T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Microcystis aeruginosa (KÜTZİNG) KÜTZİNG 1846 GELİŞİMİ ÜZERİNE AMPİSİLİN, GENTAMİSİN VE SİPROFLOKSASİN ANTİBİYOTİKLERİNİN ETKİLERİ

DOĞAN CAN MANAVOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: DOÇ. DR. BURAK ÖTERLER

EDİRNE-2021

Doğan Can MANAVOĞLU'nun hazırladığı "***Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846 Gelişimi Üzerine Ampisilin, Gentamisin ve Siprofloksasin Antibiyotiklerinin Etkileri"** başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoloji Anabilim Dalında bir Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Doç. Dr. Burak ÖTERLER	……
Prof. Dr. Belgin ELİPEK	……
Doç. Dr. Mehmet ÇİÇEK	……

Tez Savunma Tarihi: 18/02/2021

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

(Doç. Dr. Burak ÖTERLER)
Tez Danışmanı ..……..

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Doç.Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

18/02/2021
Doğan Can MANAVOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing 1846 Gelişimi Üzerine Ampisilin, Gentamisin ve Siprofloksasin Antibiyotiklerinin Etkileri

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışma kapsamında, Ampisilin, Gentamisin ve Siprofloksasin antibiyotiklerinin bir siyanobakteri türü olan *Microcystis aeruginosa*'nın gelişimi üzerindeki etkilerini tespit etmek amacıyla laboratuvar ortamında araştırmalar yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, BG-11 besiyerinde üretilen kültürler, 23-25 ^{o}C'de, 50 $\mu molm^{-2}s^{-1}$ ışık yoğunluğunda, 16/8 aydınlık/karanlık döngüsü altındaki iklim kabinine yerleştirilmiş ve deneyler aynı koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Yapılan ön deneyler neticesinde antibiyotik miktarı siprofloksasin, ampisilin ve gentamisin $1024\mu gL^{-1}$ olacak şekilde başlatılarak %50 oranında dilüe şeklinde antibiyotik miktarları azaltılmıştır. Tüm deneyler 3 tekrarlı ve 24 kuyulu plakalarda mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır. Seçilen antibiyotiklerin *M. aeruginosa* kültürlerinin gelişimi üzerindeki etkilerini gözlemlemek amacıyla çalışma süresinde 3 günde bir örnek alınarak 15 gün boyunca spektrofotometrik hücre yoğunlukları, klorofil-*a* miktarları ve mikroskobik olarak hücre sayımları yapılmıştır. Çalışmanın sonunda, uygulanan en düşük dozlarda siprofloksasin için klorofil-*a* miktarının %52, hücre sayısının %36 oranında; ampisilin için klorofil-*a* miktarının %41, hücre sayısının %33 oranında ve gentamisin için klorofil-*a* miktarının %42, hücre sayısının %20 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada *M. aeruginosa*'ın gelişimini yavaşlatan antibiyotiklerin etki sırasına göre; siprofloksasin, ampisilin ve gentamisin oldukları belirlenmiştir.

Yıl : 2021

Sayfa Sayısı : 73

Anahtar Kelimeler : *Microcystis aeruginosa*, Ampisilin, Gentamisin, Siprofloksasin, Antimikrobiyal aktivite.

Master Thesis

Effects of Ampicillin, Gentamicin and Ciprofloxacin Antibiotics on the Development of *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing 1846

Trakya University Institute of Science

Biology of Department

ABSTRACT

In this study, laboratuarial studies were performed to determine the effects of the antibiotics Ampicillin, Gentamicin and Ciprofloxacin on development of a cyanobacteria species *Microcystis aeruginosa*. For this purpose, cultures in BG-11 media were kept at 23-25 ºC in a cabinet with an 16h-8h light/dark regime provided by cool white fluorescent tubes with an illumination level of 50 $\mu mol.m^{-2}s^{-1}$, and trials were performed in the same conditions. Following pretreatments, antibiotic levels were adjusted as $1024 \mu gL^{-1}$ for Ampicillin, Ciprofloxacin and Gentamicin and further tests were performed by 50% dilutions of the antibiotics. Experiments were performed in 3 replicates in the plates including 24 holes methods. To observe the effects of the antibiotics on *M. aeruginosa* culture development, cultures were sampled once every 3 days and spectrophotometric cell counts, chlorophyll-*a* amounts and microscopic cell counts were measured. The end of the study, it was observed that chll-*a* 52%, cell count 36% at ciprofloxacin; chll-*a* 41%, cell count 33% at ampicillin and chll-*a* 42%, cell count 20% at gentamicin increasing at the smallest ratio of the antibiotics. The results showed that the antibiotics which have negative effects on development of *M. aeruginosa* was Ciprofloxacin, Ampicillin and Gentamicin, respectively.

Year : 2021

Number of Pages : 73

Keywords : *Microcystis aeruginosa*, Ampicillin, Gentamicin, Ciprofloxacin, Antimicrobial activity.

TEŞEKKÜR

Tüm tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen, tüm bilgi birikimi ve tecrübesinden yararlandığım, değerli tez danışmanım sayın Doç. Dr. Burak ÖTERLER'e, bağlı bulunduğum Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'na, laboratuar çalışmalarımı yaptığım Biyoloji Bölümü'ne, tez çalışmama verdikleri desteklerden dolayı Trakya Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Deniz ve İçsu Kaynakları Yönetimi Bölümü, İçsu Kaynakları ve Yönetimi Anabilim Dalı'na, maddi ve manevi her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

DOĞRULUK BEYANI iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
SİMGELER VE KISALTMALAR x
ÇİZELGELER VE ŞEKİLLER xi
BÖLÜM 1 1
1. GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 8
2. GENEL BİLGİLER 8
2.1 Antibiyotikler 8
2.2 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması ve Özellikleri 9
2.2.1 Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması 9
2.2.2 Etki Güçlerine Göre Sınıflandırılması 10
2.2.3 Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması 10
2.2.3.1 Beta-Laktam 10
2.2.3.2 Tetrasiklinler 10
2.2.3.3 Makrolid 11
2.2.3.4 Linkozamidler 11
2.2.3.5 Amfenikoller 12
2.2.3.6 Aminoglikozidler 12
2.2.3.7 Kinolon Grubu Antibiyotikler 12
2.2.3.8 Glikopeptid Grubu Antibiyotikler 13

2.2.3.9 Sülfonamidler ve Trimetoprim 13
2.3 Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları 14
2.3.1 Bakterilerde Doğal (İntrinsik) Direnç 14
2.3.2 Bakterilerde Kazanılmış Direnç 15
2.3.3 Antibiyotiklerin Direnç Problemi 15
2.4 Antibiyotiklerin Hedef Dışı Etkileri 16
2.5 Doğal Çevrede Bulunan Antibiyotik Kaynakları 17
2.5.1 Kanalizasyon 18
2.5.2 Tıbbi Atıklar 19
2.5.3 Endüstrideki Faaliyetler 19
2.5.4 Üretim 19
2.5.5 Ev Ürünleri 19
2.5.6 Bitkilere Püskürtülmesi 19
2.5.7 Hayvan Üretimi 19
2.6 Antibiyotiklerin Çevresel Etkileri 20
2.7 Siyanobakteriler 22
2.8 *Microcystis aeruginosa* 23
KAYNAK ARAŞTIRMASI 26
BÖLÜM 3 30
3. MATERYAL VE YÖNTEM 30
3.1 *Microcystis aeruginosa* Kültürlerinin Eldesi 30
3.2 *Microcystis aeruginosa* Kültür ve İklimlendirme Koşulları 30
3.3 Mikroorganizma Ekimi 32
3.4 Büyüme Oranı 32
3.5 Mikrodilüsyon 32
3.6 Mikroorganizmaların Sayımı, Spektorofotometre Ölçümü 33

3.7 Klorofil-*a* Tayini 34
BÖLÜM 4 37
4. BULGULAR 37
4.1 *Microcystis aeruginosa* Kültür ve Gelişimi 37
4.2 *Microcystis aeruginosa* Kültürleri Üzerine Antibiyotik Sonuçları 38
4.3 *Microcystis aeruginosa* Kültür Gelişimi Üzerinde Ampisilin'in Etkileri 38
4.3.1 Optik Yoğunluk 38
4.3.2 Klorofil-*a* 39
4.3.3 Hücre Yoğunluğu 40
4.4 *Microcystis aeruginosa* Kültür Gelişimi Üzerinde Gentamisin'in Etkileri 41
4.4.1 Optik Yoğunluk 41
4.4.2 Klorofil-*a* 42
4.4.3 Hücre Yoğunluğu 43
4.5 *Microcystis aeruginosa* Kültür Gelişimi Üzerinde Siprofloksasin'in Etkileri 44
4.5.1 Optik Yoğunluk 44
4.5.2 Klorofil-*a* 45
4.5.3 Hücre Yoğunluğu 46
BÖLÜM 5 48
5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA 48
KAYNAKLAR 53
ÖZGEÇMİŞ 61

SİMGELER VE KISALTMALAR

µL: Mikrolitre

BG-11: Blue Green Medium

Chl: Klorofil

Cm: Santimetre

Dk: Dakika

G: Gram

mL: Mililitre

Λ: Dalga boyu (nm)

ÇİZELGELER VE ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Bakteriostatik ve bakterisidal antibiyotiklerin logaritmik bakteri kültürü gelişimi (Scholar & Pratt, 2000) 8
Şekil 2.2. Su ortamında antibiyotik kaynakları (Çelebi, 2012) 18
Şekil 2.3. Tıbbi ilaçların kaynakları ve çevresel etkileri (Topal vd., 2012) 21
Şekil 2.4. Ampisilin, siprofloksasin ve gentamisin kimyasal yapıları (Hişmioğulları, 2004; Zhang, Liu, Zhang, Pan & Liu, 2018; Foti ve Giuffrè, 2020) 22
Şekil 2.5. *Microcystis aeruginosa* mikroskop görüntüsü. 24
Şekil 2.6. *Microcystis*'in popülasyon dinamiği (Köker, 2016). 25
Şekil 3.1. İklim kabini (Teknosem/TSK 500LN) 31
Şekil 3.2. BG-11 ve mikroorganizma içeren 24 kuyucuklu plaka 32
Şekil 3.3. Deneylerde kullanılan UV-mini 1240 spektrofotometre cihazı 34
Şekil 3.4. Klorofil-a tayin aşamaları (1: beher içine MgCO3 ilavesi, 2: 15 mL %80 alkol ilavesi, 3: vakum filtrasyon cihazında numune süzme işlemi, 3: GF/C Whatman filtre kâğıdındaki klorofil pigmentleri, 4: filtre kağıdının katlanarak makas ile küçük parçalara böl bölünmesi, 5: beher içinde klorofil pigmentleri içeren filte kağıdı parçaları, 6: 25 ± 1ºC karanlık ortamda 24 saat bırakılan beherler, 7: pigment ekstraksiyonu tamamlanmış numunelerin süzme işlemi). . 36
Şekil 4.1. *M. aeruginosa* kültürlerinin 30 günlük gelişim grafiği 37
Şekil 4.2. Ampisilin üzerinde 680nm değerleri 39
Şekil 4.3. Ampisilin üzerinde klorofil-*a* değerleri 40
Şekil 4.4. Ampisilin üzerinde hücre sayıları değerleri 41
Şekil 4.5. Gentamisin üzerinde 680nm değerleri 42
Şekil 4.6. Gentamisin üzerinde klorofil-*a* değerleri 43
Şekil 4.7. Gentamisin üzerinde hücre sayıları değerleri 44
Şekil 4.8. Siprofloksasin üzerinde 680nm dalga boyundaki OD değerleri 45
Şekil 4.9. Siprofloksasin üzerinde klorofil-*a* değerleri 46

Şekil 4.10. Siprofloksasin üzerinde hücre sayıları değerleri 47

Çizelge 2.1. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması (Topal, Uslu Şenel, Arslan Topal & Öbek, 2015) 9
Çizelge 2.2. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılması (Topal vd., 2015) 10
Çizelge 2.3. Bazı antibiyotiklerin çevre sularında belirlenen miktarları (Saygı, Battal, & Şahin, 2012; İkizoğlu ve Türkdoğan, 2017) 17
Çizelge 3.1. BG-11 besiyeri içeriği 30

BÖLÜM 1

1. GİRİŞ

Yakın gelecekte dünya nüfusunun yarısının su kıtlığı ile karşı karşıya kalacağı artık bilinen bir gerçektir (Özkan, Alkaya & Demirer,2008). Su sadece insanoğlunun değil, bütün canlıların yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmesi için en önemli kaynakların başında yer almaktadır. Hızlı nüfus artışı, tarım, sanayi ve teknolojinin gelişmesi sonucunda kirlilik artmakta ve bununla birlikte çevre bilincinin yeteri kadar gelişmemesi küresel ölçekte dünyada su kaynaklarının giderek kirlenmesine, azalmasına ve hatta yok olmasına neden olmaktadır (Tokatli, Köse, & Çiçek, 2014; Çiçek, Uysal, Köse, & Tokatlı,2017).

İnsan kaynaklı doğrudan veya dolaylı olarak tarımsal, evsel ve endüstriyel kullanım kaynaklı oluşan atık maddelerin sucul ekosistemlere ulaşmasıyla su kalitesinde bozulmalar olmakta ve sonucunda da su kirliliği meydana gelmektedir (Sönmez, Hisar, Karataş, Arslan, & Aras, 2008). Kentleşme, tarımsal ve sanayi kaynaklı oluşan ağır metaller, gübreler, organik maddeler ve diğer atık bileşikler yeterli arıtım yapılmadan alıcı su ortamlarına bırakılmaktadır, bu durum sonucunda da, ötrofikasyon, biyolojik birikim, artan toksisite, hipoksia ve patojen bakterilerin gelişmesine neden olabilmektedir (Nogales, Lanfranconi, Piña-Villalonga, & Bosch, 2011). Dünya genelinde ekolojik dengelerin bozulması sonucunda ise hastalık etmenleri, hayvan ve insan sağlığı için gerekli olan suyun kalitesinde bozulma ve sosyal hayatı olumsuz etkileyen problemleri doğurmaktadır. Meydana gelen bu problemlerin çözümü için ise ortam şartlarının iyileştirilmesi veya hastalıkları tedavi amacıyla bakteriler üzerinde antibiyotiklerin aşırı bir şekilde kullanılması kaçınılmaz bir hal almaktadır (Kum, Gökbulut, Akar, Kırkan, & Sekkin, 2004).

Antibiyotiklerin sucul ortamlara girişi insanlar ve hayvanlardan başlayan çevrimle olmaktadır. Bu çevrimde ilaç etken maddeleri sucul ortamlara, yeraltı su kaynaklarına ve toprağa ulaşmaktadır (Kulis, McQuillan, Chapman, Mawhinney, & Meyerhein, 2003; Türkdoğan ve Yetilmezsoy, 2009). İnsanlar ve hayvanlar tarafından çeşitli amaçlar ile kullanılan antibiyotikler bu canlıların vücutlarından çok az dönüştürülmüş halde ya da hiç değişmemiş haliyle idrar ve dışkı yoluyla kanalizasyona ve oradan da sucul ortamlara ulaşırlar (Ternes, 1998; Topal, Gülşad, Topal & Öbek, 2012). İlaç aktif maddelerinin sucul kaynaklara ulaşma noktalarını, antibiyotik üreten sanayi kuruluşları, kanalizasyon, sağlık kurumları, balık çiftlikleri gibi faaliyetler antibiyotiklerin doğaya yayılma noktalarını ve temel kaynaklarını oluşturmaktadır (Kulis vd., 2003).

