

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**DOKTORA TEZİ**

**ÇANAKKALE (MARMARA BÖLGESİ, TÜRKİYE)**  
**VE ÇEVRESİNDEKİ İÇ SULARDAN İZOLE**  
**EDİLEN MİKROALGLERİN**  
**MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**Fusun AKGÜL**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 03/02/2014**

**Tez Danışmanı:**

**Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN**

**ÇANAKKALE**

## DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

FÜSUN AKGÜL tarafından DOÇ. DR. HÜSEYİN ERDUĞAN yönetiminde hazırlanan “ÇANAKKALE (MARMARA BÖLGESİ, TÜRKİYE) VE ÇEVRESİNDEKİ İÇ SULARDAN İZOLE EDİLEN MİKROALGLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN

Danışman

Prof. Dr. Cüneyt AKI

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Tolga GÖKSAN

Jüri Üyesi

Doç Dr. Muhammet TÜRKÖĞLU

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. İnci TÜNEY

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 03/02/2014

Hazırlanan bu Doktora Tezi, TÜBİTAK tarafından 211T181 nolu projeden desteklenmiştir.

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Füsun AKGÜL

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN'A, alıŐma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen sevgili eŐim Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL'E, hayatımın her evresinde bana destek olan değerli aileme ve biricik oğlum Erdem AKGÜL'E sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Fusun AKGÜL

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ÖRN. NOK.:	Örnekleme Noktası
GPS:	Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi
REFGEN:	Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Kurumu
NCBI:	National Center for Biotechnology Information
DDBJ:	DNA Data Bank of Japan (=Japonya DNA DataBank)
EMBL:	European Molecular Biology Laboratory (=Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı)
UPGMA:	Unweighted Pair Group Method Algorithm
NJ :	Neighbor-Joining
BLAST:	Basic Local Alignment Search Tool
Accession Number:	Katılım Numaraları
PZR:	Polimera Zincir Reaksiyonu
ITS:	Internal Transcribed Spacer
IGS:	Intergenic spacer (=Genler Arası Bölge)
NOR:	Nucleolar Organizer Regions (=Tekrarlı üniteler)
LSU:	Large Subunit (=Büyük Alt Birim)
SSU:	Small Subunit (=Küçük Alt Birim)
DNA:	Deoksiribonükleik asit
RNA:	Ribonükleik asit
rRNA:	Ribozomal RNA
nrDNA:	Nükleer DNA
cpDNA:	Kloroplast DNA'sı
rDNA:	Ribozomal DNA
tRNA:	Taşıyıcı RNA
mtDNA:	Mitokondriyal DNA
µm:	Mikrometre
ng:	Nanogram
µl:	Mikrolitre
°C:	Santigrat derece
ml:	Mililitre
bp:	Base Pair (=baz çifti)

$\mu\text{m}$ :	Mikrometre
atm:	Atmosfer
g:	Gram
mg:	Miligram
rpm:	Rotation per Minute
g-force:	Relative Centrifugal Force (RCF)
nm:	Nanometre
dNTP:	Serbest Nükleotid
$\mu\text{M}$ :	Mikromolar
$M_T$ :	Melting Temperature (=Erime Sıcaklığı)

## ÖZET

# ÇANAKKALE (MARMARA BÖLGESİ, TÜRKİYE) VE ÇEVRESİNDEKİ İÇ SULARDAN İZOLE EDİLEN MİKROALGLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Fusun AKGÜL

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN

03/02/2014, 104

Bu çalışmada Çanakkale (Marmara Bölgesi, Türkiye) ve çevresindeki iç sulardan mikroalgler izole edilip kültüre alınmıştır. Mevcut literatürler yardımıyla morfolojik tayinleri yapıldıktan sonra moleküler sistematik ile türlerin doğruluğu ve filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. Türkiye iç sularına ait mikroalglerin özellikle ekonomik-ticari öneme sahip olan türlerin belirlenmesi ve bu mikroorganizmalar ile ilgili taksonomik yanlışlıkların ortadan kaldırılması sağlanmıştır. Çalışmada toplanan mikroalg örneklerinden elde edilen DNA'lar ile polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizi gerçekleştirilmiş, elde edilen ITS bölgelerinin dizi analiziyle baz dizilimleri belirlenerek filogenetik analizleri yapılmıştır. Morfolojik olarak tayin edilen mikroalg türlerinin tayinlerinin doğruluğu ve türlerin akrabalıkları araştırılmıştır.

Çalışma boyunca Cyanobacteria, Heterokontophyta ve Chlorophyta gruplarından 24 takson elde edilmiştir. Bunlardan 18 örneğin dizi analizi yapılmış ve NCBI verileri ile hizalanmış ve bu örneklerle ait katılım numaraları NCBI'dan alınmıştır. 11 örneğin morfolojik gözlem sonuçları ile BLAST sonuçları cins bazında benzerlik gösterirken, 7 örnekte böyle bir benzerlik yakalanamamıştır. Bu sonuç, mikroalglerin sistematik karakterizasyonu yapılırken sadece morfolojik verilerin kullanılmasının yetersiz kalacağını bu verilerle birlikte moleküler tekniklerin de kullanılmasının gerektiğini göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** Mikroalgler, izolasyon, kültür, moleküler taksonomi, filogenetik.

## ABSTRACT

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MICRO ALGAE ISOLATED FROM INLAND WATER IN ÇANAKKALE (MARMARA REGION, TURKEY) AND AROUND

Fusun AKGÜL

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School

Chair of Biology Thesis of Ph D.

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Hüseyin ERDUĞAN

03/02/2014, 104

In this study; microalgae were isolated from inland water in Çanakkale (Marmara Region, Turkey) and cultured. After morphological identification by the present literature; the accuracy of species and phylogenetic relations were investigated by molecular taxonomy techniques. Taxonomic mistakes of the algae species that have economic and commercial importance in Turkey have been eliminated. Polymerase chain reaction (PCR) analysis of DNA samples from microalgae were carried out. With the sequence analysis of the ITS regions, obtained as a result of this analysis, phylogenetic analysis to be designated by determining base sequences. Accuracy of determinations of the algae taxonomied morphologically was investigated.

24 taxa from Cyanobacteria, Heterokontophyta and Chlorophyta were obtained during the study. Eighteen of them were sequenced and aligned with NCBI data and accession numbers were obtained from NCBI. Results of morphological observations were similar to BLAST results at genus level for eleven of them, but seven of them were not similar. This result shows that molecular approaches must be used for detecting systematic category of microalgae.

**Keywords:** Microalgae, isolation, culture, molecular taxonomy, phylogenetic.



## İÇERİK

Sayfa

DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU .....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
<b>BÖLÜM 1-GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>BÖLÜM 2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>4</b>
2.1. Mikroalgler .....	4
2.2. Mikroalglerin İzolasyonu ve Kültürü .....	6
2.3. Alglerin Sistematigi.....	7
2.4. Sistematikte Kullanılan Yöntemler.....	9
2.4.1. Morfolojik taksonomi.....	9
2.4.2. Sitotaksonomi .....	9
2.4.3. Kemotaksonomi.....	10
2.4.4. Moleküler taksonomi .....	10
2.4.4.1. Moleküler taksonomide kullanılan yöntemler.....	11
2.4.4.2. Moleküler taksonomide kullanılan DNA çeşitleri .....	15
2.5. Biyoinformatik .....	17
2.5.1 Tanımı, tarihçesi, amacı ve uygulama alanları .....	17
2.5.2. DNA dizi analizi .....	18
2.5.3. Biyolojik veri tabanları ve kullanımları .....	19
2.5.4. Dizi karşılaştırma .....	21
2.5.5. Moleküler filogenetik .....	22
2.5.6. Filogenetik ağaçlar .....	22
2.5.6.1. Filogenetik ağaç oluşturma yöntemleri .....	24
2.5.6.2. Filogenetik ağaç oluşturma programları .....	25
2.6. Dünyada ve Türkiye’de Mikroalglerin Moleküler Sistematigi Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	26
<b>BÖLÜM 3-MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>

3.1 Materyaller .....	31
3.1.1. Çalışma alanı .....	31
3.1.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar .....	33
3.2. Yöntem .....	35
3.2.1.Örnekleme yapılması .....	35
3.2.2. Taksonların morfolojik taksonomisi .....	36
3.2.3. Taksonların izolasyonu ve kültürü .....	36
3.2.3.1. Kılcal pipet yöntemi .....	36
3.2.3.2. Plak agar yöntemi.....	37
3.2.3.3. Kültür .....	37
3.2.4. Moleküler analizler için örneklerin hazırlanması.....	38
3.2.5. DNA izolasyonu .....	39
3.2.6. DNA moleküllerinin miktarları ve saflık derecelerinin belirlenmesi .....	40
3.2.7. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) .....	40
3.2.8. Agaroz jel elektroforezi.....	41
3.2.9. Dizi analizi .....	41
3.2.10. Filogenetik analiz .....	41
<b>BÖLÜM 4-ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>42</b>
4.1.Örnekleme Noktalarının Fiziksel Parametre Sonuçları.....	42
4.2. İzolasyonu Yapılan Taksonlar.....	42
4.3. DNA İzolasyonu Sonuçları .....	55
4.4. PZR Analizi Sonuçları .....	56
4.5. Dizi Analizi Sonuçları .....	59
4.6. BLAST Analiz Sonuçları .....	67
4.7. Filogenetik Ağaçlar.....	83
<b>BÖLÜM 5-SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>92</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>94</b>
<b>Çizelgeler.....</b>	<b>I</b>
<b>Şekiller .....</b>	<b>III</b>
<b>Özgeçmiş.....</b>	<b>V</b>

**BÖLÜM 1****GİRİŞ**

Yeryüzündeki temel enerji kaynağı güneşten doğrudan faydalanabilen canlı grubu olan fotoototrof canlılar; bazı bakteriler, siyanobakteriler (mavi-yeşil algler), mikro ve makroalgler, Bryophyta grubu ile vasküler bitkilerden oluşmaktadır. Gezegenimizin %75'inin sudan oluşması, sucul kaynaklardaki birincil üretimden sorumlu organizmalar olan alglerin, yaşamın sürdürülebilirliği açısından önemini açıkça ortaya koymaktadır (Tomaselli, 2004).

Mikroalgler; sucul sistemlerdeki birincil üretimden sorumlu, yüksek çeşitliliğe sahip, yapılarında önemli kimyasal maddeler bulunduran ve bu yüzden ekonomik ve biyoteknolojik yönden değerli olan canlılardır. Böylesine önemli bir canlı grubu bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Her biyolojik çalışmada olduğu gibi mikroalglerle yapılan çalışmalarda da öncelikle o canlının sistematığının yapılması gerekmektedir. Ancak mikroalglerle ilgili yeterli kaynağın olmaması ve morfolojik yöntemlerle teşhis yapılırken mikroskop görüntülerine bağımlı kalmak gerektiğinden, bu sınıftaki canlıların teşhisi yapılırken zorluklar yaşanmaktadır. Son yıllarda, özellikle yurt dışında yapılan sistematik çalışmalarda, morfolojik özellikler göz önüne alınarak yapılan tayinlerde bu özelliklerin yeterli olmadığı anlaşılmış ve bazı türlerin teşhisinde yaşanan zorlukların moleküler analizlerle ortadan kaldırıldığı ve bu türlerin gerçek tanımlarının yapıldığı görülmüştür.

Genellikle sucul habitatlarda yayılış gösteren mikroalgler, toprakta, buzullarda aerosol halinde havada dahi bulunabilmektedir. Temel ihtiyaçları, karbondioksit, nutrient olarak özellikle azotlu ve fosforlu inorganik maddeler ve güneş ışığı olarak sıralanabilir. Ekosistemde birincil üretici olarak yer almaları ekolojik önemlerini yaratırken, 1950'lerin başından itibaren, mikroalglerin gıda, yem, lipid, vitamin, pigment, gübre, ilaç gibi ürünlerin eldesinde hammadde kaynağı olarak, atık su arıtımında ve biyodizel üretiminde kullanımları da ekonomik açıdan önemlerini ortaya çıkarmaktadır. Bu önemlerinin anlaşılmasını takiben mikroalglerin izolasyonu ve kültür çalışmaları başlamış, elde edilen biyokütle, yukarıda bahsedilen alanlarda kullanılmaya çalışılmıştır. Biyolojik çalışmalarda kullanılan materyalin sistematik tayininin yapılması, seçilecek araç-gereç, yöntem, tekniğin belirlenmesi açısından oldukça önem taşımaktadır. Yapılacak çalışmanın sonuca ulaşabilmesi için ilk önce canlı materyalin taksonomik teşhisinin yapılması gerekmektedir.

Mikroalglerin sistematığı ile ilgili çalışmalar Linneus'a kadar uzanmaktadır. Fakat yakın tarihten itibaren incelenip, güncel durum belirtilecek olursa, şu şekilde bir özetleme yapmak mümkündür.

Yapılan ilk sistematik çalışmalara bakıldığında; protozoologlar, tek hücreli ya da koloni halindeki kamçılı tüm organizmaları Protozoa şubesinin Mastigophora sınıfına yerleştirmişlerdi. Fakat sonraları protozoologlar ile botanikçiler bu konuda anlaşamamışlardır ve ilk kez Rabenhorst (1863) *Chlamydomonas* ve *Volvox* taksonlarını Chlorophyceae sınıfı altında toplamıştır (Smith, 1950).

Harvey 1896'lı yıllarda, algleri yapılarındaki renk pigmentlerine göre; Chlorospermae, Melanospermae, Rhodospermae, Cyanospermae olmak üzere dört gruba ayırmıştır. Fischer ise 1910'lu yıllarda algleri genel olarak Cyanophyceae, Chlorophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Diatomae şeklinde beş ana gruba ayırmıştır (Güner ve Aysel, 1999).

Algaebase veritabanı tarandığında alglerin yer aldığı gruplar ve bu gruplarda yer alan takson sayıları aşağıdaki gibi özetlenmektedir (<http://www.algaebase.org/browse/taxonomy/?id=86701>).

**Süper Alem (=Domain =Empire=Superkingdom):** Prokaryota

**Alem (=Regnum=Kingdom):** Bacteria

**Şube (=Phylum):** Cyanobacteria (3438 takson)

**Süper Alem (=Domain =Empire=Superkingdom):** Eukaryota

**Alem (=Regnum=Kingdom):** Protozoa

**Şube (=Phylum):** Euglenophyta (1210 takson)

**Alem (=Regnum=Kingdom):** Chromista

**Şube (=Phylum):** Cryptophyta(165)

**Şube (=Phylum):** Dinophyta(3031)

**Şube (=Phylum):** Haptophyta(528)

**Şube (=Phylum):** Heterokontophyta(12495)

**Alem (=Regnum=Kingdom):** Plantae

**Şube (=Phylum):** Charophyta (4190 takson)

**Şube (=Phylum):** Chlorophyta(5400)

**Şube (=Phylum):** Glaucophyta(15)

**Şube (=Phylum):** Rhodophyta(6399)

**Şube (=Phylum):** Tracheophyta(71)

Günümüzde canlı sistematğinde kullanılan tekniklerin gelişmesi, morfolojik gözlemlerle yapılan tayinin yerini moleküler veriler kullanılarak yapılan sistematik tayinin almasına sebep olmuştur. Polimeraz Zincir Reaksiyonunun (PZR) ilk kez Saiki ve ark. (1985) tarafından tanımlanması moleküler biyolojide büyük ilerlemelere sebep olmuştur. Bu gelişmeyi takiben; canlıların DNA, RNA ya da protein dizilerini inceleyerek akrabalık derecelerini, tarihlerini ve evrimsel gelişmelerini bulmayı amaçlayan moleküler filogenetik kavramının ortaya atılması taksonomide yeni bakış açılarının ortaya çıkmasını sağlamıştır. Moleküler filogenetik ile pek çok canlının sistematik kategorizasyondaki yeri değişmiş ve hala değişmeye devam etmektedir.

Mikroalglerin bu denli öneme ve büyük bir çeşitliliğe sahip olması, bu canlılar hakkında, biyokimya, genetik, moleküler biyoloji alanlarında genomik düzeyde çalışmalar yapılmasını zorunlu hale getirmiştir.

Ayrıca mikroalglerin mikroskobik canlılar olması, mikroskopta net görüntünün elde edilememesi, sistematik tayini yapan kişinin deneyimsizliği, bu canlıların kültür ortamlarında ya da doğal habitatlarında fizyolojik strese girmeleri durumunda farklı morfolojik özellikler kazanıyor olmaları, onların sadece morfolojik gözlemlere dayanarak doğru bir şekilde sistematik tayinlerinin yapılmasını engellemektedir.

Tüm bu fikirlerden yola çıkarak söz konusu çalışmada, Marmara Bölgesi iç sularında dağılışı gösteren Cyanobacteria, Heterokontophyta ve Chlorophyta gruplarında yer alan 24 mikroalgin morfolojik ve moleküler sistematiklerinin yapılması amaçlanmıştır. Bunun için; toplanan su örneklerindeki mikroalg hücrelerinin izolasyonları yapılmış ve belirlenen kültür ortamına konarak optimum şartlarda büyümeleri sağlanmıştır. Belli bir yoğunluğa ulaşan mikroalg kültürleri, moleküler analizlerde kullanılmıştır. Örneklerin DNA izolasyonu yapılmış, ITS bölgesi çoğaltılmış, DNA dizi analizi yaptırılmış ve filogenetik ağaçları oluşturularak sistematik tayinleri yapılmıştır. Böylece zengin bir mikroalgal çeşitliliğine sahip iç sularımızda bulunan ve ekonomik açıdan önemli olabilecek alg türlerinin sistematığı moleküler verilerle desteklenerek doğru bir şekilde yapılmış ve bu sistematik verilerin kayıt altına alınması sağlanmıştır.

**BÖLÜM 2****ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR****2.1. Mikroalgler**

Algler; gerçek kök, gövde, yaprak bulundurmayan, talluslu, klorofil ve diğer fotosentetik pigmentlere sahip, atmosferdeki oksijenin % 70-90'ını sağlayan, ekosistemdeki besin zincirinin ilk halkasını oluşturan canlı grubudur. Temel olarak makro ve mikro algler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Literatürde oksijenik fotosentetik bakteri olarak geçmelerine rağmen siyanobakteriler ile ökaryotik mikroskobik algler, mikroalgleri oluşturmaktadır (Tomaselli, 2004).

Siyanobakterilerin hücre duvarı, lipopolisakkarit yapıda olup murein (peptidoglikan) tabakası içerir ve gram negatif boyanabilme özelliğine sahiptir. Duvarın altında ince bir hücre zarı (plazmalemma) bulunur. Sitoplazmada fotosentez reaksiyonlarının gerçekleştiği fikosiyanın bakımından zengin tillakoyid zarlar bulunmaktadır. Fotosentetik pigment olarak sadece klorofil a içermektedirler. Filamentli ve sesil tek hücreli formlar halinde bulunabilirler. Depo ürünleri glikojendir ve sitoplazmada granular halde bulunur. Siyanobakteri hücreleri ikili ve çoklu bölünme ve fragmentasyon ile çoğalırlar. Genetik varyasyon ise transformasyon ve konjugasyon ile sağlanmaktadır (Becker, 1994; Koray, 2002; Tomaselli, 2004; Lee, 2008).

Ökaryotik alg hücreleri, golgi cisimciğinin salgıladığı polisakkarit moleküllerinden oluşan bir hücre duvarı ile çevrilmiştir. Duvarın hemen altında protoplazmanın hareketlerinin kontrolünden sorumlu bir hücre zarı (plazmalemma) bulunmaktadır. Lokomotor organlar ve plazma zarına eklenmiş, mikrotübüllerden oluşan kamçı, hücreyi iterek onun hareketini sağlar. Çift katlı zar ile sarmalanmış nükleus, hücrenin genetik materyalini bulundurur. Sitoplazmada tillakoyid zar sistemlerinden ve stromadan oluşan, bazı üyelerinde pirenoidler bulunduran, fotosentezin gerçekleştiği çift zarlı organel kloroplast, hücresel solunumun gerçekleştiği mitokondri, polisakkarit salgılanmasından sorumlu golgi cisimciği, 80 S ribozomlar ve bol miktarda lipid molekülü bulunmaktadır (Lee, 2008).

Alglerin habitatlarına bakıldığında; genellikle akan ve durgun sularda geniş bir şekilde yayılış gösterdiği düşünülür. Ancak, bu durum, alglerin endofitik (bir bitki ile birlikte), epifitik (bir bitkinin üzerinde), epizoik (bir yumuşakça ya da sürüngen gibi hayvanların üzerinde), ağaç kabuğu üzerinde, nemli topraklarda, kalkerli taş ve kayalar ile kar ve buzulların üzerinde, sıcak su kaynakları gibi ekstrem şartlarda da yayılış

gösterebilmeleri sebebiyle kısmen doğrudur. Bu tür yerlerde bir ya da birden fazla tür bir arada bulunabilir ya da başka canlılarla simbiyotik yaşam gözlenebilir. Tropiklerden kutuplara kadar çok geniş bir yayılım alanına sahiptirler. Planktonik alglerin taşınımı sucul kuşların su içindeki hareketleri ve alglerin geçici olarak yerleştiği kuş tüyleri ile olur. Toz partiküllerinin arasında diatomların bulunuşu rüzgarın önemli bir taşınım aracı olduğunu göstermektedir (Van Den Hoek ve ark., 1995).

Alglerin gelişiminde su ile ışık, sıcaklık, inorganik maddeler, pH ve diğer biyotik faktörler etkilidir. Işık, fotosentez için temeldir fakat her alg farklı yoğunluktaki ışığa tepki gösterir. Terrestrial, akuatik ve havasal algler, farklı ortamlara adapte olmalarından dolayı farklı yoğunlukta ışığa ihtiyaç duymaktadırlar. Bununla birlikte, farklı dalga boylarındaki ışığın suya girişini suyun turbiditesi ve çözünmüş tuz miktarı da etkilemektedir. Kromatik adaptasyon teorisine göre; fikoeritrin ve fikosiyenin içeren alglerin renklenmesinde de ışık etkilidir. Sıcaklığın alg büyüme, gelişme ve dağılımında büyük etkisi olup termal algler, kar ve buzul algleri gibi istisnai durumlar hariç algal popülasyonun habitatını sınırlar. Yüksek bitkilerin gelişmesi için gerekli olan birçok inorganik bileşikler, algler için de gereklidir. Algler azot ihtiyaçlarını nitrat, nitrit ve amonyum bileşiklerinden karşıladıkları zaman iyi bir gelişme gösterirler. Doğada kullanılabilir azot kaynakları uygun olduğunda algler çok iyi bir gelişme gösterir (Van Den Hoek ve ark., 1995).

Algler, ekolojik ve ekonomik açıdan önem taşıyan canlılardır. Su ortamında primer üretici canlılar olan algler, yapılarındaki pigmentleri sayesinde karbondioksit ve suyu ışığın etkisi ile karbonhidratlara çevirirler ve böylece su ortamındaki besin değerinin ve çözünmüş oksijen oranının artmasını sağlarlar. Sonuçta kendi gelişimlerini sağlayarak besin zincirinin ilk halkasını oluştururlar. Bu şekilde üretime olan katkıları ve üst basamaktaki canlılarla olan ilişkileri açısından önem taşımaktadırlar. Üretim artışının belli bir düzeyi aşmasının doğal bir sonucu olarak da çevresel denge bozulur ve bu gelişime ötrofikasyon adı verilir. Ötrofik bir ortamda besin madde girdisinin fazlalığından dolayı, (özellikle azotlu ve fosfatlı bileşikler) alg ve bakteri faaliyetleri ile bulanıklık artar ve ışığın suyun alt kısımlarına geçmesi engellenir. Oksijen dip kısımlarda sınırlayıcı bir özellik kazanır. Bu da bentik bölgede yaşayan canlılar için ölümle sonuçlanabilir. İnsan faaliyetleri, evsel, endüstriyel ve tarımsal atıklar son yıllarda ötrofikasyona direkt etkide bulunmaktadır. Bunun yanı sıra atmosferden difüzyon ile suya karışan azot, yağmur sularının alıcı ortamlara taşıdığı besin maddeleri, drenaj yoluyla ortama taşınan maddeler kirlenme sürecini hızlandıran doğal gelişimlerdir. Ötrofikasyonun sonuçlarından biri de aşırı alg patlamalarının görülmesidir. Bunun anlamı, fitoplankton (alglerin serbest yüzen

formları) populasyonlarının suyun rengini, kokusunu ve ekolojik dengesini bozacak yoğunluğa ulaşmasıdır. Bunun yanı sıra alglerin aşırı gelişmesi, sucul ortamdaki birçok canlı için toksik etkilere neden olduğu için ölümler görülebilmektedir. Örneğin, Dinoflagellatlardan *Gymnodinium*, Stein ve *Gonyaulax*, Diesing cinslerine ait türler aşırı çoğalma sonucu, hayvanların sinir sistemlerini etkileyen, yüksek oranda suda çözünebilir toksik madde üretirler (Weiver ve ark., 1982). Cyanobacteria grubundan *Anabaena*, Bory de Saint-Vincent ex Bornet & Flahault, *Aphanizomenon*, A.Morren ex Bornet & Flahault, *Gloeotrichia*, J. Agardh ex Bornet & Flahault ve *Microcystis*, Kützing ex Lemmermann, *Nostoc*, Vaucher ex Bornet & Flahault, *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont cinsleri ile Heterokontophyta grubundan *Prymnesium parvum*, N.Carter türü ve Bacilliarophyceae grubundan *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M.Schmidt türü, algal bloom olayına sebep olan diğer mikroorganizmalardır (Van Den Hoek ve ark., 1995).

Algler, trofik düzeyin ilk kademesinde olmalarının yanında ekonomik öneme sahip ürünlerin eldesinde de kullanılabilirler. Alg ürünleri, insan gıdası, hayvan yemi, tedavi edici ajanlar olarak, antimikrobiyal madde, pigment, pek çok kimyasal madde (yağ asitleri, lipidler, hidrokarbonlar, aminoasitler, enzimler, E ve C vitamini, polisakkaritler) eldesinde, atık su arıtımında, yakıt (biyodizel, biyogaz vs.) ve organik gübre olarak kullanılabilirler (Becker, 1994).

20. Yüzyıla bakıldığında 1950'lerin başından itibaren, mikroalglerin gıda, yem, lipid, vitamin, pigment, gübre, ilaç gibi ürünlerin eldesinde ham madde kaynağı olarak kullanımlarına yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır.

## **2.2. Mikroalglerin İzolasyonu ve Kültürü**

Mikroalglerin izolasyon ve kültür çalışmaları 20. yy. sonlarına doğru, ilk kez *Chlorella vulgaris*, Beyerinck [Beijerinck] türünün laboratuvar şartlarında kültürünü yapan Beijerinck ile 1890 yılında başlamıştır (Bold, 1942). Zamanla bu çalışmalar laboratuvar ortamından açık kültür sistemlerine taşınmıştır (Sharma, 1986). Konuyla ilgili ilk proje Washington'da Carnegie Enstitüsü'nde, yeşil alglerden olan *Chlorella* cinsinin besin olarak kullanılıp kullanılmayacağına araştırılması amacıyla başlatılmış ve "Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant" isimli çalışmada rapor edilmiştir (Becker, 1994). Farklı ülkelerde de geniş alanda alglerin kültürü ve üretilen biyokütlenin kullanılabilirliği ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Caswell ve Zilberman, 2000).

İzolasyon yöntemleri, alglerin değişik üreme birimlerinin veya algin kendisine ait olan fototaktik harekete dayalı biyolojik izolasyon ve seyreltme, kılcal pipet ve plak agar



teknikleri ile yapılan mekanik izolasyon olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Alg izolasyonu, mekanik izolasyon yöntemleri ile biyolojik izolasyona göre daha hızlı yapılabilmektedir (Pringsheim, 1946).

İzolasyonu yapılan alg hücresi, o türün maksimum büyüme ve gelişme gösterdiği doğal ortamına en benzer kültür solüsyonuna konduğunda yaşamını sürdürebilmektedir. Bu noktada, kullanılacak kültür solüsyonunun içerdiği besleyici maddelerden pH değerine kadar pek çok özelliğinin doğal yaşam ortamına benzemesi gerekmektedir (Mclachlan, 1973). Verimli ve sağlıklı bir kültür elde etmek için; kültür ortamı hazırlamada kullanılan suyun kimyasal özelliği, kültürün yetiştirileceği kabın boyutları ve yapıldığı madde, kültür ortamı hazırlarken kullanılan inorganik ve organik besleyiciler, kültür şartlarının (ışık, sıcaklık, pH, tuzluluk, havalandırma) optimizasyonu ve sürdürülebilirliğine dikkat etmek gerekmektedir.

### 2.3. Alglerin Sistematığı

Zaman içinde farklı görüşler ortaya atılmakla birlikte Guiry (2012) yaptığı son çalışmasında alg şube ve sınıflarını ve bunların kaçar taksonla temsil edildiklerini özetlemiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Her şube ve sınıftaki alglerin sayıları, yaygın isimleri, Algaebase veri tabanındaki sayılar, tanımlanmış ve tanımlanmayı bekleyen alglerin sayıları (Guiry, 2012)

Şube ve Sınıf	Yaygın İsmi	Sınıflar	Şubeler	Tanımlanmışlar	Tanımlanmamışlar	Toplam
Cyanobacteria	Blue-green algae		3300	5000	3000	8000
Cyanophyceae	Blue-green algae	3300				
Rhodophyta	Red algae		6,131	7,000	7,000	14,000
Bangiophyceae	Bangiophytes	138				
Cyanidophyceae	Cyanidophytes	4				
Porphyridiophyceae	Porphyridiophytes	11				
Stylonematophyceae	Stylonematophytes	25				
Rhodellophyceae	Rhodellophytes	5				
Florideophyceae	Florideophytes	5,948				
Glaucophyta	Glaucophytes	14		15	15	30
Charophyta	Charophytes		3,470	6,000	3,000	9,000
Charophyceae	Charophytes	690				
Coleochaetophyceae	Coleochaetophytes	18				
Klebsormidophyceae	Klebsormidophytes	39				
Mesostigmatophyceae	Mesostigmatophytes	14				
Zygnematophyceae	Zygnemophytes	2,709				
Chlorophyta	Chlorophytes		4,548	8,000	5,000	13,000
Bryopsidophyceae	Bryopsidophytes	520				
Chlorodendrophyceae	Chlorodendrophytes	43				
Chlorophyceae	Chlorophytes	2,292				
Dasycladophyceae	Dasycladophytes	50				
Mamiellophyceae	Mamiellophytes	16				

Nephroselmidophyceae	Nephroselmidophytes	26				
Pedinophyceae	Pedinophytes	22				
Pleurastrorphyceae	Pleurastrorphytes	3				
Prasinophyceae	Prasinophytes	97				
Siphonocladiphyceae	Siphonocladiphytes	402				
Trebouxiophyceae	Trebouxiophytes	546				
Ulvophyceae	Ulvophytes	531				
Cryptophyta	Cryptophytes <sup>a</sup>		148	200	200	400
Cryptophyceae	Cryptophytes	148		550	250	800
Haptophyta	Haptophytes <sup>a</sup>		510			
Coccolithophyceae	Coccolithophorids	371				
Pavlovophyceae	Pavlovophytes	15				
Incertae sedis		124				
Cercozoa			12			
Chlorarachniophyceae	Chlorarachniophytes	12				
Ochrophyta	Ochrophytes <sup>a</sup>		11,571	12,500	8,500	21,000
Aureanophyceae	Aureanophytes	1				
Bacillariophyceae	Diatoms	8,397				
Bolidophyceae	Bolidophytes	14				
Chrysoamoerophyceae	Chrysomerophytes	4				
Chrysophyceae	Chrysophytes	431				
Dictyochophyceae	Dictyochophytes	51				
Eustigmatophyceae	Eustigmatophytes	35				
Pelagophyceae	Pelagophytes	12				
Phaeophyceae	Brown algae	1,792				
Phaeothamniophyceae	Phaeothamniophytes	33				
Picophagophyceae	Picophagophytes	4				
Pinguiphyciae	Pinguiphycetes	6				
Placidiophyceae	Placidophytes	2				
Raphidophyceae	Raphidophytes	35				
Schizocladiphyceae	Schizocladiphytes	1				
Synchromophyceae	Synchromophytes	1				
Synurophyceae	Synurophytes	252				
Xanthophyceae	Xanthophytes	500				
Choanozoa	Choanoflagellates		79	150	150	300
Choanoflagellate	Choanoflagellates	79				
Euglenozoa	Euglenoid flagellates		1,189	2,000	1,000	3,000
Bodonomophyceae	Bodonomoans	32				
Euglenophyceae	Euglenozoans <sup>a</sup>	1,157				
Loukozoa	Loukozoans		3			
Jakobea	Jakobids	3				
Metamonada	Metamonads		5			
Trepomonadea	Trepomonads	5				
Myozoa	Myozoans		2,277	2,500	500	3,000
Dinophyceae	Dinoflagellates	2,270				
Perkinsea	Perkinsids	7				
Percolozoa	Percolozoans		3	3	3	6
Heterolobosea	Heterolobosids	3				
TOPLAM		33,260		43,918	28,618	72,536

a: -phytes eki bu algerin geleneksel isimlerinde aldıkları ektir, Chromista taksonuna yerleştirilmiş bu algerin Rhodophyta, Chlorophyta, Charophyta, and Glaucophyta (Plantae) gruplarıyla ilişkisi bulunmamaktadır.

#### **2.4. Sistematikte Kullanılan Yöntemler**

Biyolojik çalışmalarda çok çeşitli materyaller kullanılmaktadır. Fakat kullanılan materyalin sistematigi tam olarak belirlenemediginde çalışma için seçilecek araç-gereç, yöntem ve uzman kişiler de tam olarak belirlenemez. Bu yüzden çalışmanın sağlıklı ilerleyebilmesi, verimli olabilmesi ve çalışmadan istenen sonucun alınabilmesi için yapılması gereken ilk iş, kullanılacak biyolojik materyalin sistematik tayinini yapmaktır. Bunun için farklı yöntemler kullanılmaktadır.

##### **2.4.1. Morfolojik taksonomi**

En eski sistematik çalışmalardan olan morfolojik taksonomi, canlıların dış görünüşlerine bakılarak, mikroorganizmalar için mikroskobik düzeyde incelenebilen genel fenotipik özellikleri kriter alınarak yapılmaktadır. Mikroalglerin sistematiginde, gerçek çekirdeğinin olup olmadığı, plastitlerinde bulunan pigmentler ile bu pigmentlerin ve plastitlerin yerleşim şekli, hücre duvarı ve yerleşimi, hücre ölçüleri ve şekli, varsa kamçı uzunluğu ve yapısı, hayat döngüleri, üreme organları ve çoğalma yolları gibi özelliklerden faydalanılır. Bu özelliklerine göre belirgin bir şekilde birbirinden ayrılabilen taksonlar bulunmaktadır. Örneğin; Chlorophyceae sınıfı üyelerinin kamçı uzunluğu her zaman eşit olup plastitlerinde çoğunlukla yeşil pigmentler bulunmakta ve fotosentetik ürünlerini her zaman nişasta olarak depolamaktadırlar. Oysa Heterokontophyta bölümü üyelerinin eşit olmayan kamçıları, çoğunlukla sarı renkli pigmentleri ve yağ depo maddesi vardır. Bu özelliklerin belirgin farklılıkları Heterokontophyta ve Chlorophyceae üyelerinin rahat bir şekilde ayrılmasını sağlamaktadır. Ancak bu durum her zaman mümkün olmamaktadır. Özellikle mikroalglerin mikroskobik gözlemlerinde yaşanan, mikroskobun yetersiz kalitede olması, gözlem yapan kişinin deneyim eksikliğinin olması ve alg sistematiginde literatür eksikliğinin olması gibi yöntemsel eksiklikler ile mikroalg hücrelerinin doğal yaşam ortamları ve kültür şartlarında farklı morfolojik özelliklere sahip olması, kültür şartlarında strese girip spor halinde kalabilmesi gibi özellikler sebebiyle mikroalglerin teşhisi tam ve doğru bir şekilde yapılamamaktadır. Bu sıkıntılar nedeniyle mikroalg sistematiginde alternatif tekniklere gerek duyulmuştur.

##### **2.4.2. Sitotaksonomi**

Morfolojik taksonomi verilerindeki belirsizlikler, canlıların sınıflandırılmasında farklı tekniklerin kullanılmasını gerektirmiştir. Sitotaksonomi, karyotiplerin durumu, kromozom sayısı, kromozom yapısı ve kromozom büyüklükleri gibi sitolojik bulgular yardımıyla klasik taksonomideki tartışmalı durumların aydınlatılmasına katkıda

bulunmaktadır (Yaylacı ve ark., 2009). Alglerin sitotaksonomisi ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır (Rao ve ark., 1978; Prasad ve Dutta, 1970 a,b)

### **2.4.3. Kemotaksonomi**

Canlılardaki kimyasal maddelerin özelliklerini, taksonomik dağılımlarını ve ayrıca evrimleşme ile ilişkilerini inceleyerek katkıda bulunmak üzere tümüyle analitik sonuçlardan yararlanan bilim dalıdır. Genel olarak, canlılık için esas olan, canlılığın oluşması ve sürmesi için şart olan maddeler primer (birincil) metabolitlerdir. Bunların dışında kalan, yani eksikliği halinde de canlılığın sürebileceği, bu nedenle de tüm canlılarda bulunmayan ve özel bir canlı grubunun evrimleşme şeklinin ortaya çıkarttığı maddeler de sekonder (ikincil) metabolitler olarak adlandırılmaktadır. 1950'lerin sonlarında bitkisel kökenli organik maddelere dayanan ve o zamanki tekniklerle gereken şekilde analizleri mümkün olmayan alkaloidler dışındaki ikincil metabolitlerin taksonomik dağılımını inceleyerek sonuca gitmeye çalışan bir sınıflandırma yöntemi geliştirilmiştir. Önerilen bu biyogenetik yorumlara girmeyi amaçlayan sınıflandırma; fito-hormonlar, vitaminler dahil bitki kimyası bulguları ile tropolenler, terpenler ve steroidler gibi maddelerin bitki fizyolojisine dayalı biyogenetik verilerine dayandırılmıştır (<http://80.251.40.59/science.ankara.edu.tr/duygu/KEMOTAXONZmb.htm>).

Algler de özel yaşam alanlarına adapte olabilmeleri ve geniş bir yayılış alanına sahip olmaları sebebiyle yüksek oranda sekonder metabolit (yağ asitleri, steroller, karotenoidler, pigmentler, fikokolloidler, agar, karregan, alginat) üretebilme potansiyeline sahiptir. İşte alglerin ürettikleri sekonder metabolitler ve özellikleri, fotosentez sonucu meydana getirdikleri ürünler ve depo etme şekli, hücre çeperinin kimyasal yapısı gibi özellikler dikkate alınarak kemotaksonomik çalışmalar yapılmıştır. Howard ve ark. (1980), Giner ve ark. (2009), Hou ve ark. (2011), Fenical ve Norris (1975) gibi bilim adamlarının konuyla ilgili çalışmaları bulunmaktadır.

### **2.4.4. Moleküler taksonomi**

Mikroalg teşhisinde örneklerin ışık mikroskobu altında mikrografi yöntemi ile incelenerek morfolojik tür tayinin yapılması, fazlasıyla deneyim ve zaman gerektirmekte ve araştırmacılara göre farklılıklar gösterebilmektedir. Son yıllarda moleküler biyoloji ve genetik alanlarındaki gelişmeler sistematik alanda yeni tekniklerin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Polimeraz zincir reaksiyonunun keşfiyle organizmaların genlerinin klonlanması ve bunların birbirleriyle karşılaştırılması sistematik alanında büyük bir kolaylık yaratmıştır.

Moleküler taksonomi, organizmalar arasındaki benzerliklerin ve birbirleriyle olan filogenetik ilişkilerin, DNA, RNA, protein gibi canlı için spesifik olan polimerlerin moleküler düzeyde incelenmesi ve bu incelemeler sonucu elde edilen genomik bilgilerin biyoinformatik teknikler kullanılarak yorumlanması ile belirlenmesi esasına dayanmaktadır.

