük katkıyı yapan üç varyantın (MC-LR, -RR, -YR) bu iki örnekteki katkı oranları birbirinden farklılık göstermiştir. Aquameb 24 suşunda baskın MC varyantların MC-RR ve MC-YR iken, plankton çekimi örneğinde MC-LR olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın oluşmasında suşun kültür altına alındığı koşulların etkili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim Song ve ark. (1998) da çalışmalarında kültür koşullarının MC üretimini değiştirebileceğini vurgulamışlardır. Sonuç olarak Aquameb 24 suşu da kültürde MC-RR ve MC-YR varyantlarını daha fazla üretmiş olabilir. Diğer yandan Uluabat Gölü'nde bol bulunan *Microcystis* genotipinin MC-RR ve MC-YR'ye göre daha fazla MC-LR üretmesi de muhtemel görünmektedir. Yılmaz ve ark. (2019) da Uluabat Gölü'ndeki diğer plankton çekimi örneklerinde de MC-LR'nin en yüksek konsantrasyona sahip olduğunu ve bunu MC-RR ve MC-YR varyantlarının izlediğini rapor etmişlerdir. Mantzouki ve ark.(2018), benzer şekilde LC-MS/MS analizi ile Uluabat Gölü 20.08.2015 Nokta 2 su kolonu örneğinde MC-LR, MC-RR, MC-YR'nin baskın MC varyantları olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca tanımlanamayan bir dmMC-LR varyantı tespit etmişlerdir. Gkelis ve ark. (2005b) ise *Microcystis* cinsinin dominant olduğu bloom örneklerinde 1-7 arasında MC varyantını tespit etmişlerdir. Tespit edilen varyantlar içinde MC-RR, MC-LR, MC-YR varyantlarının baskın MC'ler olduğunu saptamışlardır. Bu üç MC varyantının bloom örneklerindeki varlığı pek çok çalışmada rapor edilmiştir (Vasconcelos ve ark. 1996, Vezie ve ark. 1997, Oudra ve ark. 2001, Park 2001, Dyble ve ark. 2008, Ahmed ve ark. 2008). *Microcystis* ise bu varyantların baskın olduğu bloom örneklerinde en yaygın görülen cins olarak karşımıza çıkmaktadır.

Siyanobakteriler tarafından NRPS-PKS enzim komplekslerinde MC'lerin pek çok yapısal varyantı eş zamanlı üretildiği için (Sivonen ve Jones 1999) genellikle çevresel veya kültür örnekleri, MC'lerin birden fazla varyantını içermektedir (Gkelis ve ark. 2005b). Siyanobakteriler tarafından üretilen MC varyantları üzerine yapılan bir araştırmada da siyanobakterilerin genellikle dört MC varyantını ürettiği (Fewer ve ark. 2007, Puddick ve

ark. 2014) belirtilmiştir. Siyanobakteriyel suşlar arasında MC biyosentez genlerinin kodlanmasındaki değişikliklere bağlı olarak farklı MC varyantları ortaya çıkmaktadır (Puddick ve ark. 2014). Bu varyantların toksisitesi ise değişiklik göstermektedir (Sivonen ve Jones 1999). MC-LR, en yaygın ve en toksik varyant (örneğin, MC-LR, LD₅₀ = 50 µg kg⁻¹ fare biyoanalizinde) olarak bilinmektedir (Rinehart ve ark. 1994). MC-YR ve MC-RR'nin de MC-LR sonrasında en güçlü toksisite gösteren varyantlar olduğu bilinmektedir (Gupta ve ark. 2003). Diğer yandan MC-LR'ın X pozisyonundaki hidrofobik lōsin yerine hidrofilik bir amino asitin (örneğin; arjinin) geçmesiyle toksisitesi azalabilmektedir (Zurawell ve ark. 2005). Son zamanlarda yapılan in vitro çalışmalarda ise Y pozisyonunda hidrofobik triptofan veya fenilalanin amino asitlerini taşıyan MC-LW ve MC-LF varyantlarının MC-LR'dan daha toksik olduğu ileri sürülmektedir (Monks ve ark. 2007, Feurstein ve ark. 2009, Fischer ve ark. 2010, Vesterkvist ve ark. 2012, Faassen ve Lüring 2013). Çevresel örneklerde bu varyantların oluşumu hakkında az sayıda rapor bulunmasına rağmen Hollanda'da köpek ölümleriyle ilgili vakalarda araştırmacılar siyanobakteri materyalinde MC-LW ve MC-LF varyantlarına rastlamışlardır (Lüring ve ark. 2013, Faassen ve Lüring 2013). Yapılan tez çalışmasında Aquameb 24 *M. aeruginosa* kültür örneğinde saptanmamasına rağmen plankton çekimi örneğinde düşük konsantrasyonlarda da olsa tespit edilen yüksek toksisite gösterebilecek MC-LW, -LF, -LY varyantları; Uluabat Gölü'nde MC üreticisi olabilecek *Microcystis* cinsine ait diğer türlerin veya diğer cinslerin göldeki MC üretimine katkıda bulunduğunu düşündürmüştür. Plankton çekimi örneklerindeki PCR tarama sonuçları ve klonlama verileri, gölde MC üretiminden sorumlu *Microcystis* spp. türlerinin varlığını göstermiştir. Ayrıca PCR analizlerinde kullanılan primerlerin, Uluabat Gölü'ndeki bütün MC üreticilerini de tanınaması olası bir durumdur. Diğer yandan gölden izole edilen suşlardan *M. aeruginosa* dışında *M. smithii* ve *A. grevillei* suşlarında da MC toksin genlerinin (*mcyA* ve *mcyB*) mevcudiyetine rastlanması, LC-MS/MS sonuçlarına göre gölde MC-LW, -LF, -LY varyantlarının tespit edilmesiyle birlikte değerlendirildiğinde Uluabat Gölü'nde *M. aeruginosa* dışında potansiyel üreticilerin olabileceğini düşündürmektedir. Yılmaz ve ark. (2019) da MC varyantlarının saptanması için uyguladıkları yeni bir yaklaşımla 2015 yılına ait Uluabat Gölü çevresel örneklerinde ≥ 34 , *M. aeruginosa* Aquameb 24 suşunda ise ≥ 31 olmak üzere yüksek sayıda MC varyantının varlığını rapor etmişlerdir. Bu MC varyantı sayılarının, çevresel örneklerde ve kültürlerde dünyada yapılan daha önceki

çalışmalarda bildirilen en yüksek oranlar arasında olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca LC-UV-MS ve LC-HRMS analizleri ile örneklerde daha fazla varsayılan küçük MC'lerin varlığını gösterdiğini ve dolayısıyla Uluabat Gölü'ndeki MC varyant sayılarının artabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Aquameb 24 kültür örneğinde ve 22.07.2015 Nokta 1 plankton çekimi örneğinde ELISA ve LC-MS/MS ile saptanan toplam MC konsantrasyonları, benzer sonuçlar sergilemiştir. Bu da muhtemelen MC-LR, MC-RR, MC-YR gibi hedeflenmiş varyantların daha yüksek bollukları ve Adda ile modifiye edilmiş türdeşlerin düşük konsantrasyonlarından kaynaklanmaktadır (Yılmaz ve ark. 2019). Diğer yandan Mantzouki ve ark. (2018), Uluabat Gölü'nden 20.08.2015 tarihinde Nokta 2'de toplanan su kolonu örneğinde LC-MS/MS metodu ile toplam $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ MC konsantrasyonu belirlerken, yapılan tez çalışması kapsamında aynı örnekte ELISA analizi ile $0,44 \mu\text{g L}^{-1}$ toplam MC konsantrasyonu saptanmıştır. Bu durum Adda ELISA'nın MC'lere karşı geniş özgüllük gösterdiği için daha fazla MC'nin tespitine imkan sağlamasından, Mantzouki ve ark. (2018)'nin çalışmalarında ise MC'lerin tespitinde kullandığı standartların ve hedefledikleri varyantların sınırlı sayıda olmasından kaynaklanabilmektedir (Yılmaz ve ark. 2019).

Sonuç olarak Uluabat Gölü'nün trofik seviyesi, küresel iklim değişimi ve artan antropojenik etkiler nedeniyle ötrofikten hipertrofiğe doğru değişim göstermektedir. Özellikle yaz aylarında gölde siyanobakteriler artış gösterebilmektedir. Yapılan tez çalışması ile Uluabat Gölü'nden izole edilen toplam on sekiz suşun ayrıntılı morfolojik karakterizasyonu ile bu suşların *M. aeruginosa*, *D. cf. sigmoideum*, *L. planctonica*, *C. issatschenkoi*, *C. elenkinii*, *P. isothrix*, *D. ellipsoides*, *S. aphanizomenoides*, *S. aquatilis*, *A. grevillei*, *M. smithii* taksonlarına ait olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 16S rRNA gen dizilerine dayalı filogenetik ağaçları dokuz suşun *M. aeruginosa*, *Limnothrix* sp., *Calothrix* sp., *S. aphanizomenoides*, *C. issatschenkoi* taksonlarına ait olduğunu doğrulamıştır. Bununla birlikte izole edilen siyanobakteri suşlarından on tanesi Bursa Teknik Üniversitesi Alg Kültür Koleksiyonuna dahil edilmiştir. Diğer yandan özellikle tatlı sularda yaygınlaşan zararlı siyanobakteri çoğalmaları dünya genelinde pek çok hayvanın ve insanın sağlığını etkilemektedir. Yapılan tez çalışması ile Uluabat Gölü'nde

ve gölden izole edilen siyanobakteri suşlarında ATX-a, STX ve CYN toksinlerine ve potansiyel üreticilerine rastlanmazken, gölde yüksek miktarlarda MC üretimi rapor edilmiştir. Gölden izole edilen *M. aeruginosa* suşunun toksik olup yüksek miktarlarda MC ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca Uluabat Gölü'nden izole edilen *M. smithii* ve *A. grevillei* suşlarının da mikrosistin sentetaz (*mcyA* ve *mcyB*) genlerine sahip olduğu tespit edilmiş olup bu türlerin de göl ekosistemi için bir tehlike oluşturabileceği düşünülmektedir. Klonlama, LC-MS/MS sonuçları birlikte değerlendirildiğinde elde edilen veriler, *M. aeruginosa* dışında gölde mikrosistin üreticisi olabilecek *Microcystis* cinsine ait başka türlerin veya başka cinslerin bulunabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışma Uluabat Gölü'ndeki toksik siyanobakteriler ve siyanotoksinlerin araştırılması ile ilgili ilk ayrıntılı çalışma olduğu için literatüre katkı sağlamaktadır. Uluabat Gölü civarındaki halk, geçimini balıkçılık ile sağladığı ve tarımsal sulama amaçlı gölden su çektiği için gölde siyanotoksinler ile ilgili daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalı ve bölge halkı siyanotoksinler hakkında bilgilendirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, M.S., Hiller, S., Luckas, B. 2008.** *Microcystis aeruginosa* bloom and the occurrence of microcystins (Heptapeptides Hepatotoxins) from an aquaculture pond in Gazipur, Bangladesh. *Turk. J. Fish. Aquat. Sc.*, 8(1): 37-41.
- Akar, B., Şahin, B. 2016.** Diversity and ecology of benthic algae in Karagöl Lake, Karagöl-Sahara National Park (Şavşat, Artvin, Turkey). *Turk. J. Bot.*, 40(6): 645-661.
- Akçaalan, R., Young, F.M., Metcalf, J.S., Morrison, L.F., Albay, M., Codd, G.A. 2006.** Microcystin analysis in single filaments of *Planktothrix* spp. In laboratory cultures and environmental blooms. *Water research*, 40(8): 1583-1590.
- Akçaalan, R., Mazur-Marzec, H., Zalewska, A., Albay, M. 2009.** Phenotypic and toxicological characterization of toxic *Nodularia spumigena* from a freshwater lake in Turkey. *Harmful Algae*, 8(2): 273-278.
- Akçaalan, R., Köker, L., Oğuz, A., Spoof, L., Meriluoto, J., Albay, M. 2014.** First Report of Cylindrospermopsin Production by Two Cyanobacteria (*Dolichospermum mendotae* and *Chrysoosporum ovalisporum*) in Lake Iznik, Turkey. *Toxins*, 6(11): 3173-3186.
- Akçaalan, R., Köker, L., Albay, M. 2016.** Do eutrophic waters prompt to toxic cyanobacteria in Turkish Black Sea coast? *J. Environ. Prot. Ecol.*, 17(2): 584-592.
- Akyüz Şahin, P., Morkoyunlu Yüce, A., Soylu, E. 2013.** Büyük Akgöl (Sakarya) fitoplankton kompozisyonu ve mevsimsel değişimleri. *SDU-JEFF*, 9(2): 14-21.
- Albay, M., Aykulu, G., Akcaalan, R., Tuffekci, H., Metcalf, J., Beattil, K.A., Codd, G.A. 1998.** Depth profiles of cyanobacterial hepatotoxins (microcystins) in two Turkish freshwater lakes. International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety, Secotox, Antalya, Turkey.
- Albay, M., Akcaalan, R., Tufekci, H., Metcalf, J. S., Beattie, K. A., Codd, G. A. 2003a.** Depth profiles of cyanobacterial hepatotoxins (microcystins) in three Turkish freshwater lakes. *Hydrobiologia*, 505: 89-95.
- Albay, M., Akcaalan, R., Aykulu, G., Tufekci, H., Beattie, K. A., Codd, G. A. 2003b.** Occurrence of toxic cyanobacteria before and after copper sulphate treatment in a water reservoir, Istanbul, Turkey. *Algological Studies*, 109(1): 67-78.
- Albay, M., Matthiensen, A., Codd, G. A. 2005.** Occurrence of toxic blue-green algae in the Kucukcekmece Lagoon (Istanbul, Turkey). *Environ. Toxicol.*, 20(3): 277-284.
- Altınışlı, S., Griffiths, H. I. 2001.** Ostracoda (Crustacea) of lake Uluabat (Apoloyont Gölü) (Bursa province, Turkey). *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 31(2): 109-117.

Al-Tebrineh, J., Mihali, T.K., Pomati, F., Neilan, B.A. 2010. Detection of saxitoxin-producing cyanobacteria and *Anabaena circinalis* in environmental water blooms by quantitative PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76: 7836-42.

Aminot, A., Rey, F. 2001. Chlorophyll a: determination by spectroscopic methods. *ICES Tech. Mar. Environ. Sci.*, 30: 1-18.

An, J., Carmichael, W.W. 1994. Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularins. *Toxicon*, 32(12): 1495-1507.

Anand, N. 1988. Culture studies and taxonomy of blue-green algae-certain identification problems. *Arch. Hydrobiol.*, 80: 141-147.

Andersen, R., Kawachi, M. 2005. Traditional Microalgae Isolation Techniques: Algal Culturing Techniques, Ed.: Andersen, R.A., Elsevier, USA, pp: 83-100.

Anonim, 1991. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Teknik Usuller Tebliği Ankara. Resmi Gazete, Tarih 7 Ocak 1991 Sayı: 20748.