Hastalıkların artışı ile tedavilerde sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin önemi ve kullanım sıklığı bazı sorunları beraberinde getirmektedir. Bunlardan en önemli olanı çoğu canlı ve yaşadığı habitatlarının antibiyotik kaynaklı gördüğü zararlardır. Bakteri hastalıklarında kullanılan antibiyotiklerin biyokimyasal mekanizmaları bilinmektedir. Bunlar bakterisit (bakterileri direkt olarak yok eden) ve bakteriyostatik (bakteri gelişmesini ve büyümesini önleyici) olan antibiyotiklerdir. Antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki etki mekanizmaları hücre zarı stabilitesini bozan, hücre duvarını, nükleik asit fonksiyonu ve protein sentezini inhibe eden etkileri sınıflandırılmaktadır. (Gülay, 2017) Antibiyotiklerin bu etki mekanizmaları, bakteriler için öldürücü doza sahip olmayan antibiyotiklerin kullanılması ile bakterilerde gelişen direnç genleri sayesinde antibiyotikler günümüzde etkinliğini kaybetmektedir. İlaç direnç şekli, doğal (intrinsik), genetik değişikler ve protein ekspresyonu değişimi şeklinde oluşabilmektedir. Direnç mekanizmaları; DNA yapısında meydana gelen doğal değişimler veya organizmalarda oluşan direncin birbiriyle gen transferi şeklindedir. İlacın etkilediği alanların değiştirilmesi, ilacın hücreye girmesini engelleyerek ilaç birikmesinin önlenmesi ve ilacın enzimatik aktivasyonlarla parçalanması diğer direnç biçimleri olarak tanımlanmıştır (Harvey, 2006). Bakterilerde oluşan direnç mekanizmaları, antibiyotiklerin etkinliğini artırılması için yeni antibiyotikler elde edilmesine ve kullanılan antibiyotiklerin doz miktarlarının artmasına neden olmuştur. Bakterilerin antibiyotiklere karşı kazandıkları direnç mekanizmalarının önüne geçilmesi ve yeni antibiyotiklerin oluşumu için günümüzde birçok bilim adamı bu konu üzerinde

çalışmaktadır. Sucul ekosistemler, kullanılan tüm antibiyotiklerin çeşitli kimyasal değişikliğe uğrayarak ulaştıkları yer oldukları için sürekli takip ve çalışılması gereken sistemlerdir. Bu nedenle sucul ekosistemlerde su ve su ürünlerinden tespiti yapılan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık konusunda sık sık çalışmalar yürütülmektedir. Böylelikle sucul sistemlerde antibiyotik dirençliliği ile ilgili veriler literatüre kazandırılmaktadır.

İnsan ve hayvan hastalıklarının tedavi edilmesinde ve büyümeyi destekleyici olarak yaygın kullanımı olan antibiyotikler, dünya çapında yaklaşık 100.000-200.000 ton arası tüketilmektedir (Yalap ve Balcıoğlu, 2008). 1996'da AB'nde ise yaklaşık 10.200 ton tüketimi olduğu tahmin edilmektedir ve %50'si hayvansal ilaçlarda büyümeyi destekleyici olarak kullanılmıştır (Kümmerer, 2003). Türkiye'de antibiyotik kullanımında dünya genelinin üst sıralarında yer almaktadır ve bu durum son derece kaygı vericidir. Antibiyotiklerin aşırı tüketimi direnç oluşmasına neden olmuştur. Organizmalara verilen antibiyotiklerin neredeyse %90'ı metabolize olmadan vücuttan atılmaktadır (Kemper, 2008). Bu sebeple, çevrede oluşan antibiyotik kirliliğinin baş kaynağı olan, insan ve hayvanların dışkısında yüksek miktarlarda antibiyotik bulunabilmektedir. (Yalap ve Balcıoğlu, 2008).

Bu konu, antibiyotiklerin sucul ortamlarda bulunan bazı siyanobakteri türlerinin gelişimi üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla seçilmiştir. Antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Bu ilaçların bir kısmı su ortamlarına karışmakta ve asıl hedefi dışındaki canlıları olumsuz etkilemektedir. Antibiyotikler mikroorganizmayı öldürmek ve büyümesini baskılamak için tasarlandığı sucul ekosistemdeki ve atıksulardaki faydalı mikroorganizmaların aktivitesini engellemeleri veya etkisiz hale getirmelerinden dolayı endişe oluşturmaktadırlar. Ayrıca, antibiyotiklere sürekli maruz kalma nedeniyle, atıksu içinde yaşayan mikroorganizma topluluğu, geri kalan mikroorganizma topluluklarına nazaran daha fazla direnç mekanizması geliştirmektedir. Bu sorunların çözülebilmesi için sudaki organizmalar ile antibiyotik ilişkisinin araştırılması gerekmektedir.

Siyanobakteriler ilk olarak 1874 yılında Sachs tarafından renklerinden dolayı mavi-yeşil alg olarak adlandırılmıştır. Klorofil-*a* içeren tek prokaryotlardır. Fotosentez yoluyla C ve O_2 üretir. CO_2 ve atmosferik N'yi kullanabilirler. Erken Prekambriyen

döneminde gelişen siyanobakterilerin atmosferde oksijen artışına neden olduğu düşünülmektedir. Siyanobakteriler, O_2'yi kullanıp fotosentez yaparken, daha yüksek bitkilerde olduğu gibi birbirine bağlı fotosistem I ve fotosistem II'yi kullanırlar. Siyanobakteriler, tatlı su habitatlarındaki en önemli biyolojik faktörlerdir. Bu organizmaların morfolojik özellikleri üzerine yapılan ilk çalışmalar ve daha sonraki çalışmalar fotosentez mekanizması, N fiksasyonu, gaz kabarcıklarının yapısı ve bunların genetik materyalinin özelliklerini içermiştir. Siyanobakteriler, su ekosistemlerinin ana üreticileri olan önemli bir gruptur ve geniş bir ekolojik dağılıma sahip organizmalardır. Genellikle sucul ekosistemlerde yaşarlar, ancak toprakta ve havada yaşayabilen türler de vardır. Sucul ortamlarında besin zincirinin ilk halkasını oluştururlar. Tek hücreli veya koloniyal, filamentli veya yalancı dallı olabilirler. Genel olarak siyanobakteriyel hücreleri dışarıdan içeriye doğru incelerken en dış tabakada müsilaj tabakası vardır. Türe bağlı olarak müsilaj tabakası çok ince veya kalın olabilmektedir. Dış müsilaj tabakası, organizmaların suya tutunmasına, sudan besin sağlamasına ve mavi-yeşil alglerle beslenmek isteyen mikroskobik organizmaları uzaklaştırmasına izin verir. Müsilaj tabakasının altında pektin yapılı bir hücre duvarı vardır. En içteki katmanda plazma bulunur. Plazma bölgesinin dışı, organizmanın mavi-yeşil görünmesini sağlayan fikosiyanin içerir. Siyanobakteri hücreleri genellikle tillakoid denilen iç hücre zarı içerir. Klorofil-*a* ve fotosentez için gerekli diğer moleküller bu zara gömülüdür. Gerektiğinde kullanılmak üzere bulunan besinler nişasta yerine glikojenin yanı sıra siyanofisin ve volitin proteinleridir. Siyanobakteriler yalnızca eşeysiz olarak çoğalır. Bölünmeleri, tek hücreli olup olmadıklarına ve koloniler halinde var olup olmadıklarına bağlıdır. Tek hücrelilerde çoğalma, hücrenin enine olarak gerçekleşmektedir. İpliksi yapıdakilerde, iki bağımsız ipliksi yapı oluşturmak için hücre içindeki ipliğin herhangi bir kısmından ayrılmasıyla gerçekleştirilir. Siyanobakteriler, uygunsuz ortamlarda hormosist, heterosist gibi yapılar ile canlılığını korurken, uygun koşullar altında endosporlar, ekzosporlar, planokok gibi yapılar ile çoğalabilirler. Ek olarak, siyanobakteriler, atmosferdeki serbest azotu, nitrojenazın etkisiyle NH_3'e dönüştürür ve azot fiksasyonunu heterosistleri aracılığıyla yaparlar (Batu, 2007).

Taksonomik açıdan değerlendirilmesi nispeten zor olan bu grubun sınıflandırılmasıyla ilgili çalışmalar, moleküler dizi analizleri ile son yıllarda devamlı bir şekilde güncellenmektedir. Prokaryotik hücre özelliğine sahip olan bu canlılar 3

Domainli sistemde *Eubacteria* içinde yer alırlar. Hücre duvarı yapısına ve 16S rRNA gen sekans dizi analizlerine göre incelendiğinde ise gram-negatif bakterilere yakın oldukları tespit edilmiştir (Komárek, Kaštovský, Mareš, & Johansen, 2014, Pabuççu ve Yücer, 2017).

Birincil üreticiler olan algler tüm sucul ekosistemlerde önemli bir rol oynamaktadır. Antibiyotiklerin algler üzerindeki zararlı etkileri yüksek trofik seviyelerde organizmaları bozar. Bu nedenle, antibiyotiklerin sucul çevreye olan etkilerini ve risklerini değerlendirmek için algler üzerindeki olumsuz potansiyel etkilerini araştırmak oldukça önemlidir. Sağlık kuruluşları ve hayvan çiftlikleri kaynaklı atıksularda önemli oranlarda antibiyotik konsantrasyonları tespit edilmiştir. Bu oranlar, β-laktam grubu antibiyotiklerde 20-80µg/L, Siprofloksasin antibiyotiğinde 2-83µg/L arasındadır. Şehir atık sularında tespit edilen antibiyotik değerleri 2-50µg/L arasında tespit edilmiştir (Wang ve Wang, 2016). Genel olarak tedavi/koruma amaçlı kullanılan Tetrasiklin grubu antibiyotikler ise atıksulara nispeten yüksek oranlarda karışan antibiyotiklerdir (Akkurt ve Oğuz, 2019). Bu bağlamda; yapılacak deneylerle hedeflenen sonuçlara ulaşılacaktır.

Dış (çevresel) faktörler siyanobakterilerin üremelerini sınırlar ve bulundukları ortam uygun hale geldiğinde (özellikle yazın ve sonbaharın başlarında), organizmaların üreme aktivitesinde artış gözlenir. Su sistemlerinde, fiziksel ve kimyasal koşullar uygunsa, sudaki besin içeriği belirli bir yoğunluğu aştığında ötrofikasyon meydana gelebilir. Aşırı alg çoğalmaları (algal bloom), suyun rengini, kokusunu ve ekolojik dengesini bozan ötrofikasyonun biyolojik öncüleridir. Ötrofik suda bulanıklık artar, algler su yüzeyini bir film gibi kaplar ve ışığın alt kısımdan geçmesi zordur. Bu nedenle, dip kısımdaki O_2'nin azalması bu bölgede yaşayan organizmaları olumsuz etkileyecektir. Bazı siyanobakteri cinsleri muhtelif zehirli maddeler üretmektedir. Bu zehirli maddeler, insan ve hayvan yaşamını riske atar, hastalık ve ölüm tehlikesi barındırır ve etrafa hasar verebilmektedir. Bu maddelerin, siyanobakteri miktarı belirli bir düzeyi geçtiğinde etkin olduğu gözlenmiştir. Siyanobakterilerin ekolojik ve ekonomik açıdan önemli olması ve sağlık açısından risk oluşturması siyanobakteri çalışmalarını daha da değerli kılmaktadır.

Siyanobakteriler birçok alanda kullanılmakta olup ülkemizde, ne yazık ki, bu organizmaların kullanım alanları konusunda yeterli araştırma bulunmamaktadır. Bu sebeple ülkemiz birçok siyanobakteri türünü bilmesine rağmen bu organizmalardan yeterli ekonomik fayda sağlayamamaktadır.

Siyanobakteriler genellikle tekstil sanayinde atık su ve ağır metal gideriminde kullanılmaktadır, bazı ülkelerde ise besin olarak tüketilmektedir. Ayrıca büyük miktarlarda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), karoten, mineral ve vitamin gibi değerli metabolitleri yapılarında biriktirebilirler. Bu nedenle özellikle su ürünleri yetiştiriciliği ve insan sağlığı için besin desteği olarak kullanılabilmektedir. *Spirulina*, besin takviyesi olarak kullanılan siyanobakterilere örnek olarak verilebilir. *Spirulina*'nın protein içeriği %60-70' dir. Vitamin ve mineral yönünden zengin bir besindir. Ayrıca pek çok hastalık tedavisinde takviye olarak kullanılabilir. B12 vitamini söz konusu olduğunda, özellikle vejetaryenler için en önemli bitkisel kaynaktır. Bolca E vitamini içeren *Spirulina*, süperoksit dismutaz içermektedir. Bu enzim antioksidan özelliğindedir. Bunların dışında siyanobakterilerin biyoindikatör türleri ile biyoizleme yapılabilmektedir. Biyoizleme trofik durum değerlendirmesinde büyük önem taşımaktadır. Fitoplankton ve bazı sucul organizmalar çok eski zamanlardan beri biyoindikatör olarak kullanılmaktadır. Fakat su kaynaklarına bağlı olarak sucul ekosistemlerdeki dengenin bozulması günümüzde önemli sorunları beraberinde getirmektedir. Bunları önlemek için su kaynaklarının korunması ve sürdürülebilir kullanımı için canlı izleme çalışmaları önem kazanmaktadır. Siyanobakterilerin kullanım alanları bunlarla sınırlı olmayıp antibiyotik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar başlatılmıştır. Tüm özellikleri göz önüne alındığında siyanobakterilerin ekonomik ve ekolojik önemleri anlaşılmaktadır (Batu, 2007).

Siyanobakteriler, antikanser, antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antienflamatuar ve daha birçok farmakolojik aktiviteleri olan çeşitli bileşikler üretir. Bulundukları yaşam ortamlarındaki değişimlere yanıt olarak sekonder metabolitleri üretirler. Bu bileşiklerin bazıları, diğer rekabetçi mikroorganizmaların gelişimini ve büyümesini engelleyen veya sınırlayan antimikrobiyallerdir (Pérez, Falqué, & Domínguez, 2016). Algler, ekosistemlerdeki ağır metal kirliliği, antibakteriyal etkileri ve diğer birçok (tıbbi, antimikrobiyal) etkileri nedeniyle büyük biyoaktivite özellik sergilemektedir (Abo-State, Shanab, Ali, & Abdullah., 2015; Kausalya ve Rao, 2015).

Sanayi devriminden başlayarak günümüze kadar geçen sürede çevre kirliliği giderek artmakta ve her geçen gün çözülmesi imkânsız hale gelen bir problem halini almaktadır. Yaşadığımız çevrede kirliliğin baş aktörü endüstriyel faaliyetler gibi görünse de son yıllarda sağlık alanında kullanılan ilaçların çevreye vermiş olduğu olumsuz etkiler ve sonucunda ortaya çıkan çevre kirliliği de önemli bir sorun olarak gündeme gelmeye başlamıştır. Çağımızda antibiyotikler ilaç kullanımında en önemli grupların başında gelmektedir. Hem insan hem de hayvancılıkta bakteriyel enfeksiyonların iyileşimi ve tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin aşırı olarak bilinçli veya bilinçsiz kullanımı artmaktadır. Diğer yandan kullanılan antibiyotiklerin fazlalık ve kalıntıları sucul ortamlara ulaştığında suda yayılmakta ya da sedimentte birikmektedir. Bu tür birikimlerin bakteriler üzerinde seçici bir etki yaparak sadece ortamdaki antibiyotiklere karşı dirençli bakterilerin çoğalmasını sağlayabildiği gibi, bu antibiyotiklerin kontrolsüz olarak çevreye verilmesi ve alıcı su ortamlarına karışması sonucunda hedef dışı organizmalar üzerinde sorunlar oluşturmaktadır (Topal, vd.,2012; Yıldız, Varkal, & Ünüvar, 2014).

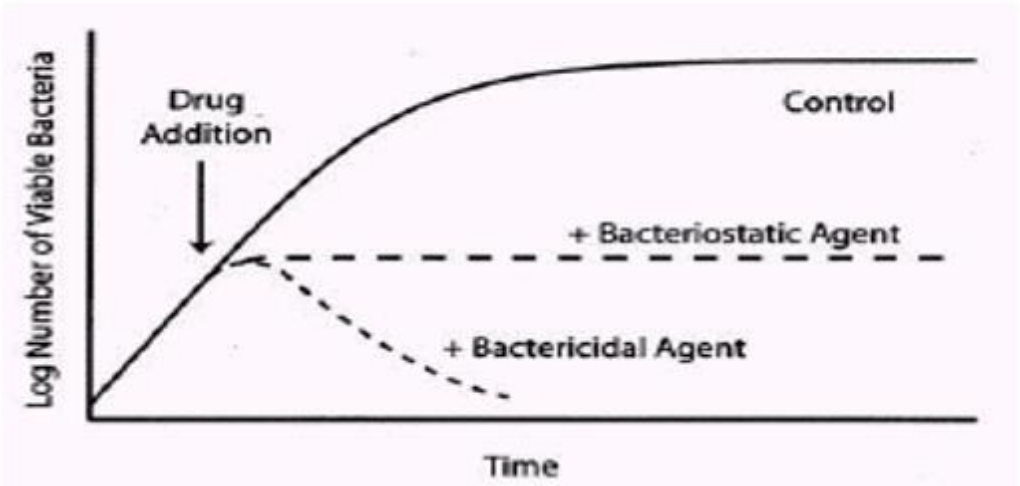
Antibiyotiklerin alg kültürlerinin gelişimleri üzerine etkilerinin tespit edilmesine yönelik çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. *M. aeruginosa* üzerinde siprofloksasin, ampisilin ve gentamisin antibiyotiklerinin etkilerilerinin tespiti ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile sucul ortamlarda yaşayan ve sucul ekosistemlerdeki besin zincirinin tabanında bulunan siyanobakteri gibi hedef dışı organizmaların doğada yaygın olarak bulunan antibiyotiklerin kirliliğinden ne şekilde etkilendiğini tespit etmek ve bu konuyla ilgili ileride yapılacak olan benzer çalışmalar ile besin piramidi çalışmalarına önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Antibiyotikler

Mikroorganizmaları kullanılarak veya suni bir şekilde, diğer bir mikroorganizmanın üremesini durdurmak veya öldürmek amacıyla üretilen farmakolojik maddelere antibiyotik denir. Antibiyotik 1829'da Alexander Fleming tarafından *Penicillium*'dan elde edilmiştir. Antibiyotikler genel frajil hale soktukları mikroorganizmaların çoğalmalarını önleyerek pasif hale getirenler biyostatik, mikroorganizmaları eriterek (lysis) onları öldürüp yok edenler biyosidal, olarak iki grubta tanımlanmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Bakteriostatik ve bakterisidal antibiyotiklerin logaritmik bakteri kültürü gelişimi (Scholar & Pratt, 2000)

Yaygın olarak kullanılan antibiyotikler ev, hastane, hayvansal üretim tesisleri, ilaç üretim yerleri, kara veya sucul ekosistemler olmak üzere birçok ortamda tespit edilebilmektedir (İkizoğlu ve Türkdoğan, 2017).