#### **2.4.4.1. Moleküler taksonomide kullanılan yöntemler**

Protein elektroforezi, Rastgele Amplifiye Olmuş Polimorfik DNA (RAPD), Restriksiyon Fragmentlerinin Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Amplifiye Olmuş Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi (AFLP), DNA dizi analizi, Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-Time PZR) bunlardan bazılarıdır (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008; Ergüden, 2007).

#### **Protein Elektroforezi**

Moleküler taksonomide kullanılan ilk yöntemlerden olan protein elektroforezi, protein monomerleri aminoasitlerin yüküne bağlı olarak elektriksel alanda farklı hareket etme prensibine dayanmaktadır. Bir proteini kodlayan gende birden fazla allel varsa, her bir allel tarafından şifrelenen proteinler farklı aminoasit çeşitleri içerikleri için farklı elektriksel yüke veya büyüklüğe sahiptirler. Elektroforez bu gibi allel farklılıklarını ortaya çıkararak veri elde etmemizi sağlar (Turan, 2000).

#### **RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi**

Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), kıyaslama amacıyla, farklı organizmalara ait homolog DNA bölgelerinin restriksiyon enzimleriyle kesilmesi ve bu DNA parçalarının agaroz veya poliakrilamid jel elektroforezinde büyüklüklerine göre ayrılması esasına dayanmaktadır. Etidyum bromür ile jel boyandıktan sonra fragmentlerin UV ışık altında gözlemi yapılır. Bantlar ve bantlar arasındaki farklılıklar karşılaştırılarak her izolatin ayrımı yapılmış olur. RFLP tekniği PZR metodundan yararlanılarak, mitokondriyal DNA, kloroplast DNA'sı ya da nükleer DNA'nın birkaç bölgesi (geni) için kullanılabilir. Yapılan son çalışmalar bu yöntemin özellikle filogeni alanında etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır (Turan, 2002).

**RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA**

9-10 baz çiftinden oluşan rastgele oligonükleotitlerin, DNA'nın iki ipliği üzerinde iki farklı, birbirine zıt noktada tamamlayıcılarını bulması ve bu ara bölgenin çoğaltılması prensibine dayanmaktadır. Bu işlemle elde edilen amplifikasyon ürünleri polimorfizm gösterdiklerinden genetik belirteç olarak kullanılırlar (Welsh, 1990).

Bu yöntem, moleküler sistematik ve bitki genom haritalarının çıkartılmasında başarıyla kullanılmaktadır (Kochieva, 2002). RAPD yöntemi yoğun laboratuvar çalışmaları ve Southern transferler, filtre hibridizasyonları, otoradyografi gibi pahalı yöntemler ile genomik kütüphane oluşturulmasını gerektirmemektedir. RFLP analizlerinde kullanılan DNA'ya göre çok daha az miktarda genomik DNA'ya ihtiyaç duyulur. Türler arası ve tür içi polimorfizmin belirlenmesinde RFLP tekniğine göre daha etkilidir (Babaoğlu, 2004).

**AFLP (Amplified Fragment Length Polimorphism) Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi**

AFLP tekniğinde restriksiyon endonükleazların her biri DNA üzerinde spesifik bir bölgeyi veya sekansı tanıyıp keser ve DNA fragmanları oluşur. Farklı hedef sekansları tanıyan farklı restriksiyon enzimlerinin eş zamanlı kullanımları farklı uzunluklara sahip DNA fragmanının oluşmasına sebep olur ve istenilen hedef fragmanı çoğaltmak için pre-selektif amplifikasyon adı verilen bir işlem ile fragmanlar taranır, PZR tekniği kullanılarak istenilen hedef fragmanın sayısı binlerce kere artırılır (Babalola, 2003). Bu teknik bakteri, mantar, hayvan ve bitkileri de içeren çok geniş canlı grubunda tür altı kategorilerde genetik varyasyonu belirlemek için sıklıkla kullanılmaktadır. Tekniğin çok geniş bir alanı taraması, az miktarda iş gücüne gereksinim duyması, kısa sürede neticelenmesi ve yorumlanabilmesinin kolay oluşu, analiz için az miktarda DNA'ya gereksinim olması, avantajları arasındadır.

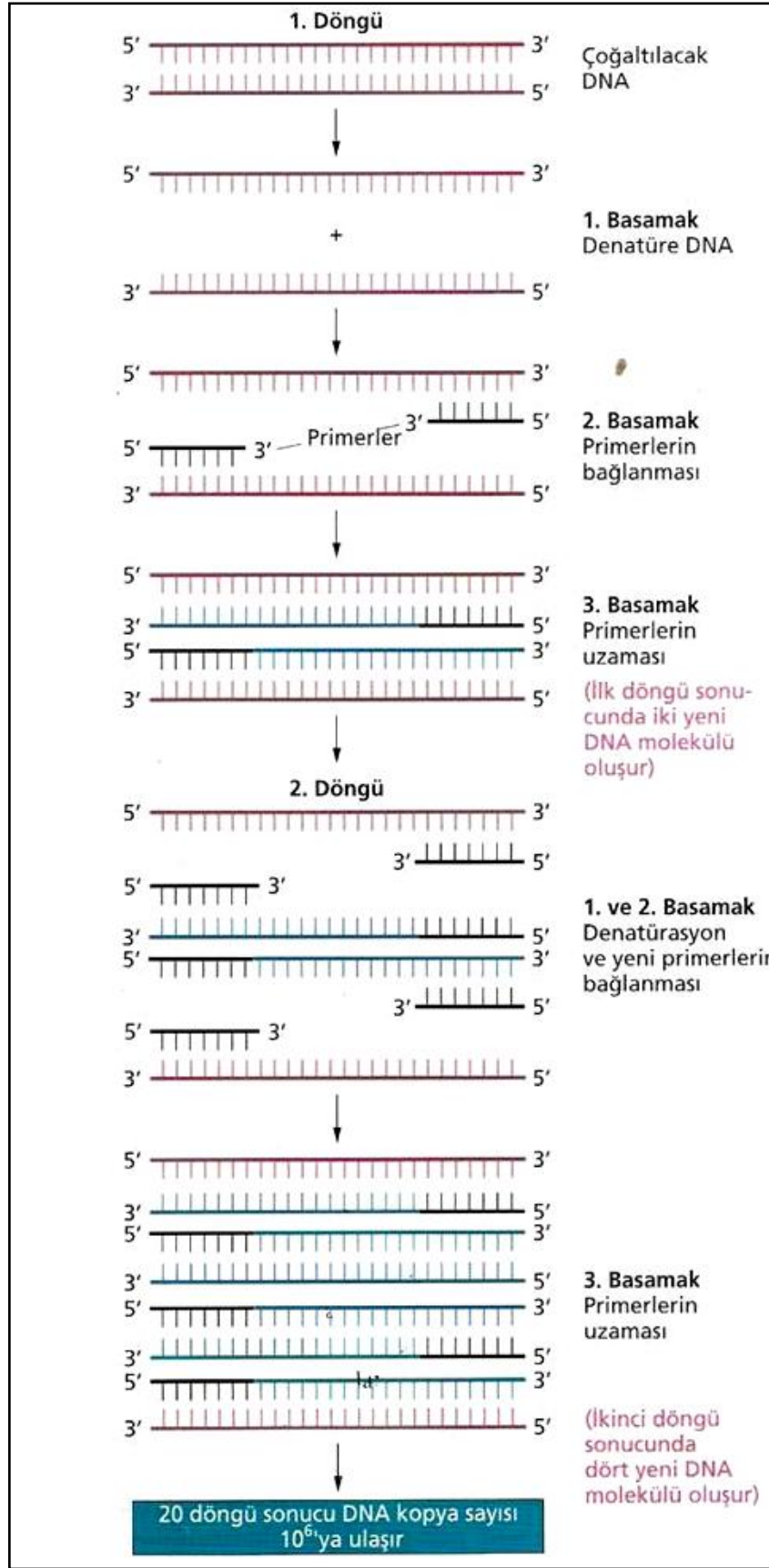
Bu yöntemlerin dışında; Minisatellitler (SSR), Mikrosatellitler (VNTR), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) Basit İç Dizi Tekrarları, SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) Belirlenmiş ve Çoğaltılmış Polimorfik Diziler, CAPS (Cleaved amplified polymorphic sequence) Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler, ESTs (Expressed Sequence Tags) İşaretle İfade Edilen Diziler, ASAP (Allele Specific Associated Primers) Allele Özgü Birleşen Primerler, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) Tek Nükleotit Polimorfizmi gibi daha detaylı ve farklı tekniklere dayanan yöntemler de kullanılmaktadır.

**PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)**

1986 yılında geliştirilen PZR, DNA moleküllerinde hedef DNA dizilerinin doğrudan çoğaltılmasına dayanır ve nanogram miktarlarda DNA dahi bu iş için yeterlidir. Moleküler biyoloji, insan genetiği, evrim, gelişim ve adli vakalar gibi pek çok disiplinde kullanılan bu yöntemde hedef DNA'nın nükleotit dizisinin, tek zincirli DNA'ya bağlanacak olan iki oligonükleotit primerin sentezinin yapılabilmesi için bilinmesi gerekmektedir. Bu primerler, çoğaltılacak tek zincirli DNA molekülündeki tamamlayıcı dizilerle hibridize olarak ısıya dayanıklı DNA polimeraz (Taq polimeraz vs.) yardımıyla DNA'daki hedef bölgenin sentezini sağlar (Şekil 2.1). PZR reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürünün miktarı, bu üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır (Klug ve Cummings, 2003).

İlk adımda (denaturation); çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale gelene kadar 90-95°C'de yaklaşık 5 dakika süreyle ısıtılır. İkinci adımda (annealing); sıcaklık 50-70°C arasında bir değere düşürülerek primerlerin (15-30 nükleotit uzunluğunda yapay oligonükleotidler) tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır. Bu primerler, kalıp DNA'nın sentezi için, başlangıç noktası olarak görev yaparlar ve çoğaltılacak DNA kısmının uçlarındaki tamamlayıcı dizilere spesifik olarak bağlanırlar. Son adımda (extension); ısıya dayanıklı DNA polimeraz olarak genellikle sıcak su kaynaklarında yaşayan bir bakteriden (*Thermus aquaticus*) elde edilen Taq polimeraz enzimi kullanılır. Polimeraz enzimi, nükleotitleri 5' ucundan 3' ucuna doğru ekleyerek, primerlerin uzamasını sağlar ve 70-75 °C arasındaki sıcaklıklarda hedef DNA'nın iki zincirli kopyasını oluşturur (Klug ve Cummings 2003).

PZR bir zincir reaksiyonu olup 4-5 dakika süren her döngüde DNA zincirlerinin sayısı iki katına çıkar ve yeni zincirler bir sonraki döngüde kalıp görevi görürler. 25-30 döngü sonunda, DNA miktarında yaklaşık 1.000.000 kez artma olur. İşlem, thermocycler (ısı döngücüsü) denilen makinelerde, önceden döngü sayısı ve sıcaklıkları belirlenen programlarla, otomatik olarak gerçekleştirilir (Klug ve Cummings 2003).



Şekil 2.1. PZR yöntemi (Klug ve Cummings 2003).



**2.4.4.2. Moleküler taksonomide kullanılan DNA çeşitleri**

Ökaryot canlı gruplarının filogenetik çalışmalarında nuklear DNA, mitokondriyal DNA, fotoototrof olanlar için kloroplast DNA'sı kullanılabilirken, prokaryot olanlar için sadece genomik DNA kullanılabilir.

Moleküler filogenetik çalışmalarda kullanılması avantajlı olan DNA bölgeleri; çekirdek ve mitokondriyal rDNA ve protein kodlayan bölgelerdir (Bridge ve ark., 2005). Bunun yanında; kloroplast DNA'sı (cpDNA), ribozomal DNA (rDNA), Rubisco, tRNA gibi canlılarda ortak gen bölgeleri olarak kabul edilen evrensel bölgeler de kullanılmaktadır.

**Mitokondriyal DNA**

Mitokondriyal DNA (mtDNA) mitokondri içindeki çıplak DNA molekülüdür (Kartavtsev, 2007). Mitokondri, proto-ökaryot hücrenin simbiyontu olarak günümüzden 1,5-2 milyar yıl önce ortaya çıkmış ve daha sonra genlerinin büyük bir kısmını hücre çekirdeğine aktarmıştır. mtDNA 12S ve 16S rRNA, 22 adet tRNA ve oksidatif fosforilasyon enzimleri olan 13 polipeptid kodlar (Wallace, 2000, 2005). Mitokondriyal DNA ile ilgili yapılan çalışmalar sitokrom b geni üzerinde yoğunlaşmıştır (Gülbitti-Onarıcı, 2003). Tür ve daha üst taksonomik seviyelerin evrimsel ilişkilerini belirlemek için mtDNA molekülünün tercih edilmesinin nedenleri küçük boyutlu ve yüksek oranda korunmuş yapıda olmalarıdır (Su ve ark., 1999).

**Kloroplast DNA'sı**

Kloroplast DNA'sı (cpDNA) halkasal bir molekül olup semikonsevatif olarak kendini eşler. Çiçekli bitkilerin 120-217 kilobazdan oluşmuş kloroplast genomu nesiller boyu çok iyi korunmuş bir moleküldür. Kloroplast DNA'sında bulunan ve Kalvin reaksiyonlarında karbondioksitin tutulmasından sorumlu ribuloz 1,5-bifosfatkarboksilaz/oksijenaz (RUBISCO) enzimi kodlayan genin büyük parçası olan rbcL geni, bitki filogeni çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. RbcL gen dizileri yavaş bir hızla evrimleştikleri ve açık-net olmaları sebebiyle sistematik çalışmalarda kullanılmaktadırlar (Lin ve ark., 2005).

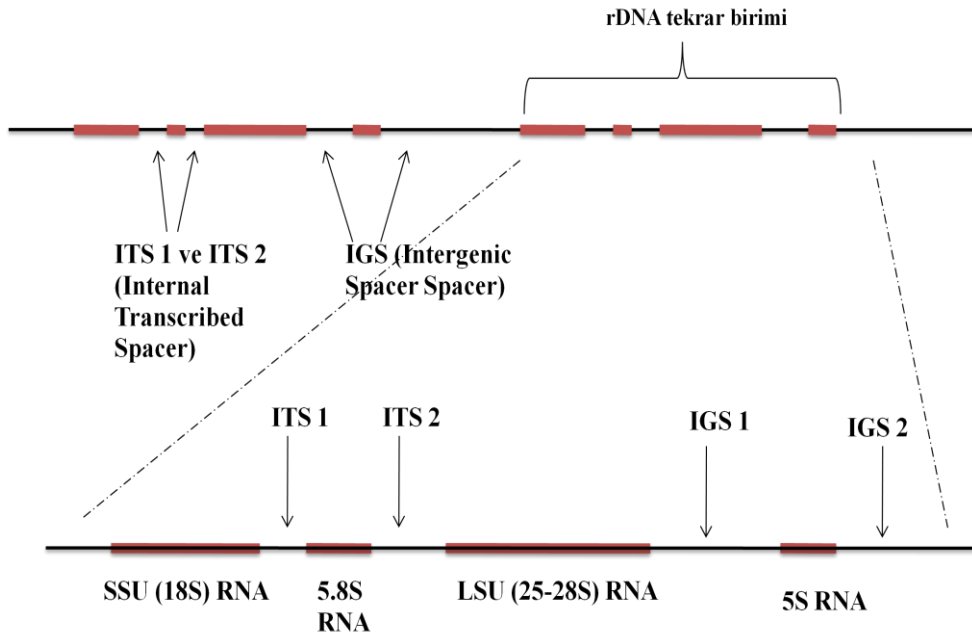
**Çekirdek DNA'sı**

Protein sentezi, tüm canlı hücrelerde gerçekleşebilen ortak bir metabolik olay olduğundan organizmalar arasındaki sistematik ilişkiyi belirlemede bu olayın gerçekleşmesinden sorumlu gen bölgesi olan rDNA molekülleri sıklıkla kullanılmaktadır.

rDNA eski, fonksiyonel olarak sabit, evrensel olarak yaygın ve filogenetik farkı ölçülü bir şekilde koruyabilen bir moleküldür. Ayrıca, rDNA gibi büyük bir moleküldeki olasılıkların sayısı oldukça fazladır ve iki dizi arasındaki benzerlikler filogenetik bir ilişkiyi işaret etmektedir. rDNA dizi analizlerinin sonuçları ve moleküler genetik çalışmalar organizmalar arasındaki doğru taksonomik ilişkileri yansıtacak şekilde filogenetik ağaçların elde edilmesini sağlamıştır (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

Ökaryotik ribozomal RNA genleri (ribozomal DNA veya rDNA) birbirini ardına gelen dizilerden oluşan ve tekrarlı üniteler NOR (Nucleolar Organizer Regions) olarak bilinen kromozom bölgelerinde bulunur. Her tekrarlı ünite transkribe olan ve olmayan bölgelerden oluşmaktadır. Transkribe olan bölgede 18S, 5.8S and 26S rRNA bölgelerinin genleri vardır ve 5.8 S rRNA geninin her iki kenarında ITS bölgeleri bulunmaktadır (Vander Stappen ve ark., 1998).

İki ITS bölgesi (ITS1 ve ITS2), 5.8S, 18S ve 26S nükleer ribozomal RNA (nrRNA) alt birimlerini kodlayan genler arasında bulunmaktadır. ITS-1 ve ITS-2 bölgeleri ile 5.8S nrRNA bölgesinin tamamı ITS bölgesi olarak adlandırılır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesi.

Korunmuş dizileri bulunduran büyük alt birim (LSU) ve küçük alt birim (SSU) genleri birçok taksonomik çalışmada kullanılmıştır. LSU rDNA dizi analizlerinden elde edilen verilerin filogenetik açıdan morfolojik karakterlere kıyasla daha fazla bilgi verici olduğu açıktır (Castlebury ve Carris, 2005). Alt birimler arasındaki ara (spacer) bölgeleri, transkripsiyonu yapılmayan bölgeler (internal transcribed spacer-ITS) ve genler arası bölge

(intergenic spacer-IGS) olarak adlandırılır. Bunlar alt birim dizilerinden daha değişkendir ve tek bir cins içindeki türler arasındaki ya da tür içi (intraspesifik) populasyonlar arasındaki çalışmalarda geniş oranda kullanılmaktadır (Kılıçoğlu ve Özkoç, 2008).

ITS bölgesinin filogenetik çalışmalarda kullanılmasının birçok sebebi vardır. Bunlardan bir tanesi; ITS bölgesinin bitki nüklear genomunda oldukça fazla tekrarlı olmasıdır. Bu şekilde fazla tekrarlı olması, nüklear DNA'nın amplifikasyonunun ve dizilenmesinin daha kolay hale gelmesini sağlamaktadır. İkinci olarak, nrDNA çoklu gen dizisinin hızlı bir şekilde birlikte evrim geçirmiş olması, türlerin baz dizilerinden yola çıkılarak ilişkilerinin incelenmesinde kesin sonuçlar sağlamaktadır. Ayrıca homolog olmayan kopyalarda nokta mutasyonların meydana gelmesi ile ortaya çıkan varyasyonlar filogenetik açıdan değerlidir. Üçüncü olarak ITS bölgesinin küçük olması (~700 bp) ve korunmuş diziler olan 18S ve 26S nrDNA arasında bulunması özellikleri sayesinde ITS bölgesinin çoğaltılmasında ve dizi analizinde evrensel primerlerin kullanılabilir olmasıdır (Baldwin ve ark., 1995).

## **2.5. Biyoinformatik**

### **2.5.1 Tanımı, tarihçesi, amacı ve uygulama alanları**

Biyoinformatik bilgisayar ve biyoloji bilimlerinin kesişme noktasını oluşturan bir bilim dalıdır. Çok fazla tanımı olmasına karşın, biyoinformatik RNA, DNA ve protein gibi biyolojik makromoleküllerle ilgili bilginin saklanması, işlenmesi ve dağıtılması ve tekrarlanan ve matematiksel açıdan karışık genom analizlerinin işlenmesi için bilgisayar teknolojilerini kullanan, biyoloji ve informatik alanlarının bileşiminden oluşan disiplinlerarası bir çalışma alanı olarak tanımlanabilir. Ancak zamanla bu tanımlamanın yetersiz kaldığı, istatistik, uygulamalı matematik ile biyokimya, mikrobiyoloji, tıbbi biyoloji gibi tıp bilimlerinin de tanımlamaya dahil edildiği, moleküler biyoinformatik, hesaplamalı biyoloji (computational biology) ve biyohesaplama (biocomputing) terimleri biyoinformatik ile eş anlamlı olarak kullanılmaya başlandığı görülmektedir (Gentleman ve ark., 2004).

Biyoinformatiğin başlangıcını kesin olarak belirlemek güçtür. Ancak 1951 yılında Pauling ve Corey'in proteinlerin sekonder yapılarını doğru tahmini için geliştirdikleri yaklaşım biyoinformatik için başlangıç kabul edilebilir. Çağdaş anlamda biyoinformatik bilimi, bilgisayarın yoğun desteğine gereksinim duyduğundan, bilgisayarla moleküler grafiklerin çizimine ait ilk makalenin 1966 yılında Scientific American dergisinde yayımlanmasını biyoinformatik için başlangıç saymak daha gerçekçidir. Biyoinformatik

terimi 1980’li yılların ortalarından sonra kullanılmaya başlanmıştır. Temel moleküler ve genetik süreçlerin anlaşılmasında ve karmaşık verilerin analizi ve yorumlanması için yeni yöntemler geliştirilmesinde en etkin kurum olan National Center for Biotechnology Information (NCBI) 1988’de kurulmuştur. İnsan Genom Projesi 13 yıllık uluslararası bir çabayı kapsamakta olup Ekim 1990’da 30-35 bin insan geninin belirlenmesi ve biyolojik çalışmalarda kullanılacak şekilde hizmete sunulmasını temel amaç edinmiştir. İnsan Genom Projesi çalışmaları biyoinformatiğin gelişiminde çok önemli bir güç olmuştur (Collins ve ark., 2003).

Biyoinformatiğin amacı, biyolojik deneyler ve gözlemsel çalışmalardan elde edilen verilerin yönetimi, depolanması, analizi ve yorumlanmasına olanak sağlamaktır. Bu anlamda biyoinformatik, moleküler biyolojik verilerin idaresi ve analizine yönelik, veritabanlarının oluşturulmasını, algoritmaların geliştirilmesini, hesaplamalı ve istatistikî yöntemlerin ve yaklaşımların oluşturulmasını amaçlamaktadır.

Biyoinformatik sadece temel genomik ve moleküler biyolojik çalışmalarda değil, ayrıca biyoteknoloji ve biyomedikal alanlarında da sıklıkla kullanılmaktadır. DNA ve protein dizilimi araştırmaları, makromoleküler yapıların üç boyutlu dizilim araştırmaları, küçük moleküllerin (aktif peptidler, ribozimler vs.) ligandlarıyla etkileşiminin araştırılması, biyolojik veri tabanlarının oluşturulması, biyolojik informasyonun paylaşımının kolaylaştırılması, veri analizi ve iletiminin kolaylaştırılması, gen ürünleri için bilgi ağlarının oluşturulması, kimyasal reaksiyonlardan hücrelerarası iletişime kadar pek çok biyolojik faaliyet sürecinin simülasyonu, büyük çaplı dizilim deneylerden (İnsan genom projeleri) çıkan sonuçların analizi gibi birçok temel genomik alanda biyoinformatik araçlardan faydalanılmaktadır (Baloglu ve ark., 2012).

### **2.5.2. DNA dizi analizi**

1940’larda DNA baz kompozisyonunu saptama yöntemleri bulunmasına karşın DNA’daki nükleotit dizilerinin doğrudan kimyasal analizi 1960’larda geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır. 1970’lerde saf DNA fragmanları elde edilmesini sağlayan rekombinant DNA tekniklerinin geliştirilmesine paralel olarak dizi analizi yöntemleri de geliştirilmeye başlanmıştır. Allan Maxam ve Walter Gilbert’in kimyasal yöntemi DNA’nın belirli bazlardan kırılmasına dayanmaktadır. Fred Sanger ve arkadaşlarının geliştirdiği ikinci yöntemde ise belirli bir bazda sonlanan bir DNA zinciri sentezi gerçekleştirilmektedir. Her iki yöntemde de dizisi saptanacak DNA’ya her baz için bir tane olmak üzere dört ayrı reaksiyon uygulanmaktadır. Bu dört reaksiyonun ürünleri, bir

nükleotit uzunluğu kadar farklı, bir dizi DNA parçacıklarıdır. Dört reaksiyonun ürünleri bir jelde dört ayrı kuyucukta yan yana elektroforez ile ayrıştırılmaktadır. Jel hattındaki her bir bant belirli bir baza karşılık gelmektedir ve jeldeki bantlardan DNA parçacığının dizisi okunabilmektedir (Klug ve Cummings 2003).

### **2.5.3. Biyolojik veri tabanları ve kullanımları**

Elde edilen yüksek boyuttaki verilerin, veri tabanlarında saklanması ve internet üzerinden tüm araştırmacıların bu veri tabanlarına ulaşabilmesine olanak sağlanması bu konulardaki çalışmaları hızlandırmıştır. Yine bu veri tabanlarının bulunduğu internet siteleri aracılığıyla geliştirilen veri analiz araçlarına da ücretsiz olarak ulaşılabilir. Veri tabanlarının ve analiz araçlarının tüm araştırmacıların kullanımına açılması yoluyla, büyük ölçekteki veri setlerinden başlangıçta planlananın çok üzerinde bilgi elde edilmesi olanaklı olmuştur. Üç farklı veri bankası bulunmaktadır. Bunlar; “Japonya DNA DataBank (DDBJ)”, “Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı (EMBL)” ve “Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi” Gen-Bank (GenBank at NCBI Bethesda MD, ABD)’ tir. Bu üç organizasyon günlük olarak veri alışverişi yapmaktadır.

National Center for Biotechnology Information (NCBI); bu veri tabanı, ABD’nin en büyük tıp kitaplığı olan NLM’nin (National Library of Medicine) bir kolu olarak 1988’de Maryland’da kurulmuştur. Halen internete dayalı en önemli biyolojik veritabanıdır. Birçok genom dizilerini ve PubMed olarak bilinen biyomedikal ve biyoteknoloji ilişkili araştırma makalelerini kapsar (Baloğlu ve ark., 2012).

NCBI’nin sunduğu en önemli hizmetlerden biri BLAST (Basic Local Alingment Search Tool) olarak bilinen ve nükleik asit ya da protein sekanslarının analizlerini yapmak için kullanılan hizalama arama motorudur. Bu program, sorgulatılmak istenen protein veya nükleik asit dizisini, benzerlik kıstaslarına ve kendi içinde barındırdığı algoritmaya göre, veri tabanı içinde arayan bir dizi karşılaştırma programıdır. BLAST, sorgulatılan diziyi veri tabanı içindeki diğer dizilerle karşılaştırabildiği gibi kullanıcı tanımlı dizileri ikili olarak da karşılaştırabilmektedir. Dizi bilgileri en çok sadece dizilimi gösteren FASTA formatında gösterilmektedir. Her bir dizi için özel olan ve dizi veritabanına ilk kez girildiğinde verilen Accession (Katılım) numaraları özgün kimliklerdir. Sorgulama işlemi için özel olarak ayrılmış olan alana, dizi bilgisi kopyalanıp yapıştırılarak veya katılım numaraları kullanılarak da yapılabilmektedir.

**Nucleotide Sequence (699 letters)**

RID [A9US079V015](#) (Expires on 12-10 04:56 am)

Query ID |19763  
 Description None  
 Molecule type nucleic acid  
 Query Length 699

Database Name nr  
 Description Nucleotide collection (nt)  
 Program BLASTN 2.2.28+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#)

**Graphic Summary**

**Distribution of 100 Blast Hits on the Query Sequence**

JQ082318 *Acutodesmus obliquus* strain CCAP 276/48 18S ribosomal R.. S=1256 E=0

**Color key for alignment scores**

Score Range	Color
<40	Black
40-50	Blue
50-80	Green
80-200	Pink
>=200	Red

Query 1 100 200 300 400 500 600

**Sequences producing significant alignments:**

Select: [All](#) [None](#) Selected:0

[Alignments](#) [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Acutodesmus bernardii</a> strain CCAP 276/38 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal	1262	1262	100%	0.0	99%	<a href="#">JQ082329.1</a>
<a href="#">Acutodesmus obliquus</a> strain CCAP 276/49 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal	1262	1262	100%	0.0	99%	<a href="#">JQ082319.1</a>
<a href="#">Scenedesmus obliquus</a> genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 2	1262	1262	100%	0.0	99%	<a href="#">FR865738.1</a>
<a href="#">Scenedesmus obliquus</a> genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 2	1262	1262	100%	0.0	99%	<a href="#">FR865726.1</a>
<a href="#">Scenedesmus obliquus</a> genomic DNA containing ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, ci	1260	1260	99%	0.0	99%	<a href="#">FR865715.1</a>
<a href="#">Acutodesmus obliquus</a> strain CCAP 276/48 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal	1256	1256	100%	0.0	99%	<a href="#">JQ082318.1</a>
<a href="#">Scenedesmus obliquus</a> genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 2	1256	1256	100%	0.0	99%	<a href="#">FR865737.1</a>

Şekil 2.3. 1 No.lu taksonunun BLAST sorgulama sonuç sayfası.

BLAST sonucunda çıkan ekranda (Şekil 2.3) aranan gen bölgesine ait sekansın bulunduğu gen ailesidir. Bu bölgenin altında siyah, mavi, yeşil, pembe ve kırmızı renklerden oluşan ve hizalama skorlarını gösteren bir renk skalası görülmektedir. Diğer bir ifade ile aranan gen bölgesine ait sekansın veri tabanındaki diğer organizmaların sekanslarıyla benzeme oranı bu skala yardımıyla rahatlıkla incelenmektedir. Siyahtan kırmızıya doğru benzerlik oranı artmakta ve kırmızı renkte maksimuma ulaşmaktadır. Sayfanın sonuna doğru ise kırmızı renkle gösterilen her bir sekansın Gen Bank erişim numarası, açıklaması, Maksimum Skor (Maximum Score), Toplam Skor (Total Score), Sorgulama Kapsamı (Query Coverage), E-Değeri (E-Value), Maksimum Benzerlik (Maximum Identity) listelenmektedir. Bu parametrelerin hepsi sonuçların değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Ancak bunlar arasındaki en önemli parametre E-değeri. E-değeri, yaptığımız hizalamaların şans eseri olma ihtimalinin hesaplanması ile sonuçların istatistiksel önemini değerlendirmemizi sağlayan bir parametredir. Bu durumda E-değeri 0'a eşit ise, sorguladığımız dizi, çıkan sonuç ile bire bir eşleşmiş demektir ve bu

eşleşmede şans faktörü 0'dır. Sorgulama kapsamı, sorgulatılan dizi ile diğer dizilerin uzunluk bazında eşleşme oranını belirtmektedir.

Maksimum benzerlik ise, sorgulatılan dizi ile diğer diziler arasındaki dizi benzerliğinin yüzde olarak oranını belirtmektedir.

Çıkan sonuçların değerlendirilmesinde, en düşük E-değerine sahip olan, maksimum benzerliği ve sorgulama kapsamı en yüksek olan sonuçlara öncelik verilir. Ancak, BLAST sonuçlarının değerlendirilmesi ve seçimi, sorulan bilimsel biyolojik soruya göre ya da çalışılan spesifik gen bölgesine göre değişiklik gösterebilmektedir.

#### **2.5.4. Dizi karşılaştırma**

DNA, RNA veya protein dizilerinin düzenlenerek benzer bölgelerinin tespit edilmesi, diziler arasındaki fonksiyonel, yapısal ya da evrimsel ilişkiler nedeniyle oluşan benzerlikleri göstermek ve düzenlemek türlerin karşılaştırılması, gen ailelerinin belirlenmesi ve akrabalık derecelerinin tespiti amacıyla yapılır. Bir DNA dizi parçası nesilden nesile geçerken bazı durumlarda değişikliklere (mutasyonlara) uğramaktadır. En basit mutasyonlar dizi parçasındaki bir nükleotidin yerine başka bir nükleotidin gelmesi (substitution), dizi parçasından bir nükleotidin silinmesi (deletion) veya dizi parçasına nükleotid girmesidir (insertion). Yapılan karşılaştırmalarda insersiyon (insertion) veya delesyon (deletion) olayını anlatmak için "indel" denen "-" işareti kullanılmaktadır. Bir tane veya yan yana olan çizgilere (insersiyonlara, delesyonlara) gedik (gap) denir (Baloğlu ve ark., 2012).

Çok kısa veya çok benzer diziler elle hizalanabilir. Ancak, çoğu ilginç problem, insan eliyle yapılamayacak kadar uzun, karmaşık veya çok sayıda dizinin hizalanmasını gerektirir. Böyle durumlarda, farklı hizalama teknikleri kullanılır.

Global Hizalama; diziler birbirine benzer ve yaklaşık aynı uzunlukta olursa yapılır ve bu yöntemde her dizideki her harfin hizalanması amaçlanır.

Lokal Hizalama; birbirine benzemeyen ama benzer bölgeler içerdiği tahmin edilen kısa diziler için tercih edilir.

İkili hizalama yöntemleri; iki sorgu dizisinin birbiriyle en iyi uyuşan parçalı (lokal) veya global hizalamasını bulmakta kullanılır. Bir defada sadece iki dizi arasında bulunabilir ama hesaplanmaları verimlidir. İkili hizalamalar üretmede kullanılan üç ana yöntem vardır. Bunlar; nokta-matris yöntemleri, dinamik programlama ve sözcük yöntemleridir.

Çoklu hizalama; ikiden daha fazla dizi içermesiyle ikili hizalamanın bir uzantısı sayılır. Çoklu hizalama yöntemleri sorgu kümesindeki tüm dizileri hizalamaya çalışır. Çoğu zaman birbiriyle evrimsel ilişkisi olduğu hipotez edilen bir grup dizideki korunmuş bölgeleri tespit etmek ve ayrıca filogenetik ağaç inşa ederek evrimsel bir ilişkiyi ortaya koymak için kullanılır. Filogenetik analizlerde kullanılan tipik bir hizalama yöntemi CLUSTAL W uygulamasının ardından manuel hizalama kontrolü ve ağaç oluşumuna giriş kısımlarını içerir (Baloğlu ve ark., 2012).

Bilgisayara bağlı olan programların her ne kadar doğru hizalama yaptığı kabul edilse de manuel olarak hizalamanın kontrolünün yapılması tavsiye edilir. Çünkü hizalama algoritmaları ve programlar sabit olarak filogenetik hizalamaya uyumlu değildir (Thompson ve ark., 1994). MALIGN ve TreeAlign programları, filogenetik fonksiyona göre diziyi optimize eden bütün bilgisayar yöntemlerini yerine getirirler (Hein, 1990).

### **2.5.5. Moleküler filogenetik**

Filogenetik, genomik bilgi kullanılarak canlılar arasındaki ilişkileri ve moleküler düzeydeki benzerlikleri anlamlandırmaya çalışan biyoloji bilimidir. Amacı, filogeni olarak tanımlanan; çeşitli organizma grupları (örneğin türler veya topluluklar) arasındaki evrimsel ilişkileri araştırmaktır. Zaman içinde çeşitli faktörlerden dolayı değişime uğramış ve böylece birbirine yakınlaşmış türlerin akrabalık ilişkileri filogenetik ağaçların çizilmesiyle belirlenir. Filogenetik ağaçlar, fosil verilerine ve morfolojik gözlemlere dayandırılarak çizilir. Fakat fosil verilere ulaşmadaki zorluk ve fenotipik özelliklerin belirlenmesinde birden fazla genin etkili olması, ağaç oluşturulmasında moleküler verilerin kullanılmasını gerekli kılmıştır. Moleküler veri olarak DNA ve protein dizilerinin kullanımı daha kesin ilişkilendirmeler yaparak kuvvetli filogenetik ağaçların oluşturulmasını sağlamıştır. Moleküler filogenetik, genlerin ve proteinlerin dizilerindeki mutasyonları analiz ederek evrimsel yakınlığı ve bu değişikliklerin hızını ve düzenini saptayarak organizmaların evrimsel tarihlerini ortaya çıkarmaya çalışmaktadır (Baloğlu ve ark., 2012).

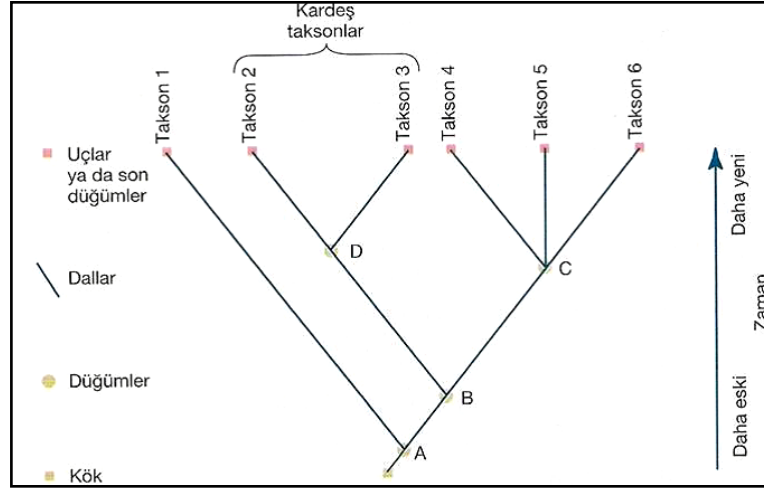
### **2.5.6. Filogenetik ağaçlar**

Türler arasındaki ilişkilendirmeyi yapmak, zaman içinde değişime uğrayan türlerin ortak atalarını belirlemek için filogenetik ağaçlar kullanılmaktadır.

Her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında dizilerin hizalanması sonucu elde edilen hesaplanmış genetik uzaklık kullanılmaktadır. Bu mesafeler sayesinde filogenetik ağaç oluşturulabilir (Saitou ve Nei, 1987). Bir filogenetik ağaç, dallanma olaylarının modelini ve bazı durumlarda zamanını tanımlar. Ayrıca

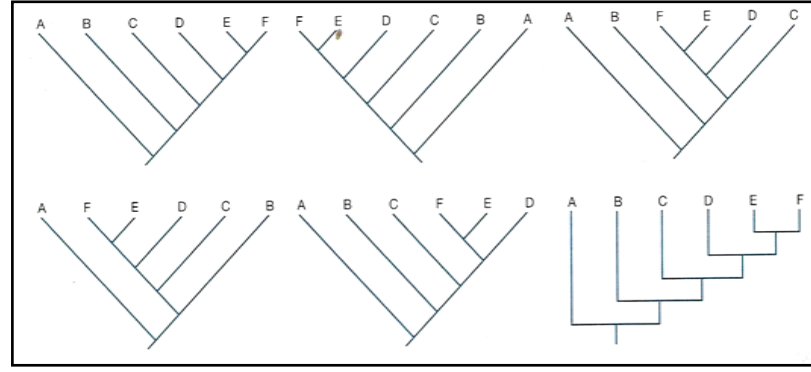


türleşme sırasının ve taksonlar arasındaki akrabalığı kaydeder. Ağaçlar dallardan ve düğümlerden oluşmaktadır. Dallar, türler arasındaki popülasyonun zaman içerisindeki uyumunu gösterir. Filogenetik ağaçlar köklü ya da köksüz olabilirler. Köklü ağaçlarda soy hattının nereden köklendiği bilindiği için ayrılma olayının belirlenmesi yapılabilir. Köksüz ağaçlarda, buna karşın türlerin önce ya da sonra açığa çıktığı ifade edilmez (Freeman ve Herron, 1999). Evrimsel süreçteki yönlerden bahsedebilmek ve ortak ataları belirtmek için ağacın köklü olması gerekmektedir.