Anonim, 1998. Uluabat Gölü. T.C. Çevre Bakanlığı Çevre Koruma Genel Müdürlüğü, 27 s.

Anonim, 1999. Uluabat Gölü ve Havzası'nda Çevre Etkileri, Projelerimiz ve Ramsar Uygulamaları. DSİ Bölge Müdürlüğü.

Anonim, 2003. Guidelines for safe recreational water environments: Coastal and fresh waters (Vol. 1). World Health Organization, Geneva, 220 pp.

Anonim, 2004. Su Kirliliği ve Kontrolü Yönetmeliği. 31 Aralık 2004 tarihli Resmi Gazete, No: 25687.

Anonim, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st edition. Section 10200 H.2., American Public Health Association.

Anonim, 2006. Guidelines for drinking-water quality. First addendum to third edition, volume 1: Recommendations. World Health Organization, Geneva, 60 pp.

Anonim, 2012. Method 10200 H Chlorophyll: Standard methods for the examination of water and wastewater, Ed.: Rice, E.W., Bridgewater, L., Association, A.P.H., American Public Health Association.

Anonim, 2013. Detection of Harmful Algal Toxins Using the Radioligand Receptor Binding Assay A Manual of Methods. International Atomic Energy Agency, Vienna, 55 pp.

Anonim, 2016a. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Su Yönetimi Genel Müdürlüğü Su Kalitesi Yönetimi Dairesi Başkanlığı, Uluabat Gölü Alt Havzası Su Kalitesi Eylem Planı, 38 s.

Anonim, 2016b. Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete, Tarihi: 10.08.2016, Sayı: 29797.

Anonim, 2019. National Center for Biotechnology Information. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>-(Erişim Tarihi: 03.12.2019).

Anonim, 2020a. Aquatic Microbial Ecology & Biotechnology Laboratory. <https://www.aquameb.org/>-(Erişim Tarihi: 06.01.2020).

Anonim, 2020b. Image J. <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>-(Erişim tarihi: 04.02.2020).

Arakawa, O., Noguchi, T., Shida, Y., Onoue, Y. 1994. Occurrence of carbamoyl-N-hydroxy derivatives of saxitoxin and neosaxitoxin in a xanthid crab *Zosimus aeneus*. *Toxicon*, 32(2): 175-183.

Arakawa, O., Nishio, S., Noguchi, T., Shida, Y., Onoue, Y. 1995. A new saxitoxin analogue from a xanthid crab *Atergatis floridus*. *Toxicon*, 33(12): 1577-1584.

Aráoz, R., Guérineau, V., Rippka, R., Palibroda, N., Herdman, M., Laprevote, O., von Döhren, H., Tandeau de Marsac, N., Erhard, M. 2008. MALDI-TOF-MS detection of the low molecular weight neurotoxins anatoxin-a and homoanatoxin-a on lyophilized and fresh filaments of axenic *Oscillatoria* strains. *Toxicon*, 51: 1308-1315.

Arment, A.R., Carmichael, W.W. 1996. Evidence that microcystin is a thio-template product. *J. Phycol.*, 32(4): 591-597.

Aronstam, R.S., Witkop, B. 1981. Anatoxin-a interactions with cholinergic synaptic molecules. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 78(7): 4639-4643.

Aysel, V., Gezerler-Şipal, U., Aysel, F., Erduğan, H., Türker, E. 2002. Barutçu Gölü'nün (Selçuk, İzmir, Türkiye) mikro ve makro algleri. *E.Ü. Su ürünleri Dergisi*, 19(1-2): 1-11.

Aysel, V. 2005. Check-list of the freshwater algae of Turkey. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 11(1): 1-124.

Azevedo, S.M.F.O., Carmichael, W.W., Jochimsen, E.M., Rinehart, K.L., Lau, S., Shaw, G.R., Eaglesham, G.K. 2002. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. *Toxicology*, 181: 441-446.

Backer, L.C., McNeel, S.V., Barber, T., Kirkpatrick, B., Williams, C., Irvin, M., Zhou, Y., Johnson, T. B., Nierenberg, K., Aabel, M., LePrell, R., Chapman, A., Foss, A., Corum, S., Hill, V.R., Kieszak, S.M. 2010. Recreational exposure to microcystins during algal blooms in two California lakes. *Toxicon*, 55(5): 909-921.

- Baker, J.A., B.A. Neilan, B. Entsch, McKay, D.B. 2001.** Identification of cyanobacteria and their toxigenicity in environmental samples by rapid molecular analysis. *Environ. Toxicol.*, 16: 472-482.
- Baker, J.A., B. Entsch, B.A. Neilan, McKay, D.B. 2002.** Monitoring changing toxigenicity of a cyanobacterial bloom by molecular methods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 6070-6076.
- Ballot, A., Sandvik, M., Rundberget, T., Botha, C. J., Miles, C.O. 2014.** Diversity of cyanobacteria and cyanotoxins in Hartbeespoort Dam, South Africa. *Mar. Freshwater Res.*, 65(2): 175-189.
- Banker, R., Carmeli, S., Hadas, O., Telsch, B., Porat, R., Sukenik, A. 1997.** Identification of Cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from lake Kinneret, Israel. *J. Phycol.*, 33: 613-16.
- Banker, R., Teltsch, B., Sukenik, A., Carmeli, S. 2000.** 7-Epicylindrospermopsin, a Toxic Minor Metabolite of the Cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from Lake Kinneret, Israel. *J. Nat. Prod.*, 63(3): 387-389.
- Banker, R., Carmeli, S., Werman, M., Teltsch, B., Porat, R., Sukenik, A. 2001.** Uracil moiety is required for toxicity of the cyanobacterial hepatotoxin cylindrospermopsin. *J. Toxicol. Environ. Health. PtA.*, 62: 281-288.
- Bartram, J., Chorus, I. 1999.** Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E & FN Spon, London and New York, 247 pp.
- Baytut, Ö., Gönülol, A., Arslan, N., Ersanlı, E. 2006.** The phytoplankton of Karabogaz Lake in Samsun, Turkey. *J. Fresh. Ecol.*, 21(2): 359-362.
- Bell, S.G., Codd, G.A. 1994.** Cyanobacterial toxins and human health. *Rev. Med. Microbiol.*, 5: 256-264.
- Berg, K., Skulberg, O.M., and Skulberg, R. 1987.** Effects of decaying toxic blue-green algae on water quality-A laboratory study. *Arch. Hydrobiol.*, 108:549-563.
- Bledsoe, E.L., Philips, E.J. 2000.** Relationships between phytoplankton standing crop and physical, chemical, and biological gradients in the Suwannee River and plume region, USA. *Estuaries*, 23(4): 458-473.
- Bolch, C.J.S., Blackburn, S.I. 1996.** Isolation and purification of Australian isolates of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kütz. *J. Appl. Phycol.*, 8(1): 5-13.
- Ballot A, Fastner J, Wiedner C. 2010.** Paralytic shellfish poisoning toxin producing cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* in northeast Germany. *Appl Environ Microbiol.*, 76(4): 1173-80.

Boopathi, T., Ki, J.S. 2014. Impact of environmental factors on the regulation of cyanotoxin production. *Toxins*, 6(7): 1951-1978.

Bouaïcha, N., Maatouk, I., Vincent, G., Levi, Y. 2002. A colorimetric and fluorimetric microplate assay for the detection of microcystin-LR in drinking water without preconcentration. *Food Chem. Toxicol.*, 40(11): 1677-1683.

Börner, T., Dittmann, E. 2005. Molecular Biology of Cyanobacterial Toxins: Harmful Cyanobacteria, Ed.: Huisman, J., Matthijs, H. C. P., Visser, P. M., Springer, The Netherlands, pp: 25-40.

Briand, J.F., Jacquet, S., Bernard, C., Humbert, J.F. 2003. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Veterinary research*, 34(4): 361-377.

Briand, J.F., Jacquet, S., Flinois, C., Avois-Jacquet, C., Maisonnette, C., Le Berre B., Humbert, J.F. 2005. Variations in the microcystin production of *Planktothrix rubescens* (cyanobacteria) assessed from a four-year survey of Lac du Bourget (France) and from laboratory experiments. *Microb. Ecol.*, 50: 418-28.

Briand, E., Gugger, M., François, J.C., Bernard, C., Humbert, J.F., Quiblier, C. 2008. Temporal variations in the dynamics of potentially microcystin-producing strains in a bloom-forming *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) population. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74: 3839-48.

Brient, L., Lengronne, M., Bertrand, E., Rolland, D., Sipel, A., Steinmann, D., Baudin, I., Legeas, M., Rouzic, B. L., Bormans, M. 2008. A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. *J. Environ. Monit.*, 10(2): 248-255.

Byth, S. 1980. Palm Island mystery disease. *Med. J. Aust.*, 2(1): 40-42.

Cadel-Six, S., Iteman, I., Peyraud-Thomas, C., Mann, S., Ploux, O., Mejean, A. 2009. Identification of a polyketide synthase coding sequence specific for anatoxin-a-producing *Oscillatoria* cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(14): 4909-4912.

Campbell, D.L., Lawton, L.A., Beattie, K.A., and Codd, G.A. 1994. Comparative assessment of the specificity of the brine shrimp and Microtox assays to hepatotoxic (microcystin-LR containing) cyanobacteria. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 9(1): 71-77.

Carmichael, W.W., Biggs, D.F., Gorham, P.R. 1975. Toxicology and pharmacological action of *Anabaena flos-aquae* toxin. *Science*, 187: 542-544.

Carmichael, W.W., Gorham, P.R. 1978. Anatoxins from clones of *Anabaena flos-aquae* isolated from lakes of western Canada. Experimental Use of Algal Culture in Limnology Symposium, 26-28 October 1976, Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie, Mittelungen, Sandefjord, Norway.

- Carmichael, W.W., Biggs, D.F., Peterson, M.A. 1979.** Pharmacology of anatoxin-a, produced by the freshwater cyanophyte *Anabaena fl osaquae* NRC-44-1. *Toxicon*, 17: 229-236.
- Carmichael, W.W. 1981.** Freshwater Blue-Green Algae (Cyanobacteria) Toxins-A Review: The Water Environment, Ed.: Carmichael, W.W., Plenum Press, New York, pp: 1-13.
- Carmichael, W.W. 1986.** Algal toxins: Advances in Botanical Research, Ed.: Callow, J.A., Academic Press, London, pp: 47-101.
- Carmichael, W.W., Beasley, V., Bunner, D.L., Eloff, J.N., Falconer, I., Gorham, P., Harada, K.I., Krishnamurthy, T., Yu, M.J., Moore, R.E., Rinehart, K., Runnegar, M., Skulberg, O.M., Watanabe, M. 1988.** Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*, 26(11): 971-973.
- Carmichael, W.W. 1989.** Freshwater cyanobacteria (blue-green algae) toxins: Natural toxins: Characterization, pharmacology and therapeutics, Pergamon Press, Oxford, pp: 3-16.
- Carmichael, W.W., Mahmood, N.A., Hyde, E.G. 1990.** Natural toxins from cyanobacteria (blue-green algae): *Marine Toxins: Origin, Structure, and Molecular Pharmacology*, Ed.: Hall, S., Strichartz, G., American Chemical Society, Washington, pp: 87-106.
- Carmichael, W.W. 1992a.** Cyanobacteria secondary metabolites-The cyanotoxins. *J. Appl. Bacteriol.*, 72(6): 445-459.
- Carmichael, W.W. 1992b.** A status report on planktonic Cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. U.S. Environmental Protection Agency, Report EPA/600/R-92/079.
- Carmichael, W.W. 1994.** The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, 270(1): 78-86.
- Carmichael, W.W. 1997.** The cyanotoxins. *Advances in botanical research*, 27: 211-256.
- Carmichael, W.W., Evans, W.R., Yin, Q.Q., Bell, P., Moczydlowsky, E. 1997.** Evidence for paralytic shellfish poisons in the freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) comb. nov. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(8): 3104-3110.
- Carmichael, W.W., An, J. 1999.** Using an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and a protein phosphatase inhibition assay (PPIA) for the detection of microcystins and nodularins. *Nat. Toxins*, 7: 377-385.
- Carmichael, W.W. 2001.** Health effects of toxin producing cyanobacteria: the 'CyanoHABS'. *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 7(5): 1393-1407.

Carmichael, W.W., Azevedo, S.M., An, J.S., Molica, R.J., Jochimsen, E.M., Lau, S., Rinehart, K.L., Shaw, G.R., Eaglesham, G.K. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: Chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environ. Health Perspect.*, 109(7): 663-668.

Carmichael, W.W., Yuan, M., Friday, C.F. 2004. Human mortality from accidental ingestion of toxic cyanobacteria-a case re-examined. Sixth International Conference on Toxic Cyanobacteria, Bergen.

Catterall, W.A. 1980. Neurotoxins that act on voltage-sensitive sodium channels in excitable membranes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 20: 15-43.

Cevik, M. 2004. Uluabat Lake Management Plan. Proceeding of the 9th International Living Lakes Conference, Global Nature Fund Publication, British Columbia, Canada.

Cheung, M.Y., Liang, S., Lee, J. 2013. Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: A review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. *J. Microbiol.*, 51(1): 1-10.

Chiswell, R.K., Shaw, G.R., Eaglesham, G., Smith, M.J., Norris, R.L., Seawright, A.A., Moore, M.R. 1999. Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 155-161.

Chorus, I., Bartram, J. 1999. Toxic Cyanobacteria in Water. A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management. WHO, E & FN Spon, London and New York, 247 pp.

Chorus, I. (ed.) 2001. Cyanotoxins: Occurrence, Causes, Consequences. Springer-Verlag, Berlin, 357 pp.

Christiansen, G., Fastner, J., Erhard, M., Börner, T. and Dittmann, E. 2003. Microcystin biosynthesis in *Planktothrix*: genes, evolution and manipulation. *Journal of Bacteriology*, 185(2): 564-572.

Christiansen, G., Kurmayer, R., Liu, Q., Börner, T. 2006. Transposons inactivate biosynthesis of the nonribosomal peptide microcystin in naturally occurring *Planktothrix* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(1): 117-123.

Christiansen, G., Molitor, C., Philmus, B., Kurmayer, R. 2008. Nontoxic strains of cyanobacteria are the result of major gene deletion events induced by a transposable element. *Mol. Biol. Evol.*, 25(8): 1695-1704.

Codd, G.A., Bell, S.G., Brooks, W.P. 1989. Cyanobacterial toxins in water. *Water Science and Technology*, 21(3): 1-13.

Codd, G.A. 1995. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Water Sci. Technol.*, 32(4): 149-156.

Codd, G.A., Metcalf, J.S., Beattie, K.A. 1999. Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. *Toxicon*, 37(8): 1181-1185.

Codd, G.A. 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological engineering*, 16(1): 51-60.

Codd, G.A., Lindsay, J., Young, F.M., Morrison, L.F., Metcalf, J.S. 2005. Harmful cyanobacteria: Harmful Cyanobacteria, Ed.: Huisman, J., Mathijs, H. C. P., Visser, P. M., Springer, The Netherlands, pp: 1-24.

Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J. 2003. Biomagnification of cyanobacterial neurotoxins and neurodegenerative disease among the Chamorro people of Guam. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(23): 13380-13383.