Antibiyotikler kimyasal yapı veya etki mekanizmalarına göre gruplandırılabilir. β-laktamlar, kinolonlar, tetrasiklinler, makrolidler, sülfonamidler ve diğerleri gibi alt gruplara ayrılabilen çeşitli bir kimyasal gruptur. Genellikle aynı molekül içinde farklı işlevlere sahip olabilen karmaşık moleküllerdir. Bu nedenle, farklı pH koşulları altında bu moleküller nötr, katyonik veya anyonik olabilir. Bir molekül içindeki farklı işlevler nedeniyle, fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri pH seviyeleri ile değişebilir (Kümmerer, 2012).

İlaç aktif maddeleri farklı yollardan çevreye giriş yapabilmektedir (Topal vd., 2012).

2.2 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması ve Özellikleri

Antibiyotikler birçok özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. En yaygın sınıflandırma biçimleri kimyasal özelliklerine, etki mekanizmalarına, etki güçlerine göre sınıflandırılabilir (İlhan, 2018).

2.2.1 Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmasını 5 ana başlıkta incelenebilmektedir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması (Topal, Uslu Şenel, Arslan Topal & Öbek, 2015)

Bakteri Hücre Duvar Sentezini Bozan ve Litik Enzimleri Aktive Edenler	Beta-Laktamlar Penisilinler Monobaktamlar
Sitoplazma Membran Permeabilitesini Bozanlar	Polimiksinler Gramisidin Katyonik Deterjanlar
Ribozomlarda Protein Sentezini Bozanlar	Tetrasiklinler Makrolitler Fusidik Asid Aminoglikozid
Bakteri Genetik Materyali Üzerine Etki Yapanlar	Florokinolonlar Aktinomisinler Mitomisinler

Bakteriyel Antimetabolitler	Sülfonamidler Etambutol Trimetoprim

2.2.2 Etki Güçlerine Göre Sınıflandırılması

Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılmasını 2 ana başlıkta inceleyebiliriz (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılması (Topal vd., 2015)

Bakteriyostatikler (Hücre Gelişimini ve Büyümesini Önleyen Antibiyotikler)	Tetrasiklinler, Makrolitler, Sülfonamidler
Bakterisidler (Bakteriyi Direkt Olarak Yok Eden Antibiyotikler)	Beta-Laktamlar, Florokinolonlar, Penisilinler Aminoglikozidler

2.2.3 Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

2.2.3.1 Beta-Laktam

Beta-laktam antibiyotikler en popüler ve en eski antibiyotik sınıflarından biridir. Çeşitli gram-negatif ve gram-pozitif enjeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Bu antibiyotik sınıfı, penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar, penisilin-sefalosporin melezleri ve penemlerini içerir. β-laktamların ana kimyasal yapıları β-laktam antibiyotikler dört üyeli β-laktam halkası ile karakterize edilir. Ajanlar, hücre duvarı biyosentezinden sorumlu olan penisilin bağlayıcı proteinler olarak adlandırılan bakteriyel enzimleri hedefler. β-laktam antibiyotiklere direnç, ilacın β-laktamazlar, akış pompası mekanizması, azaltılmış geçirgenlik ve hedef bölge değişiklikleri inaktivasyonu ile ortaya çıkar. Bu antibiyotikler gram-pozitif ve gram-negatif enfeksiyonların tedavisinde kullanılmasına rağmen, direnç her iki bakteriyel patojen tipinde de çok yaygındır. (Küçükünsal, 2018)

2.2.3.2 Tetrasiklinler

Tetrasiklinler, doğası gereği çok benzer olan ve tetrasiklik bir bileşik olan Naftasenkarboksamidin türevleri olan geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bakteriyel ribozomlarda protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler.

Tetrasiklinler, birçok farklı bakteri grubuna, riketsiyalara, klamidya, spiroketlere, mikoplazmalara, leptospire ve bazı protozoalara karşı etkilidir. Bu nedenle, en geniş etki yelpazesine sahip antibiyotiklerdir. Ana tetrasiklin türleri şunlardır: tetrasiklin ve oksitetrasiklin, dimetilklortetrasiklin, doksisiklin ve minosiklindir (Gürses, 2004).

2.2.3.3 Makrolid

Makrolid antibiyotik 14-, 15- ve 16- üyeli makrosiklik lakton halkasına sahip makrosiklik bileşiklerdir. Yapısında birkaç deoksi amino şeker grupları olan glikozid bağları ile bağlıdır. *Streptomyces strain*'in sıvı kültür ortamında geliştirilmesiyle elde edilir. *Micromonosporda* mirosamisin kaynağıdır. Makrolidler, bakteri ribozomun 50S alt ünitelerine bağlanarak peptidil transferazı engelleyerek protein sentezini inhibe eder. Peptidil transferaz enzimini bloke ederek peptidilin t-RNA'ya bağlanırlar. Bir sonraki gelecek amino asite bağlanarak ribozomal translokasyonu inhibe ederler. Böylece protein sentezini baskılanmış olur. Diğer potansiyel mekanizma ribozomdan peptidil t-RNA'nın tamamlanmadan ayrılması ile bakteriyel üreme engellenir. Makrolidler bakteriyostatik antibiyotiklerdir. Yüksek konsantrasyonlarda bakterisid etki gösterebilirler. Makrolidler belirgin postantibiyotik etkiye sahiptir ve bu özellik yeni üretilen makrolidlerde daha fazladır (Kanfer, Skinner, & Walker, 1998; Retsema, & Fu, 2001).

Makrolidler geniş spektrumlu olup gram (+) bakteriler karşı etkililer ve gram (-) bakteriler üzerinde ise etki alanı sınırlıdır. Mikroplazmaların sebep olduğu hastalıklara karşı çok etkilidirler. (Elmas, 2010).

2.2.3.4 Linkozamidler

Linkozamid ailesinden olan linkomisin ve klindamisin yaklaşık yarım asır yıl önce kullanılmaya başlanmıştır. Bu iki üye gram (+) ve anaerob mikroorganizmalar ile mikoplazma ve protozoonlara karşı etkindir. Linkozamidler, eritromisin ile çok benzer etki mekanizmasına sahiptirler. Ayrıca linkozamidlere klor atomu eklenmesiyle klindamisin elde edilmiştir (Bilir Baş, 2011).

2.2.3.5 Amfenikoller

Amfenikol antibiyotik grubu, Kloramfenikol ve Tiamfenikolden oluşmaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotiklerden olan kloramfenikol, gram pozitif kok, gram negatif bakterilerin birçoğu, aerob ve anaerob gram pozitif basillere karşı duyarlıdır. Bakterilerin ribozom alt birimine bağlanan kloramfenikol, peptidil transferaz enzimini bloke eder. Böylece protein sentezini inhibe edebilir (Gürses, 2004).

2.2.3.6 Aminoglikozidler

Aminoglikozidler özellikle gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlara karşı önemli antibakteriyel ilaçlar olarak kabul edilmiştir. Aminoglikozitlerin tümü birbiriyle benzer kimyasal, fiziksel ve farmakolojik özellikleri paylaşır. Beş ana aminoglikozit antibiyotiği şunlardır: Amikasin, gentamisin, netilmisin, streptomisin ve tobramisin. Streptomisin, keşfedilen ilk aminoglikozit antibiyotiktir. Aminoglikozid antibiyotikleri konsantrasyona bağlı öldürme kapasitesine sahiptir. Glikozidik bağlar ve amino grubu ikameleri olan altı üyeli esansiyel halkaları vardır. Bu grupta, -misin ile biten isimler *Streptomyces* türünden, -mikin ile biten isimler ise *Micromonospora* türlerinden türetilmiştir. Aminoglikozidler, bakterilerin 30S ribozomal alt birimine bağlanır, translasyonu inhibe eder ve genetik kodun yanlış okunmasına ve fonksiyonel olmayan proteinlerin birikmesine yol açar. Ayrıca, gram-negatif bakterilerin dış zarını yeniden düzenlerler. Bu hücre duvarında delik oluşumuna ve geçirgenlik fonksiyonunda azalmaya yol açar (Küçükünsal, 2019).

2.2.3.7 Kinolon Grubu Antibiyotikler

Kinolon grubu antibiyotikler, diğer antibiyotiklerin dışında kimyasal yollarla elde edilmiş sentetik maddeler arasında yer almaktadır. Dolayısıyla antibiyotik değil kemoterapötik madde olarak nitelendirilmektedir. Bu özellikleri kinolon molekülünün labaratuvar koşullarında sentezlenmesine izin verir. Kinolon molekülündeki yapıların anlaşılabilmesi geniş spektrumlu ve daha az yan etkiye sahip moleküllerin üretilebilmesine olanak sağlamıştır. Günümüzde kullanımda olan tüm kinolonlar iki halkalı yapıya sahiptir. İlk halkanın 1.pozisyonunda nitrojen, 3. pozisyonunda karbon atomu, 4. pozisyonda ise kinolon grubu bulunmaktadır. Bunların dışında birçok ikili

halka yapısı mevcuttur. En başarılı olan halka yapıları, 8. pozisyonda kendi karbon atomunu bulunduranlardır. Naftiridin, bu halka yapısına sahip başarılı bir kinolondur (Andriole, 2005; von Bambeke, Michot, von Eldere & Tulkens, 2005; Boteva ve Krasnykh 2009).

Kinolonlar sahip olduğu toksisite nedeniyle kullanımları oldukça sınırlıdır. Siprofloksasin, levofloksasin ve gemifloksasin kinolon grubu antibiyotikleri kimyasal yapılarına göre sınıflandırılabilmektedir (Kayılı, 2020).

2.2.3.8 Glikopeptid Grubu Antibiyotikler

Glikopeptidler karmaşık yapıya sahip antibiyotik grupları arasında yer almaktadır. Pek çok yan zincir yapılarıyla 3 halkaya bağlı, çoklu peptidlerden oluşmaktadırlar. Glikopeptidler, homeostatik hücre duvarı sentezine müdahale eden antibiyotik grupları (β-laktam grubu antibiyotikler) arasında bulunmaktadır.

β-laktam grubu antibiyotikler ile hücre duvarı kararsızlığı ve bakteri hücre lizisi aynıdır. Glikopeptid grubu antibiyotikler gram (+) mikroorganizmlara karşı etkindir ve vankomisin ile teikoplanin bu grubta yer almaktadır. *Streptomyces orientalis*'den vankomisin, *Actinoplanes teichomyceticus*'den ise teikoplanin elde edilmiştir. Vankomisinin klinik kullanımı 1950'lerin sonunda başlamıştır. Günümüzde kullanımı halen devam etmektedir (Kayılı, 2020; Kohanski, Dwyer, & Collins, 2010).

2.2.3.9 Sülfonamidler ve Trimetoprim

Prontosil (sülfonamid chrysoidine) 1932'de bulundu ve sülfonamidlerin keşfine yol açmıştır. Sülfonamidler, yapısal olarak p-aminobenzoik aside benzeyen p-amino-benzen-sülfonamidden türetildi. Bakterilerin folik asidi sentezlemesi için p-aminobenzen-sülfonamid gereklidir. Antibakteriyel aktivite için l'de bir sülfonamid grubu ve 4'te bir serbest amino grubu gereklidir. Sülfonamid yerine geçen aromatik veya heterosiklik halkalar, adsorpsiyonu değiştirerek ilacın aktivitesini arttırır. Sülfonamid antibiyotikleri, tetrahidrofolik asit sentezini inhibe etmek için dihidropteroat seviyesinde p-aminobenzoik asit analogları olarak işlev görür. Ayrıca, pteridin ile ürüne dahil olmak için alternatif substratlar olarak işlev görürler.

Diaminopirimidinli sülfonamidler bakterilerdeki folat yolunu inhibe eder. Bu nedenle diaminopirimidinler, özel durumlar dışında genellikle sülfonamidlerle birlikte kullanılır. Bunlar 5'te aromatik bir grup ile sübstitüe edilmiş pirimidinlerdir. Majör diaminopirimidin trimetoprim olarak adlandırılır. Diaminopirimidinler, dihidrofolik asidin pteridin kısmını taklit ederek bakteriyel dihidrofolat redüktazı rekabetçi bir şekilde inhibe eder (Küçükünsal, 2019).

2.3 Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları

Bir mikroorganizmanın, bir antimikrobiyal ajanın öldürücü ya da üremeyi durdurucu özelliğine karşı engel olabilme yeteneğine direnç denir. Antibiyotik direnci, antibiyotiğin bazı mikroorganizmaların suşlarına karşı etkin olamaması ya da suşun antibiyotiğe duyarlı hale gelerek antibiyotiğe direnç göstermesi olarak tanımlanabilmektedir (Işık, 2020). Antibiyotik direnç mekanizmalarının gelişmesi, yaygın antibiyotik kullanımından kaynaklanabilmektedir. Aynı zamanda bulundukları ortamdaki olumsuz koşullar da bakterilerin farklı korunma mekanizmaları geliştirmesine neden olmaktadır. Gereksiz veya uygun olmayan hastalıklarda kullanılan antibiyotikler de mikroorganizmaların direnç kazanmasına neden olur. Dolayısıyla uzun süre kullanılan antibiyotiğin etkin olmaması durumu oluşmaktadır. Bu yüzden antibiyotik kullanım bilincinin oluşturulması önemlidir (Gençoğlu, 2019).

Bakterilerde direnç mekanizmaları 2 başlık altında sınıflandırılabilir. Bunlar; bakterilerde doğal (intrinsik) ve kazanılmış dirençtir.

2.3.1 Bakterilerde Doğal (İntrinsik) Direnç

Bakterilerde antibiyotiklere karşı doğal direnç bulunmakla birlikte bakterinin temel bir özelliği olabilir. Ancak kalıtsal değildir. Antibiyotik kullanımına bağlı olmayan bu durum, tür özelliğinden gelen ilacı hedef yapıya taşıyamamaları veya ilacın yapısından kaynaklı hedefe ulaşamamasından doğan bir sonuçtur. İlacın dış membrandan geçememesinden dolayı gram (-) bakteriler vankomisine doğal dirençli olması örnek olarak verilebilir. Bir başka örnek ise bazı çepersiz yapıya sahip mikroorganizmaların, hücre duvarı biyosentez inhibitörlerine (penisilin v.b.) doğal dirençli olmasıdır. Metabolik olarak inaktif olan sporların doğal dirençli olması bu

örneklere benzerdir. Bunun nedeni bazı ilaçların etkinliği için bakterinin aktif üreme evresinde olması şeklinde açıklanabilir (Gençoğlu, 2019).

2.3.2 Bakterilerde Kazanılmış Direnç

Antibiyotiğin hedeflediği genlerin mutasyonu ve plazmid bakteriyofaj gibi taşınabilir genetik materyallerin transferi ile kazanılmış direnç gerçekleşmektedir. Genellikle değişim, bakteriyofaj vasıtasıyla transdüksiyon, konjugasyon, diğer ölen mikroorganizmaların DNA'sı, plazmid, kromozomal DNA'nın kromozomuyla birleşmesinden transformasyon ile sonuçlanabilmektedir.

Kazanılmış direnç, mikroorganizmanın kromozomunda gerçekleşen değişim veya transpozon aracılığıyla direnç geninin duyarlı mikroorganizmalara aktarılmasıyla gerçekleşir. Genetik değişim mekanizmaları, seleksiyon ve mutasyon, antibakteriyel ajanların bakteri ortamlarına girip diğer bakteri türlerine hızlıca adaptasyon sağlamasına imkân verir. Bazen yalnızca mutasyon, mikroorganizmalarda direnç görülmesinde yeterli olmaktadır. Rifampisine karşı direnç gösteren *Staphylococcus aureus* bu duruma örnektir.