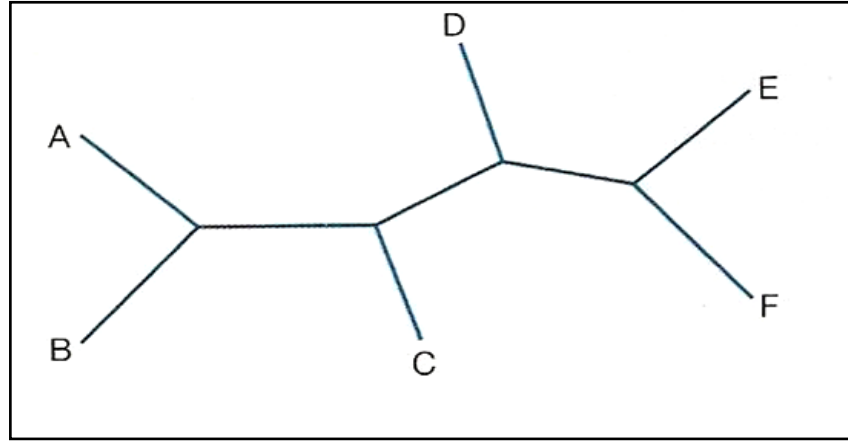
Şekil 2.4. Filogenetik ağaç çizimi (Freeman ve Herron 1999).

Şekil 2.4'deki ağacın okunması için en alttan başlanıp yukarıya doğru devam edilmesi gerekmektedir. A ile gösterilen düğümde bulunan popülasyon 1-6 taksonlarının ortak atası olup bu gruplardan biri Takson 1'e evrimleşmiş; diğeri ise 1-5 taksonlarının ortak atası olan düğüm B'de ki popülasyona evrimleşmiştir. Ağaç okumanın diğer bir anahtarı, ağaçları kökleri tabanda, uçları tepede ya da kökleri solda, uçları sağda horizontal olarak konumlanabileceklerini bilmektir. Dallar diyagonal ya da içi boş çizgilerden oluşabilir (Şekil 2.4.). Eğer dal uzunlukları zaman ya da taksonların ayrılmasından sonraki genetik değişim miktarı ile orantılıysa, bir ölçek ya da etiketli eksen verilir. Diğer türlü, dal uzunluğu keyfi olup okumayı kolaylaştırmak için çizilir (Freeman ve Herron 1999).



Şekil 2.5. Vertikal ağaçlar (Mayden ve Wiley 1992).

Şekil 2.5'deki ağaçlar, aynı evrimsel ilişkileri temsil eden altı farklı yolu göstermektedir. Burada tüm ağaçlar dikey olarak konumlanmış ve köklü ağaçlar olup ata taksonlar aşağıda, evrimleşmiş olanlar ise uçlarda yer almaktadır (Mayden ve Wiley 1992).



Şekil 2.6. Köksüz ağaç (Freeman ve Herron 1999).

Bu köksüz ağaç Şekil 2.5'de çizilmiş olan ağaçlardaki aynı ilişkiyi göstermektedir. Ancak bu ağacın bir kökü yoktur, evrimsel süreçte hangi dalın önce çıktığı konusunda bilgi vermemektedir (Freeman ve Herron 1999).

### 2.5.6.1. Filogenetik ağaç oluşturma yöntemleri

Filogenetik ağaç oluşturulurken kullanılan yöntemler, karakter temelli ve mesafe temelli yöntemler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Baloğlu ve ark., 2012).

**Karakter Temelli Yöntemler:** Ayrı ayrı türlerden elde edilen moleküler dizilere dayanmaktadır.

Maksimum parsinomi (Maximum parsimony); evrimsel değişimler, kısa süre zarfında nadir görüldüğü için eklentileri az olan ağaç, türler arasındaki farklılığı en iyi şekilde anlatır. Diziler arasındaki farklılığın az olduğu durumlarda güvenilir ve verimlidir.

Maksimum benzerlik (Maximum likelihood); gözlemlenen verileri en yüksek olasılıkla verebilen ağacı seçer, gerçek evrimsel sürece en yakın olan ağacı oluşturur. İstatiksel verileri kullandığı için matematiksel açıdan daha güçlüdür.

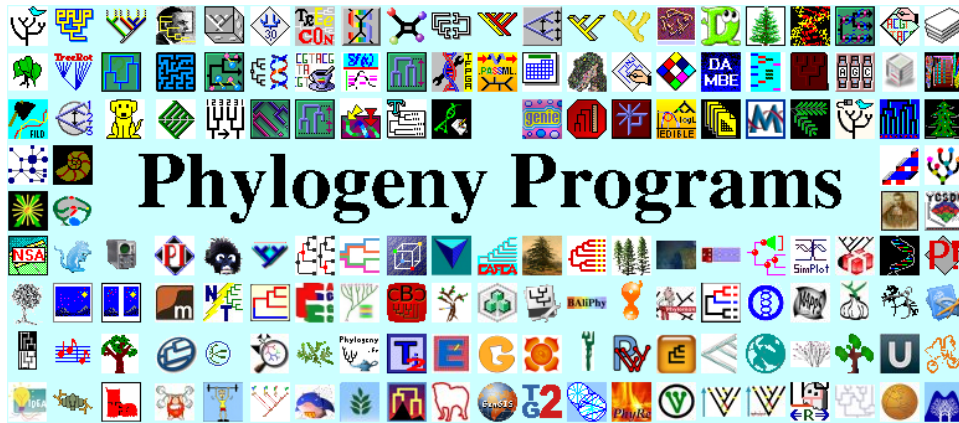
Mesafe Temelli Yöntemler: Dizi hizalanmasını temel olarak dizi çiftleri arasındaki benzersizlik miktarlarını kullanmaktadır.

Kümelenme temelli algoritmalar; benzerliği en fazla olan dizi çiftlerinden başlayan bir mesafe matrisine dayanarak ve aritmetik ortalamayı kullanarak filogenetik ağaç çizilmektedir. UPGMA(Unweighted Pair Group Method Algorithm); en basit kümeleme metodu olan bu yöntem, en küçük mesafeye sahip olan türler arasında gruplandırma yaparak ağaç oluşturmaya başlar. Temel varsayım bütün türlerin sabit hızla evrimleştiği ve hepsinin kökten eşit uzaklıkta olduğudur. Neighbor-Joining (NJ); ağaç oluşturmak için birbirine en yakın türleri kullanır fakat hepsinin kökten eşit uzaklıkta olduğunu varsaymaz. Bu yöntemde sadece bir tane ağaç oluşturulur ve diğer olası ağaç topolojileri test edilmez.

En iyi durum (optimum) temelli algoritmalar; pek çok farklı ağaç topolojisini oluşturur, karşılaştırır ve ağaçtaki önceden tahmin edilen mesafeler ile gerçek evrimsel mesafeler arasındaki en iyi uyumu göstereni seçerler (Baloğlu ve ark., 2012).

### 2.5.6.2. Filogenetik ağaç oluşturma programları

Filogenetik ağaç oluşturmak için çok sayıda program kullanılmaktadır. Felsenstein'ın hazırlamış olduğu listede bu programlar Şekil 2.7' de görülmektedir (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip/software.html>).



Şekil 2.7. Filogenetik ağaç çiziminde kullanılan programlar.

### **2.6. Dünyada ve Türkiye’de Mikroalglerin Moleküler Sistematigi Üzerine Yapılan Çalışmalar**

Çalışma süresince Cyanobacteria, Heterokontophyta, Chlorophyta taksonlarına ait izolatlar elde edilmiştir. Bu yüzden literatür özeti bu taksonlara ait örneklerin moleküler karakterizasyonu üzerine yapılan çalışmalardan oluşturulmuştur. Dünya genelinde konu ile ilgili yapılan çalışmaların gelişim süreci aşağıdaki gibidir.

Doolittle (1982), siyanobakterilerin moleküler evrimi ile ilgili 3 temel soru sormuştur. Bunlardan ilki siyanobakterilerin prokaryot olup olmadığı ile ilgili olup Woese (1987)’nin 16S rRNA sekans analizinin ve Schleifer ve Ludwig (1989)’nin 23S rRNA ve ATP-sentaz enziminin Tu faktörü -β alt birimi gibi proteinlerin sekansının bulunduğu çalışmalardan bu sorunun cevabı alınmaktadır; siyanobakteriler, 11 büyük öbakteri şubesinin birisinden gelişmişlerdir. İkinci soru siyanobakteriler ile plastidlerin ilişkisinin ne olduğudur. Bu sorunun cevabı da Susan Douglas’ın yaptığı çalışmalarda bulunmaktadır. Üçüncü soru ise siyanobakterielrin diğer taksonlarla filogenetik ilişkisinin ne olduğu idi bu sorunun cevabı da Wilmotte (2004)’nin çalışmasında yer almaktadır. Wilmotte (2004); çalışmasında siyanobakterilerin sistematik tayinlerinin, hem morfolojik hem de moleküler verilerinin değerlendirilmesini savunan polifazik yaklaşıma göre yapılması gerektiğini savunmaktadır (Wilmotte, 2004).

Hayes ve ark. (2007), siyanobakterilerin genellikle morfolojik özelliklerine ve gelişimlerine göre sınıflandırıldığını ancak bu fenotipik karakterlerin çevre şartları ile değişebileceğini bu yüzden moleküler tekniklerin kullanılmasını savunmuşlardır. Özellikle *Synechococcus* ve *Prochlorococcus* gibi morfolojik çeşitliliğin kısıtlı olduğu taksonlarda polifazik yaklaşımın önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Nübel ve ark. (1997), geliştirdikleri farklı oligonükleotid primerleri siyanobakteri üyelerinden elde ettikleri 16S rRNA genlerinde çoğaltmaya çalışmışlardır.

Wilson ve ark. (2000), toksik bir siyanobakteri üyesi olan *Cylindrospermopsis raciborskii* türünün moleküler karakterizasyonu üzerine çalışmışlar yapmışlar ve türe özgü PZR geliştirmişlerdir.

Boyer ve ark. (2001), moleküler sistematik çalışmalarda, 16S-23S rRNA ITS bölgesinin kullanımının iyi bir yöntem olup olmadığı ve siyanobakterilerdeki durumu araştırmışlardır.

Lyra ve ark. (2001), *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* ve *Planktothrix* cislerinin moleküler karakterizasyonunu araştırmışlardır.

Casamatta ve ark. (2003), Oscillatoriales üyesi olan *Phormidium retzii* türünün 16S rDNA sekans verilerini kullanarak RAPD tekniği ile sistematikliğini araştırmışlardır.

Casamatta ve ark. (2005), Oscillatoriales üyesi olan on adet polar taksonun moleküler ve morfolojik karakterizasyonunu araştırmışlardır.

Diatom sistematikliği ile ilgili moleküler araştırmalar Medlin ve ark. (1988, 1991)'nin *Skeletonema* taksonuna ait örneklerin rDNA'daki SSU=18S genini çalışmalarıyla başlamıştır. Diatomların moleküler çalışmaları genellikle rDNA'daki SSU ya da LSU genleri üzerine yoğunlaşmıştır. SSU geninin yavaş evrim geçiriyor olması, diatom üyeleri arasındaki akrabalık ilişkisinin tespitinde önemli rol oynamasını sağlamaktadır. Behnke ve ark. (2004)'nin konuyla ilgili çalışmaları bulunmaktadır. RbcL geni bir diğer yavaş evrim geçiren gen olup Daugbjerg ve Guillou (2001) tarafından pek çok heterokontun akrabalık ilişkisinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Mann ve ark. (2001), Jones ve ark. (2005), Edgar ve Theriot (2004), Amato ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarda bu gen bölgesini kullanmışlardır. Fakat Chlorophyta üyelerinde olduğu gibi diatomların filogenetik çalışmalarında çoklu gen bölgelerinin kullanımı pek yaygın değildir. Diatom üyelerinin filogenetik ilişkilerini gen sekansı bazlı belirlemeye yönelik çalışmalar; Zechman ve ark. (1994), Fryxell ve Hasle (2003), Behnke ve ark. (2004), Sarno ve ark. (2005) şeklinde özetlenebilir (Mann ve ark., 2007).

Sorhannus ve ark. (1995), 28 rRNA sekans verilerine göre diatom üyelerinin filogenisini çalışmışlardır.

Beszteri ve ark. (2001), 18S rDNA sekans verilerine göre altı adet Naviculoid diatom türünün filogenisini araştırmışlardır.

Sims ve ark. (2006), diatom üyelerinin evrimini fosil kayıtlar ve moleküler veriler ışığında araştırmışlardır.

Oh ve ark. (2010), sentrik diatomlardan *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) taksonunun nükleer rDNA sekansını kullanarak taksonomisini yapmışlardır.

Theriot ve ark. (2010), diatom üyelerinin filogenisini çoklu gen (multigen) kullanarak araştıran bir ön çalışma yapmışlardır.

Williams ve Kocielek (2007), yaptıkları çalışmada diatom üyelerinin sistematik kategorizasyonunun değiştiğini iddia etmişler ve bu iddialarını, ışık mikroskobu, elektron mikroskobu ve moleküler verilerle desteklemişlerdir.

DNA sekansı ile birlikte 1980'li yılların ortalarında yeşil alglerin filogenetik analizleri ile ilgili çalışmalar başlamıştır. 5.8 S nrDNA'nın sekansını yapılmasını (Hori ve ark., 1985; Hori ve Osawa, 1987) 18S ve 28S nrDNA'nın sekans analizlerinin yapılması

(Gunderson ve ark., 1987; Perasso ve ark., 1989; Buchheim ve ark., 1990; Zechman ve ark., 1990; Chapman ve ark., 1991; Mishler ve ark., 1992; Chapman ve ark., 1998 ) takip etmiştir. 1990'lı yıllardan itibaren PZR'nin keşfi ile birlikte biyoinformatik çalışmalar hızlanmıştır. 18 rDNA'yı kullanarak Proschold ve Leliaert (2007); 28S rDNA molekülünü kullanarak Buchheim ve ark. (2001), Shoup ve Lewis (2003); actin protein sekansını kullanarak An ve ark. (1999); kloroplast genleri *rbcL*, *tufA* ve *atpB*'yi kullanarak Daugbjerg ve ark. (1994), Daugbjerg ve ark. (1995), McCourt ve ark. (2000), Hayden ve Waaland (2002), Nozaki ve ark. (2003) Zechman, (2003), Rindi ve ark. (2007) yeşil alglerin filogenisi ile ilgili çalışmalar yapmışlardır (Leliaert ve ark., 2012).

1990'lı yıllarda alglerin sistematüğinde moleküler markörlerin kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Kullanılan tipik genetik markörler nükleer ribozomal operonlar (SSU-smallsubunit-küçük alt birim, 5.8S, ITS 1 ve ITS 2 bölgeleri içeren LSU-largesubunit-büyük alt birim), aktin, çoğu kloroplast geni (*rbcL*, *atpB* ve diğerleri) ve mitokondriyal genler (*nad5*)'dir. SSU rDNA'nın filogenetik analizleri ile yeşil bitkiler iki soya ayrılmakta (Friedl,1997): birincisi charophcean algler ve kara bitkileri (Streptophyta sensu Bremer,1985), ikincisi ise yeşil algler (Chlorophyta sensu Bremer,1985). Bu analizlere göre yeşil alglerin içinde şu gruplar bulunmaktadır: Prasinophyceae (Steinkötter ve ark., 1994; Nakayama ve ark., 1998; Guillou ve ark., 2004), Chlorophyceae (Hepperle ve ark., 1998; Pröschold ve ark., 2001; Krienitz ve ark., 2003; Friedl, 1997), Trebouxiophyceae (Friedl, 1995; 1997; Krienitz ve ark., 2004), Ulvophyceae (O'Kelly ve ark., 2004a, 2004b, 2004c), plus the streptophyte algae (Huss and Kranz, 1997; Marin and Melkonian, 1999; Karol ve ark., 2001) (Pröschold ve Leliaert, 2007).

Huss ve ark. (1999), *Chlorella* cinsinin biyokimyasal taksonomisi ve moleküler filogenisi üzerine bir çalışma yapmışlardır.

Burja ve ark. (2001), yeşil alglerden *Chlorella vulgaris* türünün teşhisini siyanobakteriden tiretilmiş 16S rDNA primerleri ile araştırmışlardır.

Fawley ve Fawley (2004), mikroalglerden DNA izolasyonunun kolay ve hızlı bir yöntemini araştırmaya çalışmışlardır.

Zuccarello ve Lokhorst (2005), *Tribonema* (Xanthophyceae) cinsinin moleküler filogenisini *rbcL* gen sekansı verilerini kullanarak araştırmışlardır.

Richlen ve Barber (2005), *Gambierdiscus toxicus* türünün tek hücreisinden DNA izolasyonu için hızlı bir teknik geliştirmeye çalışmışlardır.

Reyes-Prieto ve ark. (2006), filogenomik kavramını ve bu kavramın algal filogeni ve evrim üzerine etkilerini araştırmışlardır.

Nozaki ve ark. (2006), iki yeni *Pleodorina* (Volvoceae, Chlorophyceae) cinsinin morfolojik özelliklerini, moleküler filogenisi ve taksonomisini araştırmışlardır.

Auinger ve ark. (2008), lugol iodin solüsyonunda korunmuş plankton örneklerinden alınan mikroalg ve protistlerin tanımlanması için bir metod geliştirmeye ve bunu single-cell PCR (tek hücre PZR) ile mikroskobik analizleri kombinleyerek yapmaya çalışmışlardır.

Gontcharov (2008), çalışmasında Zygnematophyceae (Streptophyta) taksonunun sınıflandırmasını ve filogenisini araştırmışlardır.

El Semary ve ark. (2009), *Chlorococcum* izolatının biyoaktivitesi ve taksonomisini polifazik bir yaklaşımla araştırmışlardır.

Hayama ve ark. (2010), *Gonium maiaprilis* sp. nov. (Goniaceae, Chlorophyta) türünün rubisco geninin ve ITS bölgesinin sekansını kullanarak morfolojisi, moleküler filogenisi ve taksonomisi üzerine bir çalışma yapmışlardır.

Çalışmamızda elde edilen 24 izolattan 7 tanesi *Scenedesmus* cinsine ait olduğundan bu cins ile ilgili yapılan moleküler filogenetik çalışmalar ayrıca değerlendirilmiştir.

Hegewald (1997), *Scenedesmus* cinsinin taksonomi ve filogenisini hücre duvarının elektron mikroskobik görüntüleri bunun yanında DNA molekülünün G/C oranı, homolojisi, sekans analizi verilerini de kullanarak araştırmıştır.

Van Hanen ve ark. (2002), *Scenedesmus* ve *Desmodesmus* cinslerinin filogenisinde ITS2 gen bölgesinin kullanımı için ikincil bir model geliştirmeye çalışmışlardır.

Hegewald ve Wolf (2003); *Scenedesmus* ve *Acutodesmus* (Chlorophyta, Chlorophyceae) cinslerinin filogenetik ilişkilerini, 18S rDNA ve ITS-2 sekans karşılaştırmalarını yaparak araştırmışlardır.

Hegewald ve ark. (2010), *Coelastrum* taksonları ve Scenedesmaceae grubuna ait farklı cinslerin ITS-2 bölgelerinin filogenetik analizlerini yapmışlardır.

Fawley ve ark. (2011), *Desmodesmus serratus* (Chlorophyceae, Chlorophyta) türünün taksonomisini araştırmışlar, morfolojik özelliklerini ve DNA sekans verilerini kullanmışlardır.

Bica ve ark. (2012), Romanya tatlı sularından izole edilen *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) taksonunun sönöbiyal morfolojisini ve ITS-2 bölgesinin sekans analizini kullanarak moleküler taksonomisini araştırmışlardır.

Ülkemizde mikroalglerin izolasyon ve kültürü üzerine olan çalışmalar gelişme gösterirken yurdumuza özgü tatlı su alglerinin moleküler taksonomisi üzerine ayrıntılı

çalışmaların bulunmadığı ve bu alana olan ilginin yeni yeni başladığı görülmektedir. Konuyla ilgili çalışmalar şöyle özetlenebilir.

Özkul (2008), Uzungöl ve Cernek gölü (Bafra, Samsun) yüzey tabakasından tek hücreli siyanobakterilerin izolasyon ve kültürünü yapıp moleküler yöntemlerle karakterizasyonu gerçekleştirmiştir.

Yüksel ve ark., 2009 yılında mikroalgler ile yaptıkları çalışmada; Türkiye termal sularında yayılış gösteren Cyanophyceae sınıfındaki bazı mikroalgleri; izolasyon, kültür ve moleküler taksonomi yöntemlerini kullanarak incelemişler ve bu canlıların filogenetik analizlerini yapmışlardır.

Soylu ve Gönüloğlu (2012), coccoid mikroalglerin moleküler sistematigi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmalar dışında ülkemiz iç sularına ait mikroalglerle ilgili yapılan çalışma bulunmamaktadır.

Kesici ve ark., (2013), Urla kıyılarından elde edilen diatom üyelerinin moleküler identifikasyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır.

Makroalglerden kahverengi alglerin moleküler sistematigi ile ilgili Tuney'in (2011) çalışmaları bulunmaktadır. Bunun yanında Öztürk (2011); tez çalışmasında Çanakkale Boğazi'nde (Türkiye) yayılış gösteren bazı *Ceramium* Roth türlerinin moleküler sistematigini araştırmıştır.



## BÖLÜM 3

## MATERYAL VE YÖNTEM

## 3.1 Materyaller

## 3.1.1. Çalışma alanı

Çalışma alanı olarak Marmara Bölgesi'ndeki bazı tatlı su kaynakları seçilmiştir. Örnekleme yapılan noktaların isimleri ve koordinatları Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Örnekleme noktaların isimleri ve koordinatları

Örnekleme Noktası	GPS kordinatları	Örnekleme Noktası	GPS kordinatları
1.Mahramlı Deresi	40° 55' 53.998" N 27° 13' 50.253" E	20.Kavaklı-İnece Kanalı	41° 40' 5.981" N 27° 8' 34.661" E
2.Otmanlı-Selçuk Köyü Göleti	40° 55' 55.25" N 27° 13' 53.48" E	21.Karahalil Göleti	41° 34' 54.109" N 27° 3' 39.953" E
3.Taşomurca Köyü Göleti	40° 59' 42.681" N 27° 11' 35.537" E	22.Kuzuçardağı Deresi	41° 32' 35.494" N 27° 4' 21.344" E
4.Generli Deresi	40° 58' 47.628" N 27° 8' 54.049" E	23.Oruçlu Köyü Göleti	41° 30' 20.514" N 27° 4' 1.221" E
5.Kaşıkcı Gölü	40° 59' 46.499" N 27° 11' 21.466" E	24.Kadıköy Deresi	41° 29' 18.303" N 27° 3' 31.530" E
6. Karacamurat Deresi	41° 2' 52.267" N 27° 15' 11.644" E	25.Sarıcaali Göleti	41° 22' 59.012" N 27° 14' 1.264" E
7.Bahçedere Deresi	41° 22' 5.830" N 27° 44' 45.193" E	26.Pancarköy Deresi	41° 29' 33.417" N 27° 7' 30.861" E
8.Kurtdere Deresi	41° 22' 52.510" N 27° 45' 56.594" E	27.Büyükmandıra Göleti	41° 21' 13.576" N 27° 4' 33.668" E
9.Çukuryurt Havuzu	41° 25' 24.735" N 27° 52' 43.049" E	28.Katranca Köyü Göleti	41° 22' 3.058" N 27° 3' 43.104" E
10.Çakıllı Göleti	41° 31' 58.574" N 27° 50' 12.672" E	29.Babaeski Deresi	41° 25' 47.204" N 27° 5' 51.930" E
11.Evrencik Köy Göleti	41° 39' 24.247" N 27° 42' 53.915" E	30.Minnetler Köy Deresi	41° 26' 13.910" N 27° 0' 42.143" E
12.Sergen Göleti	41° 41' 18.610" N 27° 42' 33.379" E	31.Ertuğrul Köy Deresi	41° 26' 41.507" N 26° 59' 40.046" E
13.Demirköy Deresi	41° 44' 39.727" N 27° 39' 14.093" E	32.Çengerli Köyü Havuzu	41° 18' 0.077" N 26° 37' 23.299" E
14.Bulanık Deresi	41° 50' 3.228" N 27° 47' 29.173" E	33.İmampazarlı Göleti	41° 24' 18.811" N 26° 55' 40.631" E
15.Yenice-Evciler Gölet	41° 42' 59.407" N 27° 36' 40.264" E	34.Kumla-Hıdırca Deresi	41° 22' 50.990" N 26° 54' 43.638" E
16.Kurudere Deresi	41° 45' 40.759" N 27° 34' 21.046" E	35.Sazlıdere Deresi	41° 13' 22.541" N 26° 41' 12.122" E
17.Çayırdere Deresi	41° 42' 8.011" N 27° 30' 56.838" E	36.Kavacık Göleti	41° 10' 51.41" N 26° 40' 33.31" E
18.Hacıfaklı Göleti	41° 42' 35.078" N 27° 28' 43.904" E	37.Alıç Göleti	41° 4' 41.24" N 26° 39' 33.68" E
19.Üsküp Köy Havuzu	41° 43' 24.109" N 27° 22' 47.019" E	38.Maltepe Deresi	40° 59' 7.527" N 26° 38' 17.934" E
39. Sapanca Gölü	40° 41' 33.93" N 30° 16' 59.51" E	44.Küçükklü Göleti	39° 59' 40.97" N 26° 51' 56.62" E
40.İznik Gölü	40° 25' 53.18" N 29° 42' 48.32" E	45.Elmalı Barajı	41° 04' 36.34" N 29° 07' 04.86" E
41. Ulubat Gölü	40° 12' 48.93" N 28° 29' 53.53" E	46. Terkos Gölü	41° 18' 31.79" N 28° 34' 52.93" E
42.Manyas Gölü	40° 12' 10.56" N 27° 56' 54.00" E	47. Göktürk Göleti	41°11' 31.25" N 28° 52' 31.56" E
43. Bakacak Baraj Göleti	40° 10' 09.04" N 27° 00' 12.80" E	48. Gala Gölü	40° 45' 42.20" N 26° 11' 37.24" E



Şekil 3.1. Çalışma bölgesi ve örnekleme noktaları.

### 3.1.2. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar

Çalışma materyali olarak örnekleme noktalarından alınan su örneklerinden izolasyon yoluyla elde edilen fotosentetik mikroorganizmalar seçilmiştir. Çalışma boyunca izolasyonu yapıp kültüre alınan ve moleküler analizlerde kullanılan 24 tane takson elde edilmiştir. Bu taksonların isimleri ve elde edildiği örnekleme noktaları Çizelge 3.2’te gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. İzolasyonu yapılan takson ve elde edildiği örnekleme noktası

Kod No	İzolasyonu Yapılan Takson	Örnekleme Noktası
1	<i>Scenedesmus acutus</i> Meyen	35
2	<i>Scenedesmus antennatus</i> Brebisson	5
3	<i>Scenedesmus quadricauda</i> Chodat	7
4	<i>Scenedesmus opoliensis</i> P.G. Richter	5
5	<i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerheim) Chodat	5
6	<i>Scenedesmus armatus</i> R. Chodat	17
7	<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs	17
8	<i>Monoraphidium minutum</i> Komárková-Legnerová	14
9	<i>Cosmarium</i> sp. Corda ex Ralfs	17
10	<i>Nitzschia</i> sp. Hassall	35
11	<i>Craticula cuspidata</i> (Kützing) D. G. Mann	17
12	<i>Phormidium</i> sp.1 Kützing ex Gomont	43
13	<i>Phormidium</i> sp. 2 Kützing ex Gomont	44
14	<i>Phormidium tenue</i> (Meneghini) Gomont	36
15	<i>Stigeoclonium</i> sp. Kützing	2
17	<i>Nostoc</i> sp. Vaucher	18
18	<i>Chlamydomonas</i> sp. Ehrenberg	9
19	<i>Chlorococcum</i> sp. Meneghini	7
20	<i>Fragillaria</i> sp. Lyngbye	13
21	<i>Chroococcus</i> sp. Nägeli	9
22	<i>Neochloris</i> sp. Starr	6
23	<i>Pseudopediastrum boryanum</i> (Turpin) E. Hegewald	9
24	<i>Chlorella vulgaris</i> Beijerinck	13
25	<i>Scenedesmus apiculatus</i> Corda	9

Tür	Cins	Familya	Takım	Sınıf	Şube	Alem	Spr Alem
1. <i>Scenedesmus acutus</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
2. <i>Scenedesmus antennatus</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
3. <i>Scenedesmus quadricauda</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
4. <i>Scenedesmus opoliensis</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
5. <i>Scenedesmus acuminatus</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
6. <i>Scenedesmus armatus</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
7. <i>Ankistrodesmus falcatus</i>	<i>Ankistrodesmus</i>	Selenastraceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
8. <i>Monoraphidium minutum</i>	<i>Monoraphidium</i>	Selenastraceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
9. <i>Cosmarium</i> sp.	<i>Cosmarium</i>	Desmidiaceae	Desmidiales	Conjugatophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
10. <i>Nitzschia</i> sp.	<i>Nitzschia</i>	Bacillariaceae	Bacillariales	Bacillariophyceae	Heterokontophyta	Chromista	Eukaryota
11. <i>Craticula cuspidata</i>	<i>Craticula</i>	Stauroneidaceae	Naviculales	Bacillariophyceae	Heterokontophyta	Chromista	Eukaryota
12. <i>Phormidium</i> sp. 1	<i>Phormidium</i>	Phormidiaceae	Oscillatoriales	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Eubacteria	Prokaryota
13. <i>Phormidium</i> sp.2	<i>Phormidium</i>	Phormidiaceae	Oscillatoriales	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Eubacteria	Prokaryota
14. <i>Phormidium tenue</i>	<i>Phormidium</i>	Phormidiaceae	Oscillatoriales	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Eubacteria	Prokaryota
15. <i>Stigeoclonium</i> sp.	<i>Stigeoclonium</i>	Chaetophoraceae	Chaetophorales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
17. <i>Nostoc</i> sp.	<i>Nostoc</i>	Nostocaceae	Nostocales	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Eubacteria	Prokaryota
18. <i>Chlamydomonas</i> sp	<i>Chlamydomonas</i>	Chlamydomonadaceae	Chlamydomonadales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
19. <i>Chlorococcum</i> sp.	<i>Chlorococcum</i>	Chlorococcaceae	Chlamydomonadales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
20 <i>Fragilaria</i> sp.	<i>Fragilaria</i>	Fragilariaceae	Fragilariales	Fragilariophyceae	Heterokontophyta	Chromista	Eukaryota
21 <i>Chroococcus</i> sp.	<i>Chroococcus</i>	Chroococcaceae	Chroococcales	Cyanophyceae	Cyanobacteria	Eubacteria	Prokaryota
22. <i>Neochloris</i> sp.	<i>Neochloris</i>	Neochloridaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
23 <i>Pseudopediastrum boryanum</i>	<i>Pseudopediastrum</i>	Hydrodictyaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
24. <i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella</i>	Chlorellaceae	Chlorellales	Trebouxiophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota
25. <i>Scenedesmus apiculatus</i>	<i>Scenedesmus</i>	Scenedesmaceae	Sphaeropleales	Chlorophyceae	Chlorophyta	Plantae	Eukaryota

Çizelge 3.3. İzolasyonu yapılan taksonların sistematik kategorizasyonu

### **3.2. Yöntem**

Çalışma süresince gerçekleştirilen işlemler şöyle sıralanmaktadır: Örnekleme yapılması, taksonların morfolojik taksonomisi, izolasyonu ve kültürü, örneklerin hazırlanması, DNA izolasyonu, PZR analizi, ITS bölgesi ve primer dizaynı, agoroz jel elektroforezi, dizi analizi, filogenetik analiz ve toplanan verilerin yorumlanması.

#### **3.2.1.Örnekleme yapılması**

Örnekler, 14.05.2012-30.10.2012 tarihleri arasında çalışma bölgesinde bulunan göl, gölcük, rezervuar alanları, bataklık gibi lentik sistemler ile dere, çay, ırmak, nehir gibi lotik sistemlerden; ayrıca havuz, kaynak, pınar gibi farklı sucul habitatlardan toplanmıştır. Bu noktaların koordinatları Garmin Etrex Vista HCX marka bir GPS (Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi) cihazı ile belirlenmiştir.

Örnekleme yapılırken daha önceki çalışmalarda ülkemiz iç sularında bulunmamış mikroalgler ile karşılaşma olasılığını arttırabilmek için farklı çevresel koşullara sahip, mikroalg patlamalarının görüldüğü habitatların seçilmesine dikkat edilmiştir.

Fitoplanktonik organizmalar sudan fitoplanktonun süzülerek toplanması esasına dayanan ve bu amaçla hazırlanmış olan fitoplankton kepçesi ile toplanmıştır. Bu kepçeler, por çapları genellikle 10-55 µm arasında değişen özel bezlerden yapılmış, koni biçiminde ve altında süzüntünün toplanacağı bir hazneye sahiptir. Birkaç kez aynı bölgeden süzme işlemi yapıldıktan sonra kepçenin toplama haznesindeki örnekler plastik bir kaba alınmıştır.

Epipelik ve episammik örnekler, 1,00-1,50 m uzunluğunda ve 0,80-1,20 cm çapında uzun cam borular ile kasık çizmesi giyerek kıyısız bölgelerden elde edilmiştir. Borunun bir ucunu 45 derecelik bir açı ile sedimentin yüzeyinde hareket ettirerek çamursu epipelik alg toplulukları boru içerisine alınmış ve cam boruyu yukarı kaldırılmadan önce işaret parmağı ile kapatılarak bir vakum oluşturulmuş ve içerisindeki örnekler dökülmeden kaldırılarak plastik kavanozlara alınmıştır.

Epilitik, epifitik ve epizooik örnekler ise, kazıma metoduna göre toplanmıştır. Taşlar (epilitik), bitkiler (epifitik) ve kabuklu hayvanlar (epizooik) dış fırçası ya da bıçak gibi sert cisimler ile dış kısımları kazınmış ve kazınan kısım saf su ile temizlenerek örnekleme şişelerine alınmıştır.

Örnekler zenginleştirme ortamlarına konulmuş ve arazi çalışması süresince her gün sonunda gece boyu havalandırılmaları sağlanarak bozulmaları engellenmeye ve laboratuvara canlı olarak getirilmeye çalışılmıştır.

Örnekleme yapılan suyun sıcaklık, pH, elektriksel iletkenlik ve çözülmüş oksijen değerleri HACH (HQ40D) marka portatif bir cihaz ile ölçülüp kaydedilmiştir.

### **3.2.2. Taksonların morfolojik taksonomisi**

Laboratuvara getirilen örnekler OLYMPUS CX 31 marka mikroskop altında incelendi, kameralı OLYMPUS CH 51 marka mikroskop ile fotoğrafları çekilerek ölçümleri yapıldı ve Prescott (1973), Bold ve Wynne (1985), Starmach (1966, 1995), Desikachary (1959), Smith (1950), Huber-Pestalozzi (1955), Ettl ve ark. (1985), Elster ve Ohle, (1982), Krammer ve Lange-Bertalot (1999a), Krammer ve Lange-Bertalot (1999b), Krammer ve Lange-Bertalot (1991a), Krammer ve Lange-Bertalot (1991b), Komárek ve Fott (1983) gibi temel sistematik kitaplarından faydalanılarak morfolojik özelliklerine göre sistematik tayinleri yapıldı.

### **3.2.3. Taksonların izolasyonu ve kültürü**

İzolasyonu yapılabilecek taksonlar, kılcal pipet yöntemi ve agar plağı yöntemleri ile izole edilerek uygun kültür ortamına bırakıldı.

#### **3.2.3.1. Kılcal pipet yöntemi**

Pastör pipetin ince bölümünün uç kısmı hafifçe ısıtılarak pens yardımıyla pipetin sonunda yuvarlak, pürüzsüz bir açıklık oluşturmak için ani bir hareketle çekilerek 0.08 mm'den 0.16 mm kadar çapta, 5 cm boya ulaşabilen bir kılcal pipet elde edilmiştir. Geniş kısmına 5-6 cm boyunda damlalık lastiği takılıp pipetin dıştaki suya yeterince basınç yapabilmesi ve emme kuvveti oluşturabilmesi sağlanmıştır. İzolasyon yapmadan önce, yıkama ve seyreltme sıvısı olarak steril bir sıvıdan 5-8 damla, sterilize gözlem camına, petri kaplarına ayrı ayrı damlatılmıştır. Steril seyreltme damlaları içeren petri kabı mikroskop tablasına yerleştirilip örneklerden küçük bir miktar alınarak steril sıvının içine boşaltılmıştır. Bir alg birimi seçilip kılcal tüpün ucu seçilen birime doğru yanlamasına konmuş ve böylece obje kılcal borunun gücüyle emilerek pipetin içine alınmıştır. İlk seferde pipette, genellikle istenen türün yanında diğer birkaç tür alg hücresi ve bakteri de bulunacağından pipet içeriği ikinci seyreltme ve yıkama damlasına aktarılmıştır. Bu olay izole edilmek istenen türün özelliğine göre pipette tek hücre elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Elde edilen tek hücreler kılcal pipetlerle içinde inorganik besleyicilerin bulunduğu ortama veya toprak su ortamına transfer edilmiştir (Bold, 1942).

### 3.2.3.2. Plak agar yöntemi

Kılcal pipet yöntemiyle elde edilen uni-algal kültürler, tekrar temizlenecek ve agar plaklarına çizgi ekim yapılacak materyali oluştururlar. Bu materyalden agarlı petrilere çizgi ekim yapıp uygun sıcaklık ve ışık altında hücreler gelişmeye bırakılmıştır. Agarda farklı gelişme ve üreme evrelerine sahip çeşitli türler olduğundan bu petri kapları mikroskop altında her gün gözlemlenmiştir. Petri kabında tek hücreden koloni oluşturan ve bulaşıcı organizmalardan arındırılmış koloniler seçilerek agar ortamından alınmış ve farklı kültür ortamlarının bulunduğu tüplere aktarılmıştır. Sonuçta elde edilen türlerin yaşama standartları bilinmediği için farklı ortamların bulunduğu çok sayıda tüpün kullanılmasında yarar vardır (Bold, 1942).

### 3.2.3.3. Kültür

Morfolojik teşhisleri ve izolasyonları yapılan taksonların moleküler analizler için yeterli biyokütleye ulaşmalarını sağlamak amacıyla aynı takson farklı kültür ortamlarına konmuş ve en iyi büyüme gösterdiği ortam tespit edilmiştir. Siyanobakteri ve mikroalgler için en yaygın kullanılan kültür ortamları ve besin kompozisyonları aşağıdaki gibidir.

Çizelge 3.4. Sıvı kültür ortamlarının besin kompozisyonu

Besleyici maddeler	BBM mg/L (Stein, 1973)	BG11 mg/L (Rippka ve ark., 1979)	Chu 10 mg/L (Belcher ve Swale, 1982).	DM mg/L (Beakes ve ark., 1988)
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	20	20	-
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,39	0,39	-	-
NaSiO <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O	-	-	25	57
Na <sub>2</sub> EDTA	100	1	2	2,25
NaNO <sub>3</sub>	250	1500	-	-
NaCl	25	-	-	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	175	-	6	12,4
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	75	40	-	-
KOH	62	-	-	-
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	75	75	25	25
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	25	36	-	-
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	-	-	20	20
Citric Acid	-	6	-	-
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	2,86	2,5	2,40
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	4,98	-	-	-
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	1	-
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,222	0,222	-	-
ZnCl <sub>2</sub>	-	-	-	-
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,81	1,81	1,5	1,39
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,079	0,08	-	-

CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	-	-
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,0494	0,05	-	-
Ammonium ferik-citrate	-	6	-	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	-	-	1	1
Toprak su ekstratı	-	-	-	-
B12	-	-	0,01	-
Thiamine HCl	-	-	0,001	0,04
Biotin	-	-	0,001	0,04
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1ml	-	-	-
HCl	-	-	0,25ml	-
NaHCO <sub>3</sub>	-	-	-	15,9
EDTAFeNa	-	-	-	2,25
Cyanocobalamin	-	-	-	0,04
pH	7,1	7,5-8	6,5-7	6.9

Kimyasallar belirtilen miktarlarda tartılarak saf suda çözündürülür, üzeri saf su ile 1000 ml hacme kadar tamamlanır. Sterilizasyon için 1,50 atm basınçta 120 °C’de 15 dakika otoklavlanır ve pH ayarlaması yapılır.