Cusick, K.D., Saylor, G.S. 2013. An overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions. *Mar. Drugs*, 11(4): 991-1018.

Çelik K. 2016. Zeytinli Deresi Kazdağları, Balıkesir fitoplanktonik organizmalarının mevsimsel değişimi ve bazı fizikokimyasal parametrelerle ilişkileri, *BAUN Fen Bil. Enst. Dergisi*, 18(2): 78-88.

Çetinkaya-Dönmez, G., Elmacı, A., Obalı, O., Öztürk, A., Çakmakçı, L. 1999. Isolation and abundance of unicellular Cyanobacteria from *Mosquito* development sites. *Tr. J. of Biology*, 23(4): 451-456.

Çınar, S., Küçükkara, R., Balık, I., Çubuk, H., Ceylan, M., Erol, K.G., Yeğen, V., Bulut, C. 2013. Uluabat (Apolyont) Gölü'ndeki Balık Faunasının Tespiti, Tür Kompozisyonu ve Ticari Avcılığın Türlerle Göre Dağılımı. *Journal of FisheriesSciences.com*, 7(4): 309-316.

Çiçek, N.L., Kalyoncu, H., Akköz, C., Ertan, Ö.O. 2010. Darıören Deresi ve Isparta Çayının (Isparta) epilitik algleri ve mevsimsel dağılımları. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 4(1):78-90.

Dadheech, P. K., Ballot, A., Casper, P., Kotut, K., Novelo, E., Lemma, B., Pröschold, T., Krienitz, L. 2010. Phylogenetic relationship and divergence among planktonic strains of *Arthrospira* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) of African, Asian and American origin deduced by 16S–23S ITS and phycocyanin operon sequences. *Phycologia*, 49(4): 361-372.

Dalkıran, N., Karacaoğlu, D., Dere, Ş., Şentürk, E., Çubuk, H. 2003. Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Faktörlerin Sığ Göl Sistemlerine Etkisi: Uluabat Göl Örneği. Türkiye'nin Kıta İçi Su Kaynaklarında Kirlilik Etkileri ve Çözüm Önerileri, Haziran 2003, İçmesuyu ve Kanalizasyon Dairesi Başkanlığı, Finike.

Dalkıran, N., Karacaoğlu, D., Dere, Ş., Şentürk, E., Torunoğlu, T. 2006. Factors Affecting The Current Status of a Eutrophic Shallow Lake (Lake Uluabat, Turkey): Relationships Between Water Physical and Chemical Variables. *Chem. Ecol.*, 22(4): 279-298.

Dalkıran, N., Karacaoğlu, N., Dere, Ş., Çınar, Ş., Bulut, C., Savaşer, S. 2016a. Uluabat Gölü fitoplanktonunun tür kompozisyonu ve zamansal-mekansal değişimi. *LimnoFish*, 2(3): 121-135.

Dalkıran, N., Zünbülçil, B., Karacaoğlu, D., Dere, Ş. 2016b. Uluabat Gölü Epifitik Diyatomlarının Uzun Dönemdeki Değişimi. *Limnofish*, 2(3): 153-163.

Davis, T.W., Berry, D.L., Boyer, G.L., Gobler, C.J. 2009. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful algae*, 8(5): 715-725.

Dechraoui Bottein, M.Y., Clausing, R.J. 2017. Receptor binding assay for the analysis of marine toxins: detection and mode of action: Recent Advances in the Analysis of Marine Toxins, Ed.: Diogène, J., Campàs, M., Elsevier, New York, USA, pp: 277-303.

De Figueiredo, D.R., Azeiteiro, U.M., Esteves, S.M., Gonçalves, F.J.M., Pereira, M.J. 2004. Microcystin-producing blooms-a serious global public health issue. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59(2): 151-163.

De Figueiredo, D.R., Alves, A., Pereira, M.J., Correia, A. 2010. Molecular characterization of bloom-forming *Aphanizomenon* strains isolated from Vela Lake (Western Central Portugal). *J. Plankton Res.*, 32(2): 239-252.

De la Cruz, A.A., Hiskia, A., Kaloudis, T., Chernoff, N., Hill, D., Antoniou, M.G., He, X., Loftin, K., O'Shea, K., Zhao, C., Pelaez, M., Han, C., Lynch, T.J., Dionysiou, D.D. 2013. A review on cylindrospermopsin: the global occurrence, detection, toxicity and degradation of a potent cyanotoxin. *Environ. Sci. Processes Impacts*, 15(11): 1979-2003.

De Oliveira, E.D.C., Da Cunha, A.C., Da Silva, N.B., Castelo-Branco, R., Morais, J., Schneider, M.P.C., Faustino, S.M.M., Ramos, V., Vasconcelos, V. 2019. Morphological and molecular characterization of cyanobacterial isolates from the mouth of the Amazon River. *Phytotaxa*, 387(4): 269-288.

Demir, A.O., E. Aksoy, T. Torunoğlu. 1998. Uluabat Gölü'nün Çevresel sorunları ve Çözüm Önerileri. T.C. Bursa Büyükşehir Belediyesi Yerel Gündem 21 Genel Sekreterliği Uluabat Çalışma Grubu, 25 s.

DeMott, W.R., Zhang, Q.X., Carmichael, W.W. 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 36(7): 1346-1357.

- Devlin, J.P., Edwards, O.E., Gorham, P.R., Hunter, N.R., Pike, R.K., Stavric, B. 1977.** Anatoxin-a, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NRC-44h. *Canadian Journal of Chemistry*, 55(8): 1367-1371.
- Dias, E., Pereira, P., Franca, S. 2002.** Production of paralytic shellfish toxins by *Aphanizomenon* sp. LMECYA 31 (Cyanobacteria). *J. Phycol.*, 38(4): 705-712.
- Ding, W.X., Nam Ong, C. 2006.** Role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity. *FEMS Microbiol. Lett.*, 220(1): 1-7.
- Dittmann, E., Meissner, K., Börner, T. 1996.** Conserved sequences of peptide synthetase genes in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Phycologia*, 35(6): 62-67.
- Dittmann, E., Neilan, B.A., Erhard, M., von Döhren, H., Börner, T. 1997.** Insertional mutagenesis of a peptide synthetase gene that is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Molecular Microbiology*, 26(4): 779-787.
- Dittmann, E., Erhard, M., Kaebernick, M., Scheler, C., Neilan, B.A., von Döhren, H., Börner, T. 2001.** Altered expression of two light-dependent genes in a microcystin-lacking mutant of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Microbiology*, 147(11): 3113-3119.
- Dörr, F.A., Pinto, E., Soares, R.M., Azevedo, S.M.F.O., 2010.** Microcystins in South American aquatic ecosystems: occurrence, toxicity and toxicological assays. *Toxicon*, 56(7): 1247-1256.
- Duy, T.N., Lam, P.K.S., Shaw, G.R., Connell, D.W. 2000.** Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water: Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Ed.: Ware, G.W., Springer, USA, pp: 113-185.
- Dyble, J., Fahnenstiel, G.L., Litaker, R.W., Millie, D.F., Tester, P.A. 2008.** Microcystin concentrations and genetic diversity of *Microcystis* in the lower Great Lakes. *Environ. Toxicol.*, 23(4): 507-516.
- Edgar, R.C. 2004.** MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.*, 32(5): 1792-1797.
- Edwards, C., Beattie, K.A., Scrimgeour, C.M., Codd, G.A. 1992.** Identification of anatoxin-a in benthic cyanobacteria (blue-green algae) and in associated dog poisonings at Loch Insh, Scotland. *Toxicon*, 30(10): 1165-1175.
- Elder, G., Hunter, P., Codd, G. 1993.** Hazardous freshwater cyanobacteria (blue-green algae). *The Lancet*, 341(8859): 1519-1520.
- Elmacı, A., Obalı, O. 1998.** Akşehir Gölü kıyı bölgesi alg florası. *Tr.J. of Biology*, 22: 81-98.

- Elmacı, A., Ozengin, N., Teksoy, A., Topac, F.O., Baskaya, H.S. 2009.** Evaluation of trophic state of lake Uluabat, Turkey. *J. Environ. Biol.*, 30(5): 757-760.
- Elmacı, A., Topaç, F.O., Teksoy, A., Özengin, N., Başkaya, H.S. 2010.** Uluabat Gölü fizikokimyasal özelliklerinin yönetmelikler çerçevesinde değerlendirilmesi. *UÜMFD*, 15(1): 149-157.
- El-Shehawy, R., Gorokhova, E., Fernandez-Pinas, F., del Campo, F.F. 2012.** Global warming and hepatotoxin production by cyanobacteria: What can we learn from experiments?. *Water Research*, 46(5): 1420-1429.
- Eriksson, J., Grönberg, L., Nygård, S., Slotte, J.P., Meriluoto, J.A.O. 1990.** Hepatocellular uptake of ³H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembranes*, 1025(1): 60-66.
- Ersanlı, E., Gönülol, A. 2006.** A study on the phytoplankton of Lake Simenit, Turkey. *Cryptogamie, Algol.*, 27(3): 289-305.
- Ersanlı, E., Gönülol, A., Şehirli, H., Baytut, Ö. 2006.** The phytoplankton of Lake Akgöl, Turkey. *J. Fresh Ecol.*, 21(3): 523-526.
- Faassen, E., Lürling, M. 2013.** Occurrence of the microcystins MC-LW and MC-LF in Dutch surface waters and their contribution to total microcystin toxicity. *Marine drugs*, 11(7): 2643-2654.
- Fahnenstiel, G.L., Millie, D.F., Dyble, J., Litaker, R.W., Tester, P.A., McCormick, M.J., Rediske, R., Klarer, D. 2008.** Microcystin concentrations and cell quotas in Saginaw Bay, Lake Huron. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 11(2): 190-195.
- Fakioğlu, Ö., Atamanalp, Ö., Demir, N. 2011.** Baraj göllerinde toksik mavi-yeşil algler. *Ankara Üniv. Çevre Bilimleri Dergisi*, 3(2): 65-71.
- Falconer, I.R., Beresford, A.M., Runnegar, M.T. 1983.** Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *Med. J. Aust.*, 1(11): 511-514.
- Falconer, I., Choice, A., Hosja, W. 1992.** Toxicity of edible mussels (*Mytilus edulis*) growing naturally in an estuary during a water bloom of the blue-green alga *Nodularia spumigena*. *Environmental toxicology and water quality*, 7(2): 119-123.
- Falconer, I.R., Yeung, D.S. 1992.** Cytoskeletal changes in hepatocytes induced by *Microcystis* toxins and their relation to hyperphosphorylation of cell proteins. *Chem. Biol. Interact.* 81(1-2): 181-196.
- Falconer, I.R. 1993.** Measurement of toxins from blue-green algae in water and foodstuffs: *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*, Ed.: Falconer, I.R., Academic Press, London, pp: 165-175.

- Falconer, I.R. 1996.** Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, 35(6): 6-11.
- Falconer, I.R. 1998.** Algal toxins and human health: The Handbook of Environmental Chemistry, Vol. 5, Part C Quality and Treatment of Drinking Water II, Ed.: Hrubec, J., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp: 53-82.
- Falconer, I.R. 1999.** An overview of problems caused by toxic blue-green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 5-12.
- Falconer, I.R. 2005.** Cyanobacterial Toxins of Drinking Water Supplies: Cylindrospermopsins and Microcystins. CRC Press, Boca Raton London New York Washington, 291 pp.
- Falconer, I.R., Humpage, A.R. 2005.** Health risk assessment of cyanobacterial (blue-green algal) toxins in drinking water. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 2(1): 43-50.
- Falconer, I.R., Humpage, A.R. 2006.** Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: Cylindrospermopsins. *Environ. Toxicol.*, 21(4): 299-304.
- Felsenstein, J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4): 783-791.
- Fergusson, K.M., Saint, C.P. 2003.** Multiplex PCR assay for *Cylindrospermopsis raciborskii* and cylindrospermopsin-producing cyanobacteria. *Environ Toxicol.*, 18(2): 120-125.
- Ferreira, F.M.B., Soler, J.M.F., Fidalgo, M.L., Fernández-Vila, P. 2001.** PSP toxins from *Aphanizomenon flos-aquae* (cyanobacteria) collected in the Crestuma-Lever reservoir (Douro River, Northern Portugal). *Toxicon*, 39(6): 757-61.
- Feurstein, D., Holst, K., Fischer, A., Dietrich, D.R. 2009.** Oatp-associated uptake and toxicity of microcystins in primary murine whole brain cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 234(2): 247-255.
- Fewer, D., Rouhiainen, L., Jokela, J., Wahlsten, M., Laakso, K., Wang, H., Sivonen, K. 2007.** Recurrent adenylation domain replacement in the microcystin synthetase gene cluster. *BMC Evol. Biol.*, 7, 1-11.
- Fewer, D.P., Halinen, K., Sipari, H., Bernardová, K., Mänttari, M., Eronen, E., Sivonen, K. 2011.** Non-autonomous transposable elements associated with inactivation of microcystin gene clusters in strains of the genus *Anabaena* isolated from the Baltic Sea. *Environ. Microbiol. Rep.*, 3(2): 189-194.
- Fischer, W.J., Garthwaite, I., Miles, C.O., Ross, K.M., Aggen, J.B., Chamberlin, A.R., Towers, N.R., Dietrich, D.R. 2001.** Congener-independent immunoassay for microcystins and nodularins. *Environ. Sci. Technol.*, 35(24): 4849-4856.

- Fischer, A., Hoeger, S.J., Stemmer, K., Feurstein, D.J., Knobeloch, D., Nussler, A., Dietrich, D.R. 2010.** The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of different microcystin congeners *in vitro*: A comparison of primary human hepatocytes and OATP-transfected HEK293 cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 245(1): 9-20.
- Fogg, G.E. 1969.** The physiology of an algal nuisance. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 173(1031): 175-189.
- Foss, A.J., Philips, E.J., Yilmaz, M., Chapman, A. 2012.** Characterization of paralytic shellfish toxins from *Lyngbya wollei* dominated mats collected from two Florida springs. *Harmful Algae*, 16: 98-107.
- Fox, G.E., Wisotzkey, J.D., Jurtshuk JR, P. 1992.** How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 42(1): 166-170.
- Francis, G. 1878.** Poisonous Australian lake. *Nature*, 18: 11-12.
- Frost, J., Philips, E., Fulton, I., Schelske, C., Kenney, W., Cichra, M. 2008.** Temporal trends of trophic state variables in a shallow hypereutrophic subtropical lake, Lake Griffin, Florida, USA. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, 172(4): 263-271.
- Funari, E., Testai, E. 2008.** Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Critical reviews in toxicology*, 38(2): 97-125.
- Gee, C.E., Mansuy, I.M. 2005.** Protein phosphatases and their potential implications in neuroprotective processes. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS*, 62(10):1120-1130.
- Gezerler-Şipal U., Balık S., Ustaoğlu M.R. 1996.** İkizgölün (Bornova, İzmir) mikro ve makro alg florası. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 13(1-2): 183-190.
- Girgin, S., Kazancı, N., Dügel, M. 2004.** On the limnology of deep and saline Lake Burdur in Turkey. *Acta Hydrochim Hydrobiol.*, 32(3): 189-200.
- Gkelis, S., Rajaniemi, P., Vardaka, E., Moustaka-Gouni, M., Lanaras, T., Sivonen, K. 2005a.** *Limnothrix redekei* (Van Goor) Meffert (Cyanobacteria) strains from Lake Kastoria, Greece form a separate phylogenetic group. *Microbial Ecology*, 49(1): 176-182.
- Gkelis, S., Harjunpää, V., Lanaras, T., Sivonen, K. 2005b.** Diversity of hepatotoxic microcystins and bioactive anabaenopeptins in cyanobacterial blooms from Greek freshwaters. *Environ. Toxicol.*, 20(3): 249-256.
- Gkelis, S., Zaoutsas, N. 2014.** Cyanotoxin occurrence and potentially toxin producing cyanobacteria in freshwaters of Greece: A multi-disciplinary approach. *Toxicon*, 78: 1-9.