Dünyada, hızlı ulaşımın artmasıyla beraber dirençli yapıya sahip organizmaların da tüm dünya üzerinde yayılıp artması sorun teşkil etmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde antibiyotik kullanımı bulunmayan bebeklerde, bağırsak floralarında direnç genlerine sahip bakteriler yüksek miktarda tespit edilebilmektedir (Işık, 2020).

2.3.3 Antibiyotiklerin Direnç Problemi

Tüm dünyada son zamanlarda antibiyotik direnç problemi canlı yaşamını tehdit eden bir sorun haline gelmiştir. Aynı zamanda viral enfeksiyonlarda antibiyotik kullanımı ile bilinçsiz tüketime bağlı olarak mikroorganizmalarda direnç gelişimi ve lüzumsuz harcamalara neden olmaktadır.

Antibiyotik kullanımının dünyanın genelinde yaklaşık 1-2 milyon ton arasında olduğu düşünülmektedir. Günümüzde antibiyotik kullanımının yaygınlaşması ile bağışıklık sistemi zayıf ya da çökmüş hastaların ve yoğun bakım ünitelerinin artmasına neden olmaktadır. Gıda endüstrisinde de sıkça kullanılan antibiyotikler mikroorganizmalardaki direnç artışını daha da artırmaktadır. Dünyanın her yerinde

tehlike oluşturan antibiyotik direnci bulaşıcı hastalık tedavi çalışmalarını zorlaştırmakta ve yeni direnç mekanizmalarını artırarak küresel biçimde yayılmaktadır (Işık, 2020).

Bir kısım direnç tiplerinin diğer bakterilere geçtiği için, bazı enfeksiyonların antibiyotiklerle tedavisi artık yapılamamaktadır. Antibiyotik direnci çok sayıda insanı etkilediği için tüm dünyada önem kazanmıştır (Gençoğlu, 2019). Antibiyotik direnci sadece bugün değil geleceğimizi de tehdit eden bir sorundur (Yunusoğlu, Yardım, & Berköz, 2020).

Sucul ekosistemlerde antibiyotik artıkları bulunması halinde buralarda da direnç oluşumu gözlenmektedir. Buradaki su çevrelerinde toksisite sorunlarından dolayı ekolojik denge zarar görmektedir. Antibiyotikler mikrobiyal ortamlarda sinyal ajanları gibi davranarak çevrede ve ortamda bulunan bitkilerin yaşamsal döngülerinde birçok fonksiyonu etkileyebilmektedir. Gelecek yıllarda sorun teşkil eden noktalardan biri de antibiyotiklerin primer üretimden sorumlu fitoplanktonik organizmaları etkileyebileceğidir (Baquero, Martínez, & Cantón, 2008).

2.4 Antibiyotiklerin Hedef Dışı Etkileri

Antibiyotikler, insanlar ve hayvanlar tarafından az çok büyük ölçüde metabolize edilebilir. Uygulamadan sonra, insan kullanımı için antibiyotikler veya bunların metabolitleri, atık suya atılır ve kanalizasyon arıtma tesislerine ulaşır. Metabolize edilmemiş kısım, hala aktif bir bileşik olarak atılır. Kanalizasyon arıtma tesislerinde antibiyotikler yalnızca kısmen ortadan kaldırılır. Eğer arıtma işlemi sırasında elimine edilmezler, kanalizasyon sisteminden geçerler ve başta su bölmesi olmak üzere ortama karışabilirler. Kalan miktarlar yüzey sularına, yeraltı sularına veya çökeltilere ulaşabilir. Tarımda gübre olarak uygulanan sıvı gübre ile boşaltılan aktif maddeler yağmur sonrası üst topraktan yıkanabilir. Ayrıca, özellikle kümes hayvanı işletme, et işleme ve su ürünleri yetiştiriciliğinden ve evcil hayvanlardan (örneğin akvaryumlar) doğrudan boşaltma da mümkündür, kanalizasyon ve yüzey suyundaki toplam antibiyotik konsantrasyonunun artmasına katkıda bulunabilir. Farklı ülkelerde ölçülen antibiyotik konsantrasyonlarının sırasıyla kanalizasyon ve yüzey suyu gibi farklı bölmelerde aynı konsantrasyon aralığında olduğu bulunmuştur (Kümmerer, 2012).

Siyanobakteriler genellikle antibiyotiklere duyarlıdır çünkü hücre yapıları bakterilerinkine benzer. Bu nedenle siyanobakteriler, su toksisitesi değerlendirmesinde gösterge tür olarak kullanılmaktadır. Ayrıca siyanobakteriler, su ortamında gerekli olan bir grup organizmadır. Deniz habitatlarındaki siyanobakterilerin çoğunu temsil ederler ve serbest O_2 üretimine ve CO_2 fiksasyonuna büyük ölçüde katkıda bulunurlar. Bazı siyanobakteriler de atmosferik azot fiksasyonuna katkıda bulunabilir. Bu nedenle, antibiyotiklerin siyanobakteriler üzerindeki çıkarımının araştırılması büyük ilgi gördü. Antibiyotik kirleticiler, *M. aeruginosa*'nın fotosentetik etkinliği ve hücre büyümesi üzerinde etki yapabilir, fotosentez ile ilgili genlerin transkripsiyonunu değiştirebilir ve *M. aeruginosa* hücrelerindeki antioksidan enzimler ve oksitler arasındaki dengeyi bozabilir. Antibiyotikler ayrıca *M. aeruginosa*'da mikrosistin üretimi ve salınımı artırdığı sonucunu çıkarabilir. Bu nedenle, siyanobakteriler üzerindeki antibiyotik etkilerini kapsamlı bir şekilde izlemek ve değerlendirmek gerekir. Bununla birlikte, ekosistem üzerindeki antibiyotiklerin olası çıkarımına ilişkin bilgi yeterli değildir ve birçok antibiyotik için ilgili toksisite verileri de yoktur (Ye, Huang, Shang, Xu, & Wu, 2020).

2.5 Doğal Çevrede Bulunan Antibiyotik Kaynakları

Günümüzde insan ve veterinerlik tıbbında terapötik amaçlar için geniş bir antibiyotik kullanılmaktadır. Sonuç olarak, bu maddeler çevreye salınır. Böylece, ortamda farmasötik antibiyotiklerin kalıntı konsantrasyonları bulunur. Antibiyotiklerin çeşitli organizmalar üzerindeki toksik etkileri sadece yüksek konsantrasyonlarda değil, aynı zamanda düşük konsantrasyonlarda da bulunmuştur.

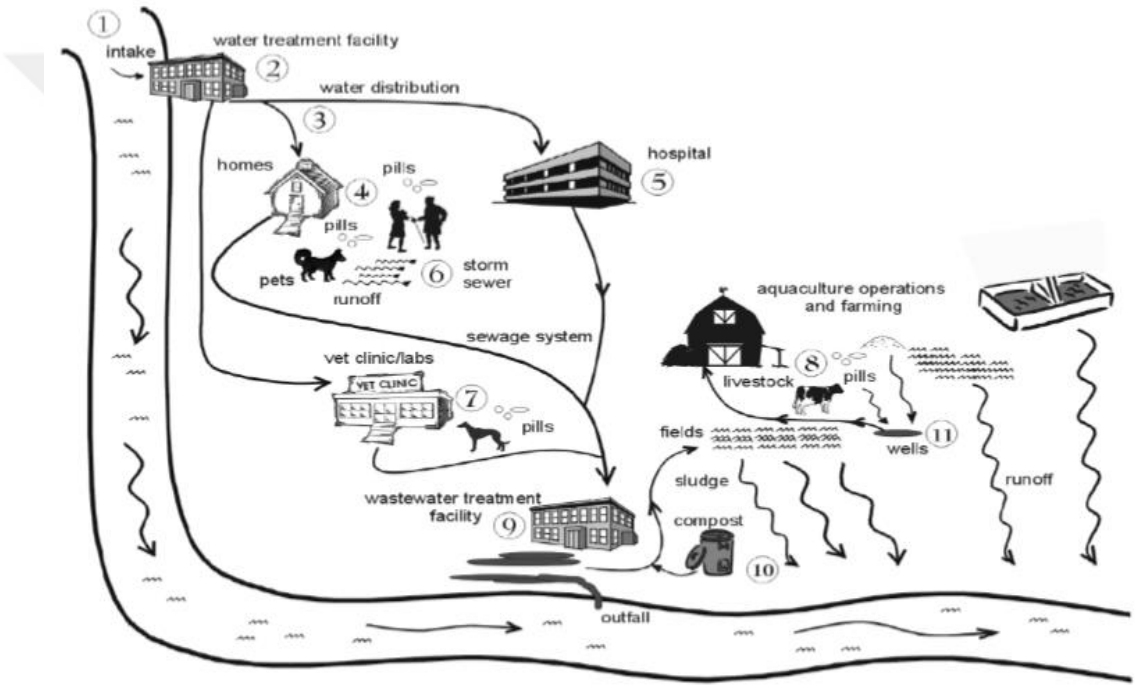
Çevrede sık kullanılmaları nedeniyle insan ve hayvan sağlığı için kullanılan antibiyotik konsantrasyonları ortama kalıcı olarak yerleşir. Ampisilin ve eritromisin, atık suda tespit edilen en yaygın antibakteriyel ilaçlardır (Çizelge 2.3) (Uzun, 2015).

Çizelge 2.3. Bazı antibiyotiklerin çevre sularında belirlenen miktarları (Saygı, Battal, & Şahin, 2012; İkizoğlu ve Türkdoğan, 2017)

İlaç	**Belirlenen Miktar**	**Bulunduğu Yer**
Ampisilin	20-80 µg/L	Hastane Atık Suyu
Eritromisin	47,4 ng/L	Evsel Atık Su Arıtma Tesisi Çıkışı
Gentamisin	0.4-7.6 µg/L	Hastane Atık Suyu
Klaritromisin	0,24 µg/L(max.)	Evsel Atık Su Arıtma Tesisi Çıkışı

Kloramfenikol	0,06 µg/L(max.)	Yüzeysel Su
Norfloksasin	45-120 ng/L	Arıtma Tesisi Çıkışı
Penisilin Grupları	>10 ng/L	Kullanma Suyu
Siprofloksasin	0,7-124,5 µg/L	Hastane Atık Suyu
Sulfametazin	0,16 µg/L(max.)	Yeraltı Suyu
Tetrasiklin	0,2 µg/kg	Toprak
Tetrasiklin	~1 µg/L	Nehir Suyu
Trimetroprim	0,66 µg/L(max.)	Evsel Atık Su Arıtma Tesisi Çıkışı

Hem insanlar hem de veterinerlik alanında antibiyotik kullanımı, bir dizi yolla çevrenin maruz kalmasına yol açabilir (Şekil 2.2 ve Şekil 2.3).



Şekil 2.2. Su ortamında antibiyotik kaynakları (Çelebi, 2012)

2.5.1 Kanalizasyon

Birçok antibiyotik idrarla ve dışkı ile kanalizasyona atılır. Hastanelerden ve ilaç fabrikalarından gelen atık suyun, arıtma tesislerinde antibiyotik direncine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, kentsel kanalizasyon ve tarımsal yüzey akışıyla kirlenen nehirlerin, kontaminasyon kaynağının üzerinde olanlardan daha fazla antibiyotiğe dirençli bakteri populasyonuna sahip olduğu da gösterilmiştir.

Akarsulardaki antibiyotik direnci, ağır metal içeren endüstriyel atıkların artmasıyla dolaylı olarak artmaktadır.

2.5.2 Tıbbi Atıklar

Tıbbi bir tesiste antibiyotiklerin uygulanması kaçınılmaz olarak atıklara yol açar. Hastane atık su deşarjınlarda, oksitetrasiklin gibi bazı antibiyotiklere dirençli bakteri popülasyonlarında bir artışa neden olduğu gösterilmiştir.

2.5.3 Endüstrideki Faaliyetler

Doğal su sistemlerinde antibiyotik kaynakları, ilaç endüstrisinde üretim faaliyetlerinden kaynaklı olabilir.

2.5.4 Üretim

Antibiyotik satışları her yıl dünya genelinde toplam 8 milyar dolardan fazla. Yani her yıl üretilen 50 milyon doz, 25 milyon dozu insan kullanımı için reçete ediliyor.

2.5.5 Ev Ürünleri

Son yıllarda 700'den fazla antibakteriyel ev ürünü tanıtıldı. Bunlar arasında, diş macunları, mutfak plastikleri, çimento ve boyalar gibi öğeler bulunur. Bu ürünler evlerimizde kullanıldıktan sonra atık su veya depolama alanına girer.

2.5.6 Bitkilere Püskürtülmesi

Her yıl bitki üretiminde bazı antibiyotikler kullanılır. Bakteriyel enfeksiyonları önlemek için meyve ağaçları gibi yüksek değerli ürünlere püskürtülürler. Bu, ürünlerimizde dirençli bakteriler için seçilebilir. Tüm ilaçlamalar meyvede kalmaz. Antibiyotiklerin çoğu toprağa karışır ve sonunda yeraltı suyuna girer.

2.5.7 Hayvan Üretimi

Antibiyotikler hayvan beslemelerine büyüme destekleyicileri olarak alt terapötik seviyelerde eklenir. Öncelikle yoğun tarımda kullanılırlar. Sahada hayvanlar üzerinde kullanılan antibiyotikler doğrudan idrar yapar ve dışkılanır, bu nedenle toprak organizmalarını etkiler. Hayvan gübrelerinin tarlalara gübre olarak uygulanması böylece

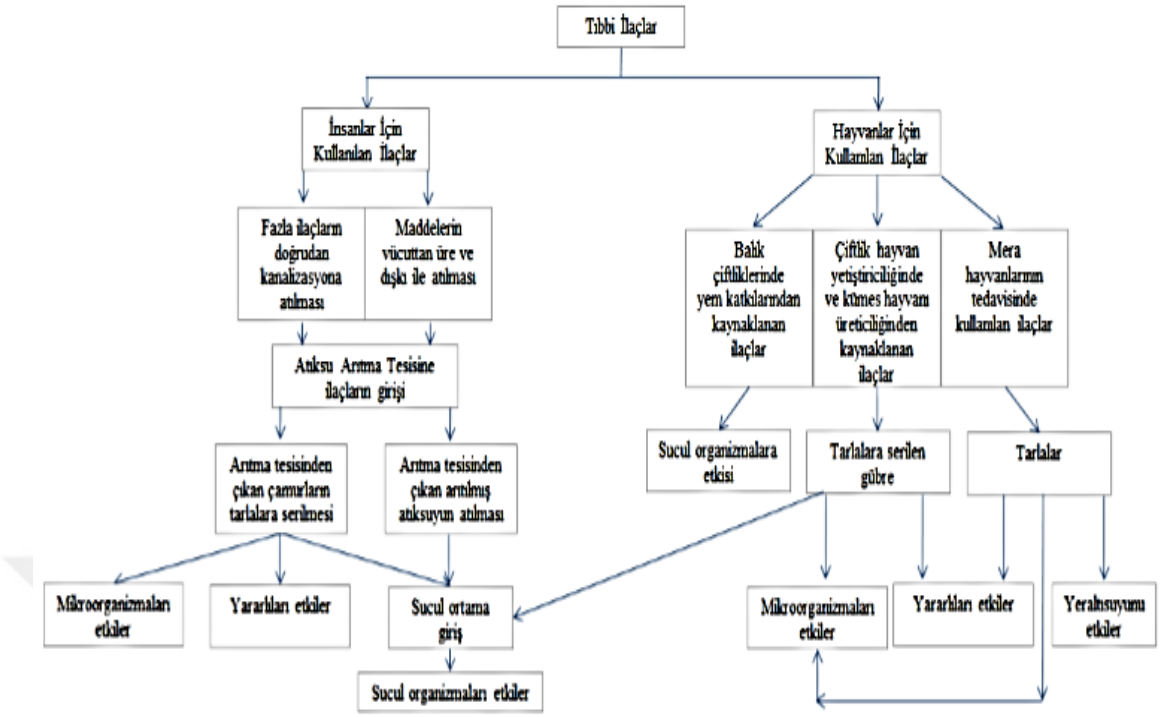
antibiyotikler veya antibiyotik kalıntıları içerebilir. Suda çözünür antibiyotikler veya antibiyotik kalıntıları bu nedenle tarlaların çevresindeki yüzey suyuna sızabilir ve mikroalg gibi ekosistemleri etkileyebilir (Demirden, 2005).

2.6 Antibiyotiklerin Çevresel Etkileri

Tüm farmasötik ilaçlar ve antibiyotikler, sucul ve karasal çevre üzerinde geri dönüşü olmayan ciddi etkilere maruz bırakmaktadır. Antibiyotiklerin organizmalar üzerinde etkileri, ör. bakteri, alg, kronik testlerde düşük konsantrasyonlarda da bulunmuştur.