Her bir takson farklı kültür ortamlarına konmuş ve en iyi büyüme gösterdiği kültür ortamı tespit edilmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.5. İzolasyonu yapılan taksonlar ve bırakıldıkları kültür ortamı

Kod No	İzolasyonu Yapılan Takson	Ortam	Kod No	İzolasyonu Yapılan Takson	Ortam
1	<i>Scenedesmus acutus</i>	BOLD	13	<i>Phormidium</i> sp. 2	BG11
2	<i>Scenedesmus antennatus</i>	BOLD	14	<i>Phormidium tenue</i>	BG11
3	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	BOLD	15	<i>Stigeoclonium</i> sp.	BOLD
4	<i>Scenedesmus opoliensis</i>	BOLD	17	<i>Nostoc</i> sp.	Kuru Örnek
5	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	BOLD	18	<i>Oocystis parva</i>	BOLD
6	<i>Scenedesmus armatus</i>	BOLD	19	<i>Chlorococcum</i> sp.	BOLD
7	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	BOLD	20	<i>Fragillaria</i> sp.	DM
8	<i>Monoraphidium minutum</i>	BOLD	21	<i>Chroococcus</i> sp.	BG11
9	<i>Cosmarium</i> sp.	BOLD	22	<i>Neochloris</i> sp.	BOLD
10	<i>Nitzschia</i> sp.	DM	23	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>	BOLD
11	<i>Craticula cuspidata</i>	DM	24	<i>Chlorella vulgaris</i>	BOLD
12	<i>Phormidium</i> sp. 1	BG11	25	<i>Scenedesmus apiculatus</i>	BOLD

Kültür tüpleri, flouresan lambaların kullanıldığı, ortalama 150 µmol foton·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> lik sürekli ışık altında, 25±2°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Biyokütle eksponansiyel büyüme fazına ulaştığında hasat edilmiş ve moleküler analizler için kullanılmıştır.

### 3.2.4. Moleküler analizler için örneklerin hazırlanması

DNA izolasyonu yapılacak her bir taksonun kültür tüpünden 5 ml örnek alınmış ve ependorf tüpüne konmuştur. Daha sonra ependorf tüpleri Sigma 1-14 Micro Centrifuge



marka santrifüj cihazı ile 1000 rpm hızda 2 dakika santrifüj edilmiş, üst faz atılarak hücre pelleti elde edilmiştir. Bu çalışma 3 replikalı yapılmış, eppendorf tüplerinden bir tanesindeki pelletten DNA izolasyonu yapılmış ve diğer iki tüp ihtiyaç halinde tekrar DNA izolasyonu yapabilmek için -20 °C’de saklanmıştır.

### **3.2.5. DNA izolasyonu**

DNA izolasyonu Gene Jet Plant Genomik DNA Purification Kit (Thermo) ile gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu kit içerisinde bulunan bilgiler doğrultusunda şu şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. -20°C’de saklanmış olan örneğin üzerine 400 µl Lysis Buffer ve 15 µl RNase A eklenmiştir.
2. Tüp içerisindeki örnek ve Lysis buffer karışımı 65°C’de 30 dakika inkübe edilmiş ve her 5 dakikada bir ters-yüz edilmiştir.
3. İnkübasyonun ardından örneklerin üzerine 100 µl Lysis buffer 2 eklenerek 5 saniye vortekslenmiş ve 5 dakika boyunca buz üzerinde bekletilmiştir.
4. İnkübasyondan sonra örnekler 5 dakika 14.000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
5. Üstte kalan sıvı faz alınarak 2 ml’lik tüpün üzerinde bulunan filtreye aktarılmış ve 1 dakika 10.000xg.’de santrifüj edilmiştir.
6. Filtrenin altında kalan sıvını üzerine 225 µl DNA Binding Buffer eklenerek karıştırılmıştır.
7. Elde edilen karışım, 2 ml.’lik tüp içerisinde bulunan filtre üzerine aktarılmış ve 10.000xg’de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
8. Altta kalan sıvı uzaklaştırıldıktan sonra filtrenin üzerine 650 µl Wash Buffer eklenmiş ve 1 dakika 10.000xg’de santrifüj yapılmış, altta kalan sıvı uzaklaştırılmıştır. Bu basamak 2 kez tekrarlanmıştır.
9. Filtre yeni bir 1.5 ml.’lik eppendorf tüpüne aktarılarak üzerine 50 µl Elution buffer eklenmiş ve 1 dakika 10.000xg.’de santrifüj edilmiştir.
10. Filtre atılarak tüpte kalan sıvı -20°C’de saklanmıştır.
11. Elde edilen DNA’lar jel elektroforezi yöntemi ve spektrofotometrik yöntemler ile gözlenmiştir. Jel elektroforezi için %0.8’lik agaroz jel hazırlanmış ve örnekler 5V/cm.’de yürütülmüştür.

**3.2.6. DNA moleküllerinin miktarları ve saflık derecelerinin belirlenmesi**

DNA numunelerinin saflık ve miktar tayinleri NANODROP spektrofotometrede okunmuş ve kontrol olarak dehidrasyon tamponu kullanılarak 260 nm, 280 nm, 260 nm/280 nm, 260/230nm değerleri ölçülmüş ve DNA numunelerinin konsantrasyonları ng/µl olarak belirlenmiştir.

**3.2.7. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)**

PZR analizleri Runik Thermal Cycler (Sacem) cihazında gerçekleştirilmiştir.

PZR karışımı, 1 U Taq polymerase, 1x reaction buffer, 0.2 mM dNTP mix, 1µM MgCl, 0.2 µM forward ve reverse primerler ve 50-100 ng DNA olacak şekilde hazırlanmış ve ultrapure su ile 25µl'ye tamamlanmıştır.

PZR analizinde kullanılan primerler; prokaryotik ve ökaryotik organizmalar için farklı olarak dizayn edilmiş ve Prizma Laboratuvar Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti.' ne sentezlettirilmiş ve Çizelge 3.6 ve 3.7'de verilmiştir.

PZR koşulları ökaryotik örnekler için 95°C'de 2 dakikalık ilk denatürasyonun ardından, 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye annealing ve 72°C'de 1 dakikalık uzama basamaklarında oluşan 35 döngünün ardından 72°C'de 10 dakikalık son uzama basamağı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Prokaryotik olan siyanobakteri örneklerinde ise annealing sıcaklığı 55°C'de 50 saniye, uzama basamağı ise 72°C'de 40 saniye olacak şekilde değiştirilip uygulanmıştır.

Çizelge 3.6. PZR analizinde siyanobakteri örnekleri için kullanılan primerler ve erime sıcaklıkları

<b>Primer</b>	<b>Dizi</b>	<b>M<sub>T</sub> (°C)</b>
27F	5'-AGA GTT TGA TTT ACG CGA CA-3'	60.0
809R	5'-GCT TCG GCA CGG CTC GGG TCG ATA-3'	74.0
Cya 359F:	5'-GGG GAA TYT TCC GCA ATG GG-3'	64.0
Cya 781Ra	5'-GAC TAC TGG GGT ATC TAA TCC CAT T-3'	72.0

Çizelge 3.7. PZR analizinde ökaryotik örnekler için kullanılan primerler ve erime sıcaklıkları

Primer	Dizi	M <sub>T</sub> (°C)
ITS1	5'- TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3'	62.0
ITS2	5'- GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3'	58.0
ITS3	5'- GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC-3'	62.0
ITS4	5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	58.0

### 3.2.8. Agaroz jel elektroforezi

Genomik DNA ve PZR ürünleri, 0,5 µg mL<sup>-1</sup> etidyum bromid içeren %0.8'lik ve %1.5'lik yatay agaroz jel elektroforezde yürütülmüştür. Yürütme işlemi 5V/cm 1xSB [Sodyum borik asit (pH 8,0)] çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Jel görüntüleme cihazında görüntülenen PZR ürünleri, agaroz jelden kesilerek Jel Purifikasyon kiti (PeqLab) ile saflaştırılmıştır.

### 3.2.9. Dizi analizi

Elde edilen DNA molekülleri REFGEN firmasına dizi analizi yaptırılmak üzere gönderilmiştir.

### 3.2.10. Filogenetik analiz

Dizi analizi sonrası filogenetik analiz programları kullanılarak türler arasında karşılaştırma yapılmıştır.

Öncelikle dizi verileri toplanarak veri tabanına eklenmiş daha sonra ilgili program (ClustalW) kullanılarak dizi analizi sonucu elde edilen baz dizileri ile dizi hizalaması gerçekleştirilmiştir. Hizalama işleminden sonra Mega 5 programı kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bahsi geçen programlar kullanılarak NJ (Neighbour Joining), UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) ağaçları oluşturulmuş ve karşılaştırılmıştır. Veri bankasından elde edilen diziler ile izole edilen mikroalg örneklerinden elde edilen baz dizilerinin karşılaştırılması ile çalışmadan elde edilen taksonların sistematik yerleri belirlenmiştir. Sonuç olarak türlerin morfolojik tayinleri ile moleküler tayinlerinin uyumluluğu ve türlerin birbirleriyle olan akrabalıkları bulunmuştur.

**BÖLÜM 4****ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1.Örnekleme Noktalarının Fiziksel Parametre Sonuçları**

Örnekleme yapılan suyun fiziksel parametreleri Çizelge 4.1’de gösterilmektedir. Bu veriler ışığında örneklerin kültürlerinin bırakılacağı fiziksel şartlar belirlenerek, bozulmadan büyümelerinin sağlanacağı optimum yaşam ortamları oluşturulmuştur.

Çizelge 4.1. Örnekleme yapılan suyun fiziksel parametreleri

<b>Örn. Nok.</b>	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>PH</b>	<b>İletkenlik (µS/cm)</b>	<b>Çözünmüş Oksijen(mg/l)</b>
1	18,60	9,30	875	12,30
2	16,70	8,21	968	10,57
3	18,30	7,60	946	10,36
4	17,30	7,48	978	7,91
5	16,30	7,25	2038	5,21
6	18,10	7,15	1262	5,93
7	20,70	7,47	760	0,98
8	19,10	7,50	893	8,63
9	20,90	9,92	371	12,98
10	18,40	6,98	1440	2,20
11	16,50	7,00	282	7,94
12	19,00	8,14	389	8,13
13	18,60	7,80	1184	4,86
14	20,90	7,73	736	8,49
15	18,10	7,30	959	6,50
16	19,80	7,09	731	11,30
17	19,40	8,43	389	11,35
18	15,30	7,30	538	8,99
19	15,60	7,07	635	6,75
20	13,20	7,80	195,3	8,90

**4.2 İzolasyonu Yapılan Taksonlar**

Laboratuvara getirilen örnekler OLYMPUS CX 31 marka mikroskop altında incelendi, kameralı OLYMPUS CH 51 marka mikroskop ile fotoğrafları çekilerek ölçümleri yapıldı. Metod kısmında belirtilen sistematik kitaplarından faydalanılarak teşhisleri yapıldı.

Çizelge 4.2. İzolasyonu yapılan taksonlar

Kod No	İzolasyonu Yapılan Takson	Kod No	İzolasyonu Yapılan Takson
1	<i>Scenedesmus acutus</i>	13	<i>Phormidium</i> sp. 2
2	<i>Scenedesmus antennatus</i>	14	<i>Phormidium tenue</i>
3	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	15	<i>Stigeoclonium</i> sp.
4	<i>Scenedesmus opoliensis</i>	17	<i>Nostoc</i> sp.(Kuru Örnek)
5	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	18	<i>Chlamydomonas</i> sp.
6	<i>Scenedesmus armatus</i>	19	<i>Chlorococcum</i> sp.
7	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	20	<i>Fragillaria</i> sp.
8	<i>Monoraphidium minutum</i>	21	<i>Chroococcus</i> sp.
9	<i>Cosmarium</i> sp.	22	<i>Neochloris</i> sp.
10	<i>Nitzschia</i> sp.	23	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>
11	<i>Craticula cuspidata</i>	24	<i>Chlorella vulgaris</i>
12	<i>Phormidium</i> sp. 1	25	<i>Scenedesmus apiculatus</i>

Örnekler grup bazında incelendiğinde;

12, 13, 14, 17, 21 No.lu örnekler Cyanobacteria;

10, 11, 20 No.lu örnekler Heterokontophyta;

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 15, 18, 19, 22, 23, 24, 25 No.lu örneklerin ise Chlorophyta grubuna ait oldukları görülmektedir. Örneklerin morfolojik özelliklerine göre değerlendirilmesi aşağıdaki gibidir.

***Phormidium* sp. 1 ve 2 Kützing ex Gomont (12 ve 13 No.lu örnekler);**

Flamentler, jelâtinimsi veya kayışimsı şekilde bir tabaka oluşturur. Tallus, alttaki parçalara eklenmiş ya da kopmuş halde serbest yüzer. Müsilaj kılıf az çok sert, bazen aglütine olmuş, kısmen belirsiz, ince ve renksizdir. Trikom; silindirik, komşu hücre çeperlerinde boğumlanmış, uçlarda incelmış, düz ya da kavisli haldedir. Kesinlikle düzenli spiralleşme olmayıp, kapitatlı ya da kapitatsız olabilir, çoğu türde uç hücreler kaliptralıdır (Desikachary, 1959).

***Phormidium tenue* (Meneghini) Gomont (14 No.lu örnek)**

Kayışimsı filamentler açık mavi yeşil renkte, hafif bükülmüş haldedir. 1-2 µm genişliğindeki yan duvarları yukarıya doğru daralmıştır. Hücreler (1,5)- 2,5 -5 µm uzunluğundadır. Duvarlarda granülasyon yoktur. Uçlara doğru konikleşen hücrelerde kaliptra yoktur. Durgun sularda ve toprakta bulunur ayrıca sıcak su kaynaklarında da yaşamını sürdürebilir.

***Nostoc sp. Vaucher (17 No.lu örnek)***

Tallus müsilaajımsı, küresel ya da oblong, ipliksi, bullos, solid ya da içi boş, serbest halde ya da substrata tutunmuş halde, koyu renkli; trikom torulosedir. Hücreler bastırılmış, küresel, varil şeklinde ya da silindirik; heterosist, interkalardır (Desikachary, 1959).

***Chroococcus sp. Nægeli (21 No.lu örnek)***

Bir hücreli ya da 2-32 sayıda hücrenin birleşmesi ile oluşur. Yarı küresel ya da oval şekilli bireyler serbest yüzebileceği gibi substrata yapışmış halde ya da nemli habitatlarda bulunabilir. Her hücre bir kılıfla sarılıdır. Art arda hücre bölünmelerinin sonucu olarak kılıfın çok sayıda katmanı oluşur. Kılıf hem şeffaf hem de koyu sarı (toprak rengi) renkte olabilir. Gaz vakuölü yoktur. Mavi-yeşil, zeytin yeşili ya da sarımsı renktedir (Prescott, 1973).

***Nitzschia sp. Hassall (10 No.lu örnek)***

Frustul izopolardır. Hücreler kuşak veya valf görünüşlüdür. Valflar asimetriktr çünkü rafe sistemi merkezde yer almaz. Valf dış çizgisi asimetrik ve dorsaventral olarak görülebilir. Fakat genellikle doğru yerden bakılıyorsa simetriktr. Genellikle elongat haldedir. Merkezde boğumlanmış olabilir ya da olmayabilir ve yuvarlanmış rostrate ya da kapitat kutuplar taşıyabilir. Enine sitrialar bazen gözlenebilir. Fibula genellikle küçük fakat birkaç türde valfin bütününe ya da bir parçasına çapraz yaparak uzanabilir. Merkezi rafe sonlanmaları gözlenebilir ya da gözlenmeyebilir. Bu çok önemli bir taksonomik özelliktedir. İki valfin rafe sistemleri aynı kenarda (Hantzschoid simetri) ya da karşı kenarda (Nitzschoid simetri) bulunabilir. Her hücrede her kutupta bir tane olmak üzere toplam iki kloroplast vardır. Her kloroplast genellikle basit ve bir ya da diğer valfa ya da kuşağa doğru uzanmış şekildedir. Merkezi boşlukta nukleus vardır (Round ve ark., 1990).

***Craticula cuspidata (Kützing) D. G. Mann (11 No.lu örnek)***

Valva 30-150 µm uzunluğunda ve 13-44 µm genişliğindedir. 10 µm uzunlukta 11-19 sayıda striae bulunur (Krammer ve Lange-Bertalot, 1999a).

*Craticula* üyelerinin hücreleri valva görünümünde mızraksı görünüşlüdür, kuşak görünümü ise dar bir dikdörtgen şeklindedir. Hücreler tektir. Kuşak boyunca uzanan iki düz kloroplasta sahiptir ve valva yüzünün altında uzanır. Sitoplazmik köprü ve merkezi uçları arasında iki bariz damlacık vardır. Uçlar boyunca devam eden merkezi rafe yarıkları merkezde genişlemiştir. Striae az çok paraleldir. Gözenekler düzenli bir

şekilde dizilmiştir. Valvalar dikey striae tarafından bölünmüş gibi görülebilir. Kuşak bandının her birinde gözenek satırları mevcuttur (Round ve ark., 1990).

***Fragilaria sp.* Lyngbye (20 No.lu örnek)**

Hücreler şerit benzeri koloniler oluşturmak üzere valf yüzeylerinden birleşirler. Bu taksonlar sadece merkez bölgede oluşan şişkinliklerden bağlanarak zincir oluştururlar, aksi halde bağlantı hücrenin bütün uzunluğu boyunca meydana gelir. İki adet plaka benzeri plastidleri vardır. Strialar birbirlerine neredeyse paralel düzenlenmiş ve dar bir doğrusal sternum ile iki sıra birbirinden ayrılmıştır. Merkezi alan çeşitlilik gösterir, fakat genellikle valfın bir ya da her iki tarafının kenarına ulaşır (Round ve ark., 1990).

Komarek ve Fott (1983); *Scenedesmus* cinsini, 1-2 sırada dizilmiş, 2-32 hücreden oluşmuş düz bir sönöbia; elips, oval ya da hilal şeklinde ve her birinin uçlarına doğru sonlanmakta fakat genellikle uzamış hücrelere; düz, kesik ya da geniş hücre uçları; düz ya da spine (diken)ler ile süslü çepere; parietal (tabak gibi) ve genellikle tek pirenoidli kloroplasta sahip olarak tanımlarlar ve eşeysiz üremenin otoporlarla olduğunu belirtmektedirler.

***Scenedesmus acutus* Meyen (1 No.lu örnek)**

Fusiform hücreler, ortası konkav uçları konveks sonlanan dış hücreler, düz bir hücre duvarı ile tanımlanmaktadır (Komarek ve Fott 1983).

***Scenedesmus antennatus* Brebisson (2 No.lu örnek)**

*S. acutus* (1 No.lu örnek) taksonundan, uçlardaki renksiz müsilaj knob (topuz)larla kolaylıkla ayrılmaktadır (Komarek ve Fott 1983).

***Scenedesmus quadricauda* Chodat (3 No.lu örnek)**

Prescott (1973)'e göre; *S. quadricauda* (3 No.lu örnek) bir sıradaki oblong-silindirik hücreler, dıştaki hücrelerin iki ucunda da uzun ve kıvrılmış bir spine ve içteki hücrelerin spinsiz olmasıyla ayırt edilmektedir.

***Scenedesmus opoliensis* P.G. Richter (4 No.lu örnek)**

*S. opoliensis* (4 No.lu örnek) and *S. quadricauda* (3 No.lu örnek) taksonlarının birbirine benzemesi genellikle yanlış teşhislere sebep olmaktadır. Bu yanlışlığı ortadan kaldırmak için dıştaki hücrelerin uçları çok iyi bir şekilde gözlenmelidir. *S. opoliensis* (4 No.lu örnek) taksonunun dıştaki hücreleri fusiform-naviculoid (Prescott, 1973) ve üstten görünümde sönöbia kıvrıktır (Komarek ve Fott, 1983). Bu özelliklerin her ikisi de örneklerimiz de gözlenmiştir.

***Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat (5 No.lu örnek)**

Bir sıradaki keskin uçlu lunat hücreler ile kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. (Prescott, 1973).

***Scenedesmus armatus* Chodat (6 No.lu örnek)**

Silindirik-oval hücreler ve 2 µm uzunluğa erişebilen spineleri ile karakterize olur (Komarek and Fott, 1983). Bu karakteristik özellik bu taksonun diğer örneklerden ve özellikle de *S. quadricauda* (3 No.lu örnek) taksonundan ayırt edilmesini sağlar.

***Scenedesmus apiculatus* Corda (25 No.lu örnek)**

İki sırada dizilmiş ve birbirine uzunluklarının 1/2-1/3'ü oranında bağlanan hücrelerden oluşmuş olmaları ve hücre uçlarında küçük apiceslerin bulunmasıdır (Komarek ve Fott, 1983).

***Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs (7 No.lu örnek)**

Keskin bir şekilde sonlanan ve hafifçe kıvrılan uçları olan hücreler, iğne şeklinde (needle-shaped) olup yığınlar halinde bulunur. Hücre, parietal, tabak şeklinde, genellikle pirenoidsiz tek bir kloroplast taşır. Tüm koloni ince bir kılıf ile çevrilidir. Hücre boyutları; 25-62 x1,2-4,3 µm.' dir (Huber-Pestalozzi, 1955).

***Monoraphidium minutum* Komárková-Legnerová (8 No.lu örnek)**

Hilal-sigmoid şeklindeki hücreler, uçlara doğru hafif spiral yaparak sonlanır. Parietal kloroplast, pirenoidsiz olup hemen hemen tüm hücre duvarını kaplayan şekildedir. Üreme otosaporlar ile olur. Hücre yüzeyine sıkı bir şekilde bağlı olan hücre duvarı, bazen düzensiz iki parçadan oluşabilir. Hücre ölçüleri (3,5-)5-17(-20)x1-7,2 µm.' dir (Huber-Pestalozzi, 1955).

***Cosmarium* sp. Corda ex Ralfs (9 No.lu örnek)**

Merkezi bir isthmus ile birleşmiş iki yarı çemberden oluşan bir şekle sahiptir. Hücre duvarı her zaman punktat olup düz, sade ya da kompleks bir yerleşim gösteren granüler çıkıntılar taşır. Kloroplast genellikle dallanmış ve bazen karmaşıktır (John ve ark., 2003).

***Stigeoclonium* sp. Kützing (15 No.lu örnek)**

Dallanmış bir filament, pseudoparankimatik hücre kitleleri özelliğindeki tallusun yere yığılmış parçalarından gelişir. Bütün yapı, ince bir müsilaj film ile örtülür. Birinci ve ikinci sıradaki dallar karşılıklıdır ve ana eksendekilerden daha küçük hücrelerden oluşur. Hiyalin, ve sert özellikteki çıkıntılı hücreler ile sonlanır. Kloroplast pek çok hücre duvarını (özellikle dallardaki hücrelerin duvarını) örtecek parietal plaka şeklindedir. Bir ya da çok sayıda pirenoid içerebilir (Prescott, 1973).



***Chlamydomonas* sp. Ehrenberg (18 No.lu örnek)**

Hücreler; oval, elips ya da küresel, bazen hücrenin uç kısmında iki kamçının geliştiği yapılar olan bir ya da iki apikal papilla bulundurabilir. Hücreyi dıştan saran dar ya da geniş bir müsilajımsı kılıf bulunur. Kloroplast; yoğun bir halde, hücrenin tamamına yerleşmiş ya da ince bir parietal U şeklinde, birkaç türde ise H şeklinde olabilir. Pirenoidler; bir ya da çok, bazal ya da bilateral ve dağınık haldedir. Pigment noktaları; yanda veya önde, nadiren ortadadır. İki ya da dört tane apikal kontraktıl vakuol genellikle fark edilebilir haldedir. Bu cinsin türleri, dinlenme evresine yakalaştığında kamçılarını kaybedip, hareketsiz faza girerler. Vejetatif hücreler, sürekli bölünmeler geçirerek müsilaj salınımı ile hepsi birlikte bir arada tutulur. Bu yüzden, şekilsiz jelâtinimsi kütle, çok sayıda hareketsiz hücreleri içeren bir şekilde görülebilir. Bu faz palmella fazı olarak bilinir. Bir hücreli, oval ya da küresel, U şekilli kloroplasta sahip hücrelerden oluşan kolonial diğer algler (*Gloeocystis*), palmella evresindeki *Chlamydomonas* üyeleri ile karıştırılabilir (Prescott, 1973).

***Chlorococcum* sp. Meneghini (19 No.lu örnek)**

Eliptik, geniş oval ya da küresel hücreler tek tek ya da düzensiz gruplar halinde müsilajlı ya da müsilajsız halde bulunur. Hücre duvarı düzdür ve bazen büyüme sırasında kalınlaşma gösterir. Kloroplast iç duvarı bir ya da birkaç pirenoid taşır. Bazen genç hücrelerde titreşimli vakuoller görülmektedir. Çok çekirdekli hücre tipleri gözlenebilir. Hücreler bazen yağ bazen de sekonder karatenoid biriktirerek turuncukırmızı gözlenmektedir. Üreme, aplanospor ve zoospor ile olmaktadır. Zoosporlar *Chlamydomonas* tipidir (Huber-Pestalozzi, 1955).

***Neochloris* sp. Starr (22 No.lu örnek)**

Kusursuz bir şekilde küresel olan hücreler tek ya da koloni halinde bulunabilir. Genellikle yaşlı hücrelerde nadiren kalınlaşma gösteren hücre duvarı genellikle incedir. Parietal kloroplast tüm hücre içini doldurur. Pirenoid belirgin bir şekilde gözlenir. Kontraktıl kofullar genç hücrelerde gözlenmezken bir ya da çok çekirdeklielerde vardır (Huber-Pestalozzi, 1955).

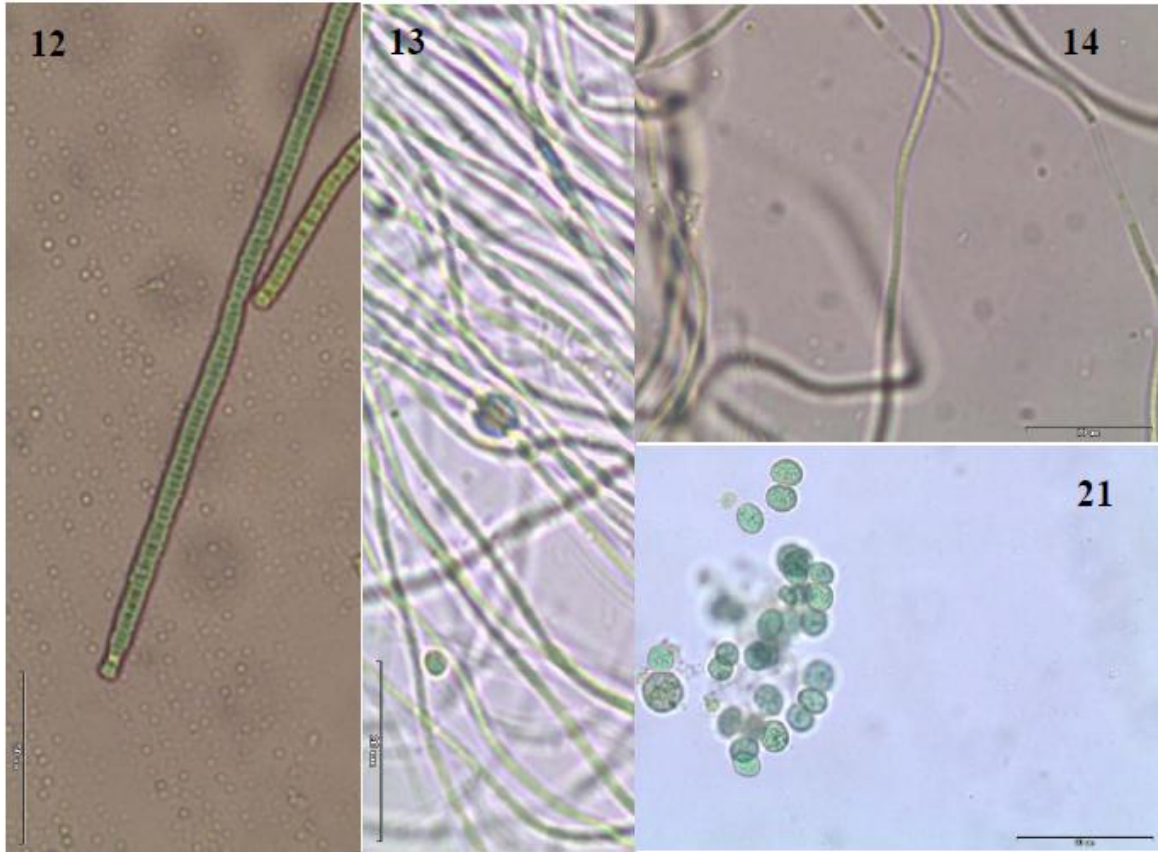
***Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) E. Hegewald (23 No.lu örnek)**

Sönobial koloni; (16-) 25-180 (-208) µm genişliğindedir. Kenar hücreleri (5-) 8-30 (-40) x (5-) 9-21 (-31) µm ölçülerindedir. Birbirine paralel iki çıkıntısı olan çevresel hücreler sarılmıştır. Çıkıntıların uzunluğu hücre uzunluğuna eşit ya da ondan daha kısadır. İçteki hücreler (5-) 6-20 (-26) x (4-) 5,7-22,5 (-27) µm ölçülerindedir. Hücreler çok kenarlı ve hücrel boşlukları olmayan haldedir. Hücre duvarı düz ya da

granüllüdür. Kozmopolit, havuz, göl ve rezervuarlarda, yavaş akan nehirlerde, ilkbahar ve yaz başlarında bol bulunur (John ve ark., 2003)

***Chlorella vulgaris* Beijerinck (24 No.lu örnek)**

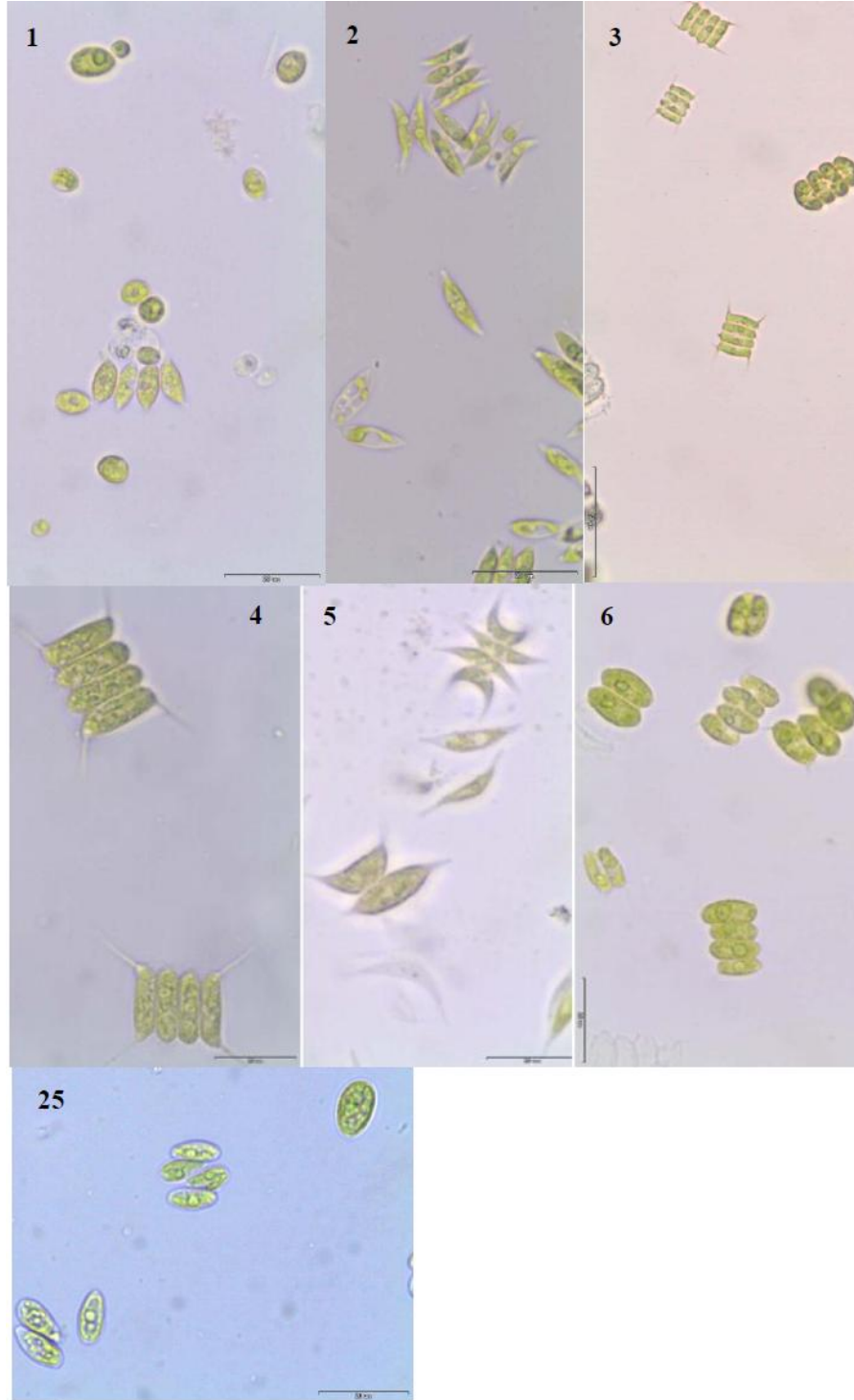
Küresel ya da eliptik hücreler, tek tek ya da küçük gruplar halinde bulunabilir. Otoporlar genellikle eliptik olup nadiren küreseldir. Hücre duvarı ince, kloroplast fincan benzeri, çukur yapıda olup bazen belli bazen belirsiz bir ya da iki pirenoid taşır. Hücreler ,5-10 (-13,3) µm. boyutlarındadır (Huber-Pestalozzi, 1955).



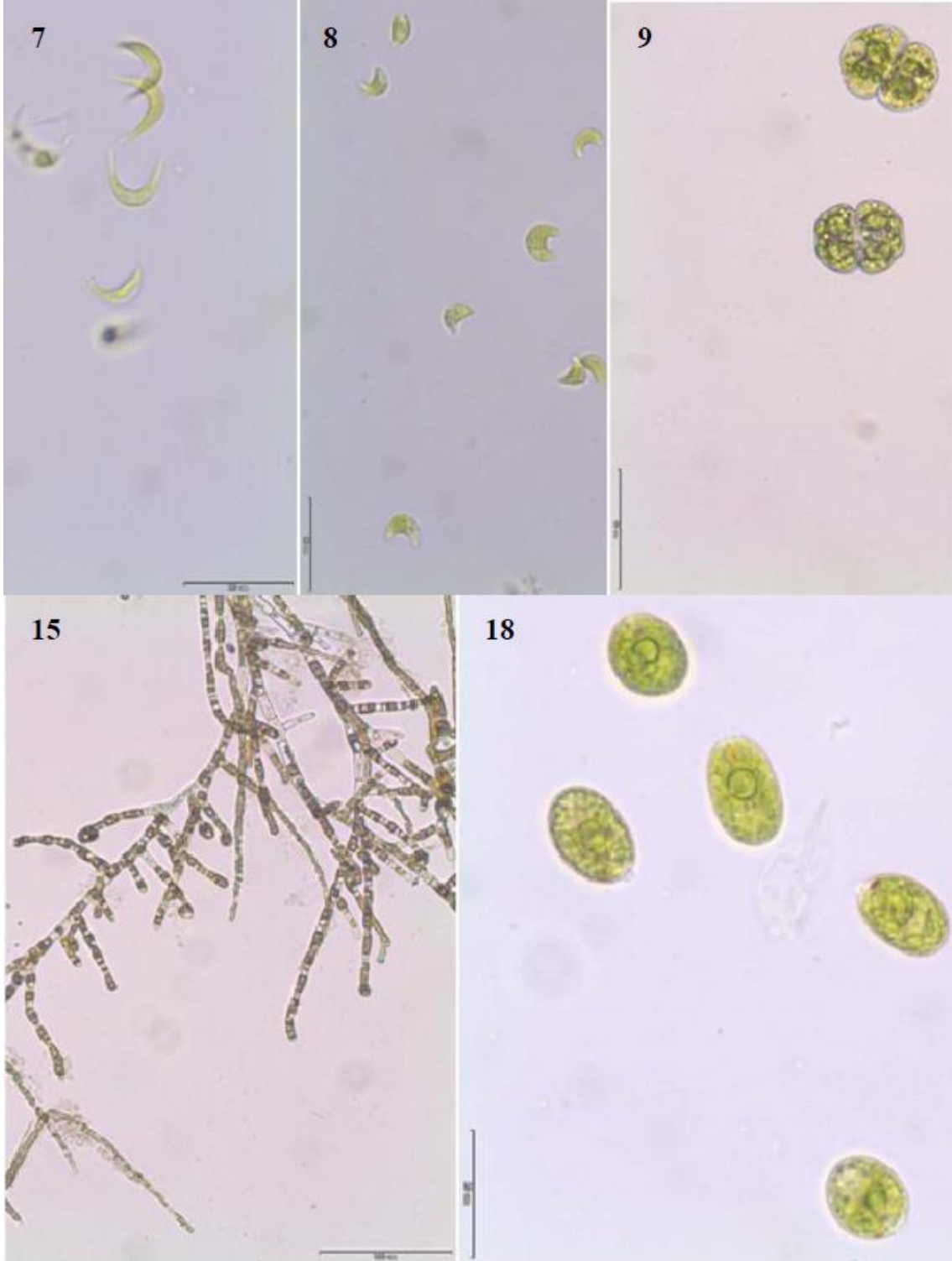
Şekil 4.1. Cyanobacteria grubu üyelerinin ışık mikroskobu görüntüleri. 12. *Phormidium* sp. 1 (Ölçek: 50 µm), 13. *Phormidium* sp. 2 (Ölçek: 20 µm), 14. *Phormidium tenue* (Ölçek: 20 µm), 21. *Chroococcus* sp. (Ölçek: 50 µm).