Gönülol, A. 1993. Bafra Balık Gölleri (Balık Gölü, Uzun Göl) bentik alg florası. *İ.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 1-2: 31-56.

Götz, J., Probst, A., Mistl, C., Nitsch, R.M., Ehler, E. 2000. Distinct role of protein phosphatase 2A subunit α in the regulation of E-cadherin and β -catenin during development. *Mech. Dev.*, 93(1-2): 83-93.

Graham, J.L., Jones, J.R., Jones, S.B., Downing, J.A., Clevenger, T.E. 2004. Environmental factors influencing microcystin distribution and concentration in the Midwestern United States. *Water research*, 38(20): 4395-4404.

Graham, J.L., Loftin, K.A., Meyer, M.T., Ziegler, A.C. 2010. Cyanotoxin mixtures and taste-and-odor compounds in cyanobacterial blooms from the Midwestern United States. *Environ Sci Tech.*, 44(19): 7361-7368.

Gregor, J., Maršálek, B., Šípková, H. 2007. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by in vivo fluorescence method. *Water Research*, 41(1): 228-234.

Griffiths, D.J., Saker, M.L. 2003. The Palm Island mystery disease 20 years on: a review of research on the cyanotoxin cylindrospermopsin. *Environ. Toxicol.*, 18(2): 78-93.

Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B., El Ghissassi, F., Coglianò, V, WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. 2006. Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *Lancet Oncol.*, 7(8): 628-629.

Gugger, M., Lenoir, S., Berger, C., Ledreux, A., Druart, J.C., Humbert, J.F., Guette, C., Bernard, C. 2005. First record in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon*, 45(7): 919-28.

Guiry, M.D., Guiry, G.M. 2020. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>-(Erişim tarihi: 24.01.2020).

Gupta, N., Pant, S.C., Vijayaraghavan, R., Rao, P.L. 2003. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice. *Toxicology*, 188(2-3): 285-296.

Guzmán-Guillén, R., Prieto, A.I., Vasconcelos, V.M., Cameán, A.M. 2013. Cyanobacterium producing cylindrospermopsin cause oxidative stress at environmentally relevant concentrations in sub-chronically exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 90(3): 1184-1194.

Gürbüz, F., Metcalf, J.S., Karahan, A.G., Codd, G.A. 2009. Analysis of dissolved microcystins in surface water samples from Kovada Lake, Turkey. *Science of the Total Environment*, 407(13): 4038-4046.

Gürbüz, F., Gülle, İ., Akçaalan, R., Albay, M., 2010. Toxicity Assessment of *Microcystis aeruginosa* Bloom in Eğirdir Lake (Turkey), The 8th International Conference on Toxic Cyanobacteria (ICTC8), 29 Ağustos-4 Eylül, İstanbul.

Gürbüz, F., Metcalf, J.S., Codd, G.A., Karahan, A.G. 2012. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for the determination of microcystins in cyanobacteria. *Environmental Forensics*, 13(2): 105-109.

Gürbüz, F., Uzunmehmetoğlu, O.Y., Diler, Ö., Metcalf, J.S., Codd, G.A. 2016. Occurrence of microcystins in water, bloom, sediment and fish from a public water supply. *Science of The Total Environment*, 562: 860-868.

Hackett, J.D., Wisecaver, J.H., Brosnahan, M.L., Kulis, D.M., Anderson, D.M., Bhattacharya, D., Plumbey, F.G., Erdner, D.L. 2012. Evolution of saxitoxin synthesis in cyanobacteria and dinoflagellates. *Molecular biology and evolution*, 30(1): 70-78.

Harada, K.I., Othani, I., Iwamoto, K., Suzuki, M., Watanabe, M.F., Watanabe, M., Terao, K. 1994. Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method. *Toxicon*, 32(1): 73-84.

Harada, K.i, Tsuji, K., Watanabe, M.F., Kondo, F. 1996. Stability of microcystins from cyanobacteria-effect of pH and temperature. *Phycologia*, 35(6): 83-88.

Harding, W.R., Paxton, B.R. 2001. Cyanobacteria in South Africa: A review. Pretoria, Water Research Commission, Africa, 173 pp.

Hawkins, P.R., Runnegar, M.T.C., Jackson, A.R.B., Falconer, I.R. 1985. Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic supply reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50(5): 1292-1295.

Heisler, J., Glibert, P.M., Burkholder, J.M., Anderson, D.M., Cochlan, W., Dennison, W.C., Dortch, Q., Gobler, J.C., Heil, C.A., Humphries, E., Lewitus, A., Magnien, R., Marshall, H.G., Sellner, K., Stockwell, D.A., Stoecker, D.K., Suddleson, M. 2008. Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. *Harmful Algae*, 8(1): 3-13.

Heresztyn T, Nicholson B.C. 2001. Determination of cyanobacterial hepatotoxins directly in water using a protein phosphatase inhibition assay. *Water Research.*, 35(13): 3049-3056.

Hermansky, S.J., Wolff, S.N., Stohs, S.J. 1990. Use of Rifampin as an effective chemoprotectant and antidote against microcystin-LR toxicity. *Pharmacology*, 41(4): 231-236.

- Hesse, K., Dittmann, E., Börner, T. 2001.** Consequences of impaired microcystin production for light-dependent growth and pigmentation of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *FEMS Microbiology Ecology*, 37(1): 39-43.
- Hisbergues, M., Christiansen, G., Rouhiainen, L., Sivonen, K., Börner, T. 2003.** PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Arch Microbiol.*, 180(6): 402-410.
- Hitzfeld, B.C., Höger, S.J., Dietrich, D.R. 2000.** Cyanobacterial toxins: Removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental health perspectives*, 108(1): 113-122.
- Honkanan, R.E., Codispoti, B.A., Tse, K.T., Boynton, A. 1994.** Characterization of natural toxins with inhibitory activity against serine/threonine protein phosphatases. *Toxicon*, 32(3): 339-350.
- Hooser, S.B., Kuhlenschmidt, M.S., Dahlem, A.M., Beasley, V.R., Carmichael, W.W., Haschek, W.M. 1991.** Uptake and subcellular-localization of tritiated dihydro-microcystin-LR in rat-liver. *Toxicon*, 29(6): 589-601.
- Hrudey, S.E., Kenefick, S.L., Lambert, T.W., Kotak, B.G., Prepas, E.E., Holmes, C.F. 1994.** Sources of uncertainty in assessing the health risk of cyanobacterial blooms in drinking water supplies. *Special Publication-Royal Society of Chemistry*, 149(1): 122-122.
- Hudnell, H.K. 2010.** The state of us freshwater harmful algal blooms assessments, policy and legislation. *Toxicon*, 55(5): 1024-1034.
- Huisman, J.M., Matthijs, H.C.P., Visser, P.M. 2005.** Harmful Cyanobacteria. Springer Aquatic Ecology Series 3. Dordrecht, Springer, the Netherlands, 241 pp.
- Humbert, J.F., Bérard, A., Leboulanger, C. 2001.** Impact écologique des cyanobactéries des eaux douces et saumâtres: *Toxines d'algues dans l'alimentation*, Ed.: Frémy, J.M., Lassus, J.M., Ifremer Edition, Paris, pp: 89-108.
- Humbert, J.F. 2009.** Toxins of Cyanobacteria: Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents, Ed.: Gupta, R. C., Academic Press, pp: 371-379.
- Humpage, A.R., Rositano, J., Bretag, A.H., Brown, R., Baker, P.D., Nicholson, B.C., Steffensen, D.A. 1994.** Paralytic shellfish poisons from Australian cyanobacterial blooms. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.*, 45(5): 761-771.
- Humpage, A.R., Fenech, M., Thomas, P., Falconer, I.R. 2000.** Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutat. Res.*, 472(1-2): 155-61.

Hutchinson, G.E. 1957. A Treatise on Limnology. V. 1, Geology, Physics and Chemistry. New York, NY, USA: Wiley.

Hyde, E.G., Carmichael, W.W. 1991. Anatoxin-a(s), a naturally occurring organophosphate, is an irreversible active site-directed inhibitor of acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7). *J. Biochem. Toxicol.*, 6(3): 195-201.

Ikawa, M., Wegener, K., Foxall, T.L., Sasner, J.J. 1982. Comparison of the toxins of the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae* with the *Gonyaulax* toxins. *Toxicon*, 20(4): 747-752.

Iteman, I., Rippka, R., Tandeau de Marsac, N., Herdman, M. 2000. Comparison of conserved structural and regulatory domains within divergent 16S rRNA–23S rRNA spacer sequences of cyanobacteria. *Microbiology*, 146: 1275-1286.

Izaguirre, G., Taylor, W.D. 2004. A guide to geosminand MIB-producing cyanobacteria in the United States. *Water Sci. Technol.*, 49(9): 19-24.

İleri, S. 2010. The assessment of physico-chemical parameters and geographic information system analysis of water and sediment quality of Lake Uluabat in terms of environment (in Turkish). MSc Thesis, Uludag University, Institute of Science, Bursa, Turkey.

İleri, S., Karaer, F., Kâtip, A., Sonay, O. 2014. Sığ Göllerde Su Kalitesi Değerlendirmesi, Uluabat Gölü Örneği. *UÜMFD*, 19(1): 47-57.

Jähnichen, S., Ihle, T., Petzoldt, T., Benndorf, J. 2007. Impact of inorganic carbon availability on microcystin production by *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(21): 6994-7002.

James, H.R., Birge, E.A. 1938. A laboratory study of the absorption of light by lake waters. *Trans. Wis. Acad. Sci. Arts Lett.*, 31:1-154.

James, R., Gregg, A., Dindal, A., McKernan, J., 2010. Environmental technology verification report. Abraxis microcystin test kits. Battelle/US EPA Advanced Monitoring Systems Center Technical Report, Battelle, US.

Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. 1997. Development of pigment methods for oceanography: SCOR-supported Working Groups and objectives: Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods, Ed.: S.W. Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W., UNESCO, Paris, France, pp: 19-36.

Jiang, Y., Xiao, P., Yu, G., Sano, T., Pan, Q., Li, R. 2012. Molecular basis and phylogenetic implications of deoxycylindrospermopsin biosynthesis in the cyanobacterium *Raphidiopsis curvata*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(7): 2256-2263.

- Jimenez, C., Cossio, B.R., Labella, D., Niell, F.X. 2003.** The feasibility of industrial production of *Spirulina (Arthrospira)* in Southern Spain. *Aquaculture*, 217(1-4): 179-190.
- Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E., Antunes, M.B., Filho, D.A. de M., Lyra, T.M., Barreto, V.S.T., Azevedo, S.M.F.O., Jarvis, W.R. 1998.** Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N. Engl. J. Med.*, 338(13): 873-878.
- John, D.M., Whitton, B.A., Brook, A.J. 2003.** The freshwater algal flora of the British Isles. Cambridge University Press, Cambridge, 702 pp.
- Joslyn, M.A., Mackinney, G. 1938.** The Rate of Conversion of Chlorophyll to Pheophytin. *J. Am. Chem. Soc.*, 60(5): 1132-1136.
- Joung, S.H., Oh, H.M., Ko, S.R., Ahn, C.Y. 2011.** Correlations between environmental factors and toxic and non-toxic *Microcystis* dynamics during bloom in Daechung Reservoir, Korea. *Harmful Algae*, 10(2): 188-193.
- Jüttner, F., Lüthi, H. 2008.** Topology and enhanced toxicity of bound microcystins in *Microcystis* PCC 7806. *Toxicon*, 51(3): 388-397.
- Kaas, H., Henriksen, P. 2000.** Saxitoxins (PSP toxins) in Danish lakes. *Water Res.*, 34(7): 2089-2097.
- Kabziński, A., Juszczak, R., Miękoś, E., Tarczyńska, M., Sivonen, K., Rapala, J. 2000.** The first report about the presence of cyanobacterial toxins in Polish lakes. *Pol. J. Environ. Stud.*, 9(3): 171.
- Kaebernick, M., Neilan, B.A. 2001.** Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 35(1): 1-9.
- Kaebernick, M., Rohrlack, T., Christoffersen, K., Neilan, B.A. 2001.** A spontaneous mutant of microcystin biosynthesis: genetic characterization and effect on *Daphnia*. *Environ. Microbiol.*, 3(11): 669-679.
- Kaebernick, M., Dittmann, E., Börner, T., Neilan, B.A. 2002.** Multiple alternate transcripts direct the biosynthesis of microcystin, a cyanobacterial nonribosomal peptide. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(2): 449-455.
- Kaminski, A., Bober, B., Lechowski, Z., Bialczyk, J. 2013.** Determination of anatoxin-a stability under certain abiotic factors. *Harmful Algae*, 28: 83-87.
- Kaplan, A., Harel, M., Kaplan-Levy, R.N., Hadas, O., Sukenik, A., Dittmann, E. 2012.** The languages spoken in the water body (or the biological role of cyanobacterial toxins). *Front. Microbiol.*, 3:138.

Karacaoğlu, D., Dere, Ş., Dalkıran, N. 2004. A taxonomic study on the phytoplankton of lake Uluabat (Bursa). *Turk. J. Bot.*, 28(5): 473-485.

Karacaoğlu, D., Dalkıran, N., Dere, Ş. 2006. Factors affecting the phytoplankton diversity and richness in a shallow eutrophic lake in Turkey. *J. Fresh. Ecol.*, 21(4): 575-581.

Karan, T., Erenler, R., Altuner, Z. 2017. Isolation and Molecular identification of some blue-green algae (cyanobacteria) from freshwater sites in Tokat province of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(11): 1371-1378.

Karaer, F., Aksoy, E., Soyupak, S., Muhammetoğlu, A., Şentürk, E., Aydoğan, N. 2011. Uluabat Gölü su kalitesinin modellenmesinde ağır metal ve bazı iz elementlerin değerlendirilmesi. TÜBİTAK 107Y278 nolu projesi.

Karafistan, A., Arik-Colakoglu, F. 2005. Physical, chemical and microbiological water quality of the Manyas lake, Turkey. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 10(1): 127-143.