Antibiyotik ajanlar, çevresel bakteri süreçlerini bozma ve mikrobiyal tür çeşitliliğini değiştirme ile direnç ve bakteri toksisitesi oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, artan antibiyotik üretimi ve tüketimi, doğada bulunan mikroorganizmaların genetik havuzunda değişiklik ve mikroorganizmaların yüksek oranda geri dönüşümsüz direnç ile sonuçlanmaktadır (Ötker, 2002).

Antibiyotik kalıntıları, sucul ortamdaki fitoplanktondan balığa kadar tüm canlıları olumsuz etkilemekte ve dolaylı yoldan insan sağlığını bozabilmektedir. Bu nedenle sulara karışan antibiyotik kalıntılarının tespit edilerek canlılara olan etkilerinin ve suyun trofik düzeyinin belirlenmesinde olan rolünün araştırılması gerekmektedir. Antibiyotikler hem birincil üreticileri hem de ayrıştırıcıları etkileyerek ekosistem süreçlerini potansiyel olarak bozabileceği için, antibiyotiklerin sucul ekosistemler üzerindeki etkisini değerlendirmek önemli olduğunu vurgulamışlardır (Van der Grinten, 2010)



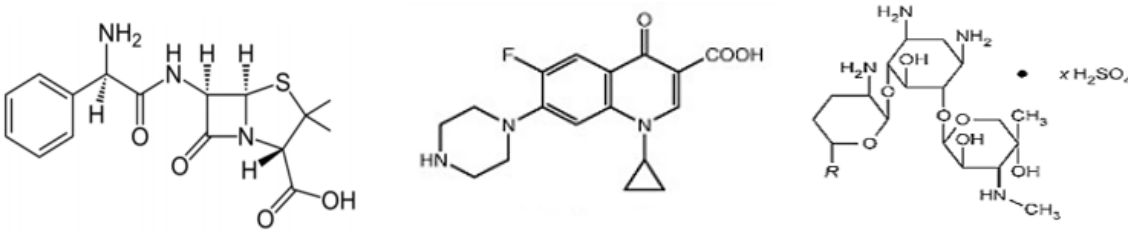
Şekil 2.3. Tıbbi ilaçların kaynakları ve çevresel etkileri (Topal vd., 2012)

Antibiyotik direnç genlerinin atık suların arıtma tesislerinde bulunması, bunların atık sulara ulaşması ve yayılması, antibiyotiğe dirençli bakterilerin artmasına neden olmaktadır.

Atık su arıtma tesislerinde düşük konsantrasyonlarda bile antibiyotik bulunması dirençliliğin yayılımındaki önemi göstermektedir. Arıtma tesislerinde giriş ve çıkış sularında bulunan fekal koliform bakteriler (*E.coli*), vankomisin, siprofloksasin, trimetoprim gibi birçok antibiyotiğin etken maddelerine karşı direnç gösterebilmektedir. (Uzun, 2015).

Bu çalışmada ampisilin, gentamisin ve siprofloksasin olmak üzere üç antibiyotik kullanılmıştır. Ampisilin beta-laktam, gentamisin aminoglikozid, siprofloksasin ise kinolon grubu antibiyotik sınıfları içerisinde yer almaktadır (Topal vd., 2015). Bu üç antibiyotik genellikle çevreye hastane atık suyundan yayılım göstermektedir. Hastane dışında kanalizasyon, atık su, tıbbi atıklar gibi yerlerden çevreye girmektedirler (Saygı, Battal, & Şahin, 2012; İkizoğlu ve Türkdoğan, 2017). Etki güçlerine göre üç antibiyotik de bakterisidtir. Etki mekanizmalarına göre ampisilin, bakteri hücre duvarı sentezini bozan ve litik enzim aktive edenler; gentamisin, ribozomlarda protein sentezini

bozanlar; siprofloksasin, bakteri genetik materyali üzerinde etki edenler grubunda yer almaktadırlar (Topal vd., 2015). Kimyasal yapıları Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



Ampisilin Siprofloksasin Gentamisin

Şekil 2.4. Ampisilin, siprofloksasin ve gentamisin kimyasal yapıları (Hişmioğulları, 2004; Zhang, Liu, Zhang, Pan & Liu, 2018; Foti ve Giuffrè, 2020)

2.7 Siyanobakteriler

Siyanobakteriler genellikle "mavi-yeşil algler" olarak adlandırılır, ancak zarla çevrili kloroplastların bulunmaması da dahil olmak üzere prokaryotik hücreleri, onları ökaryotik olan diğer alglerden ayırır. (Ulcay ve Kurt, 2017). Klorofil-*a* içeren, fotosentetik mikroorganizmalardır (Köker, 2016).

Siyanobakterilerin, çekirdek ve mitokondrilerileri yoktur. DNA'ları sitoplazmada serbest haldedir. Klorofil-*a* pigmenti dışında, fikosiyanin ve fikoeritrin özel fotosentetik pigmentleri vardır. Klorofil-*a*'nın ışığı absorbe etmede yetersiz kaldığı dalga boylarında bu pigmentler devreye girerek farklı derinliklerde yaşamlarını sürdürebilmektedir.

Pek çok farklı habitatlarda (kutup bölgesi, okyanuslarda, denizlerde, kara parçalarında, tatlı su ekosisteminde) yaşayabilen siyanobakteriler, dünyadaki en başarılı mikroorganizmalardandır. Su ekosisteminde fotosentez yaparak primer verimliliğe katkı sağlar. Ayrıca C ve N üreterek hayati fonksiyonlarını yerine getirir. Bu şekilde ekosisteme katkıda bulunur.

Siyanobakteriler, upwelling (yukarı akıntı) ya da karadaki hareketlerden kaynaklı nütrientlerin bol olduğu, nütrientçe zengin yüzey sularında yaygın olarak gelişirler. Siyanobakterilerin büyümelerini sınırlandıran PO_4^{3-} ve NO_3^-'tür. Tatlı suda fosfata kıyasla nispeten yüksek sayıda çözünür N formu ve siyanobakterilerin atmosferik N'yi sabitleme kabiliyeti nedeniyle, fosfor konsantrasyonu siyanobakteri

büyümesi için en sınırlayıcı faktördür. Işığın kararlılığı, su sıcaklığı ve stabilitesi, gelişimlerini etkileyen diğer parametrelerdir. Popülasyon yoğunluğu çevresel koşullara bağlı olarak gelişmektedir. Düşük PO_4^{3-} düzeyine sahip ortamlarda, hücrelerinde fosfat depolama yetenekleri iyi gelişmiştir. Ayrıca havadaki serbest N'yi tutabilme yetenekleri nedeniyle su ekosistemlerindeki diğer ökaryotik algleri geride bırakabilirler (Özen, 2020).

2.8 *Microcystis aeruginosa*

Microcystis en yaygın siyanobakteri türüdür ve genellikle dünya çapında ötrofik sularda baskın olup, aşırı artışlara yol açar (Visser, Ibelings, Mur & Walsby, 2005). *Microcystis* hücreleri küreseldir, genellikle bir mukus tabakası ile çevrili kolonilerdir (Şekil 2.5). Hücreler gazla dolu veziküller içerir. Gerçek kaldırma kuvvetleri, ışıkla olan ilişkilerine bağlıdır. Işık varlığında, fazla fotosentetik enerji glikojen formunda depolanır, bu da hücre yoğunluğunu arttırır ve *Microcystis* kolonisinin batmasına neden olur. Bu nedenle, uygun koşulların mevcut olduğu bir derinliğe düşen koloniler, glikojen içeriği azalıncaya kadar orada kalır. Su karıştırıldığında, *Microcystis* kolonisi tekrar su yüzeyine yükselir ve yüzeyde aşırı bir artışa neden olur (Köker, 2016).

Microcystis, ötrofik göllerin özellikle yaz aylarında toksisiteyi artırmasına neden olur. Bu büyük bir problem teşkil eder. Bir hepatotoksin olan mikrosistin ilk defa *Microcsytis aeruginosa*'dan karakterize edilmiştir. Mikrosistin sonraları; *Nostoc*, *Anabaena*, *Anabaenopsis* ve *Hapalosiphon* gibi birçok farklı genusta tespit edilmiştir (Sidelev, 2014). *Microcystis* diğer fitoplankton türleri ile kıyaslandığında, zooplankton beslenmesine daha dirençli ve ışık rekabetinde daha başarılı olmaları nedeniyle çoğu gölde baskın hale gelmektedirler (Köker, 2016).

Classification:

Empire: *Prokaryota*

Kingdom: *Eubacteria*

Subkingdom: *Negibacteria*

Phylum: *Cyanobacteria*

Class: *Cyanophyceae*

Subclass: *Oscillatoriophycidae*

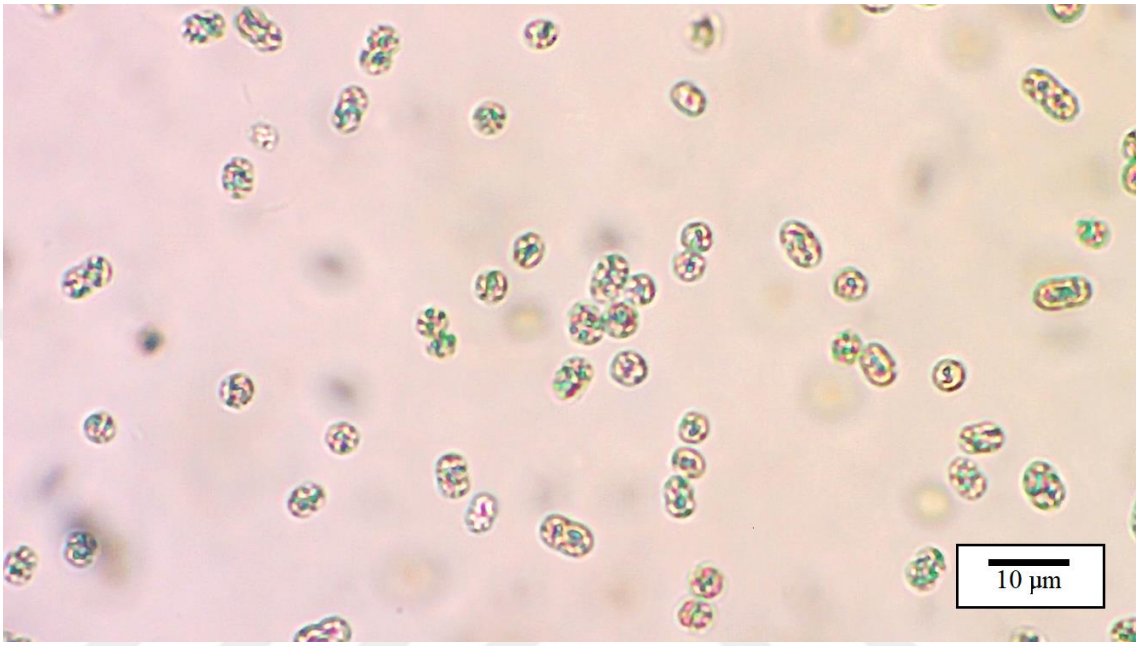
Order: *Chroococcales*

Family: *Microcystaceae*

Genus: *Microcystis*

Species: *Microcystis aeruginosa* (Kützing, 1846)

(Cavalier-Smith, 2002).



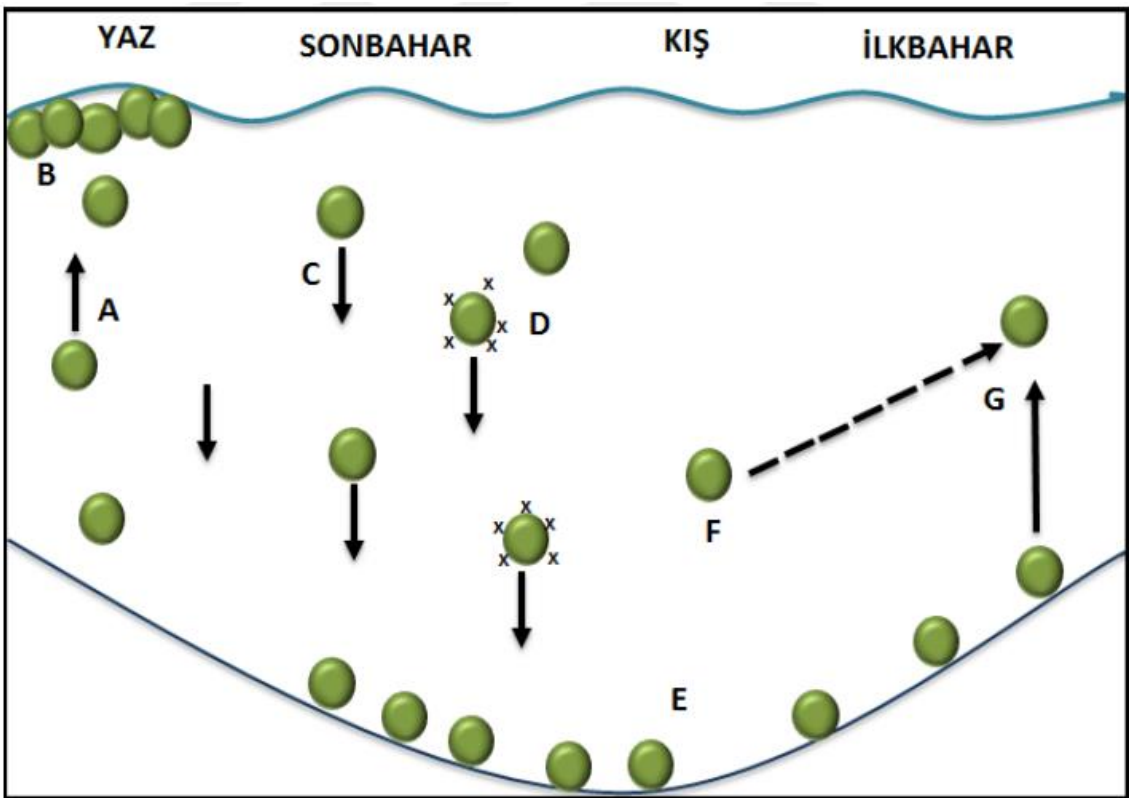
Şekil 2.5. *Microcystis aeruginosa* mikroskop görüntüsü.

Ilıman bölgelerde *Microcystis* ilkbahar ve sonbahar aylarında termal tabakalaşmanın belirginleşmesi ile ortaya çıkmaktadır. Suyun yüzey sıcaklığı 15 ^{o}C'yi geçtiği için, aşırı artışların başlamasına sebep olmaktadır.

Genellikle *Microcystis* yazın ardışık artış gösterir. Yaz bitiminde ise durağan faza geçerler. Yaz mevsiminde *Microcystis* baskın hale geçer ve su kolonunun durağan döneminde, yüzey kısmında, aşırı artışa sebep olur. *Microcystis* yüzebilme yeteneği sayesinde diğer türler arasında ışık rekabetinde önde olması ve büyüme oranının da ışıkla birlikte yükselmesiyle, aşırı artışa zemin hazırlamaktadır. Siyanobakterilerin yüksek pH seviyesinde ve düşük $C0_2$ konsantrasyonlarında gelişimlerini devam ettirmeleri, yeşil alglere karşı rekabette en önemli avantajlarıdır (Köker, 2016).

Microcystis'in mevsimsel yaşam döngüsünde; yaz dönemi *Microcystis* kolonileri (A) su kolonunda aşağı yukarı göç ederken, hava koşulları durgun seviyeye ulaştığında yüzeyde aşırı artış (B) meydana getirirler. Sonbaharda koloniler karbonhidrat dengelerinin artması ile (C) ya da kolloidal çökeltilere tutunarak (D) sedimana doğru

çökmeye başlarlar. Kış döneminde koloniler kışı sediman üzerinde geçirirler, fakat bazı koloniler (F) su kolonunda kışı geçirirler. İlkbaharda, yeni inokulum su kolonundaki (F) ya da sedimandaki (G) popülasyondan tekrar yaz döngüsüne girmektedir (Şekil 2.6) (Verspagen, 2006; Köker, 2016).



Şekil 2.6. *Microcystis*'in popülasyon dinamiği (Köker, 2016).

KAYNAK ARAŞTIRMASI

Amin vd. (2012), diatomlar ve bakteriler arasındaki bilinen etkileşimleri ve bu alandaki yeni yönleri araştırmışlardır. Çalışmalarında, yeni etkileşimlerin keşfedilmesine yardımcı olacak yeni teknolojik ilerlemeleri vurgulamışlardır.

Topal vd. (2012), antibiyotikler alıcı ortama verilmeden önce fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler ile arıtılmalı olduğunu bu nedenle de antibiyotiklerin tespit edilmesi ve arıtılmasının önemini vurgulamışlardır. Çalışmalarında, antibiyotiklerin tespit edilmesinde kullanılan analitik yöntemler ile antibiyotiklerin arıtımasında kullanılan metotlar açıklanmıştır.