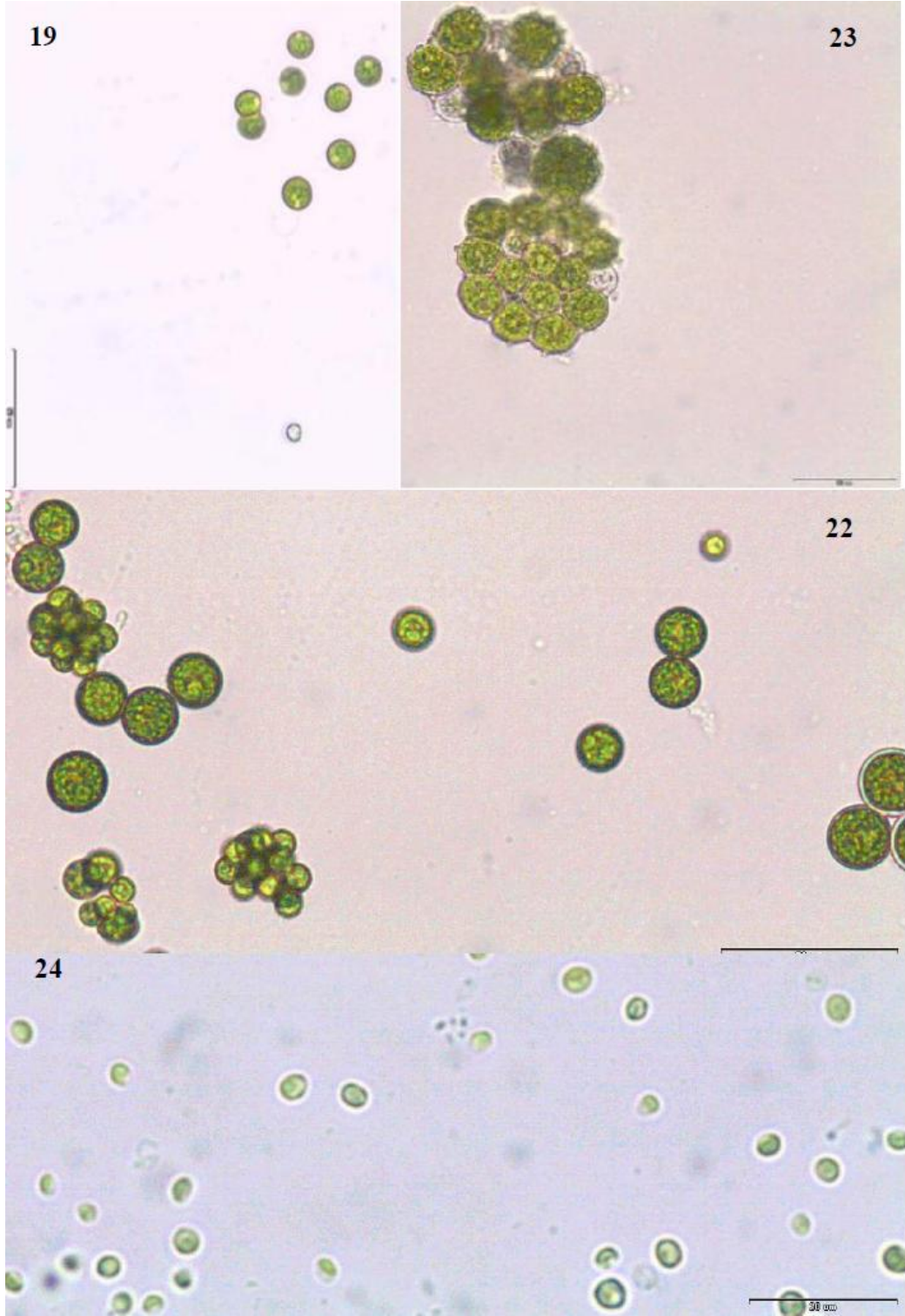
Şekil 4.2. Heterokontophyta grubu üyelerinin ışık mikroskobu görüntüleri. 11. *Craticula cuspidata* (Ölçek: 50 µm), 20. *Fragillaria* sp. (Ölçek: 50 µm), (10 No.lu örneğin, *Nitzschia* sp. fotoğrafı çekilememiştir).



Şekil 4.3. Chlorophyta grubuna ait *Scenedesmus* cinsi üyelerinin ışık mikroskobu görüntüleri. 1. *Scenedesmus acutus* (Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ ), 2. *Scenedesmus antennatus* (Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ ), 3. *Scenedesmus quadricauda* (Ölçek: 50  $\mu\text{m}$ ), 4. *Scenedesmus opoliensis* (Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ ), 5. *Scenedesmus acuminatus* (Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ ), 6. *Scenedesmus armatus* (Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ ), 25. *Scenedesmus apiculatus* (Ölçek: 20  $\mu\text{m}$ ).



Şekil 4.4. Chlorophyta grubuna ait diğer mikroalglerin ışık mikroskobu görüntüleri. 7. *Anistrodesmus falcatus* (Ölçek: 20 µm), 8. *Monoraphidium minutum* (Ölçek: 20 µm), 9. *Cosmarium* sp. (Ölçek: 50 µm), 15. *Stigeoclonium* sp. (Ölçek: 100 µm), 18. *Chlamydomonas* sp. (Ölçek: 20 µm).



Şekil 4.5. Chlorophyta grubuna ait diğer mikroalglerin ışık mikroskobu görüntüleri. 19. *Chlorococcum* sp. (Ölçek: 50  $\mu$ m), 22. *Neochloris* sp. (Ölçek: 50  $\mu$ m), 23. *Pseudopediastrum boryanum* (Ölçek: 50  $\mu$ m), 24. *Chlorella vulgaris* (Ölçek: 20  $\mu$ m).

Cyanobacteria grubundaki *Phormidium* ve *Oscillatoria* cinslerinin üyeleri, filamentsi yapılarının aynı olması sebebiyle sıklıkla karıştırılmaktadır. Tek ayırt edici

özelliik olarak Desickarhy (1959), *Phormidium* üyelerinin musilaj katmanının *Oscillatoria* üyelerinin musilaj katmanından daha kalın olduğunu belirtmiştir. Ancak bu özelliğin bu üyelerin farklı çevre şartlarında müsilaj katmanlarını kalınlaştırdıkları da düşünüldüğünde sistematik tayin yapmak için yeterli olmadığı açıktır. Filamentsi Cyanobacteria üyelerinin morfolojik sistematüğini zorlaştıran bir diğer özellik, filamentin en sonundaki hücrenin müsilaj katmandan çıkarak para şeklinde, suda serbest yüzebilen tek hücre formundaki plenokokları oluşturabilmeleridir. Bu halde gözlenip sistematüğü yapılmaya çalışılan üyelerin tayininde yanlışlıklar olacaktır. Palinska ve ark.(2011); Cyanobacteria grubuna ait *Phormidim* benzeri 29 ırkın sistematüğini; morfolojik, biyokimyasal ve moleküler teknikler kullanarak araştırmışlar ve elde ettikleri verilere göre bu grubun taksonomik revizyonunun yapılmasını gerektiğini savunmuşlardır.

*Nostoc* cinsi üyeleri, *Phormidium* cinsi üyelerinden dış görünüşüne bakarak kolayca ayrılabilir fakat yine *Nostoc* türlerinin de tallus yapısı ve rengi birbirine çok benzer olduğundan tür bazında teşhis yapmak oldukça zordur. Nostocales ordosuna sahip üyelerin uygun olmayan çevre şartlarından korunarak hayatta kalmalarını sağlayan özel hücreler olan akinetleri oluşturabilme özellikleri, bu taksona ait üyelerin sistematüğünde yanlışlıklara sebep olabilir. Sadece akinet hücresi gözlenen bir taksonun sistematik tayini ise yapılamaz.

*Chroococcus* cinsinin bir yere bağılı olarak yaşıyan türleri gelişiminin bazı evrelerinde *Chroococcus* cinsine oldukça benzeyen *Gloeocapsa* cinsi ile karıştırılır. *Gloeocapsa* formları hem su altındaki substrata hem de aerial habitatlarda yaşayabilir. *Gloeocapsa* cinsinde *Chroococcus* cinsinden daha fazla hücre bir araya gelerek koloni yapısını oluşturur. Bireysel hücre kılıfları genellikle kalın ve büyüktür. Hücrelerin gömüldüğü jelâtinimsi matriks çok sayıda kosentrik tabakalardan oluşur. Küçük, izole olmuş ve çok az gelişim göstermiş *Gloeocapsa* kolonileri, *Chroococcus* cinsinin belirgin bazı türlerine benzemektedir (Prescott, 1973).

Diatom üyeleri, rafe yarıkları, frustul yapısı, stria sayısı, kloroplast yapı ve yerleşimlerine bakılarak tayin edilmektedir. Fakat bu özellikler kesin bir sistematik tayin için yeterli olmamaktadır. Özellikle *Nitschia*, *Fragillaria*, *Craticula*, *Neidium*, *Navicula*, *Synedra* cinsleri sıklıkla karıştırılmaktadır. Tayinleri yapılırken valften ve kuşaktan gözlenir, farklı açılardan gözlenmelerine ve rafe yarıklarına özellikle dikkat edilir. Rafesiz olanlarda Labiate proses (dudak yapısı) gözlenmeye çalışılır ancak bu yapı, hücre köşelerinde bulunduğu için oldukça zor görülür. Tüm bu özelliklerin

gözlenebilmesi için yüksek kalitede bir ışık mikroskobuna ihtiyaç vardır. Hatta striaların net olarak sayılabilmesi için elektron mikroskobu kullanılabilirse daha net sonuçlar elde edilebilir.

Chlorophyta grubuna ait *Scenedesmus* cinsi üyelerini tanımlamak için sönöbia'nın şekli ve yerleşimi, hücre çeperinin yapısı, spineli olup olmaması ve knobları düzgünce gözlenmelidir. Fakat bunları ışık mikroskobuyla gözlemek oldukça zordur. Ayrıca *Scenedesmus* cinsi üyeleri kültür ortamında ve doğal habitatlarında, tuz miktarındaki değişime bağlı olarak tek hücreli ya da küçük iki hücreli hale dönüşebilirler (Soeder ve Hegewald 1989).

*Ankistrodesmus*, *Monoraphidium*, *Kirchneriella* cinsi üyeleri, kalın C şeklinde hücrelere sahip olduklarından sıklıkla karıştırılabilmektedir. Bu üyelerin tayininde kloroplast şekli ve yapısı, pirenoid sayısı ve yerleşimi gibi özellikler önem kazanmaktadır. Ancak bu özelliklerin gözlenebilmesi için yine yüksek kalitede bir mikroskoba ihtiyaç vardır.

*Chlamydomonas* cinsi üyelerinde palmelloid evre gözlenmektedir. Stres anında ya da üreme döneminde bu evreye giren hücreler, hareketsiz, kamçısız, müsilaj kılıf içinde koloni halinde görülebilirler. Olumsuz çevre şartlarından korunmak için aplanospor gibi hareketsiz, kalın çeperli, kist oluşturmuş hücreler oluşturabilirler. Bu dönemde iken mikroskobik gözlem yapılan hücreler, en çok *Oocytis* cinsi üyeleri ya da diğer coccoid grubu algler ile karıştırılabilir. Bu yüzden sistematik tayin yaparken kültüre alınan hücreler farklı dönemlerde de gözlenmelidir.

*Chlorococcum* üyelerinin zoosporları *Chlamydomonas* tiplidir. Bu durum da iki üyenin karıştırılmasına sebep olmaktadır (Huber-Pestalozzi, 1955).

*Neochloris* üyesine ait hücrelerde kloroplast parietal haldedir ancak bunun net olarak ayırt edilebilmesi için yüksek kalitede bir mikroskoba ihtiyaç vardır. Parietal kloroplasta sahip diğer coccoid alglerle (*Oocystis*, *Chlorococcum*, *Chlorococcus*) benzer özelliklerinden ötürü de karıştırılabilir.

*Pseudopediastrum* cinsine ait taksonlar belirgin hücre yapısıyla rahatlıkla ayrılabilir. Fakat tür ve alt tür bazında sistematik tayin yapabilmek için boynuzların uzunluğu, iç ve dıştaki hücrelerin boyutlarının iyi ölçülmesi gerekmektedir. Yine kültür ortamındaki taksonların anormal bir büyüme göstererek tamamen yuvarlak hale döndüğü, çıkıntılarının kaybolduğu bilinmektedir. Bu yüzden kültürden alınıp tayin yapıldığında farklı sonuçlar elde edilebilir.



*Chlorella* cinsi üyelerinin sadece morfolojik gözlemlerle sistematik tayini, küçük boyutlarından dolayı oldukça zordur. İyi bir mikroskop gerekmektedir fakat yine de gözleyen kişinin deneyimi, kullanılan sistematik literatürün yeterliliği gibi diğer faktörler de doğru bir tayin yapmayı etkilemektedir.

Söz konusu çalışmada kullanılan mikroalglerin yukarıda bahsedilen özelliklerinden dolayı, sadece morfolojik özelliklerine bakarak sistematik tayinlerini yapmak oldukça zordur. Bu zorluk, iyi bir mikroskop kullanarak, elektron mikroskobu gözlemleri yaparak, deneyimli bir taksonomistten yardım alarak ve bu alandaki temel sistematik kaynaklardan yararlanarak aşılabılır. Ancak tüm bunları yapmak, zaman, para ve enerji kaybına sebep olduğu gibi net bir sonuç alınmasını da tam olarak sağlayamaz. Tüm bu sebepler göz önünde bulundurulduğunda mikroalglerin sistematik tayinini doğru bir şekilde yapabilmek için artık pek çok alanda kullanılan, yüksek geçerliliği ve güvenilirliği olan moleküler tekniklerin kullanılması kaçınılmaz olmuştur.

#### **4.3. DNA İzolasyonu Sonuçları**

DNA izolasyonu Gene Jet Plant Genomik DNA Purification Kit (Thermo) ile gerçekleştirilmiştir. DNA'nın miktarı ve saflığı NanoDrop spektrofotometre (Thermo) cihazı ile ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Örneklerden elde edilen DNA miktarı ve saflık oranları

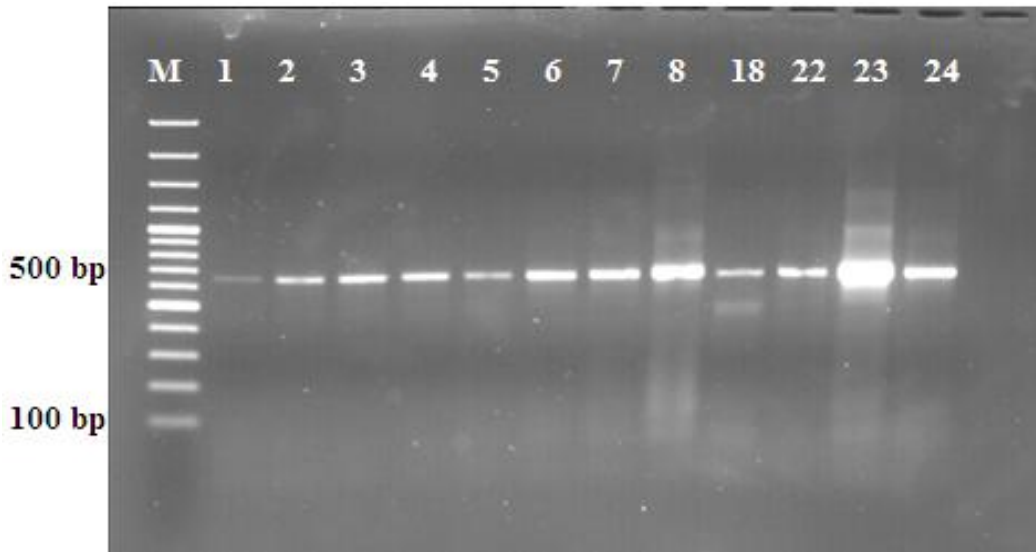
<b>Örnek</b>	<b>DNA miktarı (ng/µl)</b>	<b>260/280 oranı</b>	<b>Örnek</b>	<b>DNA miktarı (ng/µl)</b>	<b>260/280 oranı</b>
<b>1</b>	2,8	1,88	<b>13</b>	7,3	1,49
<b>2</b>	4,0	1,47	<b>14</b>	53,8	1,55
<b>3</b>	4,9	1,59	<b>15</b>	58,8	1,04
<b>4</b>	2,9	2,18	<b>17</b>	142,3	2,01
<b>5</b>	3,8	1,37	<b>18</b>	23,9	1,44
<b>6</b>	9,0	1,31	<b>19</b>	1,4	1,51
<b>7</b>	5,3	1,34	<b>20</b>	3,9	1,66
<b>8</b>	9,7	1,37	<b>21</b>	8,7	1,54
<b>9</b>	7,3	1,34	<b>22</b>	5,2	1,64
<b>10</b>	11,5	1,43	<b>23</b>	17,4	1,46
<b>11</b>	5,8	1,26	<b>24</b>	3,2	1,78
<b>12</b>	23,9	1,91	<b>25</b>	3,2	1,40

Elde edilen DNA moleküllerinin 260/280 oranı, saflık derecesi ile ilgili karar vermede etkilidir. Bu değer, 1,8'den küçükse DNA örneğinde protein kontaminasyonu olduğunu, 2'den büyükse RNA kontaminasyonu olduğu anlaşılmaktadır. En uygun değer 1,8 ile 2 arasındır. Örneklerin bu değerlerine bakıldığında genel olarak istenen değerde olduğu görülmektedir. Sadece 4 No.lu örnekte RNA kontaminasyonu olduğu söylenebilir ancak primerlerin spesifik olması bu değerlerin ihmal edilmesini sağlamaktadır.

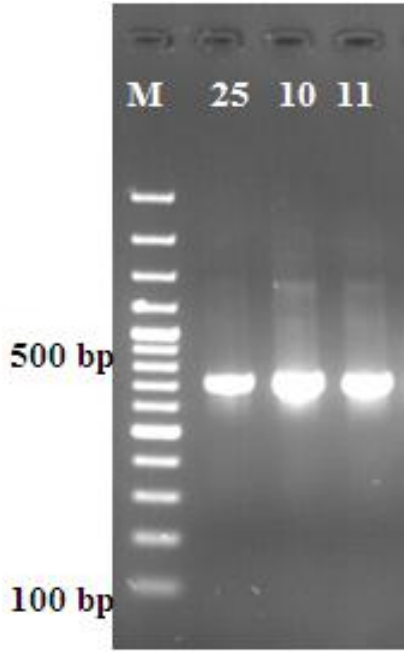
#### **4.4. PZR Analizi Sonuçları**

Elde edilen PZR ürünleri, %1,5'luk agaroz jelde 5V/cm, TAE buffer içerisinde yürütülmüş ve jel görüntüleme cihazında fotoğrafı çekilmiştir. Ökaryotik örneklerde en iyi sonuç veren primer çiftinin ITS1-ITS4 primerleri olduğu görülmüştür. Primer optimizasyonu siyanobakteri örnekleri için de gerçekleştirilmiş ve en iyi sonuç veren primer çiftinin Cya 359F- Cya 781Rb olduğu saptanmıştır.

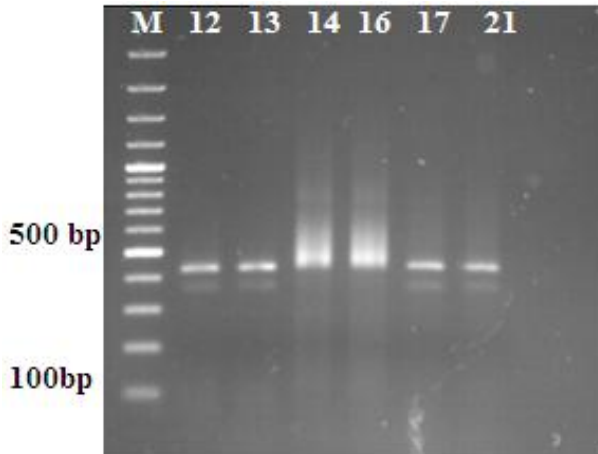
Belirlenen primerlerle elde edilen PZR ürünlerinin sonuçları Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8'te verilmiştir.



Şekil 4. 6. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 18, 22, 23, 24 No.lu örneklerden ITS1-ITS4 primer çifti ile elde edilen PZR sonucu.



Şekil 4.7. 25, 10, 11 No.lu örneklerden ITS1-ITS4 primer çifti ile elde edilen PZR sonucu.



Şekil 4.8. 12, 13, 14, 16, 17, 21 No.lu örneklerden Cya 359F- Cya 781Rb primer çifti ile elde edilen PZR sonucu.(16 No.lu örnek *Rivularia* deniz örneği olduğu için ihmal edilecektir).

Çalışılan gen bölgesi olan ITS bölgeleri genellikle 500-700 bp (baz çifti)'lik olduğundan elektroforez markörü, 100 bp DNA laddder olarak seçilmiştir. Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8 incelendiğinde tüm örneklerin istenen baz çifti sayısında elde edildiği, sadece 23 No.lu örneğin fazla ışımaya yaptığı yani kırılmış olabileceği söylenebilir. Ancak bu durum sekans analizi için gönderilebilecek yoğunluğa ulaşılmış olduğu için ihmal edilebilir bir durumdur. Şekil 4.8 incelendiğinde 14 No.lu DNA

örneğinde ışımının yayılmış olması, DNA molekülünde kırılmaların varlığını gösterebilir. 16 No.lu örnek ise deneme amaçlı elektroforez görüntüsüne bakmak istediğimiz bir siyanobakteri üyesi olan *Rivularia* cinsine ait bir taksondur. Denizel bir form olduğu için çalışmada değerlendirme kapsamına alınmamıştır.

PZR optimizasyonu yaparken  $MgCl_2$  konsantrasyonu ile oynanabilir. Ancak çalışmada hazır bir tampon (buffer) kullanıldığı için bu değer değiştirilememiştir. Fazla kalıp PZR'yi engellediğinden primer ve kalıp DNA konsantrasyonu değiştirilebilir zira çalışmada kalıp DNA seyreltilip kullanılmıştır. Termal döngü şartları ve amplikonun uzunluğu dikkate alınarak uzama süreleri değiştirilebilir. Bu çalışmada bağlanma sıcaklığı değiştirilmiştir. Primer çiftinin  $M_T$  derecesine göre ve çalışılan organizmaya göre farklı sıcaklık dereceleri denenmiştir. Primer bağlanma sıcaklığı düştükçe daha rahat bir bağlanma olduğu gözlenmiştir. Bu yöntemi daha pratik hale getiren Gradient PZR cihazları optimizasyon sürecini kolaylaştırır ve kısaltır. Bu tip cihazlarda 96'lık veya 48'lik bloğun her bir 8'lik kolonuna farklı bağlanma ısıları uygulamak mümkündür.

Çalışmada kullanılan PZR koşulları ökaryotik örnekler için  $95^{\circ}C$ 'de 2 dakikalık ilk denatürasyonun ardından,  $95^{\circ}C$ 'de 30 saniye denatürasyon,  $55^{\circ}C$ 'de 30 saniye annealing ve  $72^{\circ}C$ 'de 1 dakikalık uzama basamaklarında oluşan 35 döngünün ardından  $72^{\circ}C$ 'de 10 dakikalık son uzama basamağı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Prokaryotik olan siyanobakteri örneklerinde ise bağlanma sıcaklığı  $55^{\circ}C$ 'de 50 saniye, uzama basamağı ise  $72^{\circ}C$ 'de 40 saniye olacak şekilde değiştirilip uygulanmıştır.

Ancak bu şartlar, tüm organizmalar için geçerli olamamış, tüm örneklerden DNA izolasyonu yapıp nanodrop değeri elde edilmesine rağmen 9, 15, 19 ve 20 No.lu örneklerden PZR ürünü elde edilememiştir.

PZR ürünü elde edebilme amacıyla 9 No.lu örnek için  $49-55^{\circ}C$  Gradient PZR uygulanmıştır. DNA örneklerinde bulunabilen ve PZR ürünü elde edilmesini engelleyen kontaminantlardan, protein artığı ya da fenolik bileşiklerin uzaklaştırılması için kullanılan betain eklenerek tekrar PZR kurulmuştur. Tüm koşullar denenmesine ve olası tüm olumsuzluklar ortadan kaldırılmasına rağmen PZR ürünü elde edilememesi primerlerin çalışmadığını göstermektedir. Literatür tekrar taranarak yeni bir primer çifti tasarlanmalı ve tekrar PZR kurulmalıdır.

15 No.lu örnek için de  $49-55^{\circ}C$  Gradient PZR uygulanmış fakat sonuç alınamamıştır. Bağlanma sıcaklığı olarak 46, 47, 48  $^{\circ}C$  kullanıldığında ise non-spesifik bantların oluşmasıyla primer kirliliğinin olduğu anlaşılmıştır. Primerler spesifik

olmasına ve gradient PZR uygulanmasına rağmen ürün elde edilememesi, kontaminasyon riskini düşündürmektedir. Bu örneğin 260/280 oranı değerinin 1,04 olması protein kontaminasyonu olabileceğini, DNA molekülünün saf bir şekilde elde edilemediğini göstermektedir.

19 No.lu örneğin DNA miktarının çok düşük olması (1,4 ng/µl) PZR ürünü elde edilmesini zorlaştırmıştır. Bağlanma sıcaklığı olarak 55, 53, 50 °C kullanılmasına rağmen sekansa gönderilebilecek temizlikte ve yoğunlukta DNA çoğaltılamamıştır.

20 No.lu örnek için 35-40°C Gradient PZR uygulanmış, PZR ürünleri elektroforezde yürütülmüş fakat ya çift bantlar ya da çok silik bantlar elde edilmiştir. Sekansa göndermeye değer yoğunlukta ya da uzunlukta PZR ürünü elde edilememiştir.

Malzemelerin bitmesi ve laboratuvar çalışmalarının sonlanması üzerine denemeler de sonlandırılmıştır. Ancak izolatlar sağlıklı bir şekilde, kültür ortamlarında, bazal metabolizma seviyesinde saklanmakta ve sıklıkla kontrolleri yapılmaktadır. Bu örneklerin, sonraki çalışmalarda kullanılabilmesi oldukça önemli olduğundan saf kültürlerin kaybı engellenmeye çalışılmaktadır.

#### **4.5. Dizi Analizi Sonuçları**

Çalışma kapsamındaki 24 örnekten 9, 15, 19, 20 No.lu örnekler hariç hepsinden PZR ürünü elde edilmiştir. REFGEN firmasına dizi analizi için gönderilen 20 örnekten 10 ve 17 No.lu örnekler hariç hepsinin dizi analizi yaptırılmıştır.

Şekil 4.7 incelendiğinde; 10 No.lu örnekten parlak bir bant halinde görülebilen PZR ürünü elde edilebildiği ortaya çıkmaktadır. Yeterli DNA miktarı REFGEN'e gönderildiği halde firma yetkililerinin dizi analizi yapamamaları kontaminasyon riskini düşündürmektedir.

17 No.lu örnek; 45-55 °C Gradient PZR uygulanmış ve en iyi 50°C'de sonuç elde edilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri sekansa gönderilmiş ancak sekans sonucu alınamamıştır. REFGEN yetkilileri, yeterli DNA yoğunluğu olmadığı için dizi analizinin yapılamadığını belirtmişlerdir. Cyanobacteria grubu üyesi bu algin örnekleme işlemi, tallusların toplanıp epifitlerinden temizlenmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında kurutulan talluslardan dizi analizi için yeterli DNA miktarının elde edilip edilemeyeceği denenmek istenmiştir. Ancak REFGEN yetkilileri PZR ürünü yetersizliğinden yetersizliğinden dolayı dizi analizini gerçekleştiremediklerini belirtmişlerdir. Bu sonucun elde edilmesi, kuru alg örneklerinin kullanıldığı moleküler çalışmalarda farklı tekniklerin denenmesi gerektiğini göstermektedir.

Dizi analizine ait sonuçlar aşağıdaki gibidir:

**1 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTA AAAACCACAAT  
GCGAACCTATCTGTTCCGTGCCTTAGCTGCCAGCAAGGCAATTGGCTTGCTC  
CAATTGTACTTGCAAGCTGGTGCGAGTAATTTGATTACTTGCATCAGTGGCG  
CTTTGGCATGCTTATACACCAGTGCCAACCACTGTCAA AACCAA ACTCTGAA  
GCTTTGATTGCTATTA ACTGGCAATCTTAACCAAAGACA ACTCTCAACAACG  
GATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAG  
TGTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCT  
CGAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTATACCCTCACC  
CCTCTCTCCCTCTGGAGGGCTGGTCAGCTTCTAGTTGGCCTCAGGGGTGGAT  
CTGGCTTTCCCAATTGGTTC ACTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCT  
TAAGCAAGGACCCGATATGGGCTTCAACTGGATAGGTAGCACCGGCTTCTG  
CCGACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACTTTGCTAGAGGCCAAGCAGGAA  
ACATGCTTTGCATGTCTAAA ACTTTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGGCTACCCG  
CTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

**2 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTA AAAACCACAAT  
GTGAACCTATCTGTTCCGTGCCTTTGCTGCCAGCAAGGCAATTGGGCTCTGC  
CTGATTGTGCTTTAGTAAGCTGGTGCGAGTAAATTTTACTTCGCATCAGTGG  
CGCTCTGGCATGCTTATACACCAGTGCTAACCACTGTCAA AACCAA AATCTG  
AAGCTTTGATTGCTATTA ACTGGCAATCTTAACCAAAGACA ACTCTCAACAA  
CGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGT  
AGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCG  
CTCGAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTATACCCTCA  
CCCCTCTCTCCTTCCCGGAGAGTTGGTCAGCTCTCAGTTGACCTCAGGGGTG  
GATCTGGCTTTCCCAATTGGTTTACTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAG  
GCTTAAGCAAGGACCCGATATGGGCTTCAACTGGATAGGTAGCACCGGCTT  
CTGCCGACTACACGAAGTTGTGCGCTTGTGGACTTTGCTAGAGGCCAAGCAG  
GAAACATGCTCTGCATGTCTAAA ACTTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGGCTC  
CCCCGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

**3 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACA  
CGCACTCTCTACTTGTGTACCGACGTTAAGTTACACACGCAAGTGTGTGCTT

ATTAACCTACACACCATTGTCCAACCAATGATTAACCAAACCTCTGAAGCTT  
TCACTGCTGTTAACCGGCAGTTTTAACCAAGAACAACCTCTCAACAACGGAT  
ATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGT  
GAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGA  
CTCCTCGGAGAAGAGCATGTCCGCCTCAGCGTCGGTTTTACCCCTCACCCCT  
CTTACTTTTTCAAGTAAGCCTGTCGTGTTTGCTCAAACCGGCAATAGGGGTGG  
ATCTGGCTCTCCCAACCGGTGTCAATCGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAG  
GCTTAAACTGGGACCCGTATCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCTT  
GGGTGCCTACACGAAGTTTGTGTCTGAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGG  
AAACACGCTTAACCCGCGTGTATCATGGGTACGACCTGAGCTCCGGGCAA  
GGCTACCCGCTGAACTTAAGCCTATCAATAAGGGAGGA

**4 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACA  
CGCACTCTCTACTTGTGTACCGACGTTAAGTTACACACGCAAGTGTGTGCTT  
ACTAACTTACACACCATTGTCCAACCAATGATTAACCAAACCTCTGAAGTTT  
TGGCTGCTGTTAATCGGCAGTTTTAACCAAGAACAACCTCTCAACAACGGAT  
ATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGT  
GAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGA  
CTCCTCGGAGAAGAGCATGTCCGCCTCAGCGTCGGTTTTACCCCTCACCCCT  
CTTACTTTTTCAAGTACCCCTCCCGTGTGTTGCTCAAACCGGCAATAGGGGTGG  
ATCTGGCTCTCCCAACTGATTTCTAATCGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAG  
GCTTAAACTGGGACCCATATCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCTC  
GGGTGCCTACACGAAAGTTGTGTCTGAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGG  
AAACACGCTACAACGCGTGTATCATGGGTTCGACCTGAGCTCGGGGCAAGG  
CTACCCGCCAGAATTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

**5 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATAAAAACCAACT  
GTGAACCTCCACGTTCCGTGCCTCAGCTGCCAGCGGGGCAACGGGCTTTTAG  
CTCGTTGCTACTCGCAGCTGGCATCGGCATTGCTGCCGTTGCCAGTGGCGCT  
TTGGCAGGACCTTACACCAGTCTAACCCTGTCAAACCAAATCTGAAGT  
TCTGACTGCTATTAAGTGGCGGTCTTAACCAAAGACAACCTCTCAACAACGG  
ATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGT  
GTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTC  
GAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTTAACCCTCACCC

CTCCCTCCTTGTGTGGGTCGGTTGGCTTGCTAGCCAGCCTCAGGGGTGGATC  
TGGCTTCCCCAAACCGCTCTGGCGGGTTGGGTTGGCTGAAGTTTAGAGGCTT  
AAACAAGGACCCGATATGGGCTTCAACTGGATAGGTAGCACCGGCTTCTGC  
CGACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACTTTGTTAGGGGCCAAGCAGGAAA  
CATGCTTTGCATGTTCTAAACTTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGGCTACCCGC  
TGAACTTAAGCCTATCAATAAGGGAGGA

**6 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCACACCACAACA  
CGCACTCTTTATTTGTGTTTCGACGTTAGGTCAACACGCGCAAGCGTGGTGGC  
CTACTAACCTACACACCATTGACCAACCATTTATCAAACCAAACCTCTGAAGC  
TTTGGCTGCCGTTAACCGGCAGTTCTAACAAAGAACAACCTCTCAACAACGG  
ATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGT  
GTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTC  
GACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCTCACCC  
CTCTTCCCTAACAGGAGGCGCCTGTCGTGCTTGCTCAAGCCGGCAGCAGGG  
GTGGATCTGGCTCTCCCAATCGGATTCACTCTGGTTGGGTTGGCTGAAGCAC  
AGAGGCTTAAACTGGGACCCAATTCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACAC  
CCTCGGGTGCCTACACGAAGTTGTGTCTGAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGC  
AGGAAACGTACTCTGTACGTACTCTGTATTTCGACCTGAGCTCAGGCGAAGC  
CCCTCCACTCCTGC

**7 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATCAAAACCACAAT  
GTGAACCAGGTGTCCCATGCTTTCGTGCAGCGCGGCGTCTTGCGCTGGCGGG  
CTTTGGGATTGCTCCTTACGGGGGCTTTCTCAGGGTTATCTGCGCGATTGC  
GTGTTTTCCACACCCAGTGAAACCACTGAGTTGTGCCTCGCGGTGCAGCCA  
AACCAATCTCTGAAGGACTGATTGCCACACATTGGCGGTCACAAACGAAAA  
CAACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCG  
AAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTG  
AACGCATATTGCGCTCAAGCCTTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCT  
TTTTAACCCCTCACACCCTATCTTTGATAGAGCCAAGCTCAAGCGGCTTGC  
TGGTGTGGATTTGGCTTCCCAATTGGCCCATTTGCTGATTGGGTTGGCTGA  
AGTGCAGAGGCTTGAGCAAGGACCCGATATGGGCATCAACTGGATAGGTAG  
TGCCAGCCAACCGGCTGTCTACACGAAGTTGTTGCCTGTGGACCTTGCTGGA



GGCCAGCAGGAAGCACGCTTTCGGCGTGATCAAACCTTGGACCTGAGCTCA  
GGCAAGATAACGGACCTACCTTAAGCCTATCAATAAGGGAGGA

**8 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACA  
CGCACTCTTTATTTGTGTTTCGACGTTAGGTCAACACGCGCAAGCGTGGGGCC  
TACTAACCTGACACACCATTGACCAACCATTTATCAAACCAAACCTCTGAAG  
AGAAGAATATATAGGCTGCCGTTAACCGGCAGTTCTAACAAAGAACAACCTC  
TCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGC  
GATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGC  
ATATTGCGCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTA  
CACCTCACCCCTCTTCTCAACAGGAGGGCGCCTGTCGTGAGTGCTCAAGCC  
GGCAGCAGGGGTGGATCTGGCTCTCCCAATCGGATTCCTCTGGTTGGGTTG  
GCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACCCAATTCGGGCTCAACTGGATAG  
GTAGTAACACCCTCGGGTGCCTACACGAAGTTGTGTCTGAGGACCTGGTTA  
GGAGCCAAGCAGGAAACGTACTCTGTACGTACTCTGAATTCGACGGTGAGC  
TCGGCGAGGCTACCCGCTGACTTAAGCCTATCAATAACGGAGGA

**11 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACGTGCGGAAGGATCACTAACACATCGATCTAGGATC  
TTTGAATAATCGCGAAATGCGAGTGCTTTTTTGCCAGACACGGTGCAGGCCCC  
AAAACCCGGGACACTCCATCATGATTTGGTTGTTTGAAAAATTCAAAAAA  
GCCTCCAAACAACAAGTTCTGGGTTGCATGTAGCATGTTGGCTGCTGCGAC  
CGAGGACGACACGTTTTTCTTTTCAATATTTATTTGATCACCGGCCATGA  
ACGTTGGAACATGAAGCTGAAACGGTGAGATGCCTAGCTCTTAGCAGCGCG  
GTGATCTTGCTGAAGAAACCAATTTTTTCATATACAACTTTCAGCAACGGATG  
TCTAGGTTCCCACAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTCATGCG  
AATTGCAAAACCTCGTGAACCATCAAACTTTGAACGCACATTGCGCTACC  
GGGACTCGTCCCGGTAGCATACTTGTCTGAGTGTCAGTGAACCTAACTCGGC  
GTGACAGCGACGCAAGGCCAACACTTGGGCTTGGGTCTAGTCATGAGCCCG  
ATCTATGGGGATATAATGTGCTCGTGATCGCAGATGGCGATCGGAGCTCCCT  
CCCAAGTTTCCAGTAGAGATAGTAATGTTAGGAGTTGCTCCCGTTCAGGAAC  
ACTTTTGCTTTCAGTAACAAATTTTCTACTTTTGATACTGGTATCGCCGTAC  
CTTTTGTGGAAATATCGGTTTGTGTTGCAAGCATTGCGAGTTGCTGCCGGG  
GATGGAACCTTGGAACAGACTACTGATCAAGTCTGGACTGACTAAAAAGAAA  
AAGCATCGCATCACAAAAAAGTTGCAATGCTTGGCTTTGACTTGGTCATACG

ACACCTCTCCTTTCAGATCTCAGCTCAAGTACGAGCACACGCCGGGTTTAAG  
CCTATCAATAAGCGAGGA

**12 No.lu Örnek:**

GGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCG  
TGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGTTGTAAACCTCTTTTCTCAAGGAAGAAGAA  
CTGACGGTACTTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCG  
GTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATCATTGGGCGTAAAGAGTCC  
GTAGGTGGCACTTCAAGTCGGTTGTCAAAGACCACAGCTTAACTGTGGAAA  
GGCAGTGGAAACTGAAGAGCTAGAGAATGGTAGGGGCAGAGGGAATTCCC  
GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAAGAACACCAGTGGCGAAAG  
CGCTCTGCTGGACCATGACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGC  
GAAAGGGATTAGATACCCCTGTAGTC

**13 No.lu Örnek:**

GGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCG  
TGGGGGATGAAGGTTTGTGGATTGTAAACCCCTTTTGATTGGGAAGAATAA  
CTGACGGTACCAATCGAATAAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCG  
GTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTCC  
GTAGGTGGTTTAGTAAGTCTGCTGTAAAGCGCGGGGCTTAAACCCTGTATCG  
GCAGTGGAACTACTAGACTAGAGTGTGGTAGGGGTAGAGGGAATTCCCAG  
TG TAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGC  
TCTACTGGGCCATAACGGACACAGATGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAG  
GGATTAGATACCCCTGTAGTC

**14 No.lu Örnek:**

GGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGCAGCCATGCCGCGTG  
TATGATGAAGGTCTTAGGATTGTAAAATACTTTCACCGGTGAAGATCTTCC  
TG TAGCCGAAAAAGATGCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT  
ACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGG  
CGGACATTTAAGTCAGAGGTGAAATCCCGGAGCTTAACTTCCGAACTGCCTT  
TGATACTGGGTGTCTTGAGTGTGAGAAAGGTATGTGGAACTCCGAGTGTAG  
AGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGACATAC  
TGGCTCATTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAAAGGGATTA  
CAAACCCCTGTAGTC

**18 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATCTATCAATACCAACA  
ACGCGAACCCTGTGTGTCTGTGCCCTGGCTACGCTCCGCTGCCCTCGGGC  
GGCGGGGTGATCAGAGCGGTGCCGCAATCGCCGCTCTGTGGCGCTGCCACG  
CAAGTAGCAGCGCTCTGCCTTGCCTCAGCGCACCATTCATTTGGTGCGCTG  
GGCGGGCCTCCTCTCTTTTCGGAGAGAGGAGCGCAGGCCTTTTGTGTTAAC  
CTACAACACCAAACCTTAAACATACTAAAGCTAGAAGCAGCTGGCATGGCC  
ACTGCAACTAACAAAGACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAA  
CGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATCCG  
TGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGAGGCTTCGGCCAAGAG  
CATGTCTGCCTCAGCGTCGGGTTTACCATCGTTCATCCAATCCGTGTGGTTG  
GAACGAACGGACCTGGCCGTCCCATGCCTAGCCTTGCGCAAAGGCATGGGT  
CAGCTGAAGAACAGAGGCACGAACATGGACCCGTTAAGGGCTACAACCTGG  
GTAGGTAGATTTGCCATTGCGCCTCGTGCGCATGGCGCTACTCAATGCTTAG  
TTGTTGGCCTGGGAGCATGTTGGTGATCCCAAGCAGGATTCGAGAGCCTTGT  
CTAACCACTCGGCCTCTCTACTCCTCGACCTGAGCTCAGTCATAGATACCCG  
CGAGACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