Karl, D., Michaels, A., Bergman, B., Capone, D., Carpenter, E., Letelier, R., Lipschultz, F., Paerl, H., Sigman, D., Stal, L. 2002. Dinitrogen fixation in the world's oceans: The Nitrogen Cycle at Regional to Global Scales, Ed.: Boyer, E.W., Howarth, R.W., Springer, Dordrecht, pp: 47-98.

Kâtip, A. 2010. Uluabat Gölü Su Kalitesinin İzlenmesi. Doktora Tezi, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

Kâtip, A., Karaer, F. 2011. Uluabat Gölü Su Kalitesinin Türk Mevzuatına ve Uluslararası Kriterlere Göre Değerlendirilmesi. *UÜMFD*, 16(2): 25-34.

Katip, A., Ileri, S., Karaer, F., Onur, S. 2015. Determination of the trophic state of Lake Uluabat (Bursa-Turkey). *Ekoloji*, 24(97): 24-35.

Kaushik, R., Balasubramanian, R. 2013. Methods and approaches used for detection of cyanotoxins in environmental samples: a review. *Critical reviews in environmental science and technology*, 43(13): 1349-1383.

Kazancı, N., Leroy, S., Ileri, Ö., Emre, Ö., Kibar, M., Öncel, S. 2004. Late holocene erosion in NW Anatolia from sediments of lake Manyas, lake Ulubat and the Southern shelf of the Marmara Sea, Turkey. *Catena*, 57(3): 277-308.

Kazancı, N., Toprak, Ö., Leroy, S.A.G., Öncel, S., Ileri, Ö., Emre, Ö., Costa, P., Erturaç, K., McGee, E. 2006. Boron content of Lake Ulubat sediment: A key to interpret the morphological history of NW Anatolia Turkey. *Applied Geochemistry*, 21(1): 134-151.

- Kellmann, R., Mills, T., Neilan, B.A. 2006.** Functional modeling and phylogenetic distribution of putative cylindrospermopsin biosynthesis enzymes. *J. Mol. Evol.*, 62(3): 267-280.
- Kellmann, R., Neilan, B.A. 2007.** Biochemical characterization of paralytic shellfish toxin biosynthesis in vitro. *J. Phycol.*, 43(3): 497-508.
- Kellmann, R., Mihali, T.K., Jeon, Y.J., Pickford, R., Pomati, F., Neilan, B.A. 2008a.** Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(13): 4044-4053.
- Kellmann, R., Michali, T., Neilan, B.A. 2008b.** Identification of a saxitoxin biosynthesis gene with a history of frequent horizontal gene transfers. *J. Mol. Evol.*, 67(5): 526-538.
- Kızılkaya, I.T., Demirel, Z., Kesici, K., Kesici, E., Sukatar, A. 2016.** Morphological, Molecular and Toxicological Characterization of *Nodularia spumigena* Mertens in Jungens (1822) from Brackishwater Lake Bafa (Turkey). *Sinop Uni. J. Nat. Sci.*, 1(1): 39-52.
- Kimura, M. 1980.** A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16(2): 111-120.
- Kinnear, S.H.W., Duivenvoorden, L.J., Fabbro, L.D. 2009.** Ecotoxicity and Bioaccumulation of Toxin from *Cylindrospermopsis raciborskii* Towards the Development of Environmental Protection Guidelines for Contaminated Water Bodies: In Lake Pollution Research Progress, Ed.: Miranda, F.R., Bernards, L.M., Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, pp: 81-105.
- Kocasari, F.S., Gulle, I., Kocasari, S., Pekmaya, S., Mor, F. 2015.** The occurrence and levels of cyanotoxin nodularin from *Nodularia spumigena* in the alkaline and salty Lake Burdur, Turkey. *J. Limnol.*, 74(3): 530-536.
- Komárek, J., Anagnostidis, K. 1999.** Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 19/1. Cyanoprokaryota. 1.Teil. Chroococcales. Gustav Fischer Jena Stuttgart, Villengang, 548 pp.
- Komárek, J., Anagnostidis, K. 2005.** Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 19/2 Cyanoprokaryota 2.Teil/ 2nd Part. Oscillatoriales. Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 758 pp.
- Komárek, J., Komárková, J. 2006.** Diversity of Aphanizomenon-like cyanobacteria. *Czech Phycol.*, 6(1): 1-32.
- Komárek, J. 2013.** Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 19/3 Cyanoprokaryota 3.Teil/Part 3. Heterocytous Genera. Springer Spektrum Akademischer Verlag, Berlin, 1131 pp.

- Kondo, R., Yoshida, T., Yuki, Y., Hiroishi, S. 2000.** DNA-DNA reassociation among a bloom-forming cyanobacterial genus, *Microcystis*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 50(2): 767-770.
- Koreivienė, J., Belous, O. 2012.** Methods for cyanotoxins detection. *Botanica Lithuanica*, 18(1): 58-65.
- Köker, L., Akçaalan, R., Albay, M., Neilan, B.A. 2017a.** Molecular detection of hepatotoxic cyanobacteria in inland water bodies of the Marmara Region, Turkey. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1): 52-60.
- Köker, L., Akçaalan, R., Oğuz, A., Gaygusuz, O., Gürevin, C., Köse, C.A., Gucver, S., Karaaslan, Y., Erturk, A., Albay, M., Kınacı, C. 2017b.** Distribution of toxic cyanobacteria and cyanotoxins in Turkish waterbodies. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 18(2): 425-432.
- Kuiper-Goodman, T., Falconer, I.R., Fitzgerald, J. 1999.** Human Health aspects: Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to the their public health, monitoring and management, Ed.: Chorus, I., Bartram, J., WHO, E & FN SPON, London, pp: 113-153.
- Kurmayer, R., Kutzenberger, T. 2003.** Application of real-time PCR for quantification of microcystin genotypes in a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* sp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(11): 6723-6730.
- Kurmayer, R., Christiansen, G., Fastner, J., Börner, T. 2004.** Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environ. Microbiol.*, 6(8): 831-841.
- Kurmayer, R., Christiansen, G. 2009.** The genetic basis of toxin production in cyanobacteria. *Freshwater reviews*, 2(1): 31-50.
- Lammens, E.H., van den Berg, M. 2001.** *Evaluation of the ecological condition of lake Uluabat*. RIZA, The Netherlands.
- Lagos, N., Onodera, H., Zagatto, P.A., Andrinolo, D., Azevedo, S.M.F., Oshima, Y. 1999.** The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon*, 37(10): 1359-1373.
- Lawton, L.A., Edwards, C. 2001.** Purification of microcystins. *Journal of chromatography A*, 912(2): 191-209.
- Lawton L.A., Edwards C., 2008.** Conventional laboratory methods for cyanotoxins: Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs Advances in Experimental Medicine and Biology, Springer, New York, pp: 513-537.
- Lawton, L.A., Chambers, H., Edwards, C., Nwaopara, A.A., Healy, M. 2010.** Rapid detection of microcystins in cells and water. *Toxicon*, 55(5): 973-978.

Lepère, C., Wilmotte, A., Meyer, B. 2000. Molecular diversity of *Microcystis* strains (Cyanophyceae, Chroococcales) based on 16S rDNA sequences. *Systematics and Geography of Plants*, 70(2): 275-283.

Li, R., Carmichael, W.W., Brittain, S., Eaglesham, G.K., Shaw, G.R., Liu, Y., Watanabe, M.M. 2001. First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (Cyanobacteria). *J. Phycol.*, 37(6): 1121-1126.

Li, R., Carmichael, W.W., Pereira, P. 2003. Morphological and 16S rRNA gene evidence for reclassification of the paralytic shellfish toxin producing *Aphanizomenon flos-aquae* LMECYA 31 as *Aphanizomenon issatschenkoi* (Cyanophyceae). *J. Phycol.*, 39(4): 814-818.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, 148: 350-382.

Liikanen, A., Murtoniemi, T., Tanskanen, H. 2002. Effects of temperature and oxygen availability on greenhouse gas and nutrient dynamics in sediment of a eutrophic mid-boreal lake. *Biogeochemistry*, 59(3): 269-286.

Liu, Y., Tan, W., Wu, X., Wu, Z., Yu, G., Li, R. 2011. First report of microcystin production in *Microcystis smithii* Komárek and *Anagnostidis* (Cyanobacteria) from a water bloom in Eastern China. *J. Environ. Sci.*, 23(1): 102-107.

Lorenzen, C.J. 1967. Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: Spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, 12(2): 343-346.

Lürling, M., Faassen, E.J. 2013. Dog poisonings associated with a *Microcystis aeruginosa* bloom in the Netherlands. *Toxins*, 5(3): 556-567.

MacKintosh, C., Beattie, K.A., Klumpp, S., Cohen, P., Codd, G.A. 1990. Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Lett.*, 264(2): 187-192.

Magnin, G., Yarar, M. 1997. Important bird breeding areas in Turkey. DHKD (The Society for the Protection Nature) Anabası A.Ş., Istanbul, pp: 50-52.

Magalhães, V.F., Soares, R.M., Azevedo, S.M.F.O. 2001. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): Ecological implication and human health risk. *Toxicon*, 39(7):1077-1085.

Mahmood, N.A., Carmichael, W.W. 1986. Paralytic shelfish poisons produced by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* NH-5. *Toxicon*, 24(2): 175-86.

Mantzouki, E., Campbell, J., Van Loon, E., Visser, P., Konstantinou, I., Antoniou, M., ve ark. 2018. A European Multi Lake Survey dataset of environmental variables, phytoplankton pigments and cyanotoxins. *Scientific data*, 5: 180226.

- Marahiel, M.A., Stachelhaus, T., Mootz, H.D. 1997.** Modular peptide synthetases involved in nonribosomal peptide synthesis, *Chemical Reviews*, 97(7): 2651-2673.
- Marxen, K., Vanselow, K.H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., Hansen, U.P. 2005.** A photobioreactor system for computer controlled cultivation of microalgae. *J. Appl. Phycol.*, 17(6): 535-549.
- Matsunaga, S., Moore, R.E., Niemczura, W.P., Carmichael, W.W. 1989.** Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. *J. Am. Chem. Soc.*, 111(20): 8021-8023.
- Mazmouz, R., Chapuis-Hugon, F., Mann, S., Pichon, V., Méjean, A., Ploux, O. 2010.** Biosynthesis of cylindrospermopsin and 7-epicylindrospermopsin in *Oscillatoria* sp. strain PCC 6506: identification of the *cyr* gene cluster and toxin analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76(15): 4943-4949.
- Meißner, K., Dittmann, E., Börner, T. 1996.** Toxic and non-toxic strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* contain sequences homologous to peptide synthetase genes, *FEMS Microbiology Letters*, 135(2-3): 295-303.
- Méjean, A., Mann, S., Maldiney, T., Vassiliadis, G., Lequin, O., Ploux, O. 2009.** Evidence that biosynthesis of the neurotoxic alkaloids anatoxin-a and homoanatoxin-a in the cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506 occurs on a modular polyketide synthase initiated by L-proline. *Journal of the American Chemical Society*, 131(22): 7512-7513.
- Méjean, A., Paci, G., Gautier, V., Ploux, O. 2014.** Biosynthesis of anatoxin-a and analogues (anatoxins) in cyanobacteria. *Toxicon*, 91: 15-22.
- Meneely, J.P., Elliot, C.T. 2013.** Microcystins: measuring human exposure and the impact on human health. *Biomarkers*, 18(8): 639-649.
- Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., Thomas, O. 2013.** State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environ. Int.*, 59: 303-327.
- Metcalf, J.S., Codd, G.A. 2000.** Microwave oven and boiling waterbath extraction of hepatotoxins from cyanobacterial cells. *FEMS Microbiol. Lett.*, 184: 241-246.
- Metcalf, J.S., Bell, S.G., Codd, G.A. 2000.** Production of novel polyclonal antibodies against the cyanobacterial toxin microcystin-LR and their application for the detection and quantification of microcystins and nodularin. *Water Res.*, 34(10): 2761-2769.
- Metcalf, J.S., Bell, S.G., Codd, G.A. 2001.** Colorimetric immuno-protein phosphatase inhibition assay for specific detection of microcystins and nodularins of cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(2): 904-909.
- Metcalf J.S., Beattie K.A., Ressler J., Gerbersdorf S., Pflugmacher S., Codd G.A., 2002.** Cross-reactivity and performance assessment of four microcystin immunoassays

with detoxication products of the cyanobacterial toxin, microcystin-LR. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 51(3): 145–151.

Metcalf, J.S., Codd, G.A. 2004. Cyanobacterial toxins in the water environment: a review of current knowledge. Foundation for Water Research, Marlow, 36 pp.

Metcalf, J.S., Codd, G.A. 2012. Cyanotoxins: *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*, Ed.: Whitton, B. A., Springer Science+Business Media B.V., New York London, pp: 651-676.

Mihali, T.K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K.D., Neilan, B.A. 2008. Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(3): 716-722.

Mihali, T.K., Kellmann, R., Neilan, B.A. 2009. Characterisation of the paralytic shellfish toxin biosynthesis gene clusters in *Anabaena circinalis* AWQC131C and *Aphanizomenon* sp. NH-5. *BMC Biochemistry*, 10(1): 8.

Mihali, T.K., Carmichael, W.W., Neilan, B.A. 2011. A putative gene cluster from a *Lyngbya wollei* bloom that encodes paralytic shellfish toxin biosynthesis. *PLoS One*, 6(2): e14657.

Mikalsen, B., Boison, G., Skulberg, O.M., Fastner, J., Davies, W., Gabrielsen, T.M., Rudi, K., Jacobsen, K.S. 2003. Natural variation in the microcystin synthetase operon *mcvABC* and impact on microcystin production in *Microcystis* strains. *Journal of Bacteriology*, 185(9): 2774-2785.

Moffitt, M.C., Neilan, B.A. 2004. Characterization of the nodularin synthetase gene cluster and proposed theory of the evolution of cyanobacterial hepatotoxins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(11): 6353-6362.

Monks, N.R., Liu, S., Xu, Y., Yu, H., Bendelow, A.S., Moscow, J.A. 2007. Potent cytotoxicity of the phosphatase inhibitor microcystin LR and microcystin analogues in OATP1B1- and OATP1B3-expressing HeLa cells. *Mol. Cancer Ther.*, 6(2): 587-598.

Moorhead, G.B.G., Trinkle-Mulcahy L, Ulke-Lemée, A. 2007. Emerging roles of nuclear protein phosphatases. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 8: 234-244.

Moreira, C., Ramos, V., Azevedo, J., Vasconcelos, V. 2014. Methods to detect cyanobacteria and their toxins in the environment. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(19): 8073-8082.

Moustafa, A., Loram, J.E., Hackett, J.D., Anderson, D.M., Plumley, F.G., Bhattacharya, D. 2009. Origin of saxitoxin biosynthetic genes in cyanobacteria. *PloS one*, 4(6): e5758.

Msagati, T.A. M., Siame, B.A., Shushu, D.D. 2006. Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins. *Aquatic Toxicology*, 78(4): 382-397.

Muenchhoff, J., Siddiqui, K.S., Poljak, A., Raftery, M.J., Barrow, K.D., Neilan, B.A. 2010. A novel prokaryotic l-arginine: glycine amidinotransferase is involved in cylindrospermopsin biosynthesis. *The FEBS journal*, 277(18): 3844-3860.