Saygı vd. (2012), yaptıkları çalışmada, ilaçların ve metabolitlerinin vücuttan atılarak kanalizasyon sistemine karışması, kullanım dışı kalmış ilaçların evsel çöp olarak atılımı ve ilaç fabrikalarından salınan atık maddelerin ortaya çıkarabilecekleri sağlık ve çevre sorunlarını değerlendirmişlerdir.

Prieto vd. (2015), fitoplankton-bakteriyoplankton eşleşmesinin, birincil üreticilerin besinsel katkı maddelerine cevabındaki rolünü değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak mikrobiyal planktonun besin girdilerine tepkisinin, en azından kış döneminde, fitoplankton ve heterotrofik bakteriler arasındaki eşleşmeye bağlı olabileceğini göstermişlerdir.

Guo & Chen, (2012), iki yaygın tatlı su siyanobakteri türü *Microcystis aeruginosa* ve *Scenedesmus obliquus*, insan tıbbında ve veterinerde antibiyotik olarak yaygın olarak kullanılan klortetrasiklin toksik etkilerini araştırmak için test organizmaları olarak kullanmışlar ve antibiyotik kortetrasiklin ve bozulan ürünlerinin tatlı su siyanobakterilerin üzerinde olumsuz etki yarattığını ilk defa bildirmişlerdir.

Qian vd. 2012, Microcystis aeruginosa'da ampisilin, atrazin ve kadmiyum lorür'nin fizyolojik indeksler ve gen ekspresyon düzeyleri üzerindeki kısa dönem etkilerini değerlendirmişler ve bu üç kirleticinin önemli ölçüde antioksidan aktiviteye neden oldduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bu kirleticilerin alg büyümesi üzerinde pleiotropik etkilere neden olabileceğini ve fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlar ve hatta ikincil metabolik süreçleri etkileyebileceğini kaydetmişlerdir.

Le Page vd. 2019, çalışmalarında, sekiz siyanobakteri türünün yedi antibiyotiğe (sefazolin, sefotaksim, ampisilin, sufametazin, sülfadiazin, azitromisin ve eritromisine) karşı türler arası duyarlılığındaki farklılıkları üç farklı etki modu ile değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, tür duyarlılığı dağılımlarını kullanan olasılık analizi, (antibiyotikler için mevcut tahmin edilen etkisiz konsantrasyon) PNEC'in, dayandığı türe ve antibiyotiğin etki şekline bağlı olarak siyanobakterilerin üzerinde veya altında koruyucu olabileceğini göstermiştir.

Du vd. 2018, yaptıkları çalışmada, üç tipik antibiyotik maruziyetinin (sefradin, norfloksasin ve amoksisilin) *Microcystis aeruginosa* üzerindeki etkilerinin iki periyotta (maruziyet ve maruziyet sonrası) yeni bir bakış açısıyla kapsamlı bir değerlendirmesini sağlamıştır. Çalışmanın sonucunda, *M. aeruginosa*'nın geri döndürülemez büyüme inhibisyonunun, maruziyet ve yeniden maruz kalma aşamalarında norfloksasine atfedildiğini gösterdi. Bunun tersine, sefradine maruz kaldıktan sonra alg hücresi boyutu kontrol seviyesine geri dönmüş olsa da glutatyon (GSH) üzerindeki önemli uyarı, kirleticiler uzaklaştırılsa bile hala devam etti. Öte yandan amoksisilin, maruziyet döneminde süperoksit dismutaz (SOD), GSH içerikleri ve algal hücre boyutunun aktivitelerini inhibe ederken, malonaldehit (MDA) içerikleri iki dönemde önemli ölçüde artmıştır.

Wang, Chen, Hu & Wang, 2017 çalışmalarında, spiramisin ve ampisilin ikili antibiyotik karışımlarının *Microcystis aeruginosa* üzerindeki etkileşimli etkileri, mikrokistin üretimi ve hücre dışı salımının yanı sıra büyüme açısından da yanıt yüzey metodolojisi ile araştırmışlardır. *Microcystis aeruginosa* büyümesinde daha yüksek %50 ve%5 etkili konsantrasyonlara sahip spiramisin, *Microcystis aeruginosa* için ampisilin den daha toksik olduğunu, toksik birim yaklaşımı için RSM modeli, spiramisin ve ampisilinnin kombine toksisitesinin sinerjizmden antagonizmaya değiştiğini ve

spiramisin / ampisilin karışım oranının ters eştoksik orandan (5: 1) ekitoksik orana (1: 5) düştüğünü ileri sürmüşlerdir.

Spiramisin / ampisilin karışım oranının artmasıyla, karışık antibiyotiklerin *Microcystis aeruginosa* büyümesi üzerindeki birleşik etkisi, kombine toksisitenin varyasyonu ve karışımdaki yüksek toksik bileşen spiramisin oranının artması nedeniyle stimülasyondan inhibisyona değişmiştir. Hedef antibiyotiklerin çevreyle ilgili konsantrasyonlarında artan toplam doz ve spiramisin / ampisilin karışım oranı ile karışımı, hücre içi mikrokistin sentezini uyarmış ve *Microcystis aeruginosa* hücre lizizini kolaylaştırmıştır, böylece mikrokistin üretkenliğinin ve hücre dışı salınımın artmasına yol açtığını bildirmişlerdir.

Dias vd. 2015, çalışmada, farklı cinslerden dört siyanobakteriyel izolatın (*Microcystis aeruginosa, Aphanizomenon gracile, Chrisosporum bergii, Planktothix agradhii*) ve bunların arasında aynı türden *M. aeruginosa* dokuz izolatın farklı antibiyotiklere (amoksisilin, seftazidim, seftriakson, kanamisin, gentamisin, tetrasiklin, trimetoprim, nalidiksik asit, norfloksasin) duyarlılığını değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda test edilen tüm siyanobakterilerin bazı antibiyotiklere karşı azalan duyarlılığı, bu bileşiklere doğal olarak duyarlı olmayabileceklerini veya antibiyotik kontaminasyon basıncına veya çevrede bulunan dirençli bakterilerden gen transferine bağlı olarak duyarlı olmayabileceklerini göstermektedir.

Yasser ve Adli 2015, çalışmalarında, siyanobakteriyel matın balık yetiştirme göllerinden kaybolmasını araştırmak ve Penisilin, Siprofloksasin ve Tylosin'in tek ve siyanobakteriyel matlara karışım olarak fitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Fitotoksik etkiler, düşük antibiyotik konsantrasyonlarında 680 nm'de spektrofotometre kullanılarak siyanobakterilerin büyüme inhibisyonu olarak ölçülmüş ve sonuçlar, sırasıyla 0.13, 0.71, 5.28 mg / l Penisilin, Siprofloksasin ve Tylosin EC50 değerleri ile test edilen antibiyotiklerin potansiyel fitotoksisitesini göstermiştir. Nispi toksisite, Penisilin ve Siprofloksasinin siyanobakteriyel matlar için Diuron'dan (standart toksik materyal) daha toksik olduğunu göstermiştir. İkili karışımların EC50 değerleri sırasıyla (Penisilin + Tilosin), (Siprofloksasin + Tilosin) ve (Siprofloksasin + Penisilin) için

0.077, 0.103, 0.292 TU; tersiyer karışımın EC50'si ise 0.034 TU'dur. Sonuçların istatistiksel analizi, bileşiklerin ve karışımlarının siyanobakteriyel matlar üzerindeki toksik etkileri arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Ekolojik sistemde önemli bir organizma olan siyanobakteriyel mat üzerinde antibiyotiklerin tehlikeli toksik etkiler yarattığı sonucuna varılabilmiştir.

BÖLÜM 3

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 *Microcystis aeruginosa* Kültürlerinin Eldesi

Siyanobakteri kültür örnekleri İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi Deniz ve İçsu Kaynakları Yönetimi Bölümü, İçsu Kaynakları ve Yönetimi Anabilim Dalı Alg Kültür Koleksiyonu'ndan elde edilmiştir. Deneyler Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Hidrobiyoloji Anabilim Dalı, Plankton Kültürü Laboratuarında yapılmıştır.

3.2 *Microcystis aeruginosa* Kültür ve İklimlendirme Koşulları

M. aeruginosa için uygun olan otoklavlanmış BG-11 kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Aşağıdaki çizelgede gösterilen 1-8 arası bileşenler litre başına 10 mL, 9-14 arası bileşenler ise litre başına 1 mL hazırlanmıştır. 250 mL erlenmayer içerisinde 15 dk 121 ^{o}C otoklavlanarak hazır hale getirilmiştir.

Çizelge 3.1. BG-11 besiyeri içeriği

Bileşen	Konsantrasyon (500 ml için)	Eser element karışımı	Konsantrasyon (1000 ml için)
1-$NaNO_3$	75.0 g	9-H_3BO_3	2.86 g
2-K_2HPO_4	2.0 g	10-$MnCl_2.4H_2O$	1.81 g
3-$MgSO_47H_2O$	3.75 g	11-$ZnSO_4.7H_2O$	0.22 g
4-$CaCl_2.2H_2O$	1.80 g	12 $Na_2MoO4.2H_2O$	0.39 g
5-Citric acid	0.30 g	13-CuSO4.5H2O	0.08 g
6-Ammonium ferric citrate green	0.30 g	14-$Co(NO_3)2.6H_2O$	0.05 g
7-$EDTANa_2$	0.05 g		
8-Na_2CO_3	1.00 g		

M. aeruginosa stok kültür ilk olarak büyüme ortamına aşılanmıştır. Optimal büyümeyi gösterene kadar steril koşullarda inkübe edilmiştir. Tüm stoklar bakım ve deney aşamalarında günde iki kez elle çalkalanarak yeterli oksijenlendirme sağlanmıştır. Kültürler, 23-25 ^{o}C'de soğuk beyaz floresan tüpler tarafından sağlanan (50 µmol.m^{-2}s $^{-1}$) ışık yoğunluğuyla 16 saat ışık, 8 saat karanlık döngüsü altında ayarlanmış olan (Teknosem/TSK 500LN) iklim kabininde tutulmuştur (Şekil 3.1). Yeterli steril havalandırma sağlanmıştır. Stok kültürler hücre sayım sonuçlarını desteklemek için optik yoğunluk da ölçülmüştür. Tüm ölçümler en az üç kez tekrarlanmıştır. Tüm deneysel araçlar 121 ^{o}C' de 20 dakika otoklav ile sterilize edilmiştir.

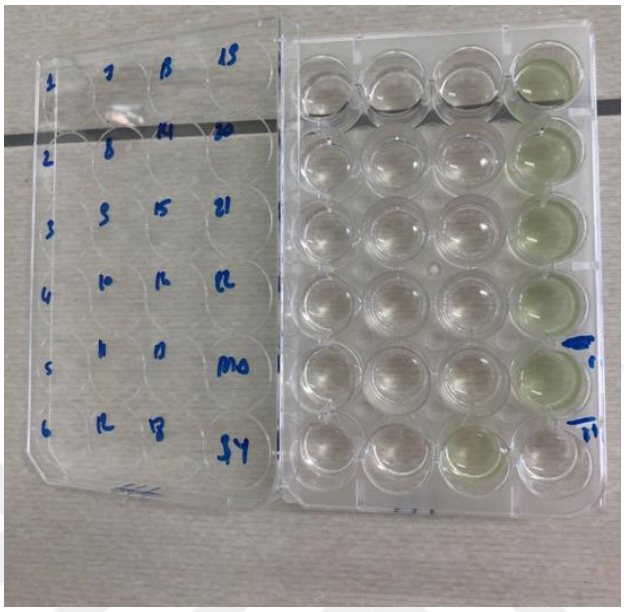


Şekil 3.1. İklim kabini (Teknosem/TSK 500LN)

Stok *M. aeruginosa* kültürleri, 250 mL'lik cam flasklarda, pH'ı 7.1 olan ve içeriği Çizelge 3.1'de verilen 150 mL BG-11 besiyerine, besiyeri hacminin %15'i (22.5 mL) kadar stok alg kültürü eklenerek hazırlandı ve 23-25˚C'ta, günde iki kez el ile çalkalanarak gece gündüz periyotlu ışık kaynağı altında 29 gün süre ile üretilmiştir (Stanier, Kunisawa, Mandel, & Cohen-Bazire, 1971).

3.3 Mikroorganizma Ekimi

Mikroorganizma ekimi için 24 kuyucuklu plaka kullanılmıştır (Şekil 3.2). Her bir kuyucuğa 1mL BG-11 besiyeri ilave edilmiştir.



Şekil 3.2. BG-11 ve mikroorganizma içeren 24 kuyucuklu plaka

3.4 Büyüme Oranı

Çalışmada kullanılan suşlarda gelişen mikroalglerin büyüme oranları hücre konsantrasyonları göz önüne alınarak aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (Guillard ve Sierachiki, 2005).

HY (Hücre mL^{-1}) = 16 büyük karedeki hücre sayısı x 10,000

HY=Hücre yoğunluğu sayım kamarasında 16 kareye düşen hücrelerin sayılmasıyla yapılmıştır.

3.5 Mikrodilüsyon

Deneylerde kullanılan antibiyotikler Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Farmosötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuarlarından temin edilmiştir.

Siprofloksasin distile suda çözülerek stok solüsyonları hazırlanmıştır. Çalışmada BG-11 besiyeri kullanılmıştır. Besiyerleri 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril

edilmiştir (Andersen, 2005). Antimikrobiyal duyarlılık testi, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile yapılmıştır.

BG-11 besiyerlerine pasaj yapılıp sıvı besiyerleri 23-25 ºC'de 72 saat inkübe edilmiş ve kültürün inokulumu thoma lamında sayılarak $2.2x10^4$ birey/ml yoğunluğunda kullanılmıştır.

Tüm kuyucuklara 1 mL besiyeri eklenmiştir ve stok solüsyonları hazırlanan siprofloksasin, mikrodilüsyon plaklarının ilk kuyucuklarına 1 mL hacimde eklenerek, stok solüsyondaki madde konsantrasyonu çift katlı olarak sulandırılmıştır. Mikropipet kullanılarak çift katlı dilüsyona devam edilip mikrodilüsyon plaklarının takip eden kuyucuklarında da madde konsantrasyonu her defasında yarı yarıya azaltılmıştır. Sonuç olarak mikroplaklarda siprofloksasinin 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 µg/mL konsantrasyonları, gentamisin 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.0312 µg/mL konsantrasyonları, ampisilin 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.0312, 0.0156, 0.0078, 0.0039, 0.0019, 0.00097, 0.00048, µg/mL konsantrasyonları elde edilmiştir.

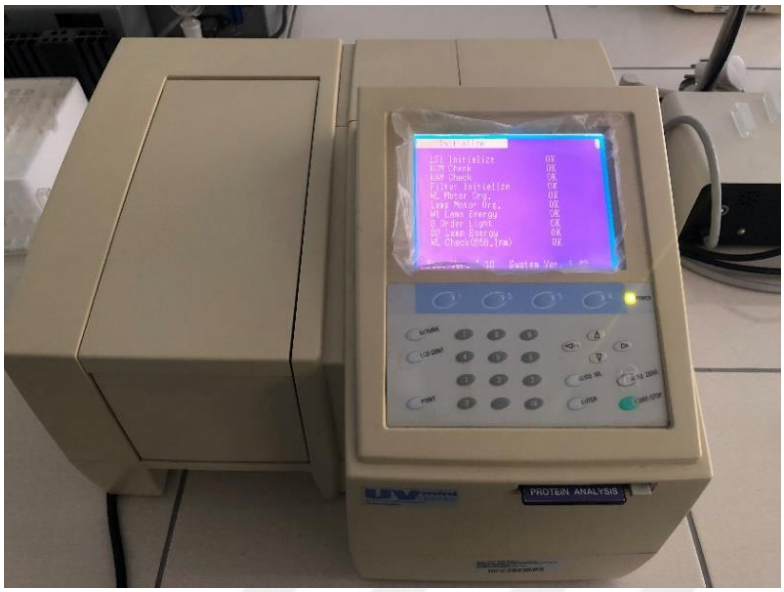
Dilüsyon işlemi tamamlandıktan sonra, mikrodilüsyon plağındaki her kuyucuğa, hazırlanan inokulum süspansiyonlarından 100 µL inokülasyon yapılmıştır. Her mikrodilüsyon plağında sadece "besiyeri ve mikroorganizma" içeren, sadece "besiyeri" içeren kontrol kuyucukları eklenmiştir. Bakteri inoküle edilmiş mikrodilüsyon plakları 21-23 ºC'de 3, 6, 9, 12, 15 gün inkübe edilmiştir.

MİK, mikroorganizmanın mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden en düşük madde konsantrasyonu olarak saptanmıştır.