**21 No.lu Örnek:**

GGGGGAACCTCCCCCTTTGGGGGAATTTTTTTTCCATGGGCGATAGCCTG  
ACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGTTGTAAACCTCTTT  
TCTGAGGGAAGAAAAAATGACGGTACCTCAGGAAGAAGCATCGGCTAAC  
TCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGACTT  
ATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGTGGCATCTCGTGTCTGCTGTCAAAGCCC  
ACAGCTCAACTGTGGTCAGGCGGTGGAACTGAGAAGCTAGAGTTAGGTAG  
GGGTAGAGGGAATTCCCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTGGGAAG  
AGACGTACCAGTGGCGAAAGCGCTCTGCTAGGCCATAACTGACACTAAGGG  
ACGAAAGCTAGAGGAGCAAAAGGGATTAAACCCCCCTGTAGTCCGGCGCC  
AGTACTGGCCGAGCGGAGCGCTAGCGCACTGGTGTCTTCCAGTCACGCCG  
CATTCCACCTTACTGGAATTCGCTCTACGCCTACCTTCTCCAGCTTCGCA  
GTTTCCACCGCCTGGCCACAGTTGATCTGTTGGCTTGCAGCAGACGCGGGG  
TGGGGCGTGGGGCTGCCTGCCGCCAGTTAATTTTCGCATCCCGCTTGCCTCCC  
CCGTA

**22 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATCAATACCACAAT  
GTGAACTTTTTGTCCGTGGGCTGTGCCTTTGGCTTCGGCCAAGGTTGTGGC  
GGATTACGGGATAGGCTTTCTGCCGACTCCCTATGATTTCCGCCCGCGCAGG  
CAAGCATGTTTCCCACGCTTATTGCGAAAACCTTAATCTGAGACAAAAAATT  
GCCATGCATTTGGCAATACAAACCAAGACAACCTCTCAACAACGGATATCTT  
GGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATT  
GCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCACTCGCGGCTT  
CGGCCAAGAGTATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTGAACCCTCACCCACCAATG  
TGGTTGTACCAATTGCATTGGAGTGTGACTGGCTACGGCTGGTTGCCATGGG  
TGGATCTGACTTTCCATTGCTTGCCAATGGGTCTGTTGAAGTTTAGTGGCA  
TTTCAAGGTCCCTAATTACGGGCACAACCTGGATAACGTGGTTTATACTGCGC  
GAAAGTTTGTGTCTTGTGGCTTTTGAGACCCCTGCCATCAAGGAAACGATC  
AATCATTCGACCTGAGCTCAGGCAAGATTACCCGCTGAACTTAAGCCTATCA  
ATAACGGAGGA

**23 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATCTATCATAACCACAAA  
GTGAACCCTTTATTCGTATGCTGACCGAGCCCGCTGTTGCTTCATTGCTTCG  
GCAGCCAGGTCCAATCAAGGCTATGCCTTGCAAGGGCACCCCTGGTGGCAG  
GTTGGTGTATGCCCCACACCGCTGTCCATTCGACCCGGCTTTGGCTGAACT  
GGTGGATAGCCTTCAAAACCAAAAATCTGAAGTCAATGGGTGCTATTCTAAT  
GGCCCCACTAACAAAAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAA  
CGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCCG  
TGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGCGGCTTCGGCCAAGAGC  
ATGTCTGCCTCAGCGTCGTTTTGACCCCTCACTCCCATAACCTTTTGGTATCAT  
GCATCGGGTTACGGCCTGCTGCTGGGCGTGGATCTGGCTTTCCCAGGGTGTG  
TCTGGGTTGGCTGAAGTACAGAGGCTAGAGCACGGACCCGTATGGGCGTCA  
ACTGGATAGGTAGCCCCACGAAAGTGGATCTACACGAAGTTGTCTGCCTG  
GGAAAGCAGATGTTGGCGGCCAAACAGGAACTTCTCTCACTTCGACCTGA  
GCTCAGGCAAGATAACCCACTGAACTTAGCCTATCAATAACGGAGGA

**24 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATCGATCGAATCCACAC  
CGGTAACCACACTGTCGCCCTCGGCGGTGCATTCTCTGGCTTCGGGCTGGG  
TTTACCCCGAGCGTCGGCCCTGGGTTGGGGTTCTCACGAGCCGCTCTCCA

GGTCCGGCGGGCGCCTCCCTTGGGCTCACCCCTGGGGCTGTCGTCGGCCAA  
AACCCCTGTATCCAACCTTTTTTTAACACACCCCAAACCACAACCAACTCTG  
AAGCATCTTTGGTGGCCCGGCCCGTGCCGTCCACTCAAACCAAAGACAA  
CTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCCCGTATCGATGAAGAACGCAGCGAAA  
TGGGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAAC  
GCAAATTGCGCCCGAGGCTTCGGCCGAGGGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGT  
TTACACCCTCGCCCTCCCCCCTGTGGGGGGCGGTGCGGACCTGGCCCTCCC  
GGCTCCGCTCTCTCCCGAGCGTCCGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTGAG  
CATGGACCCCGTTTGTAGGGCAATGGCTTGGTAGGTAGGCACCCCTACGC  
AGCCTGCCGTTGCCCGAGGGGACTTTGCTGGAGGCCAGCAGGAATCCGGC  
CCTTCCCGGCCGGACTACTCACTCATTGACCTGAGCTCAGGCAAGATTACC  
AGCTGAACTTAAGCCTATCAATAACGGAGGA

**25 No.lu Örnek:**

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTAACCACAAC  
GTGAACTCTGTTGTACCGTGCCTTTGCTGCCAGCAGGGTAATCGGGTCTTTG  
TCTCGATTGCTTCCTGCAGTTGGTGGCAGCATTGCTGCCCGCATCAATGGCG  
CTCTGGCATGCCTATACACCAGTGCCAACCACTGTCAAACCAAATCTGA  
AGTTTTGATTGCTAGTAACTGGCAATCCTAACCAAAGACAACCTCTCAACAAC  
GGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTA  
GTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGC  
TCGAGCCTTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCTCAC  
CCCTCTTTCCTTTTGGATCGCAGGCTAGCTTCTCAGCTAGCCGCAGGGGGTG  
GATCTGGCTTTCCCAATCCTCTAGGGTTGGGTTGGCTGAAGTGTAGAGGCTT  
AATCAAGGACCCGATATGGGCTTCAACTGGATAGGTAGCAACGGCATCTGC  
CGACTACACGAAGTTGTAGCTTGTGGACTTTGATAGGAGCCAAGCAGGAAA  
CGTGCTTGCACGTTAAACTTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGGCTACCCGCTG  
AACTTAAGCCTATCAATAACGGAGGA

16 No.lu örnek, denizel bir form olduğu için PZR sonucu ve dizi analizi elde edilmesine rağmen çalışma kapsamında değerlendirilmeyeceğinden sonuçları verilmemiştir.

**4.6. BLAST Analiz Sonuçları**

Elde edilen dizi analizi sonuçları GenBank'daki veriler ile BLASTN programı ile blastlanmıştır.

Karşılaştırma sonucunda elde edilen veriler aşağıdaki gibidir.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1262 bits(683)	0.0	694/699(99%)	1/699(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTAACCACAATGCGAACCTATCT			60
Sbjct 99	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTAACCACAATGCGAACCTATCT			158
Query 61	GTTCCGTGCCTTAGCTGCCAGCAAGGCAATTGGCTTGCTCCAATTGTAAGCTGG			120
Sbjct 159	GTTCCGTGCCTTAGCTGCCAGCAAGGCAATTGGCTTGCTCCAATTGTAAGCTGG			217
Query 121	TGCGAGTAATTTGATTACTTGCATCAGTGGCGCTTTGGCATGCTTATACACCAGTGCCAA			180
Sbjct 218	TGCGAGTAATTTGATTACTTGCATCAGTGGCGCTTTGGCATGCTTATACACCAGTGCTAA			277
Query 181	CCACTGTCAAACCAAACCTCTGAAGCTTTGATTGCTATTAAGTGGCAATCTTAACCAAAG			240
Sbjct 278	CCACTGTCAAACCAAACCTCTGAAGCTTTGATTGCTATTAAGTGGCAATCTTAACCAAAG			337
Query 241	ACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA			300
Sbjct 338	ACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA			397
Query 301	TACGTAGTGTGAATTGCAGAAATCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTC			360
Sbjct 398	TACGTAGTGTGAATTGCAGAAATCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTC			457
Query 361	GAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTTCGGTTTATACCCTCACCCCTCTCTCC			420
Sbjct 458	GAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTTCGGTTTATACCCTCACCCCTCTCTCC			517
Query 421	CTCTGGAGGGCTGGTCAGCTTCTAGTTGGCCTCAGGGGTGGATCTGGCTTTCCCAATTGG			480
Sbjct 518	TTTGGAGGGCTGGTCAGCTTCTAGTTGGCCTCAGGGGTGGATCTGGCTTTCCCAATTGG			577
Query 481	TTCACCTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCTTAAGCAAGGACCCGATATGGGCTTC			540
Sbjct 578	TTCACCTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCTTAAGCAAGGACCCGATATGGGCTTC			637
Query 541	AACTGGATAGGTAGCACCAGGCTTCTGCCACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACTTTGC			600
Sbjct 638	AACTGGATAGGTAGCACCAGGCTTCTGCCACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACTTTGC			697
Query 601	TAGAGGCCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTCTAAACTTTTCGACCTGAGCTCAGGCAA			660
Sbjct 698	TAGAGGCCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTCTAAACTTTTCGACCTGAGCTCAGGCAA			757
Query 661	GGTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA		699	
Sbjct 758	GGTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA		796	

Şekil 4.9. 1 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Range 1: 99 to 796 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1105 bits(598)	0.0	671/705(95%)	10/705(1%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTTAAAACCACAATGTGAACCTATCT			60
Sbjct 99	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTTAAAACCACAATGTGAACCTATCT			158
Query 61	GTTCCGTGCCTTTGCTGCCAGCAAGGCAATGGGCTCTGCCTGATTGTGCTTTAGTAAGC			120
Sbjct 159	GTTCCGTGCCTTAGCTGCCAGCAAGGCAATGG-CT-TGCCCAATTGTACTT--GCAAGC			214
Query 121	TGGTGGCAGTAAATT--TTACTTCGCATCAGTGGCGCTCTGGCATGCTTATACACCAGTG			178
Sbjct 215	TGGTGGCAGTAAATTGATTACTT-GCATCAGTGGCGCTTTGGCATGCTTATACACCAGTG			273
Query 179	CTAACCCTGTCAAACCCAAAATCTGAAGCTTTGATTGCTATTAAGTGGCAATCTTAACC			238
Sbjct 274	CTAACCCTGTCAAACCCAAAATCTGAAGCTTTGATTGCTATTAAGTGGCAATCTTAACC			333
Query 239	AAAGACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAAGCGCAGCGAAAT			298
Sbjct 334	AAAGACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAAGCGCAGCGAAAT			393
Query 299	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAAATCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGC			358
Sbjct 394	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAAATCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGC			453
Query 359	GCTCGAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTATACCCTCACCCCTCT			418
Sbjct 454	GCTCGAGCCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTATACCCTCACCCCTCT			513
Query 419	CTCCTTCCCGGAGAGTTGGTCAGCT-CTCAGTTGACCTCAGGGGTGGATCTGGCTTTCCC			477
Sbjct 514	CTCCTTTT-GGAGGGCTGGTCAGCTTCT-AGTTGGCCTCAGGGGTGGATCTGGCTTTCCC			571
Query 478	AATTGGTTTACTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCTTAAGCAAGGACCCGATATG			537
Sbjct 572	AATTGGTTCACTCCGATTGGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCTTAAGCAAGGACCCGATATG			631
Query 538	GGCCTCAACTGGATAGGTAGCACCAGGCTTCTGCCGACTACACGAAGTTGTGCTTGTGGA			597
Sbjct 632	GGCCTCAACTGGATAGGTAGCACCAGGCTTCTGCCGACTACACGAAGTTGTGCTTGTGGA			691
Query 598	CTTTGCTAGAGGCCAAGCAGGAAACATGCTCTGCATGTCTAAAACCTTCGACCTGAGCTC			657
Sbjct 692	CTTTGCTAGAGGCCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTCTTAAACTTTTCGACCTGAGCTC			751
Query 658	AGGCAAGGCTCCCCCGAAAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA 702			
Sbjct 752	AGGCAAGGCTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA 796			

Şekil 4.10. 2 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1112 bits(602)	0.0	638/654(98%)	8/654(1%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACACGCACTCTCTAC	60		
Sbjct 1722	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACACGCACTCTCTAC	1781		
Query 61	TTGTGTACCAGCTTAAGTTACACACGCAAGTGTGTGCTTATTAACCTACACACCATTGT	120		
Sbjct 1782	TTGTGTACCAGCTTAAGTTACACACGCAAGTGTGTGCTTACTAACCTACACACCATTGT	1841		
Query 121	CCAACCAATGATTAACCAAACTCTGAAGCTTTCACCTGCTGTTAACCGGCAGTTTTAAC	180		
Sbjct 1842	CCAACCAATGATTAACCAAACTCTGAAGTTTTGGCTGCTGTTAACCGGCAGTTTTAAC	1901		
Query 181	AAGAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAAT	240		
Sbjct 1902	AAGAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAAT	1961		
Query 241	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGC	300		
Sbjct 1962	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGC	2021		
Query 301	GCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCCGCCCTCAGCGTCGGTTTTACCCCTACCCCTCT	360		
Sbjct 2022	GCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCCGCCCTCAGCGTCGGTTTTACCCCTACCCCTCT	2081		
Query 361	TACTTTCAAGTAAGCCTGTCGTGTTTGTCTCAAACCGCAATAGGGTGGATCTGGCTCT	420		
Sbjct 2082	TACTTTCAAGTAAGCCTGCCGTGTTTGTCTCAAACCGCAATAGGGTGGATCTGGCTCT	2141		
Query 421	CCCAACCGGTGTCATCGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACCCGTA	480		
Sbjct 2142	CCCAACCGGTGTCATCGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACCCGTA	2201		
Query 481	TCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCTTGGGTGCCTACACGAAGTTTGTGTCTGAG	540		
Sbjct 2202	TCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCTTGGGTGCCTACACGAAGTT-GTGTCTGAG	2260		
Query 541	GACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGGAAACACGCTTAACCCGCGTGTATCATGGGTACGACCT	600		
Sbjct 2261	GACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGGAAACACGCTTAACC-GCGTGTATCATGGGT-CGACCT	2318		
Query 601	GAGCTCCGGCAAAGGCTACCCGCTGAAACTTAAGCCTATCAATAAG-GGAGGA	653		
Sbjct 2319	GAGCTC-GA-CAA-GGCTACCCGCTGAA-CTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	2368		

Şekil 4.11. 3 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.



Range 1: 1728 to 2372 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Matr

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1123 bits(608)	0.0	637/650(98%)	6/650(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACACGCACTCTCTAC			60
Sbjct 1728	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACACGCACTCTCTAC			1787
Query 61	TTGTGTACCGACGTTAAGTTACACACGCAAGTGTGTGCTTACTAACTTACACACCATTGT			120
Sbjct 1788	TTGTGTACCGACGTTAAGTTACACACGCAAGTGTGTGCTTACTAACTTACACACCATTGT			1847
Query 121	CCAACCAATGATTAACCAAACCTCTGAAGTTTGGTGTCTGTTAATCGGCAGTTTAAAC			180
Sbjct 1848	CCAACCAATGATTAACCAAACCTCTGAAGTTTGGTGTCTGTTAATCGGCAGTTTAAAC			1907
Query 181	AAGAACAACCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAAT			240
Sbjct 1908	AAGAACAACCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAAT			1967
Query 241	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGC			300
Sbjct 1968	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGC			2027
Query 301	GCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCCGCCCTCAGCGTCGGTTTTTACCCTCACCCCTCT			360
Sbjct 2028	GCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCCGCCCTCAGCGTCGGTTTTTACCCTCACCCCTCT			2087
Query 361	TACTTTTCAAGTACCCCTCCCGTGTGTTGCTCAAACCGGCAATAGGGTGGATCTGGCTCT			420
Sbjct 2088	TACTTTTCAAGTAAAGCCTGCCGTGTTGCTCAAACCGGCAATAGGGTGGATCTGGCTCT			2147
Query 421	CCCAACTGATTTCTAATCGGTTGGTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACCCAT			480
Sbjct 2148	CCCAACTGATTTCTAATCGGTTGGTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACCCAT			2207
Query 481	ATCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCCTCGGGTGCCTACACGAAAGTTGTGTCTGA			540
Sbjct 2208	ATCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCCTCGGGTGCCTACACGAA-GTTGTGTCTGA			2266
Query 541	GGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGGAAACACGCTACAACGCGTGTATCATGGGTTCGACCT			600
Sbjct 2267	GGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGGAAACACGCTTAAACGCGTGTATCATGGGT-CGACCT			2325
Query 601	GAGCTCGGGCAAGGCTACCCGCCAGAA-TTAAGCATATCAATTAGCGGA 649			
Sbjct 2326	GAGCTCGGG-CAAGGCTACCCGCT-GAAGTTAAGCAT-TCAATAAGCGGA 2372			

Şekil 4.12. 4 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Range 1: 104 to 799 [GenBank](#) [Graphics](#) [▼ Next Match](#) [▲ Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1212 bits(656)	0.0	683/696(98%)	1/696(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATCATTGAATTATAAAAACCACACTGTGAACCTCCAC			60
Sbjct 104	TCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATCATTGAATTATAAAAACCACAATGTGAACCTCAAC			163
Query 61	GTTCCGTGCCTCAGCTGCCAGCGGGGCAACGGGCTTTAGCTCGTTGCTACTCGCAGCTG			120
Sbjct 164	GTTCCGTGCCTCTGCTGCCAGCGGGGCAACGGGCTTTCAGCTCGTTGCTACTTGCAGCTG			223
Query 121	GCATCGGCATTGCTGCCGTTGCCAGTGGCGCTTTGGCAGGACCTTACACCAGTCTAACCA			180
Sbjct 224	GCATCGGCATTGCTGCCGTTGCCAGTGGCGCTTTGGCATGACCTTACACCAGTCTAACCA			283
Query 181	CTGTCAAACCAAAATCTGAAGTTCTGACTGCTATTAACCTGGCGGTCTTAACCAAAGACA			240
Sbjct 284	CTGTCAAACCAAAATCTGAAGTTCTGACTGCTATTAACCTGGCGGTCTTAACCAAAGACA			343
Query 241	ACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAC			300
Sbjct 344	ACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAC			403
Query 301	GTAGTGTGAATTGCAGAATCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGAG			360
Sbjct 404	GTAGTGTGAATTGCAGAATCCGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCGAG			463
Query 361	CCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTAAACCCTCACCCCTCCCTCCTTG			420
Sbjct 464	CCCTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCTCACCCCTCCCTCCTTG			523
Query 421	TGTGGGTGGGTTGGCTTGTAGCCAGCCTCAGGGGTGGATCTGGCTTCCCCAAACCGCTC			480
Sbjct 524	TGTGGGTGGGTTGGCTTGTAGCCAGCCTTAGGGGTGGATCTGGCTTCCCCAAACTGCTC			583
Query 481	TGGCGGGTTGGGTTGGCTGAAGTTTAGAGGCTTAAACAAGGACCCGATATGGGCTTCAAC			540
Sbjct 584	CGGCAGGTTGGGTTGGCTGAAGTTTAGAGGCTTAAACAAGGACCCGATATGGGCTTCAAC			643
Query 541	TGGATAGGTAGCACCCGGCTTCTGCCGACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACTTTGTAG			600
Sbjct 644	TGGATAGGTAGCACCCGGCTTCTGCCGACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGGACTTTGTAG			703
Query 601	GGGCCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTTCTAAACTTTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGGC			660
Sbjct 704	GGGCCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTTCTAAACTTTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGGC			763
Query 661	TACCCGCTGAACCTAAGCCTATCAATAAG-GGAGGA		695	
Sbjct 764	TACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA		799	

Şekil 4.13. 5 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1077 bits(583)	0.0	605/615(98%)	4/615(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCACACCACAACACGCACTCTTTAT			60
Sbjct 1749	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAAACCACAACACGCACTCTTTAT			1808
Query 61	TTGTGTTTCGACGTTAGGTCAACACGCGCAAGCGTGGTGGCTACTAACCTACACACCATT			120
Sbjct 1809	TTGTGTTTCGACGTTAGGTCAACACGCGCAAGCGT-GTGGCTACTAACCTACACACCATT			1867
Query 121	GACCAACCATTTATCAAACCAAACCTGGAAGCTTTGGCTGCCGTTAACCGGCAGTTCTAA			180
Sbjct 1868	GACCAACCATTTATCAAACCAAACCTGGAAGCTTTGGCTGCCGTTAACCGGCAGTTCTAA			1927
Query 181	CAAAGAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAA			240
Sbjct 1928	CAAAGAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAA			1987
Query 241	ATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGTAACCATCGAATCTTTGAACGCATATT			300
Sbjct 1988	ATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGTAACCATCGAATCTTTGAACGCATATT			2047
Query 301	GCGCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCCTACCCCT			360
Sbjct 2048	GCGCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCCTACCCCT			2107
Query 361	CTTCCTTAACAGGAGGCGCCTGTCGTGCTTGCTCAAGCCGGCAGCAGGGGTGGATCTGGC			420
Sbjct 2108	CTTCCTTAACAGGAGGCGCCTGTCGTGCTTGCTTAAGCCGGCAGCAGGGGTGGATCTGGC			2167
Query 421	TCTCCCAATCGGATTCACCTCTGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACC			480
Sbjct 2168	TCTCCCAATCGGATTCACCTCTGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGGGACC			2227
Query 481	CAATTCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCTCGGGTGCCTACACGAAGTTGTGTCT			540
Sbjct 2228	CAATTCGGGCTCAACTGGATAGGTAGCAACACCCTCGGGTGCCTACACGAAGTTGTGTCT			2287
Query 541	GAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGGAAACG-TACTCTGTA-CGTACTCTGTATTCGACC			598
Sbjct 2288	GAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGGAAACGCGTCTCTGGCGCTACTCTGTATTCGACC			2347
Query 599	TGAGCTCAGGCGAAG	613		
Sbjct 2348	TGAGCTCAGGC-AAG	2361		

Şekil 4.14. 6 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
771 bits(417)	0.0	628/728(86%)	22/728(3%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATCATTGAATTATCAAACCAACAATGTGAACCAGG-T			59
Sbjct 22	TCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATCATTGAATTATCAAACCAACAATGTGAACCGGTTT			81
Query 60	GTCCCATGCTTTTCGTGCAGCGCGGCTCTTGGCTGGCGGGCTTTGGGATTGCTCCTTCA			119
Sbjct 82	GTCCACGCTTTTGCACAGCGCGGTGCCATGCGCTGGCGGGCCCTGGGATTGCACTCGCA			141
Query 120	CGGGGGCTTTCTCAGGGTTATCTGCGCGATTGCGTG-TTTTCCCACACCCAGTGAACCA			178
Sbjct 142	AGGGTGCATTCTTGGGGTTATCTGTGCAATTGCGTGTFTTTCCCACACCCAGTGTPTTCA			201
Query 179	CTGAGTTGTGCC--TC-GCGGTGCAGCCAAACC-AATCTCTGAAGGACTGATTGCCACAC			234
Sbjct 202	CTGAGTTGTGCCTTTCTTGGGCGCAGCCAAACCTAACCTCTGAA-GAAAGGTTGTCATAC			260
Query 235	ATTGGCGGTCACAAACGAAAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATG			294
Sbjct 261	ACTGACAATCACAACGAAAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATG			320
Query 295	AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATCCGTTGAACCATCGAATC			354
Sbjct 321	AAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATCCGTTGAACCATCGAATC			380
Query 355	TTTGAACGCATATTGCGCTCAAGCCTTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCTTTT			414
Sbjct 381	TTTGAACGCATATTGCGCTCGAGCCTTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCTGGTT			440
Query 415	AACCCCTCACACCCTATCTTT---GATAGAGCCAAGC-TCAAGC--GGCTTGTGGTGT			468
Sbjct 441	ACACCCTCACACCCTATTTTTATTGATAGCGTCAAGCCTTATTCTAGGCTTGGCGGGTGT			500
Query 469	GGATTTGGCTTCCCAATTGGCCCATTTGC--T-GATTGGGTTGGCTGAAGTGCAGAGGC			525
Sbjct 501	GGAATTGGCTTCCCTCAATCGATC--TT-GCAATTGATTGGGTTGGCTGAAGTTAGAGGC			557
Query 526	TTGAGCAAGGACCCGATATGGGCATCAACTGGATAGGTAGTGCCAGCCAACCGGCTGTCT			585
Sbjct 558	TTGAGCAAGGACCCGTTATGGGCATCAACTGGATAGGTAGTGCCAGCCATTCCGGCTGTCT			617
Query 586	ACACGAAGTTGTTGCCTGTGGACCTTGCTGGAGGCCAGCAGGAAGCACGCTTTCGGCGTG			645
Sbjct 618	ACACGAAGTTGTTGCTTGTGGACTTTGCTGGGGGCCAGCAGGAACACGCTTTTG-CATG			676
Query 646	ATC-AAACCTTGGACCTGAGCTCAGGCAAGATAACGGACCTACCTTAAGCCTATCAATAA			704
Sbjct 677	CCCTAAACTTTCGACCTGAGCTCAGACAAGACTACGGACTGAACTTAAGCATATCAATAA			736
Query 705	G-GGAGGA 711			
Sbjct 737	GCGGAGGA 744			

Şekil 4.15. 7 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1048 bits(567)	0.0	616/637(97%)	13/637(2%)	Plus/Plus
Query 6	AGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACACGCACCTTTATTTGTG			65
Sbjct 1	AGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATATGCAAACCACAACACGCACCTTTATTTGTG			60
Query 66	TTCGACGTTAGGTCAACACGCGCAAGCGTGGGGCTACTAACCTGACACACCATTGACCA			125
Sbjct 61	TTCGACGTTAGGTCAACACGCGCAAGCGTGGGGCTACTAACCT-ACACACCATTGACCA			119
Query 126	ACCATTATCAAACCAAACCTCTGAAGAGAAGAATATATAGGCTGCCGTTAACCGGCAGTT			185
Sbjct 120	ACCATTATCAAACCAAACCTCT-----GAAG-CT-T-T-GGCTGCCGTTAACCGGCAGTT			170
Query 186	CTAACAAAGAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAG			245
Sbjct 171	CTAACAAAGAACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAG			230
Query 246	CGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTCGAGAAATTCGTAACCATCGAATCTTTGAACGCA			305
Sbjct 231	CGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTCGAGAAATTCGTAACCATCGAATCTTTGAACGCA			290
Query 306	TATTGCGCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCCTCAC			365
Sbjct 291	TATTGCGCTCGACTCCTCGGAGAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCCTCAC			350
Query 366	CCCTCTTCCTCAACAGGAGGCGCCTGTCTGAGTGTCTCAAGCCGGCAGCAGGGGTGGATC			425
Sbjct 351	CCCTCTTCCTTAAACAGGAGGCGCCTGTCTGAGTGTCTCAAGCCGGCAGCAGGGGTGGATC			410
Query 426	TGGCTCTCCAATCGGATTCACTCTGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGG			485
Sbjct 411	TGGCTCTCCAATCGGATTCACTCTGGTTGGGTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTAAACTGG			470
Query 486	GACCCAATTCGGGCTCAACTGGATAGGTAGTAACACCCCTCGGGTGCCTACACGAAGTTGT			545
Sbjct 471	GACCCAATTCGGGCTCAACTGGATAGGTAGTAACACCCCTCGGGTGCCTACACGAAGTTGT			530
Query 546	GTCTGAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGAAACGTACTCTGTACGTACTCTGAATTCGA			605
Sbjct 531	GTCTGAGGACCTGGTTAGGAGCCAAGCAGAAACGTACTCTGTACGTACTCTGTATTCGA			590
Query 606	CGGTGAGCTC-GGCGAGGCTACCCGCTGA-CTTAAGC		640	
Sbjct 591	CC-TGAGCTCAGGCAAGGCTACCCGCTGAACTTAAGC		626	

Şekil 4.16. 8 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
241 bits(130)	1e-59	161/176(91%)	1/176(0%)	Plus/Plus
Query 339	TACAACTTTCAGCAACGGATGTCTAGGTTCCCACAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG			398
Sbjct 1	TACAACTTTCAGCAACGGATGTCTAGGTTCCCACAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG			60
Query 399	ATACGTCATGCGAATTGCAAAACCTCGTGAACCATCAAACTTTGAACGCACATTGCGCT			458
Sbjct 61	ATACGTAATGCGAATTGCAAAACCTCGTGAATCATCAAGACTTTGAACGCACATTGCGCT			120
Query 459	ACCGGGACTCGTCCCGGTAGCATACTTGTCTGAGTGTCTGAGTGAACCTAACTCGGCG			514
Sbjct 121	TCCGGGAAATG-CCCGGTAGCATACTTATCTGAGTGTCCGCGAACCCTACTCAGCG			175

Şekil 4.17. 11 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
773 bits(418)	0.0	422/424(99%)	0/424(0%)	Plus/Plus
Query 2	GGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGGC			61
Sbjct 90	GGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGGC			149
Query 62	TCTTGGGTTGTAAACCTCTTTTCTCAAGGAAGAAGAACTGACGGTACTTGAGGAATCAGC			121
Sbjct 150	TCTTGGGTTGTAAACCTCTTTTCTCAAGGAAGAAGAACTGACGGTACTTGAGGAATCAGC			209
Query 122	ATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAAT			181
Sbjct 210	ATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAAT			269
Query 182	CATTGGGCGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCACTTCAAGTCGGTTGTCAAAGACCACAGCTTA			241
Sbjct 270	CATTGGGCGTAAAGAGTCCGTAGGTGGCACTTCAAGTCGGTTGTCAAAGACCACAGCTTA			329
Query 242	ACTGTGAAAGGCAGTGGAACTGAAGAGCTAGAGAATGGTAGGGGCAGAGGGAATTCCC			301
Sbjct 330	ACTGTGAAAGGCAGTGGAACTGAAGAGCTAGAGAATGGTAGGGGCAGAGGGAATTCCC			389
Query 302	GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAAGAACCAGTGGCGAAAGCGCTCTGCTG			361
Sbjct 390	GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAAGAACCAGTGGCGAAAGCGCTCTGCTG			449
Query 362	GACCATGACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAGGGATTAGATACCCCTGT			421
Sbjct 450	GACCATGACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAATGGGATTAGATACCCAGT			509
Query 422	AGTC 425			
Sbjct 510	AGTC 513			

Şekil 4.18. 12 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
761 bits(412)	0.0	420/424(99%)	0/424(0%)	Plus/Plus
Query 2	GGGGAATTTCCGCAATGGGCGAAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGATGAAGGT			61
Sbjct 304	GGGGAATTTCCGCAATGGGCGAAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGGGGGATGAAGGT			363
Query 62	TTGTGGATTGTAAACCCCTTTTGATTGGGAAGAATAACTGACGGTACCAATCGAATAAGC			121
Sbjct 364	TTGTGGATTGTAAACCCCTTTTGATTGGGAAGGATAACTGACGGTACCAATCGAATAAGC			423
Query 122	CTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAAT			181
Sbjct 424	CTCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCGGAAT			483
Query 182	TATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAGGTGGTTTAGTAAGTCTGCTGTAAAGCGCGGGCTTA			241
Sbjct 484	TATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAGGTGGTTTAGTAAGTCTGCTGTAAAGCGCGGGCTTA			543
Query 242	ACCTGTATCGGCAGTGGAACTACTAGACTAGAGTGTGGTAGGGTAGAGGGAATTC			301
Sbjct 544	ACCTGTATCGGCAGTGGAACTACTAGACTAGAGTGTGGTAGGGTAGAGGGAATTC			603
Query 302	AGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGCTCTACTG			361
Sbjct 604	AGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTGGGAAGAACACCGGTGGCGAAGGCGCTCTACTG			663
Query 362	GGCCATAACGGACACAGATGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAGGGATTAGATACCCCTGT			421
Sbjct 664	GGCCATAACGGACACAGATGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAAAGGGATTAGATACCCCTGT			723
Query 422	AGTC 425			
Sbjct 724	AGTC 727			

Şekil 4.19. 13 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
691 bits(374)	0.0	406/422(96%)	0/422(0%)	Plus/Plus
Query 1	GGGGAATTTCCGCAATGGGCGAAAAGCCTGACGCAGCCATGCCCGTGTATGATGAAGGT			60
Sbjct 320	GGGGAATCTTGC GCAATGGGCGAAAAGCCTGACGCAGCCATGCCCGTGTATGATGAAGGT			379
Query 61	CTTAGGATTGTAAAATACTTTCACCGGTGAAGATCTTTCCTGTAGCCGAAAAGATGCC			120
Sbjct 380	CTTAGGATTGTAAAATACTTTCACCGGTGAAGATAATGACTGTAGCCGAGAAGAAGCCC			439
Query 121	CGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATTA			180
Sbjct 440	CGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGCTCGGAATTA			499
Query 181	CTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGCGGACATTTAAGTCAGAGGTGAAATCCCGGAGCTTAAC			240
Sbjct 500	CTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGCGGACATTTAAGTCAGAGGTGAAATCCCGGAGCTTAAC			559
Query 241	TTCCGAACGCTTTGATACTGGGTGCTTTGAGTGTGAGAAAGGTATGTGGAACCCGAG			300
Sbjct 560	TTCCGAACGCTTTGATACTGGGTGCTTTGAGTGTGAGAGAGGTATGTGGAACCCGAG			619
Query 301	TGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGACATACTGGC			360
Sbjct 620	TGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGACATACTGGC			679
Query 361	TCATTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAAAGGGATTACAAACCCCTGTAG			420
Sbjct 680	TCATTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAAAGGGATTAGATACCCCGTAG			739
Query 421	TC 422			
Sbjct 740	TC 741			

Şekil 4.20. 14 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
333 bits(180)	1e-87	321/385(83%)	25/385(6%)	Plus/Plus
Query 251	TTAACCTACAACACCAAACCTTAAACATACTAAAGC-T-A-GAAGCAGCTGGCATGGCCA			307
Sbjct 1933	TTAACCC-CCAACACCAAACC-AAAACA-ACTAAAGCTTAATTGTGCAGTCGGCCTGGCCG			1989
Query 308	CTGCAACTAACAAGACAACACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAA			367
Sbjct 1990	CTGCATCTAACCAAGACAACACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAA			2049
Query 368	CGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGA			427
Sbjct 2050	CGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAATCATCGAATCTTTGA			2109
Query 428	ACGCATATTGCGCTCGAGGCTTCGGCCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGGTTTACCA			487
Sbjct 2110	ACGCATATTGCGCTCGAGGCTTCGGCCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGGTTAAT-A			2168
Query 488	TCGTTCATCCAATC-CG-TGTG-GT-TGGAACGAACGGACCTGGCCGTCCCA--T-G-C-			538
Sbjct 2169	TCGCTCC-CCACTCACCCTGTGTGTATGGGTT-AGCGGATCTGGCTGTTCCAGCTAGGCA			2226
Query 539	C-TAGCCTTGCACA-A-A-G-GCA-TGGGTCAGCTGAAGAACAGAGGCACGAACATGGAC			592
Sbjct 2227	CGTACACTTGTGTACATATGTGCTCTGGATCAGCTGAAGTACAGAGGCT-AACCAAGGAC			2285
Query 593	CCGTTAAGGGCTACAACCTGGGTAGG 617			
Sbjct 2286	CCGTCAAGGGCCCAACCTGGGTAGG 2310			

Şekil 4.21. 18 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
704 bits(381)	0.0	415/431(96%)	4/431(0%)	Plus/Plus
Query 18	TGGGGAAttttttCCATGGGCGATAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGG			77
Sbjct 276	TGGGGAATTTTCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAGACCGCGTGAGGGAGGAAGG			335
Query 78	CTCTTGGGTTGTAAACCTCTTTTCTGAGGGAAGaaaaaaaaTGACGGTACCTCAGGAAGAA			137
Sbjct 336	CTCTTGGGTTGTAAACCTCTTTTCTGAGGGAAGAAAAAAAAATGACGGTACCTCAGGAAGAA			395
Query 138	GCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGA			197
Sbjct 396	GCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGA			455
Query 198	CTTATTGGGCGTAAAGCGTCCGAGGTGGCATCTCGTGTCTGCTGTCAAAGCCCACAGCT			257
Sbjct 456	CTTATTGGGCGTAAAGCGTCCGAGGTGGCATTTCTGTCTGCTGTTAAAGCCCACAGCT			515
Query 258	CAACTGTGGTCAGGCGGTGGAAACTGAGAAGCTAGAGTTAGGTAGGGGTAGAGGGAATTC			317
Sbjct 516	CAACTGTGGTCAGGCGGTGGAAACTGAGATGCTAGAGTTAGGTAGGGGTAGAGGGAATTC			575
Query 318	CCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTGGGAAGAGACGTACCAGTGGCGAAAGCGCTC			377
Sbjct 576	CCAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTGGGAAGA-AC--ACCAGTGGCGAAAGCGCTC			632
Query 378	TGCTAGGCCATAACTGACACTAAGGGACGAAAGCTAGAGGAGCAAAAGGGATTAAAcccc			437
Sbjct 633	TGCTAGGCCATAACTGACACTAAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCAAAAGGGATTAGATACC			692
Query 438	cccTGTAGTCC 448			
Sbjct 693	CC-TGTAGTCC 702			

Şekil 4.22. 21 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.



Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
582 bits(315)	1e-162	402/442(91%)	14/442(3%)	Plus/Plus
Query 233	CAACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT			292
Sbjct 1	CAACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT			60
Query 293	ACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCACTCG			352
Sbjct 61	ACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCACTCG			120
Query 353	CGGCCTCGGCCAAGAGTATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTGAACCTCACCCACCAATGTG			412
Sbjct 121	CGGCCTCGGCCAAGAGTATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTGAACCTCACCTACCA-T-TC			178
Query 413	GTTGTACCAATT-GCATTGGAGTGTGACTGGCTACGGCTGGTTGCCATGGGTGGATCTGA			471
Sbjct 179	CT-GT-C-ATTCAGGCTTGGAGTGTGGCTGGCTACGGCCGGTTGCCTTGGGTGGATCTGA			235
Query 472	CTTTCCCATGCTTGCCAATGGGTCTGTTGAAGTTTAGTGGCATTTC AAGGTCCCTAATT			531
Sbjct 236	CATTCCCATGCTTAGCCAATGGGTCTGTTGAAGTGCAGTGGCATTGCAAGGTCCCTA-T-			293
Query 532	ACGGGCACAACCTGGATAACGTGGTTTATACTGCGCGAAAGTTTGTGTCTTGTGGCTTTT			591
Sbjct 294	ACGGGCACAACCTGGATAACGTGGTGTATACTGCGCGAAAGTT-GTTGTCTTGGAACTT-			351
Query 592	GAGACCCCTGCCATCAAGGAAACGATCAATTCGACCTGAGCTCAGGCAAGATTACCC			651
Sbjct 352	GA--CTGC-GCCATCAAGGAAACC-TCAACCATTCGACCTGAGCTCAGGCAAGATTACCC			407
Query 652	GCTGAACTTAAGCCTATCAATA	673		
Sbjct 408	GCTGAACTTAAGCATATCAATA	429		

Şekil 4.23. 22 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
730 bits(395)	0.0	423/436(97%)	4/436(0%)	Plus/Plus
Query 272	CAACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT			331
Sbjct 1	CAACTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT			60
Query 332	ACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCG			391
Sbjct 61	ACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTGCGCTCG			120
Query 392	CGGCCTCGGCCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGTTTTGACCCCTCACTCCCATACCTT			451
Sbjct 121	CGGCCTCGGCCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGTTTTGACCCCTCACTCCCATACCTT			180
Query 452	TTGGTATCATGCATCGGGTTACGGCTTGCTGCTGGCGTGGATCTGGCTTTCCAGGGTG			511
Sbjct 181	TTGGTAAAATGCATCGGGTTACGGCTTGCTGCTGGCGTGGATCTGGCTTTCCAGGGTG			240
Query 512	TCTCTGGGTTGGCTGAAGTACAGAGGCTAGAGCACGGACCCGTATGGGCGTCAACTGGAT			571
Sbjct 241	ACTCTGGGTTGGCTGAAGTGCAGAGGCTAGAGCACGGACCCGTATGGGCTCAACTGGAT			300
Query 572	AGGTAGCCCCACGAAAGTGGATCTACACGAAGTTGTCTGCCTGGGAAAGCAGATGTTGG			631
Sbjct 301	AGGTAGCCCCACGAAAGTGGATCTACACGAAGTTGTCTGCCTGGGAAA-C-G-TGTTGG			357
Query 632	CGGCCAAAACAGGAAACTTCTCTCACCTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGATACCCACTGAAC			691
Sbjct 358	CGGCCAAAACAGGAAACTTCTCTCACCTTCGACCTGAGCTCAGGCAAGATTACCCACTGAAC			417
Query 692	TTA-GCCTATCAATAA	706		
Sbjct 418	TTAAGCATATCAATAA	433		

Şekil 4.24. 23 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1299 bits(703)	0.0	711/714(99%)	3/714(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATCGATCGAATCCACACCGGTAACCACAC	60		
Sbjct 1750	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATCGATCGAATCCACACCGGTAACCACAC	1809		
Query 61	TGTCGCCCTCGGCGGTGCATTCTCTGGCTTCGGGCTGGGTTTCACCCCGAGCGTCGGCC	120		
Sbjct 1810	TGTCGCCCTCGGCGGTGCATTCTCTGGCTTC-GG-CTGGGTTTCACCCCGAGCGTCGGCC	1867		
Query 121	CCTGGGTGGGGTTCTCACGAGCCGCTCTCCAGGTCCGGCGGGCGCCTCCCTGGGGCTCA	180		
Sbjct 1868	CCTGGGTGGGGTTCTCACGAGCCGCTCTCCAGGTCCGGCGGGCGCCTCCCTGGGGCTCA	1927		
Query 181	CCCCCTGGGGCTGTCGTCGGCCAAAACCCCTGTATCCAACC-tttttttAACACACCCCA	239		
Sbjct 1928	CCCCCTGGGGCTGTCGTCGGCCAAAACCCCTGTATCCAACCTTTTPTTTAACACACCCCA	1987		
Query 240	AACCACAACCAACTCTGAAGCATCTTTGGTGGCCCGGCCCGTCCCGTCCACTCCAAACC	299		
Sbjct 1988	AACCACAACCAACTCTGAAGCATCTTTGGTGGCCCGGCCCGTCCCGTCCACTCCAAACC	2047		
Query 300	AAAGACAACCTCAACAACGGATATCTTGGCTCCCGTATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT	359		
Sbjct 2048	AAAGACAACCTCAACAACGGATATCTTGGCTCCCGTATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT	2107		
Query 360	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCAAATTGC	419		
Sbjct 2108	GCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCAAATTGC	2167		
Query 420	GCCCGAGGCTTCGGCCGAGGGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCTCGCCCTccc	479		
Sbjct 2168	GCCCGAGGCTTCGGCCGAGGGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCTCGCCCTCCC	2227		
Query 480	ccccTGTGGGGGGCGGTGCGGACCTGGCCCTCCCGGCTCCGCTCTCTCCCGAGCGTCCGG	539		
Sbjct 2228	CCCCTGTGGGGGGCGGTGCGGACCTGGCCCTCCCGGCTCCGCTCTCTCCCGAGCGTCCGG	2287		
Query 540	GTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTGAGCATGGACCCCGTTTGTAGGGCAATGGCTTGGTAGG	599		
Sbjct 2288	GTTGGCTGAAGCACAGAGGCTTGAGCATGGACCCCGTTTGTAGGGCAATGGCTTGGTAGG	2347		
Query 600	TAGGCACCCCTACGCAGCCTGCCGTTGCCCGAGGGGACTTTGCTGGAGGCCAGCAGGA	659		
Sbjct 2348	TAGGCACCCCTACGCAGCCTGCCGTTGCCCGAGGGGACTTTGCTGGAGGCCAGCAGGA	2407		
Query 660	ATCCGGCCCTTCCCGCCGGACTACTCACTCATTGACCTGAGCTCAGGCAAGA	713		
Sbjct 2408	ATCCGGCCCTTCCCGCCGGACTACTCACTCATTGACCTGAGCTCAGGCAAGA	2461		

Şekil 4.25. 24 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Range 1: 99 to 796		<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">Graphics</a>	▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
870 bits(471)	0.0	631/706(89%)	20/706(2%)	Plus/Plus	
Query	1	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTTAAAACCACAACGTGAACTCTGT-		59	
Sbjct	99	TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGAATTATTTAAAACCACAATGCGAAC-CTATC		157	
Query	60	TGTACCGTGCCTTTTGCTGCCAGCAGGGTAATCGGGTCTTTGTCTCGATTGCTTCTGC-A		118	
Sbjct	158	TGTTCCGTGCCTTAGCTGCCAGCAAGGCAAT-TGG-C-TTG-CCCAATTG-TACTTGCAA		212	
Query	119	GTTGGTGCAG-CA-TTG-CTGCCCGCATCAATGGCGCTCTGGCATGCCTATACACCAGT		175	
Sbjct	213	GCTGGTGCAGTAATTTGATTACTTGCATCAGTGGCGCTTTGGCATGCTTATACACCAGT		272	
Query	176	GCCAACCACTGTCAAACCAAAATCTGAAGTTTTGATTGCTAGTAAGTGGCAATCCTAAC		235	
Sbjct	273	GCTAACCACTGTCAAACCAAACTCTGAAGCTTTGATTGCTATTAAGTGGCAATCCTAAC		332	
Query	236	CAAAGACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGAGCGAAA		295	
Sbjct	333	CAAAGACAACCTCTCAACAACGGATATCTTGGCTCTCGCAACGATGAAGAACGAGCGAAA		392	
Query	296	TGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTG		355	
Sbjct	393	TGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCGGTGAACCATCGAATCTTTGAACGCATATTG		452	
Query	356	CGCTCGAGCCTTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTACACCCTCACCCCTC		415	
Sbjct	453	CGCTCGAGCCTTCGGGCAAGAGCATGTCTGCCTCAGCGTCGGTTTATACCCTCACCCCTC		512	
Query	416	TTTCCTTTTGGATCGCAGGCTAGCTTCTCAGCTAGCCGCGAGGGGTGGATCTGGCTTTCC		475	
Sbjct	513	TTCCTTTTGGAGGGCTGGTCAGCTTCT-AGTTGGCCTCA-GGGGTGGATCTGGCTTTCC		570	
Query	476	CAATCC-T---CTAGGGTTGGTTGGCTGAAGTGTAGAGGCTTAATCAAGGACCCGATAT		531	
Sbjct	571	CAATTGGTTCACCTCCGATTGGTTGGCTGAAGCTTAGAGGCTTAAGCAAGGACCCGATAT		630	
Query	532	GGGCTTCAACTGGATAGGTAGCAACGGCATCTGCCGACTACACGAAGTTGTAGCTTGTGG		591	
Sbjct	631	GGGCTTCAACTGGATAGGTAGCACCGCTTCTGCCGACTACACGAAGTTGTGGCTTGTGG		690	
Query	592	ACTTTGATAGGAGCCAAGCAGGAAACGTGCTT-GCACGT-TAAAACCTTTCGACCTGAGCT		649	
Sbjct	691	ACTTTGCTAGAGGCAAGCAGGAAACATGCTTTGCATGTCTTAAACCTTTCGACCTGAGCT		750	
Query	650	CAGGCAAGGCTACCCGCTGAACTTAAGCCTATCAATAA-CGGAGGA	694		
Sbjct	751	CAGGCAAGGCTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA	796		

Şekil 4.26. 25 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.

Çizelge 4.4. Örneklerin BLAST sonuçları değerleri

<b>Örnek No</b>	<b>Baz Çifti Sayısı</b>	<b>Expect Değeri</b>	<b>Benzerlik Oranı</b>	<b>Gaps (Boşluk)</b>
1	699	0	(694/699)%99	1/699(%0)
2	702	0	(671/705) %95	10/705(%1)
3	653	0	(638/654) %98	8/654(%1)
4	652	0	(637/650) %98	6/650(%0)
5	695	0	(683/696) %99	1/696(%0)
6	628	0	(605/615) %98	4/615(%0)
7	689	0	(628/728) %86	22/728(%3)
8	599	0	(616/637) %97	13/637(%2)
11	932	1e-59	(161/176) %91	1/176(%0)
12	399	0	(422/424) %99	0/424(%0)
13	397	0	(420/424) %99	0/424(%0)
14	362	0	(406/422) %96	0/422(%0)
18	954	1e-87	(321/385) %83	25/385(%6)
21	621	0	(415/431) %96	4/431(%0)
22	667	1e-162	(402/442) %91	14/442(%3)
23	691	0	(423/436) %97	4/436(%0)
24	904	0	(711/714) %99	3/714(%0)
25	694	0	(631/706) %89	20/706(%2)

Çizelge 4.5. Morfolojik tayin ile moleküler tayin sonucu elde edilen verilerin karşılaştırılması ve NCBI'dan alınan katılım numaraları

<b>Örnek Kodu</b>	<b>Morfolojik Analiz</b>	<b>Moleküler Analiz</b>	<b>Katılım Numaraları</b>
1	<i>Scenedesmus acutus</i>	<i>Acutodesmus obliquus</i>	KF470790
2	<i>Scenedesmus antennatus</i>	<i>Acutodesmus obliquus</i>	KF470791
3	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	<i>Desmodesmus communis</i>	KF470792
4	<i>Scenedesmus opoliensis</i>	<i>Desmodesmus communis</i>	KF470793
5	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	<i>Pectinodesmus pectinatus</i>	KF470794
6	<i>Scenedesmus armatus</i>	<i>Desmodesmus armatus</i> var. <i>subalternas</i>	KF470795
7	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	<i>Ankistrodesmus</i> sp.	KF803393
8	<i>Monoraphidium minutum</i>	<i>Desmodesmus armatus</i>	KF803394
9	<i>Cosmarium</i> sp.	-----	-----
10	<i>Nitzschia</i> sp.	-----	-----
11	<i>Craticula cuspidata</i>	<i>Tabularia</i> cf. <i>tabulata</i>	KF803396
12	<i>Phormidium</i> sp. 1	<i>Phormidium</i> sp.	KF803397
13	<i>Phormidium</i> sp. 2	<i>Leptolyngbya</i> sp.	KF803398
14	<i>Phormidium tenue</i>	Bacterium 14 (2013)	KF803399
15	<i>Stigeoclonium</i> sp.	-----	-----
17	<i>Nostoc</i> sp.	-----	-----
18	<i>Chlamydomonas</i> sp.	<i>Chlamydomonas</i> sp.	KF803400
19	<i>Chlorococcum</i> sp.	-----	-----
20	<i>Fragillaria</i> sp.	-----	-----
21	<i>Chroococcus</i> sp.	<i>Chroococcus</i> sp.	KF803401
22	<i>Neochloris</i> sp.	<i>Neochloris aquatica</i>	KF803402
23	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>	<i>Pediastrum</i> sp.	KF803403
24	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella sorokiniana</i>	KF803404
25	<i>Scenedesmus apiculatus</i>	<i>Acutodesmus obliquus</i>	KF470796

Tüm örneklerin katılım numaraları (Accession Numbers), NCBI tarafından onaylanıp kullanıma açılmış durumdadır. Bu numaralar ile BLAST sayfasında sorgulama yapıldığında örnekler ile ilgili bilgilere ulaşılabilmektedir.

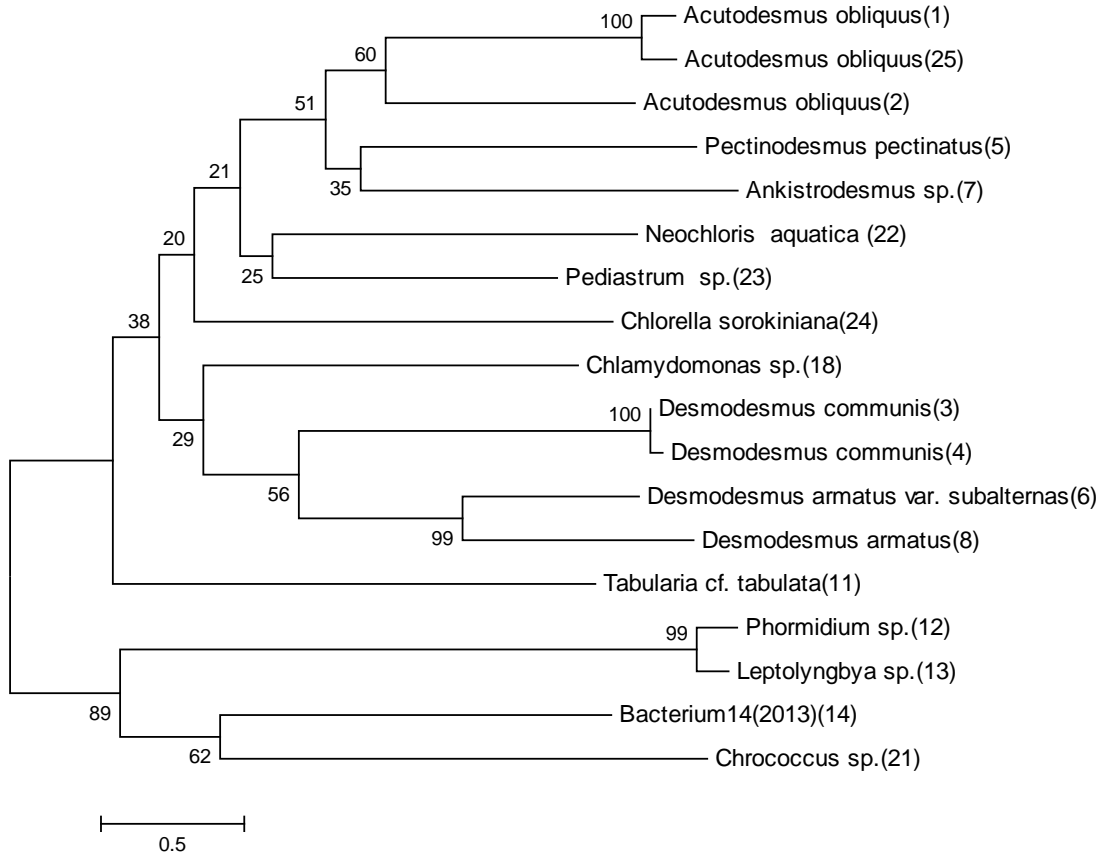
#### 4.7. Filogenetik Ağaçlar

Sekans verileri, MEGA 5.2 programı kullanılarak, ClustalW algoritması ile hizalanmıştır. Aynı program kullanılarak NJ (Neighbour Joining) ve UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) algoritmaları ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bootstrap değeri olarak 1000 tekrar kullanılmıştır (Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29, Şekil 4.30).

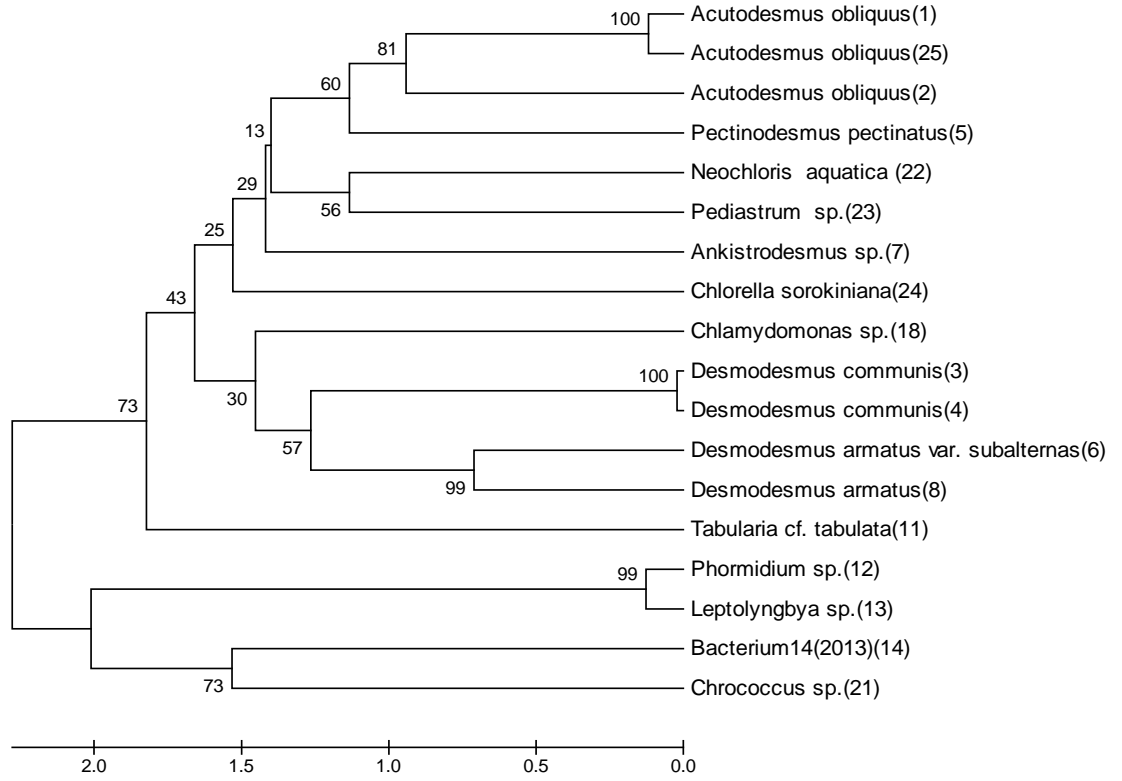
9, 15, 19, 20 No.lu örneklerden PZR ürünü elde edilemediğinden, 10 ve 17 No.lu örnekten ise PZR ürünü elde edildiği halde dizi analizi yaptırılmadığından bu örneklerin

BLAST sonuçları elde edilememiştir. 16 No.lu örnek ise denizel form olduğu için değerlendirme kapsamına alınmamıştır.

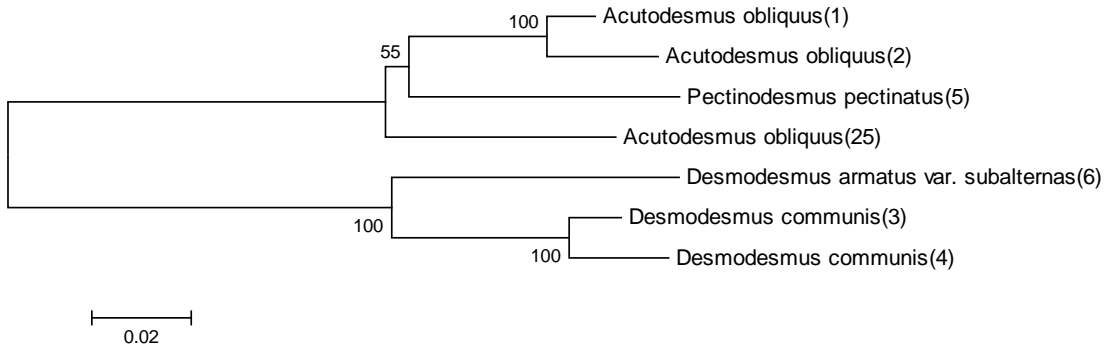
Yukarıdaki örneklerin dışındaki 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 18, 21, 22, 23, 24, 25 No.lu onsekiz adet örneğin filogenetik ağacı çizilebilmiş ve akrabalık ilişkileri incelenebilmiştir.



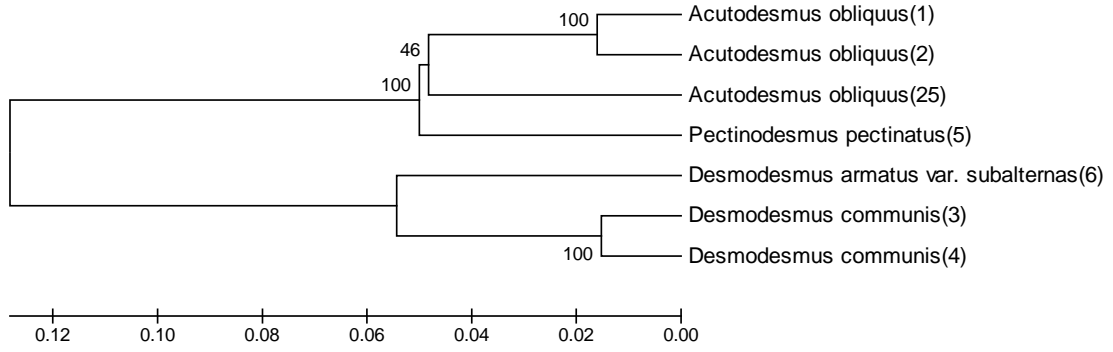
Şekil 4.27. BLAST analizi yapılan örnek dizilerinin Neighbour Joining (NJ) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).



Şekil 4.28. BLAST analizi yapılan örnek dizilerinin UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).



Şekil 4.29. BLAST analizi yapılan *Scenedesmus* cinsi üyelerinin dizilerinin Neighbour Joining (NJ) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).



Şekil 4.30. BLAST analizi yapılan *Scenedesmus* cinsi üyelerinin dizilerinin UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).

Çalışmadaki örneklerin en fazla benzerlik gösterdikleri canlıların belirlenmesi ve sistematik karakterizasyonları, BLAST sonuçları ve filogenetik ağaçlar birlikte değerlendirilerek yapılmıştır.

Cyanobacteria grubu (12, 13, 14, 21 No.lu örnekler) üyelerinden *Phormidium sp.* 1 olarak tanımlanan 12 No.lu örneğin BLAST analizi sonucu da *Phormidium sp.* olarak elde edilmiştir. BLAST sonucunun tür bazında tayin yapmak için yetersiz kalması, NCBI veri bankasında bizim çalıştığımız gen bölgesinin çalışıldığı bu cinse ait bir taksonun kayıtlı olmayabileceği olasılığını düşündürmüştür. *Phormidium sp.* 2 olarak tanımlanan 13 No.lu taksonun BLAST sonucunun ise *Leptolyngbya sp.* olarak çıkması birbirine benzeyen *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Leptolyngbya* cinslerinin sistematik yerinin sadece morfolojik gözlemlerle belirlenmeyeceğini göstermiştir.

14 No.lu izolatin BLAST sonucu “Bacterium 14 (2013)” şeklinde çıkmıştır. NCBI yetkilileri bu durumu, Accession Number alınması sürecinde şöyle açıklamışlardır: Söz konusu organizmanın dizi verileri için BLAST yapılırken, uygun şube için bir belirsizlik olduğunda, kaynak organizma, Bacteria Domaini için, “Bacterium strain” grubuna; Archae Domaini için “Archaeon strain” grubuna yerleştirilmektedir. Ancak bu durum; örneğin kültürü yapılırken kontaminasyon gerçekleşmesi sonucu *Phormidium sp.* izolatu hücrelerinden çok bakteri hücrelerinin olması ve DNA izolasyonu için kullanılan primerlerin bakteri hücreleri için de uygun olması ile bu hücrelerinin DNA’sını izole edilmiş olabileceği ile açıklanabilir.

Şekil 4.27 ve 4.28 incelendiğinde Cyanobacteria grubuna ait olan 12, 13, 14 ve 21 No.lu örneklerin, diğer örneklerden ayrı bir dalda (klad), outgrup (dış grup) olarak, kendi aralarında bir grup oluşturdukları görülmektedir. *Phormidium* ve *Leptolyngbya*



cinsleri filamentli olduklarından benzerlik oranları yüksek olup *Chroococcus* cinsi bu örneklerden ayrı bir dalda bulunmaktadır. Casamatta ve ark.(2003); Oscillatoriales taksonuna ait 10 polar ve nonpolar örneğin 16 S rRNA sekansını kullanarak yaptıkları çalışmada *Leptolyngbya* cinsinin sistematığının tekrar revize edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Hasler ve ark. (2012), epipelik filamentli cinsler, *Phormidium*, *Microcoleus* ve *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria) taksonlarının ITS bölgeleriyle yaptıkları moleküler sistematik çalışmalarında; *Phormidium* ve *Microcoleus* cinslerinin taksonomik revizyonunun yapılması gerektiğini, *Phormidium lucidum* türünün hücre bölünme şeklinin Phormidiaceae taksonundan çok Oscillatoriaceae taksonuna benzediğini savunmuşlardır.

Komerkova ve ark. (2010), strese bağlı olarak filament yapısı, müsilaj katmanı gibi morfolojik özellikleri ile 16 S rDNA bölgesinin filogenetik analizlerini inceledikleri 10 *Chroococcus* cinsine ait ırkın, 4 farklı grup oluşturduklarını; bunlardan ikisinin bu cinse ait olduğunu ancak diğer ikisinin bu cinsin polifiletik karakterlerini yansıttığını belirtmişler ve hatta bazı planktonik türlerin bir rekombinasyon yapıldıktan sonra yeni bir cinste toplanması gerektiğini savunmuşlardır.

Liu ve ark. (2013), Oscillatoriales takımına ait *Arthrospira* cinsine benzeyen 24 siyanobakteri strainin polifazik karakterizasyonunu araştırdıkları çalışmalarında; bu organizmaların aslında *Planktothrix* cinsine ait olduğunu ortaya çıkarmışlar, bu takıma ait üyelerin sistematik revizyonunun yapılması gerektiğini savunmuşlardır.

Diatom üyelerinden (10, 11 ve 20 No.lu örnekler), 10 No.lu örnek, *Nitzschia* sp. olarak tanımlanmış, DNA izolasyonu yapıp PZR ürünü elde edilmesine rağmen dizi analizi elde edilememiştir. 20 No.lu örnek ise *Fragilaria* sp. olarak tanımlanmış ancak bu örneğin de PZR ürünü elde edilememiş ve sekans analizine gönderilememiştir. Sadece *Craticula cuspidata* olarak tanımlanan 11 No.lu örnekten dizi verileri elde edilebilmiş, BLAST sonucunda bu takson, *Tabularia cf. tabulata* olarak tanımlanmıştır. Şekil 4.27 ve 4.28 incelendiğinde; Heterokontophyta üyesi 11 No.lu taksonun Chlorophyta grubundaki diğer taksonlardan ayrı bir dalda bulunduğu açıkça görülmektedir. Bruder ve Medlin (2007) Naviculoid Diatom üyelerinin sistematığını moleküler ve morfolojik verilerle araştırdıkları çalışmalarında; *Navicula hambergii* türünün *Placoneis hambergii* olarak değiştirilmesi gerektiğini, sadece morfolojik verilerle tayin yapmanın yetersiz olacağını savunmuşlardır. Diatom üyelerinin benzer morfolojik özellikler göstermesi, bunların ayırt edilebilmesi için elektron mikroskobu

görüntülerine ihtiyaç duyulması gibi pek çok sebepten ötürü taksonomilerinde moleküler verilerden faydalanılması gerektiği kaçınılmaz bir gerçektir. Ancak seçilen DNA izolasyon yöntemi, primerler, PZR optimizasyon şartları çalışılan taksona özgü olmalıdır. Çok fazla deneme yapılarak tam ve doğru sonuca ulaşılabilmektedir. Bu anlamda Diatom üyelerinin çalışılması çok fazla zaman ve ciddi bir bütçe gerektirmektedir.

Chlorophyta grubu üyeleri, *Scenedesmus* cinsine ait olan izolatlar ve diğer izolatlar şeklinde ikiye ayrılarak incelenmiştir.

Morfolojik gözlemler neticesinde *Scenedesmus* cinsine yerleştirilen örneklerin (1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 25 No.lu örnekler) sayısı fazla olduğundan onlar için ayrı olarak NJ ve UPGMA ağaçları oluşturulmuştur (Şekil 4.29 ve 4.30). BLAST analizi sonuçlarının ise morfolojik analizden tamamen farklı bir şekilde; 3 taksonun *Acutodesmus*, 3 taksonun *Desmodesmus* ve 1 tanesinin de *Pectinodesmus* cinsine ait olarak ortaya çıkması bu gruba ait örneklerin sistematik kategorizasyonunun moleküler verilere göre yapılması gerektiğini göstermektedir. Şekil 4.29 ve 4.30 incelendiğinde *Desmodesmus* cinsi üyelerinin kendi aralarında ayrı bir grup, *Acutodesmus* cinsi üyelerinin de ayrı bir grup oluşturduğu görülmektedir.

BLAST analizlerinin sonucuna göre 1 ve 2 No.lu örnekler, *Acutodesmus obliquus* olarak tanımlanmış ve bu NJ ve UPGMA ağaçlarında aynı dalda olmaları ve %100 benzerlik göstermeleri ile desteklenmiştir. 25 No.lu örneğin de *Acutodesmus obliquus* olarak çıkması; ağaçlarda da 1, 2, 25 No.lu örneklerin aynı kökten dallanmaları bu izolatların ortak bir atadan köken aldıklarını göstermektedir. Hegewald ve Wolf (2003); *Scenedesmus* ve *Acutodesmus* cinslerinin filogenetik ilişkilerini inceledikleri çalışmalarında bu cinslerin parafiletik olduğunu; ortak atalarının bilindiğini ancak torunlarının tamamının henüz keşfedilmediği ve aralarındaki ilişkilerin tam olarak bilinmediğini savunmuşlardır.

BLAST sonuçlarına göre 5 No.lu izolat *Pectinodesmus pectinatus* olarak tanımlanmıştır. 1 ve 2 No.lu izolatlarla kardeş dalda bulunması ve bu izolatlarla % 55 oranında bir benzerlik göstermesi onun bu izolatlardan farklı bir tür olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Hegewald ve ark. (2010); Scenedesmaceae familyası üyelerinin filogenisini ITS-2 gen bölgesi verileriyle araştırdıkları çalışmalarında yeni bir cins olarak *Pectinodesmus* cinsini tanımlamışlardır. Bu türün yeni adını *Pectinodesmus pectinatus* (Meyen) E.Hegewald, M.Wolf, Al.Keller, Friedl & Krienitz *comb. nov.* ([http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus\\_id=51057&session=abv4:8DC40](http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=51057&session=abv4:8DC40))

1E41db0d34B62sRS3D62CAE), Basionim adını da *Scenedesmus pectinatus* Meyen olarak belirtmişlerdir (Hegewald ve ark., 2010). Hegewald ve ark. (2013); Scenedesmaceae familyasına ait taksonların rRNA gen sekanslarını kullandıkları filogenetik çalışmalarında; 2 yeni cins (*Verrucodesmus* ve *Chodatodesmus*) ve 11 yeni *Pectinodesmus* türü tanımlamışlar; bu familyaya ait *Acutodesmus*, *Scenedesmus* cinslerinin filogenetik ağaçlar ve/veya morfolojik farklılıklara dayandırılarak yeni tanımlamalar ve kombinasyonlarının yapılması gerektiğini savunmuşlardır.

3 ve 4 No.lu izolatların *Desmodesmus communis* olduğu NJ ve UPGMA ağaçlarında her ikisinin de kardeş dalda olmalarından anlaşılmaktadır. NCBI verilerine göre; 6 No.lu izolat ise *Desmodesmus armatus* var. *subalternas* olarak tanımlanmıştır ve diğer *Desmodesmus* izolatları ile kardeş dalda bulunması bu durumu doğrulamaktadır.

Vanormelingen ve ark. (2007), *Desmodesmus* cinsi üyelerinin sistematik karakterizasyonunu, ITS2 bölgesinin moleküler analizi ve hücre duvarı formasyonunu inceleyerek araştırdıkları çalışmalarında; bu organizmaların tek tip ve çok benzer bir morfolojik yapıya sahip olduklarını, bu yüzden bu tip çalışmalarda mutlaka moleküler verilerin kullanılması gerektiğini savunmuşlardır.

Bica ve ark. (2012), *Desmodesmus communis* üyeleri ile yaptıkları çalışmada, morfolojik ve moleküler verilerin birbirleriyle örtüşmediğini ve bu tutarsızlığın sonraki çalışmalarda çözülmesi gerektiğini savunmuşlardır.

Krienitz ve Bock (2012), iç sulardaki coccoid planktonik yeşil alglerin sistematığının bugünkü durumunu araştırdıkları kapsamlı çalışmalarında; artık alglerin, özellikle de coccoid alglerin sistematığında fenotipik gözlemlerin yetersiz kaldığını, sadece klasik yöntemlerin kullanılmamasını, moleküler verilerle bu çalışmaların desteklenmesi ve limnolog, ekolog, fikolog ve moleküler biyologların birlikte, multidisipliner bir şekilde çalışmaları gerektiğini belirtmişlerdir.

8 No.lu örnek, morfolojik gözlemler neticesinde *Monoraphidium minutum* olarak tanımlanmıştır. Ancak BLAST sonuçları bu izolatın *Desmodesmus armatus* olduğunu ortaya çıkarmıştır. Şekil 4.27 ve 4.28 incelendiğinde 8 No.lu izolatın *Desmodesmus armatus* var. *subalternas* (6 No.lu izolat) ile kardeş dalda bulunması BLAST sonuçlarını doğrulamaktadır. Bu sonuç, mikroalg sistematığı yapılırken sadece morfolojik gözlemlerden faydalanmanın ne kadar da yetersiz olduğunu açıkça göstermektedir.

Şekil 4.27 ve 4.28 incelendiğinde; *Ankistrodesmus falcatus* (7), *Chlamydomonas* sp. (18), *Neochloris aquatica* (22), *Pseudopediastrum boryanum* (23), *Chlorella vulgaris* (24) izolatlarının *Acutodesmus* ve *Desmodesmus* cinsi üyelerin bulunduğu

dallardan ayrı olarak farklı bir dalda toplandığı görülmektedir. 7 ve 22 No.lu örnekler aynı takımda yer almaktalar ve filogenetik ağaçtan da ortak atadan köken aldıkları görülmektedir. Ancak 7 No.lu örneğin 5 No.lu örneğe daha yakın olduğu ve %35 oranda benzerlik gösterdiği kardeş dalda olmaları ile de anlaşılmaktadır (Şekil 4.27). 18 No.lu örnek ise *Desmodesmus* cinsine ait taksonlar ile aynı sınıfta (Chlorophyceae) yer almakta ve bu taksonların bulunduğu daldan köken alıp % 29-30 benzerlik göstermektedir (Şekil4.27, 4.28). 22 ve 23 No.lu örnekler ise aynı takımda (Sphaeropleales) yer almaktalar ve bu benzerlik %25 benzerlikle kardeş dalda bulunmalarıyla da anlaşılmaktadır. 24 No.lu örnek ise kardeş dalında bulunan taksonlar ile şube bazında benzerlik göstermekte ve kendisine daha yakın bir taksonun olmadığı ağaçlardan da görülmektedir.

Buchheim ve ark. (2012), Chlorophyceae sınıfına ait Oedogoniales, Chaetophorales and Chaetopeltidales takımlarındaki organizmaların filogenisini ITS2 gen bölgesinin sekans verileri ile inceledikleri çalışmalarında; bu gen bölgesinin bu tarz çalışmalarda kullanılabilir en ekonomik ve en verimli gen bölgesi olduğunu ifade etmişler, ayrıca Chlorophyta taksonuna ait üyelerin ITS2 tabanlı filogenetik ağaçlarını oluşturmuşlar, bu üyelerin taksonomik revizyonunun yapılması gerektiğini savunmuşlardır.

Fawley ve ark. (2005), Selenastraceae (Chlorophyceae, Chlorophyta) familyasına ait üyeleri morfolojik özellikleri açısından değerlendirdiği çalışmalarında, bu gruptaki organizmaların (*Ankistrodesmus*, *Selenastrum*, *Monoraphidium*, *Kirchneriella*) çok benzer morfolojik özellikleri olduğunu ve sistematik yapıları genelleştirilerek ışık mikroskopu görüntülerinin kullanıldığını ancak moleküler düzeyde araştırmalar yapıldığında, aslında bu organizmaların farklı sistematik kategoriye ait olduğunu savunmuşlar, bu yüzden sadece mikroskop verileri ile sistematik tayinin yanlış olduğunu mutlaka polifazik yaklaşımın kullanılması gerektiğini savunmuşlardır.

Kreinitz ve ark. (2001), Selenastraceae familyasına ait taksonların morfolojik özelliklerini moleküler verilerle karşılaştırdıkları çalışmalarında; bu organizmaların sınıflandırılmasında artık geleneksel sistematik kullanılmayacağını, moleküler analizlerin morfolojik veriyi doğrulmadığını, monofiletik olmamalarına rağmen farklı cinslere yerleştirilen *Monoraphidium* ve *Ankistrodesmus* cinslerinin aslında ayırt edilebilir cinsler olmadığını belirtmişlerdir.

Morfolojik gözlem sonuçları ile BLAST verileri karşılaştırıldığında (Çizelge 4.5); BLAST analizi yapılabilen 18 taksondan 11 taksonun cins bazında sistematik içinde

yanılma olmadığı fakat geri kalan 7 taksonun cins bazında sistematüğinde yanılığı ortaya çıktığı görölmektedir. Bu sonuç, mikroalglerin sistematik karakterizasyonunun sadece morfolojik özellikler ve mikrograf verileri kullanılarak yapılmayacağını göstermektedir. Daha önce de bahsedilen mikroalglerin sistematüğinde yaşanan zorlukların ortadan kaldırılabilmesi için bu mikroorganizmaların sistematik karakterizasyonunun moleküler tekniklerden faydalanılarak yapılması gerektiği çok açıktır. Yukarıdaki tartışmada da sözü edilen çalışmalarda bu gerçeğe vurgu yapılmakta, morfolojik açıdan özellikle birbirine benzeyen organizmaların bulunduğu taksonların sistematik revizyonunun yapılması gerektiği belirtilmektedir. Bu anlamda da incelendiğinde söz konusu tez çalışması, mikroalglerin sistematik kategorizasyonunu netleştirecek olan sistematik otörlerine, uluslararası bir GenBank olan NCBI'dan katılım numaralarına (Accession Number) sahip taksonların sekans analizi ile veri sağlamış olacaktır.

Elde edilen sonuçlara bakıldığında; ölkemiz iç sularında bulunan mikroalglerin taksonomisini moleküler tekniklerle doğru bir şekilde yapmayı ve bu mikroalglerin kayıt altına alınmasını hedefleyen bu tez çalışmasının amacına ulaştığı ve bu konuyla ilgili yapılacak sonraki çalışmalar için temel teşkil edebileceği görölmektedir.

**BÖLÜM 5****SONUC VE ÖNERİLER**

Bu tez çalışmasıyla ülkemizdeki iç sulardan izole edilmiş mikroalgler üzerine yapılan sistematik çalışmalara yeni bir bakış açısı getirilmiş ayrıca morfolojik yöntemlerle sistematik tayininde güçlükler yaşanan türlerin tanısında moleküler yöntemler kullanılarak daha sağlıklı sonuçlar elde edilmiştir.

Türkiye iç sularında doğal yayılış gösteren, Türkiye'ye özgü bazı alg türlerinin moleküler taksonomisinin yapılması, atasal genlerinin nükleotid diziliminin saptanması ve aralarındaki akrabalık derecelerinin gösteren filogenetik ağaçlarının ortaya çıkarılması ile birçok bilim dalının gereksinim duyduğu ulusal ve uluslararası bulgu açığı giderilmiştir.

Araştırması yapılan türlerden elde edilen nükleotid dizileri, başka ülkelerde tanımlanmış ve Gen Bank veri tabanına eklenmiş diğer mikroalg türlerinin dizileriyle karşılaştırılmış ve ülkemiz iç sularında bulunan türlerin orijini ve dağılımı belirlenmiştir.