Mullis, K.B. 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*, 262(4): 56-61.

Mur, L.R., Skulberg, O.M., Utkilen, H. 1999. Cyanobacteria in the environment: Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management, Ed.: Chorus, I., Bartram, J., E & FN Spon, London and New York, pp: 15-40.

Murray, S.A., Mihali, T.K., Neilan, B.A. 2011. Extraordinary conservation, gene loss, and positive selection in the evolution of an ancient neurotoxin. *Mol. Biol. Evol.*, 28(3): 1173-1182.

Nalewajko, C., Murphy, T.P. 2001. Effects of temperature, and availability of nitrogen and phosphorus on the abundance of *Anabaena* and *Microcystis* in Lake Biwa, Japan: an experimental approach. *Limnology*, 2(1): 45-48.

Nasri, A.B., Bouaïcha, N., Fastner, J. 2004. First report of a microcystin-containing bloom of the cyanobacteria *Microcystis* spp. in Lake Oubeira, Eastern Algeria. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 46(2): 197-202.

Negri, A.P., Jones, G.J. 1995. Bioaccumulation of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins from the cyanobacterium *Anabaena circinalis* by the freshwater mussel *Alathyria condola*. *Toxicon*, 33(5): 667-678.

Negri, A.P., Jones, G.J., Hindmarsh, M. 1995. Sheep mortality associated with paralytic shellfish poisons from the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *Toxicon*, 33(10): 1321-1329.

Neilan, B.A., Jacobs, D., Goodman, A.E. 1995. Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(11): 3875-3883.

Neilan B.A, Jacobs D., Del Dot, T., Blackall, L.L, Hawkins P.R, Cox P.T, Goodman AE. 1997. rRNA sequences and evolutionary relationships among toxic and nontoxic cyanobacteria of the genus *Microcystis*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47(3): 693-697.

Nelissen, B., De Baere, R., Wilmotte, A., De Wachter, R. 1996. Phylogenetic relationships of nonaxenic filamentous cyanobacterial strains based on 16S rRNA sequence analysis. *Journal of molecular evolution*, 42(2): 194-200.

- Nguyen, L.A.V., Tanabe, Y., Matsuura, H., Kaya, K., Watanabe, M.M. 2012.** Morphological, biochemical and phylogenetic assessments of water-bloom-forming tropical morphospecies of *Microcystis* (Chroococcales, Cyanobacteria). *Phycological research*, 60(3): 208-222.
- Nicholson B.C., Burch M.D. 2001.** Evaluation of analytical methods for detection and quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines, National Health and Medical Research Council of Australia, Canberra, 57 pp.
- Nishizawa, T., Asayama, M., Fujii, K., Harada, K., Shirai, M. 1999.** Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp. *J. Biochem.*, 126(3): 520-526.
- Nishizawa, T., Ueda, A., Asayama, M., Fujii, K., Harada, K.I., Ochi, K., Shirai, M. 2000.** Polyketide synthase gene coupled to the peptide synthetase module involved in the biosynthesis of the cyclic heptapeptide microcystin. *J. Biochem.*, 127(5): 779-789.
- Nogueira, I.C., Pereira, P., Dias, E., Pflugmacher, S., Wiegand, C., Franca, S., Vasconcelos, V.M. 2004.** Accumulation of paralytic shellfish toxins (PST) from the cyanobacterium *Aphanizomenon issatschenkoi* by the cladoceran *Daphnia magna*. *Toxicon*, 44(7): 773-780.
- Nonneman, D., Zimba, P.V. 2002.** A PCR-based test to assess the potential for microcystin occurrence in channel catfish production ponds. *J. Phycol.*, 38(1):230-233.
- Norris, R.L., Eaglesham, G.K., Pierens, G., Shaw, G.R., Smith, M.J., Chiswell, R.K., Seawright, A.A., Moore, M.R. 1999.** Deoxycylindrospermopsin, an analog of cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 163-165.
- Ohtani, I., Moore, R.E., Runnegar, M.T.C. 1992.** Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J. Am. Chem. Soc.*, 114(20): 7941-7942.
- Okamoto T., Okabe S. 2000.** Ultraviolet absorbance at 260 and 280 nm in RNA measurement is dependent on measurement solution. *Int. J. Mol. Med.*, 5(6): 657-659.
- Onodera, H., Satake, M., Oshima, Y., Yasumoto, T., Carmichael, W.W. 1997.** New saxitoxin analogues from the freshwater filamentous cyanobacterium *Lyngbya wollei*. *Nat. Toxins*, 5(4):146-151.
- Oshima, Y. 1995.** Postcolumn derivatization liquid chromatography method for paralytic shellfish toxins. *J. AOAC Int.*, 78: 528-32.
- Osswald, J., Rellan, S., Gago, A., Vasconcelos, V. 2007.** Toxicology and detection methods of the alkaloid neurotoxin produced by cyanobacteria, anatoxin-a. *Environ. Int.*, 33(8): 1070-1089.

Otsuka, S., Suda, S., Li, R., Matsumoto, S., Watanabe, M.M. 2000. Morphological variability of colonies of *Microcystis* morphospecies in culture. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 46(1): 39-50.

Otsuka, S., Suda, S., Shibata, S., Oyaizu, H., Matsumoto, S., Watanabe, M.M. 2001. A proposal for the unification of five species of the cyanobacterial genus *Microcystis* Kützing ex Lemmermann 1907 under the Rules of the Bacteriological Code. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51(3): 873-879.

Ouahid, Y., Pérez-Silva, G., Campo, F.F.D. 2005. Identification of potentially toxic environmental *Microcystis* by individual and multiple PCR amplification of specific microcystin synthetase gene regions. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 20(3): 235-242.

Oudra, B., Loudiki, M., Sbiyyaa, B., Martins, R., Vasconcelos, V., Namikoshi, N. 2001. Isolation, characterization and quantification of microcystins (heptapeptides hepatotoxins) in *Microcystis aeruginosa* dominated bloom of Lalla Takerkoust Lake–Reservoir (Morocco). *Toxicon*, 39(9): 1375-1381.

Ouellette, A.J.A., Wilhelm, S.W. 2003. Toxic cyanobacteria: the evolving molecular toolbox. *Front. Ecol. Environ.*, 7: 359-366.

Pacheco, A.B.F., Guedes, I.A., Azevedo, S.M.F.O. 2016. Is qPCR a reliable indicator of cyanotoxin risk in freshwater?. *Toxins*, 8(6): 172.

Paerl, H.W., Tucker, J., Bland, P.T. 1983. Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Limnol. Oceanogr.*, 28(5): 847-857.

Paerl, H.W. 1990. Physiological ecology and regulation of N₂ fixation in natural waters: Advances in Microbial Ecology, Ed.: Marshall, K.C., Springer, Boston, pp: 305-344.

Paerl, H.W., Fulton, R.S., Moisander, P.H., Dyble, J. 2001. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. *Sci. World J.*, 1: 76-113.

Paerl, H.W., Fulton, R.S. 2006. Ecology of harmful cyanobacteria: Ecology of Harmful Marine Algae, Ed.: Graneli, E., Turner, J., Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp: 95-107.

Paerl, H. 2008. Nutrient and other environmental controls of harmful cyanobacterial blooms along the freshwater–marine continuum: Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs, Ed.: Hudnell, H.K., Springer, New York, pp: 217-237.

Paerl, H.W., Huisman, J. 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environ. Microb. Rep.*, 1(1): 27-37.

- Palinska, K.A., Liesack, W., Rhiel, E. Krumbein, W.E. 1996.** Phenotype variability of identical genotypes: The need for a combined approach in cyanobacterial taxonomy demonstrated on Merismopedia-like isolates. *Arch. Microbiol.*, 166(4): 224-233.
- Pan, H., L. Song, Y. Liu, Börner, T. 2002.** Detection of hepatotoxic *Microcystis* strains by PCR with intact cells from both culture and environmental samples. *Arch. Microbiol.*, 178(6): 421-427.
- Papadimitriou, T., Kagalou, I., Stalikas, C., Pilidis, G., Leonardos, I. D. 2012.** Assessment of microcystin distribution and biomagnification in tissues of aquatic food web compartments from a shallow lake and evaluation of potential risks to public health. *Ecotoxicology*, 21(4): 1155-1166.
- Park, H.D. 2001.** Cyanotoxins and cyanobacterial blooms in South Korean lakes: Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences, Ed.: Chorus, I., Springer, Berlin, pp: 68-75.
- Parker, S.P., Bowden, W.B., Flinn, M.B. 2016.** The effect of acid strength and postacidification reaction time on the determination of chlorophyll a in ethanol extracts of aquatic periphyton. *Limnology and Oceanography Methods*, 14: 839-852.
- Pavlova, V., Babica, P., Todorova, D., Bratanova, Z., Maršálek, B. 2006.** Contamination of some reservoirs and lakes in Republic of Bulgaria by microcystins. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 34(5): 437-441.
- Pearson, J.E., Kingsbury, J.M. 1966.** Culturally induced variation in four morphological diverse bluegreen algae. *Am. J. Bot.*, 53(2): 192-200.
- Pearson, L.A., Hisbergues, M., Borner, T., Dittmann, E., Neilan, B.A. 2004.** Inactivation of an ABC transporter gene, *mcyH*, results in loss of microcystin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(11): 6370-6378.
- Pearson, L.A., Neilan, B.A. 2008.** The molecular genetics of cyanobacterial toxicity as a basis for monitoring water quality and public health risk. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3): 281-288.
- Pearson, L., Mihali, T., Moffitt, M., Kellmann, R., Neilan, B. 2010.** On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and cylindrospermopsin. *Mar. Drugs*, 8(5): 1650-1680.
- Pereira, P., Onodera, H., Andrinolo, D., Franca, S., Araujo, F., Lagos, N., Oshima, Y. 2000.** Paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*, isolated from Montargil reservoir, Portugal. *Toxicon*, 38(12): 1689-1702.
- Phlips, E.J., Hendrickson, J., Quinlan, E.L., Cichra, M. 2007.** Meteorological influences on algal bloom potential in a nutrient-rich blackwater river. *Freshwater Biology*, 52(11): 2141-2155.

- Phlips, E.J., Havens, K.E., Lopes, M.R.M. 2008.** Seasonal dynamics of phytoplankton in two Amazon flood plain lakes of varying hydrologic connectivity to the main river channel. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, 172(2): 99-109.
- Pinckney, J.L., Paerl, H.W. 1998.** Lake ice algal phototroph community composition and growth rates, Lake Bonney, Dry Valley Lakes, Antarctica. *Antarct. J. US Rev.*, 31(2): 215-216.
- Pomati, F., Sacchi, S., Rossetti, C., Giovannardi, S., Onodera, H., Oshima, Y., Neilan, B.A. 2000.** The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *J. Phycol.*, 36: 553-562.
- Poniedziałek, B., Rzymiski, P., Kokociński, M., 2012.** Cylindrospermopsin: water-linked potential threat to human health in Europe. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 34 (3): 651-660.
- Potts, M., Whitton, B.A. 2000.** The Biology and Ecology of Cyanobacteria. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Pouria, S., de Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R., Barreto, V., Ward, C., Preiser, W., Poon, G., Neild, G., Codd, G. 1998.** Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, 352(9121): 21-26.
- Preußel, K., Stüken, A., Wiedner, C., Chorus, I., Fastner, J. 2006.** First report on cylindrospermopsin producing *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) isolated from two German lakes. *Toxicon*, 47(2): 156-162.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. and Klein, D.A. 2002.** Microbiology, Fifth Edition, McGraw-Hill, New York, USA, 1135 pp.
- Puddick, J., Prinsep, M., Wood, S., Kaufononga, S., Cary, S., Hamilton, D. 2014.** High levels of structural diversity observed in microcystins from *Microcystis* CAWBG11 and characterization of six new microcystin congeners. *Marine drugs*, 12(11): 5372-5395.
- Rajaniemi, P., Hrouzek, P., Kaštovská, K., Willame, R., Rantala, A., Hoffmann, L., Komárek, Jiří, Sivonen, K. 2005a.** Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1): 11-26.
- Rajaniemi, P., Komárek, J., Willame, R., Hrouzek, P., Kaštovská, K., Hoffmann, L., Sivonen, K. 2005b.** Taxonomic consequences from the combined molecular and phenotype evaluation of selected *Anabaena* and *Aphanizomenon* strains. *Algol. Stud.*, 117(1): 371-391.

- Rantala, A., Fewer, D. P., Hisbergues, M., Rouhiainen, L., Vaitomaa, J., Börner, T., Sivonen, K. 2004.** Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, 101(2): 568-573.
- Rantala, A., Rajaniemi-Wacklin, P., Lyra, C., Lepistö, L., Rintala, J., Mankiewicz-Boczek, J., Sivonen, K., 2006.** Detection of microcystin-producing cyanobacteria in Finnish lakes with genus-specific microcystin synthetase gene E (mcyE) PCR and associations with environmental factors. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(9): 6101-6110.
- Rantala-Ylinen, A., Känä, S., Wang, H., Rouhiainen, L., Wahlsten, M., Rizzi, E., Berg, K., Gugger, M., Sivonen, K. 2011.** Anatoxin-a synthetase gene cluster of the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain 37 and molecular methods to detect potential producers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(20): 7271-7278.
- Rapala, J., Lahti, K., Sivonen, K., Niemelä, S.I. 1994.** Biodegradability and adsorption on lake sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxin-a. *Lett. Appl. Microbiol.*, 19(6): 423-428.
- Rapala, J., Erkomaa, K., Kukkonen, J., Sivonen, K., Lahti, K. 2002.** Detection of microcystins with protein phosphatase inhibition assay, high-performance liquid chromatography-UV detection and enzyme-linked immunosorbent assay: comparison of methods. *Anal. Chim. Acta*, 466(2): 213-231.
- Rapala, J., Robertson, A., Negri, A.P., Berg, K.A., Tuomi, P., Lyra, C., Erkomaa, K., Lahti, K., Hoppu, K., Lepistö, L. 2005.** First report of saxitoxin in Finnish lakes and possible associated effects on human health. *Environ. Toxicol.*, 20(3): 331-340.
- Rasmussen, J.P., Giglio, S., Monis, P.T., Campbell, R.J., Saint, C.P. 2008.** Development and field testing of a real-time PCR assay for cylindrospermopsin-producing cyanobacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 104(5): 1503-1515.
- Rastogi, R.P., Madamwar, D., Incharoensakdi, A. 2015.** Bloom dynamics of cyanobacteria and their toxins: environmental health impacts and mitigation strategies. *Frontiers in microbiology*, 6: 1254.
- Reed, J.M., Leng, M.J., Ryan, S., Black, S., Altınışli, S., Griffiths, H. I. 2008.** Recent habitat degradation in karstic lake Uluabat, western Turkey: a coupled limnological-palaeolimnological approach. *Biological Conservation*, 141(11): 2765-2783.
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., Kopel, R. 1993.** A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. *J. Appl. Phycol.*, 5(3): 327-332.
- Rinehart, K.L., Namikoshi, M., Choi, B.W. 1994.** Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.*, 6(2): 159-176.
- Ritchie, R.J. 2006.** Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynth. Res.*, 89(1): 27-41.