3.6 Mikroorganizmaların Sayımı, Spektorofotometre Ölçümü

Mikroorganizmaların bulunduğu her bir kuyucuktan mikropipet ile 100 µL alınıp ışık mikroskobu yardımıyla Thoma lamında sayımı yapılmıştır.

Her bir sayım en az üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve ortalamaları alınmıştır. Sayım işlemi bittikten sonra aynı kuyucuklarda bulunan sıvının absorbansı (UV-mini 1240) spektrofotometrede 680nm, dalga boyu kullanılarak ölçüm yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Deneylerde kullanılan UV-mini 1240 spektrofotometre cihazı

3.7 Klorofil-*a* Tayini

Klorofil-*a*, tüm fotosentetik alglerde ve bitkilerin yapısında olan ana pigmenttir. Fotosentez olayını gerçekleştiren organik bileşikler ışık enerjisini kullanıp kimyasal enerjiye çevrilmesini sağlar. Su ekosistemlerinde besin ağları, biyokütle hakkında bilgi sağlayan en çok ölçülen biyokimyasal analizlerdir (Jeffrey ve Mantoura 1997). Klorofiller, ışığa maruz kaldıklarında magnezyum iyonunu şelatlayan bir tetrapirol yapısına sahip hassas pigmentlerdir. Chl-*a* ve *b*, Chl *c*'nin farkı, fitol zincirine sahiptir. Bir klorofil molekülünün magnezyum iyonunun kaybı sonucu elde edilen ürün bir feofitindir (Aminot ve Rey, 2001).

Klorofil ölçümünde ilk adım, suyu filtrelemek ve ardından hücrelere uygun bir çözücü ile filtredeki klorofil özü çıkarmaktır. Klorofiller ve karotenoidler, su içeren canlı bitki dokusundan suyu, örneğin aseton, metanol veya etanol gibi organik çözücülerle ekstrakte edilebilen yağda çözünebilen pigmentlerdir (Lichtenthaler, 1987).

Chl-*a* tayininde özellikle aseton, çeşitli organik çözücüler kullanılır. Etanol, asetondan daha güvenli bir alternatif özütleyicidir (Ritchie 2006). Siyonabakteri ve yeşil alg fotosentez pigmenti ekstraksiyonunda asetona göre daha güvenilirdir. Ek olarak, % 80 veya %90 etanol çözeltisi, klorofil pigmentinin kaynatma aşaması ve ardından 24 saatlik inkübasyon sırasında bozulmadan ekstrakte edilmesini sağlar. Chl-*a* ekstraksiyonu için %80 hem de %90 etanol uygundur. (Sartory ve Grobbelaar 1984).

Çalışmamızda %80 konsantrasyonda etanol kullanılmıştır (Wintermans ve De Mots 1965; Parker, Bowden & Flinn, 2016).

Klorofil-*a* tayini için ölçüm yapılacak numune sayısı kadar beher içine $MgCO_3$ ve 15 mL %80 alkol ilave edilmiştir. Kuyucuk içerisinde bulunan 1 mL numune suyu, GF/C Whatman filtre kâğıdı kullanılarak vakum filtrasyon cihazında süzüldükten sonra pens vasıtasıyla el değmeden kıvrılıp katlanarak makas ile küçük parçalar halinde beherlere yerleştirilmiş ve üzerleri folyo ile kapatılmıştır (Şekil 3.4). 25 ± 1 ^{o}C karanlık ortamda 24 saat bırakılarak pigment ekstraksiyonu tamamlanmıştır (Sartory ve Grobbelaar 1984). 24 saat sonra numuneler süzme işleminden geçirilip spektrofotometrede 665 ve 750 nm dalga boylarında ölçülmüştür (Şekil 3.4). Aynı numuneler 2N HCI ilave edilerek 665 ve 750 nm'de %80'lik etanole karşı absorbansları ölçümleri yapılmıştır.

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

Chl-*a* = [A x K x [(664b-750b)-(665a-750a)] x Ve] / Vf x l

Chl-*a*: klorofil-*a* pigment konsantrasyonu (mg Chl *a* L^{-1}),

A, 11.99 mg Chl-*a* cm L^{-1}'e eşdeğer ters absorbsiyon sönme katsayısı (Wintermans ve De Mots 1965),

K, 2,43'ün absorbsiyon indirgenme faktörü (Lorenzen, 1967),

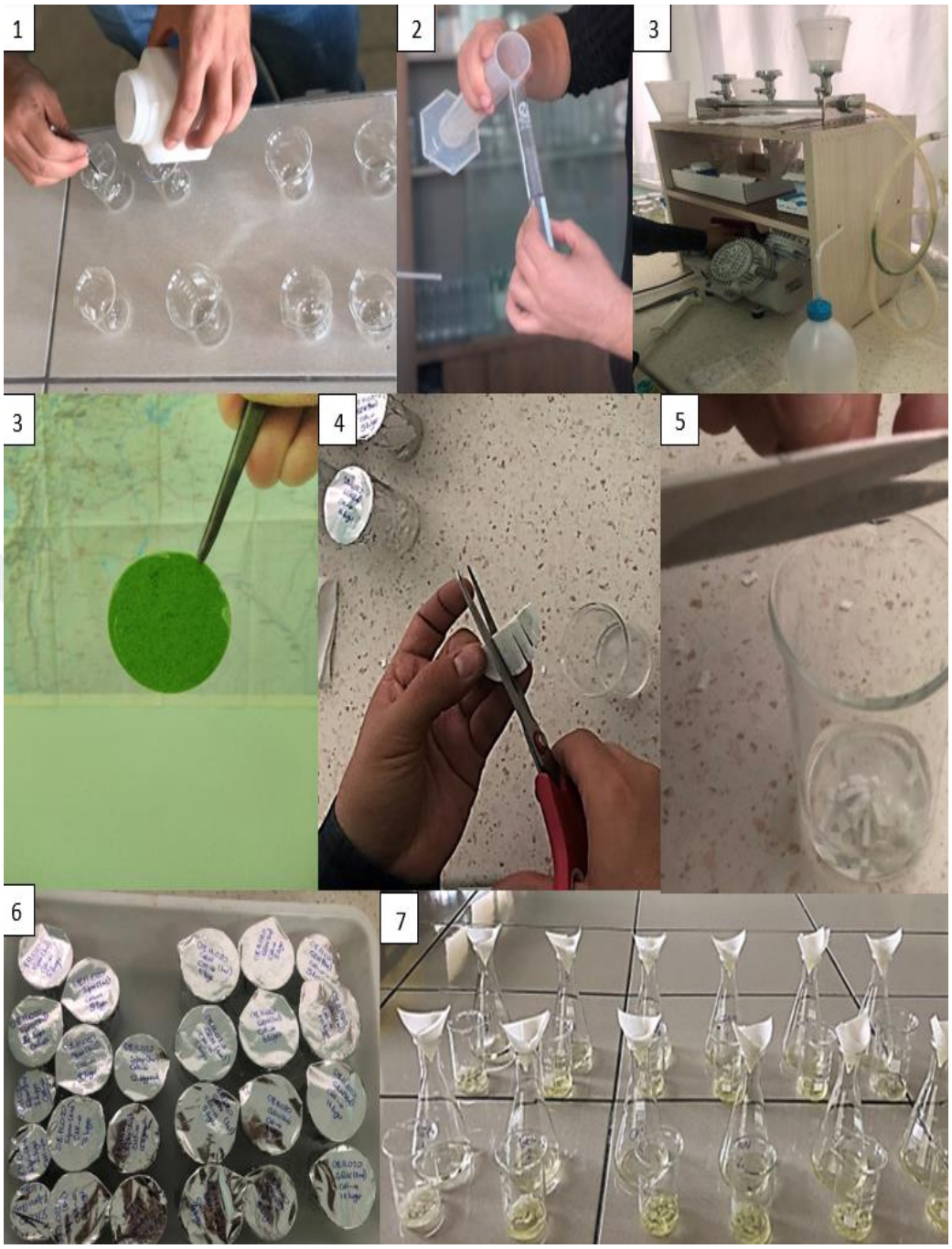
664b, asidifikasyondan önce 664 nm'deki temel absorbans,

750b, asidifikasyondan önce 750 nm'deki absorbans,

665a, asidifikasyondan sonra 665 nm'deki absorbans,

750a, asidifikasyondan sonra 750 nm'deki absorbans,

Ve, pigmenti ekstrakte etmek için kullanılan %80'lik etanolün hacmi (mL); Vf, filtre edilen örneğin hacmi (mL); l, küvetin yol uzunluğu (cm)'dur.



Şekil 3.4. Klorofil-a tayin aşamaları (1: beher içine MgCO3 ilavesi, 2: 15 mL %80 alkol ilavesi, 3: vakum filtrasyon cihazında numune süzme işlemi, 3: GF/C Whatman filtre kâğıdındaki klorofil pigmentleri, 4: filtre kağıdının katlanarak makas ile küçük parçalara böl bölünmesi, 5: beher içinde klorofil pigmentleri içeren filte kağıdı parçaları, 6: 25 ± 1°C karanlık ortamda 24 saat bırakılan beherler, 7: pigment ekstraksiyonu tamamlanmış numunelerin süzme işlemi).

BÖLÜM 4

4. BULGULAR

4.1 *Microcystis aeruginosa* Kültür ve Gelişimi

Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi Su Bilimleri Fakültesi'nden temin edilen aksenik *Microcytis aeruginosa* (PCC7806) kültürleri kullanılmıştır.

Ekim yapılan kültürler 27 ila 30 gün arasında Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Anabilim Dalı Plankton Kültürü Laboratuarında bulunan iklim odasında belirlenen iklimlendirme koşullarında 5×10^4 hücre.ml^{-1} hücre yoğunluğuna ulaştığı tespit edilmiştir. Stok kültürlerin hücre sayılarının değişimi grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. *M. aeruginosa* kültürlerinin 30 günlük gelişim grafiği

4.2 *Microcystis aeruginosa* Kültürleri Üzerine Antibiyotik Sonuçları

Seçilen her 3 antibiyotik içinde deneyler 3 tekrar olacak şekilde yapılmıştır. Her deneyde antibiyotik miktarı siprofloksasin, ampisilin ve gentamisin 1024µgL^{-1} olacak şekilde başlamış ve %50 oranında dilüe edilerek antibiyotik miktarı azaltılmıştır. Gelişim göstermeyen antibiyotik miktarları çalışmada verilmemiştir.

Belirlenen konsantrasyonlardaki antibiyotiklerin *M. aeruginosa* kültürlerinin gelişimi üzerindeki etkilerini gözlemlemek amacıyla denemeler süresince 3 günde bir (72 saat) olacak şekilde alınan örneklerde spektrofotometrik olarak 680nm dalga boyunda maksimum hücre yoğunlukları, klorofil-*a* miktarları ve mikroskobik olarak hücre sayımları yapılmıştır.

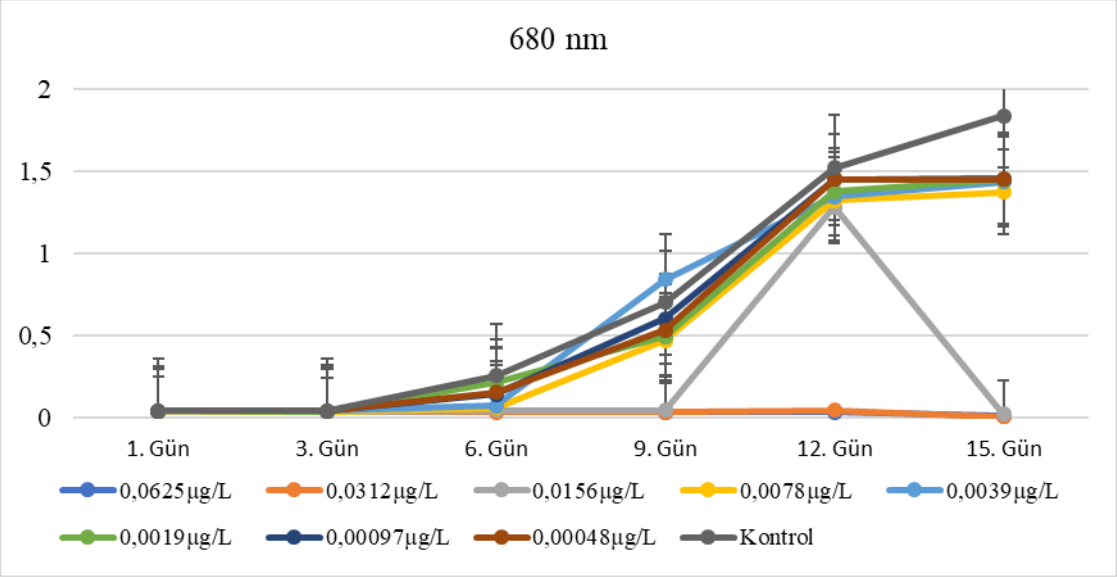
4.3 *Microcystis aeruginosa* Kültür Gelişimi Üzerinde Ampisilin'in Etkileri

Ampisilin miktarı 1024µgL^{-1}'den itibaren azalan dozlarda olacak şekilde kültür ekimleri yapılmıştır.

4.3.1 Optik Yoğunluk

Denemelerin başladığı ilk günde 680nm dalga boyunda kültürler 0,041λ olarak ölçülmüştür. Denemelerin 3. gününden itibaren 0,0312µgL^{-1} 'den daha yüksek dozlarda 680nm dalga boyunda ölçülen değerler başlangıç değerlerinin üzerine çıkmamıştır.

680 nm dalga boyunda ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir (Şekil 4.2). Ölçülen değerler sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 1,842λ olarak ölçülürken en düşük olarak ise 0,0312 µgL^{-1} ampisilin uygulanan kültürde 0,009λ olarak ölçülmüştür.

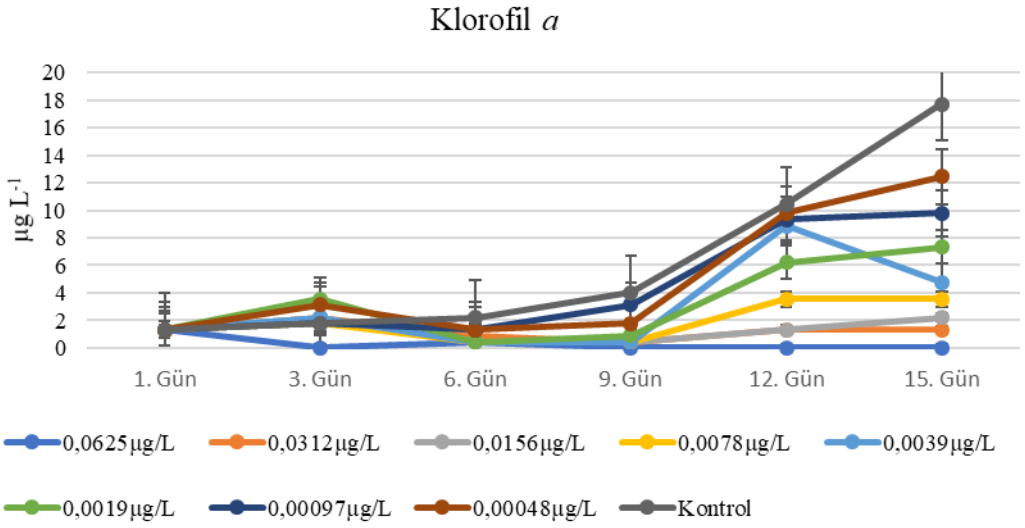


Şekil 4.2. Ampisilin üzerinde 680nm değerleri

4.3.2 Klorofil-*a*

Klorofil-*a* miktarı ampisilin antibiyotiğinin eklendiği ilk gün tüm dozlarda 1,332µgL^{-1} olarak ölçülmüştür. Denemelerin 3. gününden itibaren 0,0312µgL^{-1} 'den daha yüksek dozlarda klorofil-*a* ölçülememiştir.

Klorofil-*a* değerleri de yaklaşık olarak optik yoğunluk değerlerinde olduğu gibi tüm uygulama gruplarında deneme süresince benzer bir değişim sergilemektedir (Şekil 4.3). Ölçülen değerler µgL^{-1} olarak sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 17,725µgL^{-1} olarak ölçülürken en düşük olarak ise 0,0312 µgL^{-1} ampisilin uygulanan kültürde 1,332 µgL^{-1} olarak ölçülmüştür.