İzolasyon ve kültürleri yapılan mikroalg türlerinin ve ırklarının kayıt altına alınması ve korunması ile biyoçeşitliliği korumaya yönelik Türkiye'nin de imza attığı Biyolojik Çeşitliliği Koruma Sözleşmesinin gerektirdiği koşulları yerine getirme yolunda adımlardan biri daha atılmıştır.

Ülkemizde henüz emekleme aşamasında olan mikroalg kültür koleksiyonu çalışmalarına materyal (ırk, strain, takson) sağlanmış ve bu materyallerin moleküler gen dizilimlerinin belirlenmesi çalışmaları için de veri elde edilmiştir.

Ülkemize özgü ekonomik ve biyoteknolojik öneme sahip taksonların belirlenmesi ve moleküler taksonomilerinin yapılması ile moleküler düzeyde yapılacak sonraki çalışmalar için bilgi ve materyal kaynağı sağlanmıştır.

Bundan sonraki çalışmalar insanlığı bekleyen iki önemli tehlikeyi yok etmek üzerine yoğunlaşmalıdır. Bunlardan bir tanesi tarım alanlarının kirlenmesi, verimliliğinin azalması ve insan popülasyonunun artış göstermesi ile ortaya çıkan gıda yetersizliğidir. Bu sorunu çözebilmek için gelecekte hem insanlar hem de onların temel besin kaynağı olan hayvanlar için oldukça zengin bir gıda kaynağı olan mikroalglerin kullanımı söz konusu olacaktır. Bir diğer sorun ise enerji yetersizliğidir. Dünya nüfusunun artışı ile birlikte enerji ihtiyacı da artış göstermektedir. Sürdürülebilir enerji kaynaklarının kullanım azlığı ve fosil yakıtların da hızla tükeniyor olması yeni bir enerji kaynağı olan biyodizelin kullanımını gündeme getirmektedir. Biyodizel eldesi için farklı biyolojik kaynakların kullanılması söz

konusudur. Ancak mikroalglerin hem üretiminin kolay olması, hem de üretimi için tarım arazilerinin gereksiz yere işgal edilmeyecek olması gibi pek çok faktörden dolayı bu canlı grubunun biyodizel eldesinde kullanılmasını daha avantajlı hale getirmektedir. Bu açıdan düşünüldüğünde bu iki önemli problemin çözümü için yüksek besinsel içeriğe ve yoğun yağ üretme-depolama kapasitesine sahip mikroalglerin tespiti ve bu özelliklerin oluşmasını sağlayan genlerin belirlenip daha çabuk çoğalan bir canlıya aktarılması ile transgenik alg ya da mikroorganizma elde etmeyi amaçlayan çalışmalar yapılmalıdır.

Moleküler taksonomi, ekonomik açıdan değerli maddeleri üretebilen mikroalglerin akrabalık derecelerinin belirlenmesi, bu maddelerin sentezinden sorumlu genlerinin tespiti, bu genlerin aktarılmasının düşünüldüğü mikroorganizma ile gen sahibi organizma arasındaki ilişkinin belirlenmesi gibi pek çok alanda kullanılabilir. Bu tip çalışmaların yapılabilmesi için söz konusu çalışma başlangıç niteliğinde olup temel veri kaynaklarının eldesi için önem taşımaktadır. Sonraki çalışmaların ülke ekonomimize katkıda bulunabilecek bir canlı ve bu canlıdan bir ürün elde etme çabası doğrultusunda planlanması düşünülmektedir. Dünya genelinde çok farklı kullanım alanları olan mikroalg ve ürünlerinin, biyoteknolojik yöntemlerle üretilmesi ve bu maddelerin ülkemizde de hak ettiği önemi kazanması için ekonomik öneme sahip ve geniş kitlelerce kullanılabilir ürünlerin elde edilmesini amaçlayan çalışmalar yapılacaktır.

## KAYNAKLAR

- Auinger B.M., Pfandl K. ve Boenigk J., 2008. Improved Methodology for Identification of Protists and Microalgae from Plankton Samples Preserved in Lugol's Iodine Solution: Combining Microscopic Analysis with Single-Cell PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(8): 2505-2510.
- Babalola O.O., 2003. Molecular Techniques: An Overview of Methods for the Detection of Bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 2(12); 710-713.
- Babaoğlu S., Açık L., Çelebi A. ve Adıgüzel N., 2004. Molecular Analysis of Turkish Alyssum L. (Brassicaceae) Species by Rapd-PZR and Sds-Page Methods. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 17(3): 25.
- Baldwin B.G., Sanderson M.J., Porter J.M., Wojciechowski M.F., Campbell C.S. ve Donoghue M.J., 1995. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 82: 247-277.
- Baloğlu C.M., Bayraç A.T., Sadi G. ve Bayraç C., 2012. Biyoinformatik. İçinde: Karataş M., Ed. *Moleküler Biyoloji* (1. Baskı, Bölüm 17). Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 311-339.
- Beakes G., Canter H.M. ve Jaworski G.H.M., 1988. Zoospores Ultrastructure of *Zygorhizidium affluens* and *Z. planktonicum* Two Chytrids Parasitizing the Diatom *Asterionella formosa*. *Can. J. Bot.*, 66: 1054-1067.
- Becker E.W., 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press.
- Beszteri B., Acs E., Makk J., Kovac G., Marialigeti K. ve Kiss K.T., 2001. Phylogeny of Six Naviculoid Diatoms Based on 18S rDNA Sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 1581-1586.
- Bica A., Barbu-Tudoran L., Druga B., Coman C., Nicoara A., Szöke-Nagy T. ve Dragoş N., 2012. *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) from Romanian Freshwaters: Coenobial Morphology and Molecular Taxonomy Based on the ITS2 of New Isolates. *Annals of Romanian Society for Cell Biology*, 1:16-28.
- Bold H. C. ve Wynne M.J., 1985. *Introduction to the Algae, Structure and Reproduction*. (Second Ed.), New Jersey. 720 p.
- Bold H.C., 1942. The Cultivation of Algae. *The Botanical Review III* (2): 69-138.



- Boyer S.L., Flechtner V.R. ve Johansen J.R., 2001. Is the 16S–23S rRNA Internal Transcribed Spacer Region a Good Tool for Use in Molecular Systematics and Population Genetics? A Case Study in Cyanobacteria. *Mol. Biol. Evol.*, 18(6):1057-1069.
- Bridge P.D., Spooner B.M. ve Roberts P.J., 2005. The Impact of Molecular Data in Fungal Systematics. *Advances in Botanical Research*, 42: 33-67.
- Bruder K. ve Medlin L.K., 2007. Molecular Assessment of Phylogenetic Relationships in Selected Species/Genera in the Naviculoid Diatoms (Bacillariophyta). I. The genus *Placoneis*. *Nova Hedwigia*, 85: 331-352.
- Buchheim M.A., Sutherland D.M., Schleicher T., Förster F. ve Wolf M., 2012. Phylogeny of Oedogoniales, Chaetophorales and Chaetopeltidales (Chlorophyceae): Inferences from Sequence-Structure Analysis of ITS2. *Annals of Botany*, 109:109-116
- Burja A.M., Tamagnini P., Bustard M.T. ve Wright P.C., 2001. Identification of the Green Alga, *Chlorella vulgaris* (SDC1) Using Cyanobacteria Derived 16S rDNA Primers: Targeting the Chloroplast. *FEMS Microbiology Letters*, 202 (2): 195-203.
- Casamatta D.A., Johansen J. R., Vis M., L. ve Broadwater S. T., 2005. Molecular and Morphological Characterization of Ten Polar and Near-Polar Strains within the Oscillatoriales (Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 41 (2):421-438.
- Casamatta D.A., Vis M.L. ve Sheath R.G., 2003. Cryptic Species in Cyanobacterial Systematics: A Case Study of *Phormidium retzii* (Oscillatoriales) Using RAPD Molecular Markers and 16S rDNA Sequence Data. *Aquatic Botany*, 77: 295–309.
- Castlebury L.A. ve Carris K.V., 2005. Phylogenetic Analysis of *Tilletia* and Allied Genera in order Tilletiales (Ustilaginomycetes; Exobasidiomycetidae) Based on Large Submit Nuclear rDNA Sequences. *Mycologia*, 97: 888-900.
- Caswell M. ve Zilberman D., 2000. *Algoculture*. Economic Research Service, USDA Department of Agricultural and Resource Economics, University of California at Berkeley: 1-10.
- Collins F.S., Morgan M. ve Patrinos A., 2003. The Human Genome Project: Lessons from Large-Scale Biology. *Science*, 300:286-290.
- Desikachary T. V., 1959. Cyanophyta. ICAR Monographs on Algae Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, 686 pp.
- El Semary N.A., Ghazy S.M. ve Abd El Naby M.M., 2009. Investigating the Taxonomy and Bioactivity of an Egyptian Chlorococccum Isolate. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3:1540-1551.

- Elster J.H. ve Ohle W., 1982. *Das Phytoplankton Des Süßwassers, Teil: 8 Conjugatophyceae*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuehhandlung. Stuttgart. 543 pp.
- Ergüden D., 2007. Türkiye Denizlerindeki Tirsilerin (*Alosa* spp.) Moleküler Sistematiği, Su Ürünleri A.B.D. (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Ettl H., Gerloff J., Heynig H., ve Mollenhauer D., 1985. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Band 1. Chrysophyceae und Haptophyceae. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 515 pp.
- Fawley M.W., Dean M.L., Dimmer S.K. ve Fawley K.P., 2005. Evaluating the Morphospecies Concept in the Selenastraceae (Chlorophyceae, Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 42:142-154.
- Fawley M.W. ve Fawley K.P, 2004. A Simple and Rapid Technique for the Isolation of DNA from Microalgae. *J. Phycol.*, 40: 223-225.
- Fawley M.W., Fawley K.P. ve Hegewald E., 2011. Taxonomy of *Desmodesmus serratus* (Chlorophyceae, Chlorophyta) and Related Taxa on the Basis of Morphological and DNA Sequence Data. *Phycologia*, 50: 23-56.
- Fenical W. ve Norris J.N., 1975. Chemotaxonomy in Marine Algae: Chemical Separation of Some *Laurencia* Species (*Rhodophyta*) from the Gulf of California. *Journal of Phycology*, 11(1):104-108.
- Freeman S. ve Herron J.C., 1999. Evrimsel Analiz. Palme Yayıncılık, Ankara, 28-29, 438-449,708 s.
- Gentleman R.C., Carey V.J., Bates D.M., Bolstad B., Dettling M., Dudoit S., Ellis B., Gautier L., Ge Y., Gentry J., Hornik K., Hothorn T., Huber W., Iacus S., Irizarry R., Leisch F., Li C., Maechler M., Anthony J Rossini A.J., Sawitzki G., Smith C., Smyth G., Tierney L., Yang J.Y.H. ve Zhang J., 2004. Bioconductor: Open Software Development for Computational Biology and Bioinformatics. *Genome Biology*, 5(10):R80.
- Giner J.L., Zhao H., Boyer G.L., Satchwell M.F. ve Andersen R.A., 2009. Sterol Chemotaxonomy of Marine Pelagophyte Algae. *Chem Biodivers*, 6(7):1111-30.
- Gontcharov A.A., 2008. Phylogeny and Classification of Zygnematophyceae (Streptophyta): Current State of Affairs. *Fottea*, 8(2):87-104.
- Guiry M.D., 2012. How Many Species of Algae Are There?. *J. Phycol.* 48, 1057-1063.
- Gülbitti-Onarıcı S., 2003. Protein and DNA in Systematic Biology. *Turkish Journal of Biology*, 27: 47-55.
- Güner H. ve Aysel V., 1999. *Tohumusuz Bitkiler Sistematiği I: Algler*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Serisi No:108, İzmir. 1-2.

- Hašler P., Dvořák P., JoHansen J.R., Kitner M., OnDřej V. ve Poulíčková A., 2012. Morphological and Molecular Study of Epipelagic Filamentous Genera *Phormidium*, *Microcoleus* and *Geitlerinema* (Oscillatoriales, Cyanophyta/Cyanobacteria). *Fottea*, 12(2): 341–356.
- Hayama M., Nakada T., Hamaji T. ve Nozaki H., 2010. Morphology, Molecular Phylogeny and Taxonomy of *Gonium maiaprilis* sp. nov. (Goniaceae, Chlorophyta) from Japan. *Phycologia*, 49 (3): 221-234.
- Hayes P.K., El Semary N.A. ve Sánchez-Baracaldo P., 2007. The Taxonomy of Cyanobacteria: Molecular Insights into a Difficult Problem. In: Brodie J., Lewis J., Eds, *Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics*, Taylor & Francis, CRC Press, 93-101.
- Hegevald E.H., 1997. Taxonomy and Phylogeny of *Scenedesmus*. *The Korean Journal of Phycology*, 12: 235-246.
- Hegewald E. ve Wolf M., 2003. Phylogenetic Relationships of *Scenedesmus* and *Acutodesmus* (Chlorophyta, Chlorophyceae) as Inferred from 18S rDNA and ITS-2 Sequence Comparisons. *Plant Systematic and Evolution*, 241:185-191.
- Hegewald E., Wolf M., Keller A., Friedl T. ve Krienitz L., 2010. ITS2 Sequence-structure phylogeny in the Scenedesmaceae with Special Reference to *Coelastrum* (Chlorophyta, Chlorophyceae), Including the New Genera *Comasiella* and *Pectinodesmus*. *Phycologia*, 49 (4): 325-335.
- Hegewald E., Bock C. ve Krienitz L., 2013. A Phylogenetic Study on Scenedesmaceae with the Description of a New Species of *Pectinodesmus* and the New Genera *Verrucodesmus* and *Chodatodesmus* (Chlorophyta, Chlorophyceae). *Fottea*, 13(2): 149-164.
- Hein J., 1990. Unified Approach to Aligment and Phylogenies, *Methods of Enzymology*, 183: 626-645.
- Hou Y., Liang W., Zhang L., Cheng S., He F. ve Wu Z., 2011. Freshwater Algae Chemotaxonomy by High-performance Liquid Chromatographic (HPLC) Analysis. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*, 5(1):84-91.
- Howard B.M., Nonomura A.M. ve Fenical W., 1980. Chemotaxonomy in Marine Algae: Secondary Metabolite Synthesis by *Laurencia* in unialgal culture. *Biochemical Systematics and Ecology*, 8(4):329-336.
- Huber-Pestalozzi G., 1955. *Das Phytoplankton des Süßwassers, 4. Teil, Euglenophyceen*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuehhandlung. Stuttgart.

- Huss V.A.R., Frank C., Hartmann E.C., Hirmer M., Kloboucek A., Seidel B.M., Wenzeler P. ve Kessler E., 1999. Biochemical Taxonomy and Molecular Phylogeny of the Genus *Chlorella* Sensu Lato (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 35 (3): 587-598.
- John D.M., Whitton B.A. ve Brook A.J., 2003. The Freshwater Algal Flora of the British Isles: An Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae. *The Natural History Museum and the British Phycological Society*, Cambridge University Press, London. 702 p.
- Kartavtsev Y.P., Jung S.O., Lee Y.M., Byeon H.K. ve Lee J.S., 2007. Complete Mitochondrial Genome of the Bullhead Torrent Catfish, *Liobagrus Obesus* (Siluriformes, Amblycipididae): Genome Description and Phylogenetic Considerations Inferred from the Cyt B and 16S rRNA Genes, *Gene*, 396(1):13-27.
- Kesici K., Tüney İ., Zeren D., Güden M. ve Sukatar A., 2013. Morphological and Molecular Identification of Pennate Diatoms Isolated from Urla-Izmir, Coast of Aegean Sea. *Turkish Journal of Biology*, 37:530-537.
- Kılıçoğlu M.Ç. ve Özkoç İ., 2008. Fungal Sistematikteki Moleküler Gelişmeler, *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1):65-72.
- Klug W.S. ve Cummings R.M., 2003. *Genetik*, Öner, C. (Ed.), Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kochieva E.Z., Khussein I.A., Legkobit M.P. ve Khadeeva N.V., 2002. The Detection of Genome Polymorphism in *Stachys* Species Using RAPD. *Russian Journal of Genetics*, 38(5):516.
- Komárek J. ve Fott B., 1983. Die Binnengewässer Band XVI Das Phytoplankton des Süßwassers 7. Teil: Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chlorococcales. *E. Schweizerbart'sche Verlagsbuehhandlung*. Stuttgart. 1044 pp.
- Komárková J., Jezberová J., Komárek O. ve Zapomělová E., 2010. Variability *Chroococcus* (Cyanobacteria) Morphospecies with regard to Phylogenetic Relationships. *Hydrobiologia*, 639:69-83.
- Koray T., 2002. Denizel Fitoplankton, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 228s.
- Krammer K. ve Lange-Bertalot H., 1991a. *Bacillariophyceae*. (Centrales, Fragillariaceae, Eunoticeae). In Ettl H., Gerloff J., Heynig, H. ve Mollenhauer, D.. Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Teil 3., Gustav Fischer Verlag Stuttgart. 576 pp.
- Krammer K. ve Lange-Bertalot H., 1991b. *Bacillariophyceae*. (Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu *Navicula* (Lineolatae) und *Gomphonema*). In: Ettl, H., Gartner, G., Gerloff, J., Heynig, H., Mollenhauer, D.. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band. 2. Teil 4., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 437 pp.

- Krammer K. ve Lange-Bertalot H., 1999a. *Bacillariophyceae*. (Naviculaceae). In: Ettl H., Gerloff J., Heynig H., ve Mollenhauer D.. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Band 2. Teil 1., Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin. 876 pp.
- Krammer K. ve Lange-Bertalot H., 1999b. *Bacillariophyceae*. (Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae). In Ettl H., Gerloff J., Heynig, H. ve Mollenhauer, D. Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2. Teil 2., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-Newyork. 596 pp.
- Krienitz L., Ustinova I., Friedl T. ve Huss V.A.R., 2001. Traditional Generic Concepts Versus 18S rRNA Gene Phylogeny in the Green Algal Family Selenastraceae (Chlorophyceae, Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 37 (5): 852-865.
- Krienitz L. ve Bock C., 2012. Present State of the Systematics of Planktonic Coccoid Green Algae of Inland Waters. *Hydrobiologia*, 698:295-326.
- Lee R.E., 2008. *Phycology*, Cambridge University Press, The Edinburgh Building, CambridgeU.K., 33-73 p.
- Leliaert F., Smith D.R., Moreau H., Herron M. D., Verbruggen H., Delwiche C.F. ve De Clerck O., 2012. Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31:1-46.
- Lin T., Lin Y.ve Ishiki K., 2005. Genetic Diversity of *Dimocarpus Longan* in China Revealed by Aflp Markers and Partial RbcL Gene Sequences. *Scientia Horticulturae*, 103(4):489.
- Liu Y, Wang Z., Lin S., Yu G. ve Li R., 2013. Polyphasic Characterization of *Planktothrix spiroides* sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria), a Freshwater Bloom-forming alga Superficially Resembling *Arthrospira*. *Phycologia*: 52(4): 326-332.
- Lyra C., Suomalainen S., Gugger M., Vezie C., Sundman P., Paulin L. ve Sivonen K., 2001. Molecular Characterization of Planktic Cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 513-526.
- Mann D.G.ve Evans K.M., 2007. Molecular Genetics and the Neglected art of Diatomics. In: Brodie J., Lewis J., Eds, *Unravelling the algae:the past, present, and future of algal systematics*, Taylor & Francis, CRC Press, 231-266.
- Mayden R.L. ve Wiley O.E., 1992. The Fundamentals of Phylogenetic Systematics. In R. L. Mayden, ed. *Systematics, Historical Ecology, and North American Freshwater Fishes*. Stanford, CA: Stanford University Press, 114-185.

- McLachlan J., 1973. *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge Press, ISBN:0 521 20049 0: 25-53.
- Nozaki H., Ott F.D. ve Coleman A.W., 2006. Morphology, Molecular Phylogeny and Taxonomy of Two New Species of *Pleodorina* (Volvoceae, Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 42:1072-1080.
- Nübel U., Garcia-Pichel F. ve Muyzer G.,1997. PCR Primers to Amplify 16S rRNA Genes from Cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol.*, 63(8): 3327-3332.
- Oh H., Cheon J., Lee J., Hur S.B. ve Ki J., 2010. Nuclear rDNA Characteristics for DNA Taxonomy of Centric Diatom *Chaetoceros* (Bacillariophyceae). *Algae*, 25 (2): 65-70.
- Özkul K., 2008. Uzungöl ve Cernek Gölü (Bafra, Samsun) Yüzey Tabakasından Tek Hücreli Siyanobakterilerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu Üzerine Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Öztürk A., 2011. Çanakkale Boğazı'nda (Türkiye) Yayılış Gösteren Bazı *Ceramium* Roth Türlerinin Moleküler Sistematiği, (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Palinska K. A., Deventer B., Hariri K. ve Łotocka M. 2011. A Taxonomic Study on Phormidium-group (Cyanobacteria) Based on Morphology, Pigments, RAPD Molecular Markers and RFLP Analysis of the 16S rRNA Gene Fragment, *Fottea*, 11(1):41-55.
- Pauling L. ve Corey R.B., 1951. Configurations of Polypeptide Chains with Favored Orientations Around Single Bonds: Two New Pleated Sheets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 37(11): 729-740.
- Prasad B.N. ve Dutta S. 1970a. *Spirogyra varifoveolata* sp. nov. and a New Variety of *Spirogyra* from India. *J. Ind. Bot. Soc.*, XLIX (1-4) : 164-168.
- Prasad B.N. ve Dutta S. 1970b. Two New Taxa of *Spirogyra*. *Hydrobiol.*, 36 (1): 27-31.
- Prescott G.W., 1973. *Algae of the Western Great Lakes Area*, W.M.C. Brown Company Publishers. 977 pp.
- Pringsheim E.G., 1946. *Pure Cultures of Algae*. Cambridge Press.
- Pröschold T. ve Leliaert F., 2007. Systematics of the Green Algae: Conflict of Classic and Modern Approaches In: Brodie J., Lewis J., Eds, *Unravelling the Algae:the Past, Present, and Future of Algal Systematics*, Taylor & Francis, CRC Press, 123-153.

- Rao B.G.S., Mantha S. ve Rao M.U., 1978. Chromosome Behaviour at Meiosis and Its Bearing on the Cytotaxonomy of *Ceramium* Species. *Botanica Marina*, 21(2):123-129.
- Reyes-Prieto A., Yoon H.S. ve Bhattacharya D., 2006. Phylogenomics and its Growing Impact on Algal Phylogeny and Evolution. *Algae*, 21(1): 1-10.
- Richlen M.L. ve Barber P.H., 2005. A Technique for the Rapid Extraction of Microalgal DNA from Single Live and Preserved Cells. *Molecular Ecology Notes*, 5: 688-691.
- Round F.E., Crawford R.M. ve Mann D.G., 1990. *The Diatoms, Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press, 747 p.
- Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A. ve Arnheim N., 1985. Enzymatic Amplification of Beta-globin Genomic Sequences and Restriction site Analysis for Diagnosis of Sickle cell Anemia. *Science*, 230 (4732): 1350-1354.
- Saitou N. ve Nei M., 1987. The Neighbor-joining Method: a New Method for Reconstruction Phylogenetic Trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425.
- Sharma O.P., 1986. Textbook of Algae. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, 67-72.
- Sharma S., Rustgi S., Balyan H.S. ve Gupta P.K., 2002. Internal Transcribed Spacer (ITS) Sequences of Ribosomal DNA of Wild Barley and Their Comparison with ITS Sequences in Common Wheat. *Barley Genetics Newsletter*, 32:38-45.
- Sims P.A., Mann D.G. ve Medlin L.K., 2006. Evolution of the Diatoms: Insights from Fossil, Biological and Molecular Data. *Phycologia*, 45(43):61-402.
- Smith G.M., 1950. *Fresh Water Algae of United State of America. Second Ed.*, Mc Graw-Hill Book Company, New York. 719 p.
- Soeder C.J. ve Hegewald E., 1989. *Scenedesmus*. In Borowitzka, M.A. ve Borowitzka L.J. (Eds), *Microalgal Biotechnology*, Cambridge University Press, Cambridge, 59-84.
- Sorhannus U., Gasse F., Perasso R. ve Tourancheau A.B., 1995. A Preliminary Phylogeny of Diatoms based on 28S Ribosomal RNA Sequence Data. *Phycologia*, 34(1):65-73.
- Soylu E.N. ve Gönülol A., 2011. Morphological and 18S rRNA Analysis of Coccoid Green Algae Isolated from Lakes of Kızılırmak Delta. *Turkish Journal of Biology*, 36: 247-254.
- Starmach K., 1966. *Flora Słodkowodna Polski, Cyanophyta-Sinice Glaucophyta-Glaukofity*, Polska Akademia Nauk Instytut Botaniki, Panstwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 807 p.

- Starmach K., 1995. Freshwater Algae of the Thala Hills Oasis (Enderby Land, East Antarctic). *Polish Polar Research*, 16(3-4): 113-148.
- Su B., Wang Y.X., Lan H., Wang W. ve Zhang Y., 1999. Phylogenetic Study of Complete Cytochrome B Genes in Musk Deer (Genus *Moschus*) Using Museum Samples, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 12(3):241.
- Theriot E.C., Ashworth M., Ruck E., Nakov T. ve Jansen R.K., 2010. A Preliminary Multigene Phylogeny of the Diatoms (Bacillariophyta):Challenges for Future Research. *Plant Ecology and Evolution*, FastTrack: 278–296.
- Thompson J.D., Higgins D.G. ve Gibson T.J., 1994. ClustalW: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Alignment Through Sequence Weighting. *Nucleic Acid Research*, 22: 4673-4680.
- Tomaselli L., 2004. *The Microalgal Cell, Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, Richmond A. (Eds.), Blackwell Publishing Company, U.K.,566p.
- Turan C., 2000. Stok ve Tür Tespitinde Kullanılan Moleküler Genetik Teknikler. IV. Su Ürünleri Sempozyumu, Erzurum,151-152.
- Turan C., 2002. *Genetik*. Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitabı, Yayın No: 2, Hatay, 169 s.
- Tüney İ., 2011. Kuzey Ege Denizinde Bulunan *Cystoseira* Türlerinin Moleküler Yapılarının Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi, (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Van Den Hoek C., Mann D.G. ve Jahns H.M., 1995. *Algae: An Introduction to Phycology*, Cambridge University Press, New York, USA.
- Vander Stappen J., Van Campenhout S., Gama López S. ve Volckaert G., 1998. Sequencing of the Internal Transcribed Spacer Region ITS1 as a Molecular Tool Detecting Variation in the *Stylosanthes guianensis* Species Complex, *Theor Appl Genet*, 96:869-877.
- Van Hannen E.J., Fink P. ve Lurling M.A., 2002. A revised Secondary Structure Model for the Internal Transcribed Spacer 2 of the Green Algae *Scenedesmus* and *Desmodesmus* and Its Implication for the Phylogeny of these Algae. *European Journal of Phycology*, 37:203-208.
- Vanormelingen P., Hegewald E., Braband A., Kitschke M., Friedl T., Sabbe K. ve Vyverman W., 2007. The Systematics of a Small Spineless *Desmodesmus* Species, *D. costato-granulatus* (Sphaeropleales, Chlorophyceae), Based on ITS2 rDNA



- Sequence Analyses and Cell Wall Morphology. *Journal of Phycology*, 43 (2):378-396.
- Wallace D.C., 2000. Mitochondrial Defects in Cardiomyopathy and Neuromuscular Disease, *Am. Hearth J.*, 139,70.
- Wallace D.C., 2005. A Mitochondrial Paradigm of Metabolic and Degenerative Diseases, Aging, and Cancer: A Dawn for Evolutionary Medicine, *Annual Review of Genetics*, 39, 359.
- Weiver T.E, Stocking C. R., Barbour M. G. ve Rost T. L., 1982. *Botany, An Introduction to Plant Biology*, 6nd. Ed., John Wiley and Sons, Singapore.
- Welsh J., 1990. Fingerprinting Genomes Using PZR with Orbitaly Primers. *J. Nuc. Acids Research*, 18, 7213.
- Williams D.M. ve Kocielek P., 2007. Pursuit of a Natural Classification of Diatoms: History, Monophyly and the Rejection of Paraphyletic Taxa. *Eur. J. Phycol.*, 42(3): 313-319.
- Wilmotte A., 2004. *Molecular Evolution and Taxonomy of the Cyanobacteria*. In: Bryant, D.,A. Ed., *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow. 2-26.
- Wilson K.M., Schembri M.A., Baker P.D. ve Saint C.P., 2000. Molecular Characterization of the Toxic Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* and Design of a Species-Specific PCR, *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 332-338.
- Yaylacı Ö.K., Koyuncu, O., Öztürk, D. ve Tokur, S., 2009. Bellevalia Clusiana Griseb. (Hyacinthaceae)'nin Sitotaksonomik Özellikleri, Çankaya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, *Journal of Arts and Sciences*,12.
- Yüksel K., Demirel Z., Koçyiğit A. ve Sukatar A., 2009. İzmir İlinde Bulunan Termal Sularda Gelişen Bazı Termofilik Mavi-Yeşil Alglerin (Siyanobakterilerin) İzolasyonu ve Moleküler Tayini, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 26(4): 267-270.
- Zuccarello G.C. ve Lokhorst G.M., 2005. Molecular Phylogeny of the Genus *Tribonema* (Xanthophyceae) Using *rbcL* Gene Sequence Data: Monopoly of Morphologically Simple Algal Species. *Phycologia*, 44: 384-392.

<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip/software.html>

<http://www.algaebase.org/browse/taxonomy/?id=86701>

<http://80.251.40.59/science.ankara.edu.tr/duygu/KEMOTAXONZmb.htm>

[http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus\\_id=51057&session=abv4:8DC401E41db0d34B62sRS3D62CAE](http://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=51057&session=abv4:8DC401E41db0d34B62sRS3D62CAE)

## ÇİZELGELER

## Sayfa No

Çizelge 2.1. Her şube ve sınıftaki alglerin sayıları, yaygın isimleri, Algaebase veri tabanındaki sayılar, tanımlanmış ve tanımlanmayı bekleyen alglerin sayıları.....	7
Çizelge 3.1. Örnekleme noktaların isimleri ve koordinatları.....	31
Çizelge 3.2. İzolasyonu yapılan takson ve elde edildiği örnekleme noktası.....	33
Çizelge 3.3. İzolasyonu yapılan taksonların sistematik kategorizasyonu.....	34
Çizelge 3.4. Sıvı kültür ortamlarının besin kompozisyonu.....	37
Çizelge 3.5. İzolasyonu yapılan taksonlar ve bırakıldıkları kültür ortamı.....	38
Çizelge 3.6. PZR analizinde siyanobakteri örnekleri için kullanılan primerler ve erime sıcaklıkları.....	40
Çizelge 3.7. PZR analizinde ökaryotik örnekler için kullanılan primerler ve erime sıcaklıkları.....	41
Çizelge 4.1. Örnekleme yapılan suyun fiziksel parametreleri.....	42
Çizelge 4.2. İzolasyonu yapılan taksonlar.....	43
Çizelge 4.3. Örneklerden elde edilen DNA miktarı ve saflık oranları.....	55
Çizelge 4.4. Örneklerin BLAST sonuçları değerleri.....	82
Çizelge 4.5. Morfolojik tayin ile moleküler tayin sonucu elde edilen verilerin karşılaştırılması ve NCBI'dan alınan katılım numaraları.....	83

## ŞEKİLLER

## Sayfa No

Şekil 2.1. PZR yöntemi.....	14
Şekil 2.2. ITS (Internal Transcribed Spacer) Bölgesi.....	16
Şekil 2.3. 1No.lu taksonunun blast sorgulama sonuç sayfası.....	20
Şekil 2.4. Filogenetik ağaç çizimi.....	23
Şekil 2.5. Vertikal ağaçlar.....	24
Şekil 2. 6. Köksüz ağaç.....	25
Şekil 2.7. Filogenetik ağaç çiziminde kullanılan programlar.....	25
Şekil 3.1. Çalışma bölgesi haritası ve örnekleme noktaları.....	32
Şekil 4.1. Cyanobacteria grubu üyelerinin ışık mikroskobu görüntüleri.....	48
Şekil 4.2. Heterokontophyta grubu üyelerinin ışık mikroskobu görüntüleri.....	49
Şekil 4.3. Chlorophyta grubuna ait <i>Scenedesmus</i> cinsi üyelerinin ışık mikroskobu görüntüleri.....	50
Şekil 4.4. Chlorophyta grubuna ait diğer mikroalglerin ışık mikroskobu görüntüleri.....	51
Şekil 4.5. Chlorophyta grubuna ait diğer mikroalglerin ışık mikroskobu görüntüleri.....	52
Şekil 4.6. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 18, 22, 23, 24 No.lu örneklerden ITS1-ITS4 primer çifti ile elde edilen PZR sonucu.....	56
Şekil 4.7. 25, 10, 11 No.lu örneklerden ITS1-ITS4 primer çifti ile elde edilen PZR sonucu.....	57
Şekil 4.8. 12, 13, 14, 16, 17, 21 No.lu örneklerden Cya 359F- Cya 781Rb primer çifti ile elde edilen PZR sonucu.....	57
Şekil 4.9. 1 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	68
Şekil 4.10. 2 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	69
Şekil 4.11. 3 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	70
Şekil 4.12. 4 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	71

Şekil 4.13. 5 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	72
Şekil 4.14. 6 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	73
Şekil 4.15. 7 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	74
Şekil 4.16. 8 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	75
Şekil 4.17. 11 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	75
Şekil 4.18. 12 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	76
Şekil 4.19. 13 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	77
Şekil 4.20. 14 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	77
Şekil 4.21. 18 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	78
Şekil 4.22. 21 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	78
Şekil 4.23. 22 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	79
Şekil 4.24. 23 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	79
Şekil 4.25. 24 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	80
Şekil 4.26. 25 No.lu örneğin GenBank'daki veriler ile karşılaştırılması sonucu elde edilen grafik.....	81
Şekil 4.27. BLAST analizi yapılabilen örnek dizilerinin Neighbour Joining (NJ) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).....	84
Şekil 4.28. BLAST analizi yapılabilen örnek dizilerinin UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100)...	85

Şekil 4.29. BLAST analizi yapılabilen *Scenedesmus* cinsi üyelerinin dizilerinin Neighbour Joining (NJ) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).....85

Şekil 4.30. BLAST analizi yapılabilen *Scenedesmus* cinsi üyelerinin dizilerinin UPGMA (Unweighted Pair Group Method Algorithm) algoritması ile elde edilen filogenetik ağacı (Bootstrap değeri:100).....86

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER:

Soyadı: AKGÜL  
Adı: Füsun  
Doğum Yeri ve Tarih.: ÇANAKKALE 24.03.1981  
Bildiği Yabancı Dil: İngilizce

### EĞİTİM DURUMU:

**İlkokul:** Çanakkale Cevatpaşa İlkokulu 1992  
**Ortaokul:** Çanakkale Merkez Ortaokulu 1995  
**Lise:** Çanakkale İbrahim Bodur Lisesi 1999  
**Lisans:** İzmir Ege Üniversitesi  
Fen Fakültesi, Biyoloji Böl. 2003  
**Yüksek Lisans:** Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD 2006

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

#### Yayımlar:

- 1)Kocum E., **Akgül F.** 2009. Evaluation Of Environmental Degradation in The Karamenderes River in Relation to Anthropogenic Stressors. *Fresenius Environmental Bulletin*. 18:762-769.
- 2)Erduğan H., Aysel V., Dural B., Akgül R., Balıkçı Ö., Miçooğulları C., **Akgül F.** 2009. A New Record for *Caulerpa mexicana* Sonder ex Kützing from Eastern Mediterranean Coast of Turkey. *J. Black Sea/Mediterranean Environment*, 15: 5-13.
- 3) Akgül R., Kızılkaya B., **Akgül F.**, ve Doğan F., 2012. Biosorption of Heavy Metal Ions from Aqueous Solutions by Nonliving *Scenedesmus quadricauda* Biomass. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21 (10): 2922-2928.
- 4) Akgül R., Bican Süerdem T., **Akgül F.**, 2013. Antimicrobial Activities of Some Marine Algae and Some Cyanobacteria From Çanakkale (Turkey), *Journal of Algal Biomass Utilization*, 4 (3):35-40.

#### Bildiriler:

- 1) Kocum E., **Akgül F.** Monitoring of Nutrient Concentrations and Changes in Biomass of Planktonic Primary Producers in Karamenderes (oral presentation). II. International

Environmental Protection Symposium 08-10.09.2005 / Kütahya Bildiri Özetleri Kitabı sf.: 23.

- 2) Akgül R., **Akgül F.**, Kızılkaya B., 2012. *Nostoc spongiaeforme* Alginin Yağ Asidi ve Amino Asit Kompozisyonu. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kromatografi Kongresi, TOKAT, 6-9 Haziran 2012.
- 3) Akgül R., **Akgül F.**, Kızılkaya B., 2012. *Batrachospermum gelatinosum* Alginin Yağ Asidi ve Amino Asit Kompozisyonu. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kromatografi Kongresi, TOKAT, 6-9 Haziran 2012.
- 4) **Akgül F.**, Akgül R., Kızılkaya B., 2012. *Phyllophora crista* Alginin Yağ Asidi ve Amino Asit Kompozisyonu. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kromatografi Kongresi, TOKAT, 6-9 Haziran 2012.
- 5) Kızılkaya B., **Akgül F.**, Akgül R., 2012. *Ceramium rubrum* var. *barbatum* Alginin Yağ Asidi ve Amino Asit Kompozisyonu. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Kimya Bölümü, Kromatografi Kongresi, TOKAT, 6-9 Haziran 2012.
- 6) Bican Süerdem T., Akgül R., **Akgül F.**, 2012. Çanakkale İç Sularından Toplanan Bazı Alg Örneklerinin Antifungal Aktiviteleri Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 21. Biyoloji Kongresi, İZMİR, 3-7 Eylül 2012.
- 7) **Akgül F.**, Akgül R., Bican Süerdem T., 2012. Çanakkale Boğazı'ndaki Bazı Kahverengi Alglerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 21. Biyoloji Kongresi, İZMİR, 3-7 Eylül 2012.
- 8) **Akgül F.**, Akgül R., Kızılkaya B., 2012. *Lemanea fluviatilis* Alginin Yağ Asidi ve Amino Asit Kompozisyonu. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 21. Biyoloji Kongresi, İZMİR, 3-7 Eylül 2012.
- 9) Akgül R., Bican Süerdem T., **Akgül F.**, 2012. Siyanobakteri Üyesi Bazı Alglerin Antibakteriyel Aktiviteleri. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 21. Biyoloji Kongresi, İZMİR, 3-7 Eylül 2012.
- 10) Kızılkaya B., Akgül R., **Akgül F.**, 2012. *Rivularia bullata* Alginin Ham Protein, Toplam Yağ ve Amino Asit Kompozisyonu. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 21. Biyoloji Kongresi, İZMİR, 3-7 Eylül 2012.
- 11) Erduğan H., Aysel V., Dural B., Akgül R., **Akgül F.**, Türker N., Öztürk M., Fırat A. R., 2012. Çanakkale Boğazındaki Bazı Makroalgler Üzerinde Yayılış Gösteren Epifitik Algler. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, 21. Biyoloji Kongresi, İZMİR, 3-7 Eylül 2012



**Proje Deneyimleri:**

“Ergene Havzası (Trakya, Türkiye) İç Sularından İzole Edilen Bazı Mikro Alglerin Moleküler Sistematiği”. TÜBİTAK-TBAG, 211T181, Süre: Nisan 2012-Nisan 2013.

Yürütücü: Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ERDUĞAN, Bursiyer: **Fusun AKGÜL**.

**İŞ DENEYİMİ:**

1)Çanakkale Final Dergisi Dershanesi Biyoloji Öğretmenliği (2003-2006)

2)Çanakkale Uğur Dershanesi Biyoloji Öğretmenliği (2007-2011)

3) Kastamonu Sınav Dergisi Dershanesi Biyoloji Öğretmenliği (2012-Halen)

**İLETİŞİM:**

**E-posta:** [fusun.akgul@hotmail.com](mailto:fusun.akgul@hotmail.com)

**Tel:** 0 505 299 24 61