Rivasseau, C., Racaud, P., Deguin, A., Hennion, M.C. 1999. Evaluation of an ELISA kit for the monitoring of microcystins (cyanobacterial toxins) in water and algae environmental samples. *Environ. Sci. Technol.*, 33(9): 1520-1527.

Rogers, E.H., Hunter III, E.S., Moser, V.C., Philips, P.M., Herkovits, J., Muñoz, L., Hall, L.L., Chernoff, N. 2005. Potential developmental toxicity of anatoxin-a, a cyanobacterial toxin. *J. Appl. Toxicol.*, 25(6): 527-534.

Rouhiainen, L., Vakkilainen, T., Siemer, B.L., Buikema, W., Haselkorn, R., Sivonen, K. 2004. Genes coding for the synthesis of hepatotoxic heptapeptides (microcystins) in the cyanobacterium *Anabaena* strain 90. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(2): 686-692.

Rücker, J., Stüken, A., Nixdorf, B., Fastner, J., Chorus, I., Wiedner, C. 2007. Concentrations of particulate and dissolved cylindrospermopsin in 21 *Aphanizomenon*-dominated temperate lakes. *Toxicon*, 50(6): 800-809.

Rudi, K., Skulberg, O.M., Larsen, F., Jakobsen, K.S. 1997. Strain characterization and classification of oxyphotobacteria in clone cultures on the basis of 16S rRNA sequences from the variable regions V6, V7, and V8. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(7): 2593-2599.

Runnegar, M.T.C., Gerdes, R.G., Falconer, I.R. 1991. The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes. *Toxicon*, 29(1): 43-51.

Runnegar, M., Berndt, N., Kaplowitz, N. 1995. Microcystin uptake and inhibition of protein phosphatases: effects of chemoprotectants and self-inhibition in relation to known hepatic transporters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 134(2): 264-272.

Runnegar, M.T., Jackson, A.R.B., Falconer, I.R. 1988. Toxicity to mice and sheep of a bloom of the cyanobacterium (bluegreen alga) *Anabaena circinalis*. *Toxicon*, 26(6): 599-602.

Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim N. 1985. Enzymatic amplification of β -globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230: 1350-1354.

Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4(4): 406-425.

Sakai, H., Katayama, H., Oguma, K., Ohgaki, S. 2009. Kinetics of *Microcystis aeruginosa* growth and intracellular microcystins release after UV irradiation. *Environ. Sci. Technol.*, 43(3): 896-901.

Salihoglu, G., Karaer, F. 2004. Ecological risk assessment and problem formulation for lake Uluabat, a Ramsar State in Turkey. *Environmental Management*, 33(6): 899-910.

Sambrook, J., E. Fritch and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed, Section E.5. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Springs Harbor, NY.

Sartory, D.P., Grobbelaar, J.U. 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia*, 114(3): 177-187.

Schatz, D., Keren, Y., Hadas, O., Carmeli, S., Sukenik, A., Kaplan, A. 2005. Ecological implications of the emergence of non-toxic subcultures from toxic *Microcystis* strains. *Environ. Microbiol.*, 7(6): 798-805.

Schantz, E.J., Mold, J., Stanger, D., Shavel, J., Riel, F., Bowden, J., Lynch, J., Wyler, R., Riegel, B., Sommer, H. 1957. Paralytic shellfish poison VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clams and mussel tissues. *J. Am. Chem. Soc.*, 79(19): 5230-5235.

Scheffer, M. 1998. Ecology of Shallow Lakes. Chapman and Hall, London, UK, 357 pp.

Schembri, M.A., Neilan, B.A., Saint, C.P. 2001. Identification of genes implicated in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environ. Toxicol.*, 16(5): 413-421.

Schirmer, B.E., Anisimova, M., Antonelli, A., Bagheri, H.C. 2011. Evolution of cyanobacterial morphotypes: taxa required for improved phylogenomic approaches. *Communicative & Integrative Biology*, 4 (4): 424-427.

Scholz, S.N., Esterhuizen-Londt, M., Pflugmacher, S. 2017. Rise of toxic cyanobacterial blooms in temperate freshwater lakes: causes, correlations and possible countermeasures. *Toxicol. Environ. Chem.*, 99(4): 543-577.

Seçmen, Ö., Leblebici, E. 1996. Wetland Plants of Turkey. Ege University, İzmir, 870 pp.

Selwood, A.I., Holland, P.T., Wood, S.A., Smith, K.F., McNabb, P.S., 2007. Production of anatoxin-a and a novel biosynthetic precursor by the cyanobacterium *Aphanizomenon issatschenkoi*. *Environ. Sci. Technol.*, 41(2): 506-510.

Shalev-Alon, G., Sukenik, A., Livnah, O., Schwarz, R., Kaplan, A. 2002. A novel gene encoding amidinotransferase in the cylindrospermopsin producing cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 209(1): 87-91.

Shao, J.H., Wu, X.Q., Li, R.H. 2009. Physiological responses of *Microcystis aeruginosa* PCC7806 to nonanoic acid stress. *Environ. Toxicol.*, 24(6): 610-617.

Shaw, G.R., Sukenik, A., Livne, A., Chiswell, R.K., Smith, M.J., Seawright, A.A., Norris, R.L., Eaglesham, G.K., and Moore, M.R. 1999. Blooms of the cylindrospermopsin containing cyanobacterium, *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti), in newly constructed lakes, Queensland, Australia. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 167-177.

Shaw, G.R., Seawright, A.A., Moore, M.R., Lam, P.K.S. 2000. Cylindrospermopsin, a cyanobacterial alkaloid: evaluation of its toxicologic activity. *Ther. Drug Monit.*, 22(1): 89-92.

Sheng, J.W., He, M., Shi, H.C., Qian, Y.A. 2006. A comprehensive immunoassay for the detection of microcystins in waters based on polyclonal antibodies. *Anal. Chim. Acta*, 572(2): 309-315.

Shimizu, Y., Norte, M., Hori, A., Genenah, A., Kobayashi, M. 1984. Biosynthesis of saxitoxin analogs: the unexpected pathway. *J. Am. Chem. Soc.*, 106(21): 6433-6434.

Shimizu, Y. 1993. Microalgal metabolites. *Chemical Reviews*, 93(5): 1685-1698.

Sielaff, H., Dittmann, E., Tandeau de Marsac, N., Bouchier, C., von Döhren, H., Börner, T., Schwecke, T. 2003. The *mcyF* gene of the microcystin biosynthetic gene cluster from *Microcystis aeruginosa* encodes an aspartate racemase. *Biochemical Journal*, 373(3): 903-916.

Singh, A., Srivastava, P.C., Srivastava, P. 2008. Relationships of Heavy Metals in Natural Lake Waters with Physico-chemical Characteristics of Waters and Different Chemical Fractions of Metals in Sediments. *Water Air Soil Pollut.*, 188(1-4): 181-193.

Sinha, R., Pearson, L., Davis, T., Muenchhoff, J., Pratama, R., Jex, A., Burford, M., Neilan, B. 2014. Comparative genomics of *Cylindrospermopsis raciborskii* strains with differential toxicities. *BMC Genomics*, 15(1):83.

Sipiä, V.O., Kankaapä, H.T., Pflugmacher, S., Flinkman, J., Furey, A., James, K.J., 2002. Bioaccumulation and detoxication of nodularin in tissues of flounder (*Platichthys flesus*), mussels (*Mytilus edulis*, *Dreissena polymorpha*), and clams (*Macoma balthica*) from the northern Baltic Sea. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 53(2): 305-311.

Sivonen, K. 1990. Effect of light, temperature, nitrate, orthophosphate and bacteria on growth of hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(9): 2658-2666.

Sivonen, K., Jones, G. 1999. Cyanobacterial toxins: Toxic cyanobacteria in water-A guide to their public health Consequences, Monitoring, and Management, Ed.: Chorus, I., Bartram, J., Spon Press, London and New York, pp: 26-68.

Sivonen K., 2008. Emerging high throughput analyses of cyanobacterial toxins and toxic cyanobacteria: Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: state of the science and research needs, Ed.: Hudnell, H.K., Advances in Experimental Medicine & Biology, Springer, New York, pp: 539-557.

Skulberg, O.M., Skulberg, R., Carmichael, W.W., Andersen, R.A., Matsunaga, S., Moore, R.E. 1992. Investigations of a neurotoxic oscillatorial strain (Cyanophyceae) and its toxin. Isolation and characterization of homoanatoxin-a. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11 (3): 321-329.

Smith C., Sutton A. 1993. The persistence of anatoxin-a in reservoir water. UK Report No FR0427, Foundation for Water Research.

Smith, F.M.J., Wood, S.A., Wilks, T., Kelly, D., Broady, P.A., Williamson, W., Gaw, S. 2012. Survey of *Scytonema* (cyanobacteria) and associated saxitoxins in the littoral zone of recreational lakes in Canterbury, New Zealand. *Phycologia*, 51(5): 542-551.

Sompong, U., Hawkins, P.R., Besley, C., Peerapornpisal, Y. 2005. The distribution of cyanobacteria across physical and chemical gradients in hot springs in northern Thailand. *FEMS microbiology ecology*, 52(3): 365-376.

Song, L., Sano, T., Li, R., Watanabe, M.M., Liu, Y., Kaya, K. 1998. Microcystin production of *Microcystis viridis* (Cyanobacteria) under different culture conditions. *Phycol. Res.*, 46: 19-23.

Soto-Liebe, K., Murillo, A.A., Krock, B., Stucken, K., Fuentes-Valdés, J.J., Trefault, N., Cembella, A., Vásquez, M. 2010. Reassessment of the toxin profile of *Cylindrospermopsis raciborskii* T3 and function of putative sulfotransferases in synthesis of sulfated and sulfonated PSP toxins. *Toxicon*, 56(8): 1350-1361.

Soylu, E.N., Gönülol, A. 2006. Seasonal variation in diversity, of the phytoplankton assemblages in a shallow lake. *Cryptogamie, Algol.*, 27(1): 85-101.

Sömek, H., Ustaoglu, M. R., Yağci, M. 2008. A case report: Algal bloom of *Microcystis aeruginosa* in a drinking-water body, Eğirdir Lake, Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8(1): 177-179.

Spivak, C.E., Witkop, B., Albuquerque, E.X. 1980. Anatoxin-a: a novel, potent agonist at the nicotinic receptor. *Mol. Pharmacol.*, 18(3): 384-394.

Spoof, L., Berg, K.A., Rapala, J., Lahti, K., Lepistö, L., Metcalf, J.S., Codd, G.A., Meriluoto, J. 2006. First observation of cylindrospermopsin in *Anabaena lapponica* isolated from the boreal environment (Finland). *Environ. Toxicol.*, 21(6): 552-560.

Spoof, L., Catherine, A. 2017. Appendix 3: tables of microcystins and nodularins: Handbook on Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis, Ed.: Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, pp: 526-537.

Søndegaard, M. 1988. Seasonal variations in the loosely sorbed phosphorus fraction of the sediment of a shallow and hypereutrophic lake. *Environ. Geol. Water Sci.*, 11(1): 115-121.

Srivastava, A., Singh, S., Ahn, C.Y., Oh, H.M., Asthana, R.K. 2013. Monitoring approaches for a toxic cyanobacterial bloom. *Environ. Sci. Technol.*, 47(16): 8999-9013.

Stanier, R., Kunisawa, R., Mandel, M., Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriological reviews*, 35(2): 171.

Stevens, D.K., Krieger, R.I. 1991. Stability studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-a. *Toxicon*, 29 (2): 167-179.

Stewart, I., Falconer, I.R., 2008. Cyanobacteria and cyanobacterial toxins: Oceans and Human Health Risks and Remedies from the Seas, Ed.: Walsh, P.J., Smith, S.L., Fleming, L.E., Solo-Gabriele, H.M., Gerwick, W.H., Academic Press, USA, pp: 271-296.

Stocker, T.F., Qin, D., Plattner, G.K., Tignor, M., Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P.M. 2013. Summary for Policymakers: Climate Change 2013, The Physical Science Basis, Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, pp: 3-29.

Stomp, M., Huisman, J., Vörös, L., Pick, F.R., Laamanen, M., Haverkamp, T., Stal, L.J. 2007. Colourful coexistence of red and green picocyanobacteria in lakes and seas. *Ecol Lett.*, 10(4): 290-298.

Stucken, K., John, U., Cembella, A., Murillo, A.A., Soto-Liebe, K., Fuentes-Valdés, J.J., Friedel, M., Plominsky, A.M., Vásquez, M., Glöckner, G. 2010. The smallest known genomes of multicellular and toxic cyanobacteria: comparison, minimal gene sets for linked traits and the evolutionary implications. *PloS one*, 5(2): e9235.

Stumm, W., Morgan, J. 1996. Aquatic Chemistry: An Introduction Emphasizing Chemical Equilibria in Natural Water, third ed. Wiley, New York, 1024 pp.

Stüken, A., Campbell, R.J., Quesada, A., Sukenik, A., Dadheech, P.K., Wiedner, C. 2009. Genetic and morphologic characterization of four putative cylindrospermopsin producing species of the cyanobacterial genera *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *J. Plankton Res.*, 31(5): 465-480.

Stüken, A., Jakobsen, K.S. 2010. The cylindrospermopsin gene cluster of *Aphanizomenon* sp. strain 10E6: organization and recombination. *Microbiology*, 156(8): 2438-2451.

Swanson, K.L., Allen, C.N., Aronstam, R.S., Rapoport, H., Albuquerque, E.X. 1986. Molecular mechanisms of the potent and stereospecific nicotinic receptor agonist (+)-anatoxin-a. *Mol. Pharmacol.*, 29(3): 250-257.

Tamura, K., Nei, M., Kumar, S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, 101(30): 11030-11035.

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013.** MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725-2729.
- Taş, S., Okuş, E., Aslan-Yılmaz, A. 2006.** The blooms of a cyanobacterium, *Microcystis* cf. *aeruginosa* in a severely polluted estuary, the Golden Horn, Turkey. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68(3-4): 593-599.
- Taş, B., Gönüloğlu, A. 2007.** An ecologic and taxonomic study on phytoplankton of a shallow lake, Turkey. *J. Environ. Biol.*, 28(2): 439-445.
- Taton, A., Grubisic, S., Balthasart, P., Hodgson, D.A., Laybourn-Parry, J., Wilmotte, A. 2006.** Biogeographical distribution and ecological ranges of benthic cyanobacteria in East Antarctic lakes. *FEMS microbiology ecology*, 57(2): 272-289.
- Tencalla, F., Dietrich, D. 1997.** Biochemical characterization of microcystin toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*, 35 (4): 583-596.
- Terao, K., Ohmori, S., Igarashi, K., Othani, I., Watanabe, M.F., Harada, K.I., Ito, E., Watanabe, M. 1994.** Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*. *Toxicon*, 32(7): 833-843.
- Tillett D, Dittmann E, Erhard M, von Döhren H, Börner T, Neilan B.A. 2000.** Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptidepolyketide synthetase system. *Chem. Biol.*, 7(10):753-764.
- Toivola, D.M., Goldman, R.D., Garrod, D.R., Eriksson, J.E. 1997.** Protein phosphatases maintain the organization and structural interactions of hepatic keratin intermediate filaments. *J. Cell Sci.*, 110(1): 23-33.
- Tomitani, A., Knoll, A.H., Cavanaugh, C.M., Ohno, T. 2006.** The evolutionary diversification of cyanobacteria: molecular-phylogenetic and paleontological perspectives. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103(14): 5442-5447.
- Tooming-Klunderud, A., Mikalsen, B., Kristensen, T., Jakobsen, K.S. 2008.** The mosaic structure of the *mcvABC* operon in *Microcystis*. *Microbiology*, 154(7): 1886-1899.
- Trevino, S. 1998.** Fish and shellfish poisoning. *Clin. Lab. Sci. J. Am. Soc. Med. Technol.*, 11(5): 309-314.
- Triantis, T., Tsimeli, K., Kaloudis, T., Thanassoulas, N., Lytras, E., Hiskia, A. 2010.** Development of an integrated laboratory system for the monitoring of cyanotoxins in surface and drinking waters. *Toxicon*, 55(5): 979-989.

Tsuji, K., Naito, S., Kondo, F., Ishikawa, N., Watanabe, M.F., Suzuki, M., Harada, K.I. 1994. Stability of microcystins from cyanobacteria-effect of light on decomposition and isomerization. *Environ. Sci. Technol.*, 28(1): 173-177.

Turner, P.C., Gammie, A.J., Hollinrake, K., Codd, G.A. 1990. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *BMJ*, 300(6737): 1440-1441.

Tüney Kızılkaya, I., Demirel, Z., Kesici, K., Kesici, E., Sukatar, A. 2016. Morphological, Molecular and Toxicological Characterization of *Nodularia spumigena* Mertens in Jungens (1822) from Brackishwater Lake Bafa (Turkey). *Sinop Uni. J. Nat. Sci.*, 1(1): 39-52.

Ueno, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Yoshiuda, F., Sutajjit, M., Mebs, D., Vasconcelos, V. 1996. Survey of microcystins in environmental water by a highly sensitive immunoassay based on monoclonal antibody. *Nat Toxins*, 4(6): 271-276.

Ulçay, S., Kurt, O., Taşkın, E., Öztürk, M. 2010. Uluabat (Apolyont) Gölü'nde (Bursa) gözlenen mevsimsel toksik mavi-yeşil alg (Cyanobacteria, Cyanophyceae) çoğalması. *Bibad*, 3(1): 117-120.

Utkilen, H., Gjølme, N. 1995. Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(2): 797-800.

Uwins, H.K., Teasdale, P., Stratton, H. 2007. A case study investigating the occurrence of geosmin and 2-methylisoborneol (MIB) in the surface waters of the Hinze Dam, Gold Coast, Australia. *Water Sci. Technol.*, 55(5): 231-238.

Ünlü, A., Çoban, F., Tunç, M.S. 2008. Hazar gölü su kalitesinin fiziksel ve inorganik kimyasal parametreler açısından incelenmesi. *Gazi Üniv. Müh. Mim. Fak. Der.*, 23(1): 119-127.

Vaitomaa, J., Rantala, A., Halinen, K., Rouhiainen, L., Tallberg, P., Mokelke, L., Sivonen, K. 2003. Quantitative real-time PCR for determination of microcystin synthetase E copy numbers for *Microcystis* and *Anabaena* in lakes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(12): 7289-7297.

Van der Merwe, D. 2015. Cyanobacterial (blue-green algae) toxins: *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*, 2nd, Ed.: Gupta, R.C., Academic Press, Boston, MA, USA, pp: 421-429.

Vasconcelos, V.M., Sivonen, K., Evans, W.R., Carmichael, W.W., Namikoshi, M. 1996. Hepatotoxic microcystin diversity in cyanobacterial blooms collected in Portuguese freshwaters. *Water Res.*, 30(10): 2377-2384.

Vestervik, P.S.M., Misiorek, J.O., Spoo, L.E.M., Toivola, D.M., Meriluoto, J.A.O. 2012. Comparative cellular toxicity of hydrophilic and hydrophobic microcystins on Caco-2 cells. *Toxins*, 4(11): 1008-1023.

- Vezie, C., Brient, L., Sivonen, K., Bertru, G., Lefeuvre, J-C., Salkinoja-Salonen, M. 1997.** Occurrence of microcystin-containing cyanobacterial blooms of Brittany (France). *Arch. Hydrobiol.*, 139: 401-413.
- Von Döhren, H., Keller, U., Vater, J., Zoher, R. 1997.** Multifunctional peptide synthetases. *Chemical Reviews*, 97(7): 2675-2706.
- Walsby, A.E. 1975.** Gas vesicles. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 26(1): 427-439.
- Walsby, A.E., Hayes, P.K., Boje, R., Stal, L.J. 1997.** The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. *New. Phytol.*, 136(3): 407-417.
- Wang, Q., Xie, P., Chen, J., Liang, G. 2008.** Distribution of microcystins in various organs (heart, liver, intestine, gonad, brain, kidney and lung) of Wistar rat via intravenous injection. *Toxicon*, 52(6): 721-727.
- Watanabe, M.F., Tsuji, K., Watanabe, Y., Harada, K.I., Suzuki, M. 1992.** Release of heptapeptide toxin (microcystin) during the decomposition process of *Microcystis aeruginosa*. *Natural toxins*, 1(1): 48-53.
- Welch, E.B., Cooke, G.D. 1995.** Internal phosphorus loading in shallow lakes: Importance and control. *Lake Reserv. Manag.*, 11(3): 273-281.
- Westlake, D.F. 1965a.** Theoretical aspects of comparability of productivity data. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 18: 313-322.
- Westlake, D.F. 1965b.** Some basic data for investigations of the productivity of aquatic macrophytes. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 18: 229-248.
- Wetzel, R.G. 2017.** Limnoloji Göl ve Nehir Ekosistemleri. Ed.: Ergönül, M.B. Elsevier Academic Press, Nobel, Ankara, 870 s.
- Whitton, B.A., Potts, M. 2000.** Introduction to Cyanobacteria: The Ecology of Cyanobacteria, Ed.: Whitton, B.A., Potts, M., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp: 1-11.
- Wiese, M., D'agostino, P.M., Mihali, T.K., Moffitt, M.C., Neilan, B.A. 2010.** Neurotoxic alkaloids: saxitoxin and its analogs. *Mar. Drugs*, 8(7): 2185-2211.
- Wiberg, G.S., Stephenson, N.R. 1960.** Toxicologic studies on paralytic shellfish poison. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2(6): 607-615.
- Willame, R., Boutte, C., Grubisic, S., Wilmotte, A., Komárek, J., Hoffmann, L. 2006.** Morphological and molecular characterization of planktonic cyanobacteria from Belgium and Luxembourg. *J. Phycol.*, 42(6): 1312-1332.

Wilson, I.G. 1997. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(10): 3741-3751.

Wintermans, J.F.G.M., De Mots., A. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochim. Biophys. Acta*, 109(2): 448-453.

Wirsing B., Flury T., Wiedner C., Neumann U., Weckesser, J. 1999. Estimation of the microcystin content in cyanobacterial field samples from German lakes using the colorimetric protein-phosphatase inhibition assay and RP-HPLC. *Environ. Toxicol.*, 14(1): 23-29.

Woese, C.R 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.*, 51(2): 221-271.

Wolf, H.U., Frank, C. 2002. Toxicity assessment of cyanobacterial toxin mixtures. *Environ. Toxicol.*, 17(4): 395-399.

Wonnacott, S., Gallagher, T. 2006. The chemistry and pharmacology of anatoxin-a and related homotropans with respect to nicotinic acetylcholine receptors. *Mar. Drugs*, 4(3): 228-254.

Wood, S.A., Rasmussen, J.P., Holland, P.T., Campbell, R., Crowe, A.L.M. 2007. First report of the cyanotoxin anatoxin-a from *Aphanizomenon issatschenkoi* (cyanobacteria). *J. Phycol.*, 43(2): 356-365.

Xie, L., Xie, P., Guo, L., Li, L., Miyabara, Y., Park, H. 2005. Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic Lake Chaohu, China. *Environ. Toxicol.*, 20(3): 293-300.

Xiong, X., Zhong, A., Xu, H. 2014. Effect of cyanotoxins on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male adult mouse. *PloS one*, 9(11): e106585.

Xu, L., Li, H., Liang, X., Yao, Y., Zhou, L., Cui, X. 2012. Water quality parameters response to temperature change in small shallow lakes. *Physics and Chemistry of the Earth*, 47-48: 128-134.

Yeates, C., Gillings, M.R., Davison, A.D., Altavilla, N., Veal, D.A. 1998. Methods for microbial DNA extraction from soil for PCR amplification. *Biol. Proced. Online*, 1:40-47.

Yilmaz, M., Phlips, E.J., Szabo, N.J., Badylak, S. 2008. A comparative study of florida strains of *Cylindrospermopsis* and *Aphanizomenon* for cylindrospermopsin production. *Toxicon*, 51(1): 130-139.

Yilmaz, M., Phlips, E. J. 2011a. Toxicity and genetic diversity of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Florida, USA. *Lake Reserv. Manage.*, 27(3): 235-244.

- Yilmaz, M., Philips, E.J. 2011b.** Diversity of and selection acting on cylindrospermopsin cyrb gene adenylation domain sequences in Florida. *Applied and environmental microbiology*, 77(7): 2502-2507.
- Yilmaz, M., Foss, A.J., Selwood, A.I., Özen, M., Boundy, M. 2018.** Paralytic shellfish toxin producing *Aphanizomenon gracile* strains isolated from Lake Iznik, Turkey. *Toxicon*, 148: 132-142.
- Yilmaz, M., Foss, A.J., Miles, C.O., Özen, M., Demir, N., Balcı, M., Beach, D.G. 2019.** Comprehensive multi-technique approach reveals the high diversity of microcystins in field collections and an associated isolate of *Microcystis aeruginosa* from a Turkish lake. *Toxicon*, 167: 87-100.
- Yoshizawa, S., Matsushima, R., Watanabe, M.F., Harada, K.I., Ichihara, A. Carmicahel, W.W., Fujiki, H. 1990.** Inhibition of protein phosphatases by microcystis and nodularin associated with hepatotoxicity. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 116(6): 609-614.
- Yotsu-Yamashita, M., Kim, Y.H., Dudley, S.C., Choudhary, G., Pfahnl, A., Oshima, Y., Daly, J.W. 2004.** The structure of zetekitoxin AB, a saxitoxin analog from the Panamanian golden frog *Atelopus zeteki*: a potent sodium-channel blocker. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(13): 4346-4351.
- Yu, F.Y., Liu, B.H., Chou, H.N., Chu, F.S. 2002.** Development of a sensitive ELISA for the determination of microcystins in algae. *J. Agric. Food Chem.*, 50(15): 4176-4182.
- Yusof, T.N., Rafatullah, M., Mohamad, R., Ismail, N., Zainuddin, Z., Lalung, J. 2017.** Cyanobacteria Characteristics and Methods for Isolation and Accurate Identification of Cyanotoxins: A Review Article. *Avicenna J. Environ. Health Eng.*, 4(1): e10051.
- Yüksel, K., Demirel, Z., Koçyiğit, A., Sukatar, A. 2009.** İzmir İlinde Bulunan Termal Sularda Gelişen Bazı Termofilik Mavi-Yeşil Alglerin (Siyanobakterilerin) İzolasyonu ve Moleküler Tayini. *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 26(4): 267-270.
- Zaman, L., Arakawa, O., Shimosu, A., Shida, Y., Onoue, Y. 1998.** Occurrence of a methyl derivative of saxitoxin in Bangladeshi freshwater puffers. *Toxicon*, 36(4): 627-630.
- Zapomělová, E. 2006.** Current taxonomic issues with planktonic representatives of the genus *Anabaena* (Cyanobacteria) with special reference to their morphological features; literary review. *Czech Phycol.*, 6(1): 33-47.
- Zapomělová, E., Hrouzek, P., Řeháková, K., Šabacká, M., Stibal, M., Caisová, L., Komárková, J., Lukešová, A. 2008.** Morphological variability in selected heterocystous cyanobacterial strains as a response to varied temperature, light intensity and medium composition. *Folia Microbiologica*, 53(4): 333.

Zeck, A., Weller, M.G., Bursill, D., Niessner, R. 2001. Generic microcystin immunoassay based on monoclonal antibodies against Adda. *Analyst*, 126(11): 2002-2007.

Zegura, B., Lah, T.T., Filipic, M. 2004. The role of reactive oxygen species in microcystin-LR-induced DNA damage. *Toxicology*, 200(1): 59-68.

Žegura, B., Štraser, A., Filipič, M. 2011. Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins-a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 727(1-2): 16-41.

Zhao, Y., Xie, P., Tang, R., Zhang, X., Li, L., Li, D. 2008. In vivo studies on the toxic effects of microcystins on mitochondrial electron transport chain and ion regulation in liver and heart of rabbit. *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.*, 148(3): 204-210.

Zhao, Y., Xie, P., Zhang, X. 2009. Oxidative stress response after prolonged exposure of domestic rabbit to a lower dosage of extracted microcystins. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 27(2): 195-199.

Zhu, M., Yu, G., Li, X., Tan, W., Li, R. 2012. Taxonomic and phylogenetic evaluation of *Limnothrix* strains (Oscillatoriales, Cyanobacteria) by adding *Limnothrix planktonica* strains isolated from central China: Phytoplankton responses to human impacts at different scales, Ed.: Salmaso, N., Naselli-Flores, L., Cerasino, L., Flaim, G., Tolotti, M., Padišák, J., Springer, Dordrecht, pp: 367-374.

Zurawell, R.W., Chen, H., Burke, J.M., Prepas, E.E. 2005. Hepatotoxic cyanobacteria: A review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *J. Toxicol. Environ. Health Part B*, 8(1): 1-37.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mihriban Özen
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa 27.03.1986
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Bursa Erkek Lisesi (2000-2004)
Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji
Bölümü (2004-2008)
Tezsiz Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2008-2009)
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2010-2014)
Doktora : Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
(2014- 2020)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Bursa Uludağ Üniversitesi (2011-)

İletişim (e-posta) : mihribanozen@uludag.edu.tr

Yayınları

Özen, M., Kozak, A., Dere, Ş., Kızılkaya, İ.T. 2018. The effects of different salt concentrations on the biochemical contents of *Gracilaria gracilis* Greville (Rhodophyta). *Celal Bayar University Journal of Science*, 14 (3): 303-307.

Yilmaz, M., Foss, A. J., Selwood, A. I., Özen, M., Boundy, M. 2018. Paralytic shellfish toxin producing *Aphanizomenon gracile* strains isolated from Lake Iznik, Turkey. *Toxicon*, 148 (15): 132-142.

Yilmaz, M., Foss, A. J., Miles, C. O., Özen, M., Demir, N., Balcı, M., Beach, D. G. 2019. Comprehensive multi-technique approach reveals the high diversity of microcystins in field collections and an associated isolate of *Microcystis aeruginosa* from a Turkish lake. *Toxicon*, 167: 87-100.