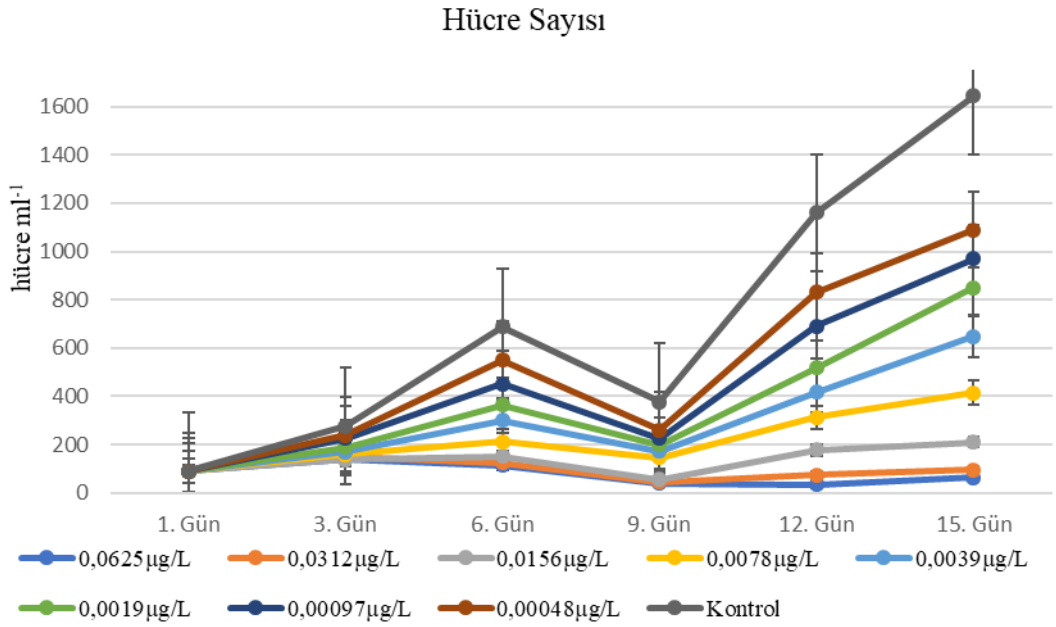


Şekil 4.3. Ampisilin üzerinde klorofil-*a* değerleri

4.3.3 Hücre Yoğunluğu

Mikroskop üzerinde yapılan sayımlarda hücre sayıları ampisilin antibiyotiğinin eklendiği ilk gün tüm dozlarda 90 hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak hesaplanmıştır. Denemelerin 3. gününden itibaren yapılan ölçümlerde 0,0312µgL^{-1} 'den daha yüksek dozlarda hücre sayısı başlangıç dozlarına yakın sayılarda ölçülmüştür.

Hücre sayıları da yaklaşık olarak optik yoğunluk ve klorofil-*a* değerlerinde olduğu gibi tüm uygulama gruplarında deneme süresince benzer bir değişim sergilemektedir (Şekil 4.4). Ölçülen değerler hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 1645 olarak ölçülürken en düşük olarak ise 0,0312 µgL^{-1} ampisilin uygulanan kültürde 95 hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Ampisilin üzerinde hücre sayıları değerleri

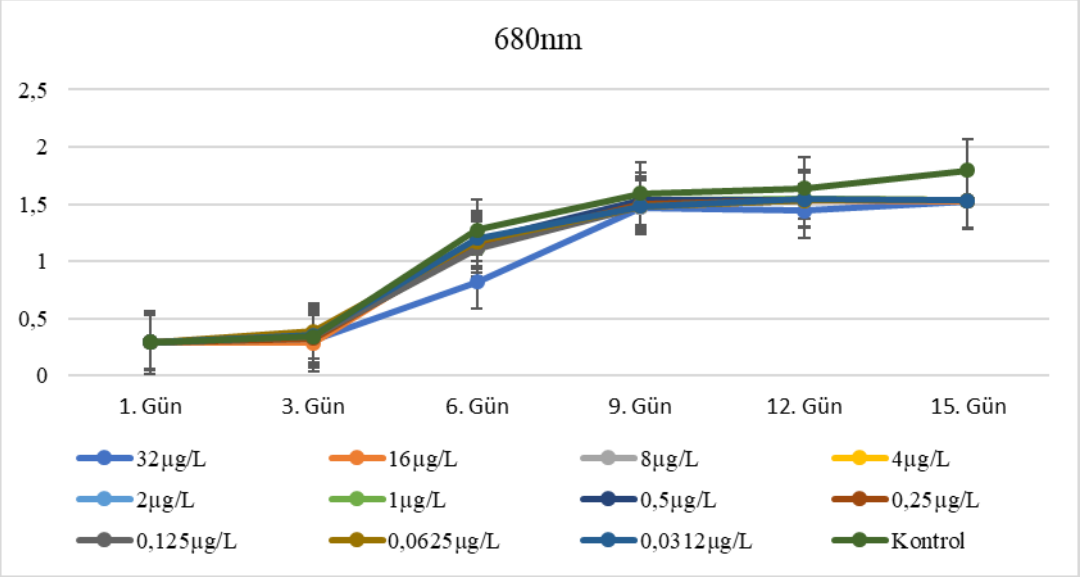
4.4 *Microcystis aeruginosa* Kültür Gelişimi Üzerinde Gentamisin'in Etkileri

Gentamisin miktarı 1024µgL^{-1}'den itibaren azalan dozlarda olacak şekilde kültür ekimleri yapılmıştır.

4.4.1 Optik Yoğunluk

Denemelerin başladığı ilk günde 680nm dalga boyunda kültürler 0,290 λ olarak ölçülmüştür. Denemelerin 3. gününden itibaren 32µgL^{-1} doz dahil olmak üzere bütün dozlar benzer değerler gösterilmiştir (Şekil 4.5).

680 nm dalga boyunda ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir (Şekil 4.5). Ölçülen değerler sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 1,795 λ olarak ölçülürken, en düşük olarak ise 0,0312 µgL^{-1} gentamisin uygulanan kültürde 1,53 λ olarak ölçülmüştür.

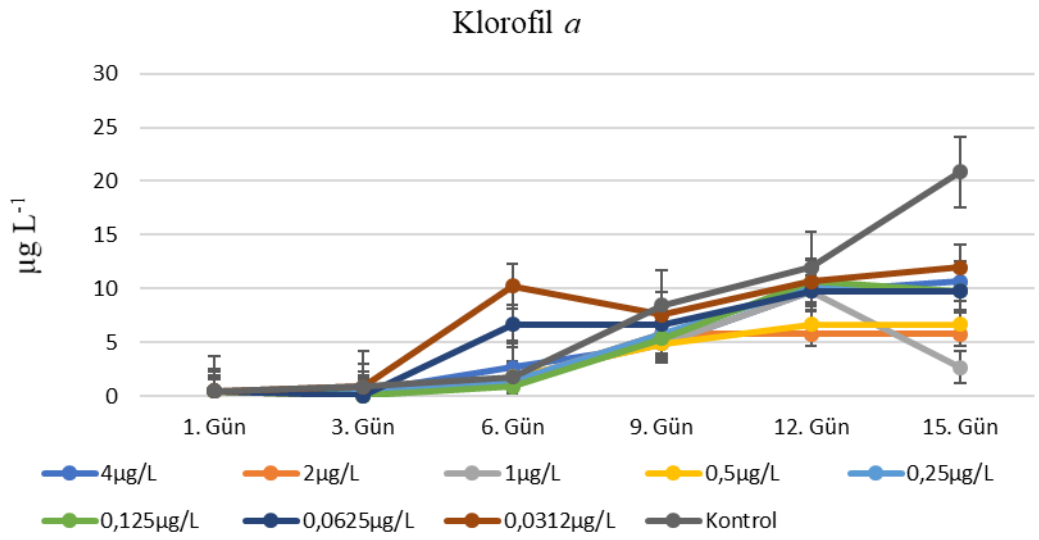


Şekil 4.5. Gentamisin üzerinde 680nm değerleri

4.4.2 Klorofil-*a*

Klorofil-*a* miktarı Gentamisin antibiyotiğinin eklendiği ilk gün tüm dozlarda 0,444µgL^{-1} olarak ölçülmüştür. Denemelerin 3. gününden itibaren 4µgL^{-1} 'den daha yüksek dozlarda klorofil-*a* ölçülememiştir.

Klorofil-*a* değerleri de yaklaşık olarak optik yoğunluk değerlerinde olduğu gibi tüm uygulama gruplarında deneme süresince benzer bir değişim sergilemektedir (Şekil 4.6). Ölçülen değerler µgL^{-1} olarak sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 20,868µgL^{-1} olarak ölçülürken en düşük olarak ise 1µgL^{-1} Gentamisin uygulanan kültürde klorofil-*a* miktarı 2,664µgL^{-1} olarak ölçülmüştür.

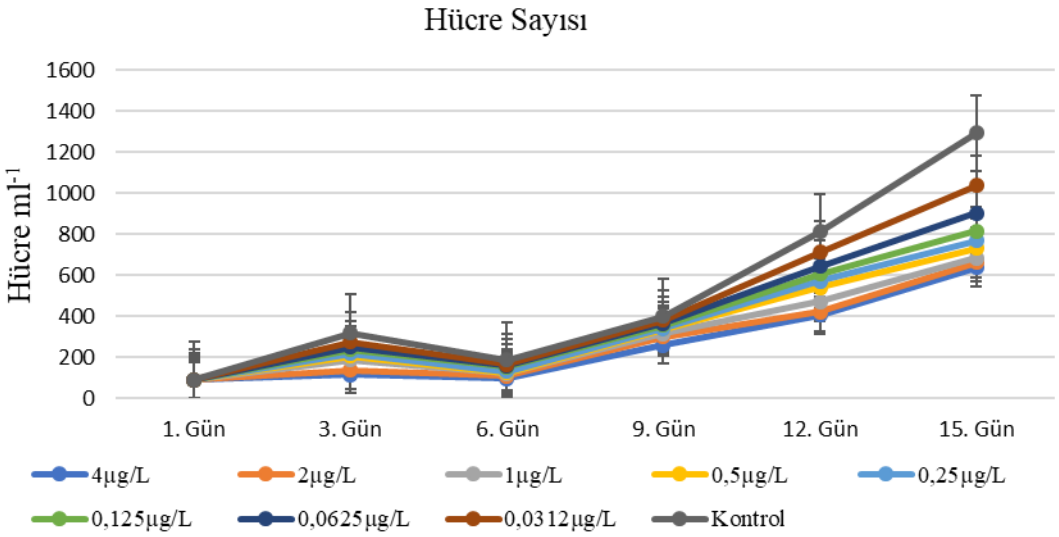


Şekil 4.6. Gentamisin üzerinde klorofil-*a* değerleri

4.4.3 Hücre Yoğunluğu

Mikroskop üzerinde yapılan sayımlarda hücre sayıları Gentamisin antibiyotiğinin eklendiği ilk gün tüm dozlarda 90 hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak hesaplanmıştır. Denemelerin 3. gününden itibaren yapılan ölçümlerde $4\mu gL^{-1}$ 'den daha yüksek dozlarda hücre sayısı başlangıç dozlarına yakın sayılarda ölçülmüştür.

Hücre sayıları da yaklaşık olarak optik yoğunluk ve klorofil-*a* değerlerinde olduğu gibi tüm uygulama gruplarında deneme süresince benzer bir değişim sergilemektedir (Şekil 4.7). Ölçülen değerler hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 1294 olarak ölçülürken en düşük olarak ise 4 μgL^{-1} Gentamisin uygulanan kültürde 634 hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.7. Gentamisin üzerinde hücre sayıları değerleri

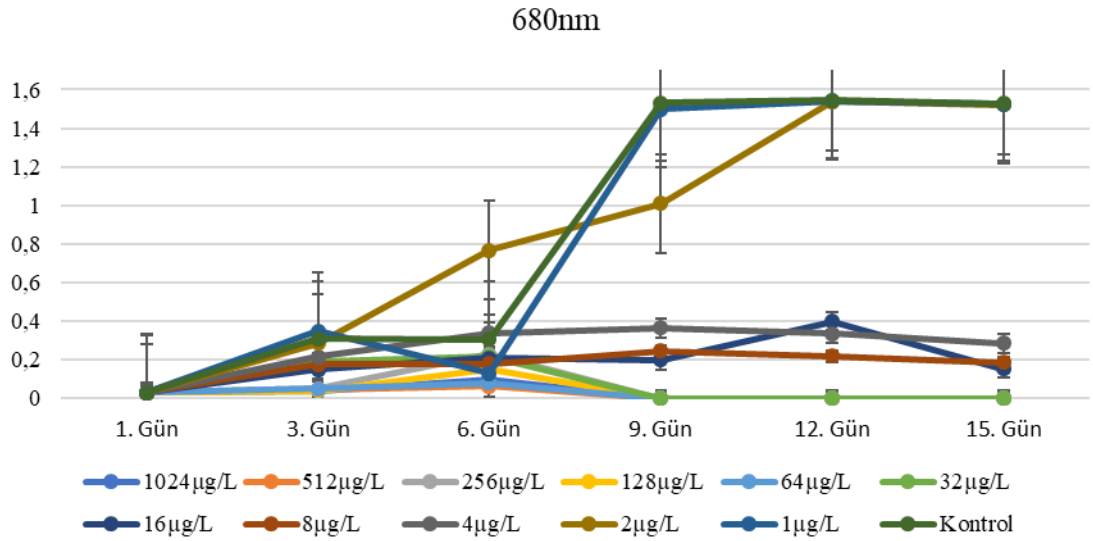
4.5 *Microcystis aeruginosa* Kültür Gelişimi Üzerinde Siprofloksasin'in Etkileri

Siprofloksasin antibiyotiği miktarı 1024µgL^{-1}'den itibaren azalan dozlarda olacak şekilde kültür ekimleri yapılmıştır.

4.5.1 Optik Yoğunluk

Denemelerin başladığı ilk günde 680nm dalga boyunda kültürler 0,029λ olarak ölçülmüştür. Denemelerin 9. gününden itibaren 32µgL^{-1} 'den daha yüksek dozlarda 680nm dalga boyunda ölçülen değerler 0 λ olarak tespit edilmiştir.

680nm dalga boyunda ölçülen optik yoğunluk değerleri Şekil 4.8'de gösterilmiştir (Şekil 4.8). Ölçülen değerler sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 1,527λ olarak ölçülürken en düşük olarak ise 16µgL^{-1} Siprofloksasin uygulanan kültürde 0,154 λ olarak ölçülmüştür. Daha yüksek konsatrasyonlarda 0 λ olarak ölçülmüştür.

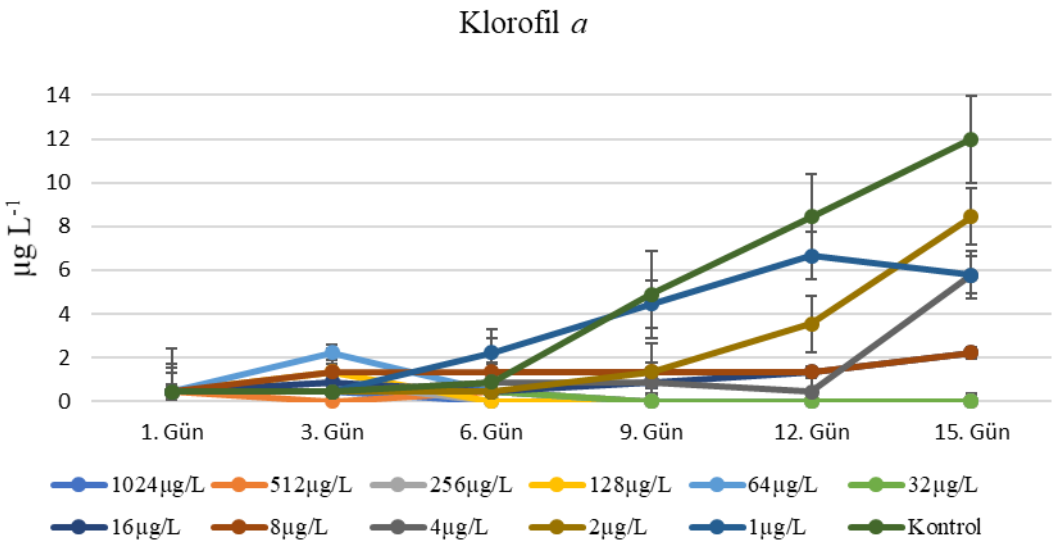


Şekil 4.8. Siprofloksasin üzerinde 680nm dalga boyundaki OD değerleri

4.5.2 Klorofil-*a*

Klorofil-*a* miktarı Siprofloksasin antibiyotiğinin eklendiği ilk gün tüm dozlarda 0,444µgL^{-1} olarak ölçülmüştür. Denemelerin 9. gününden itibaren 32µgL^{-1} 'den daha yüksek dozlarda klorofil-*a* ölçülememiştir.

Klorofil-*a* değerleri de yaklaşık olarak optik yoğunluk değerlerinde olduğu gibi tüm uygulama gruplarında deneme süresince benzer bir değişim sergilemektedir (Şekil 4.9). Ölçülen değerler µgL^{-1} olarak sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 11,988µgL^{-1} olarak ölçülürken en düşük olarak ise 16µgL^{-1} Siprofloksasin uygulanan kültürde 2,222µgL^{-1} olarak ölçülmüştür.

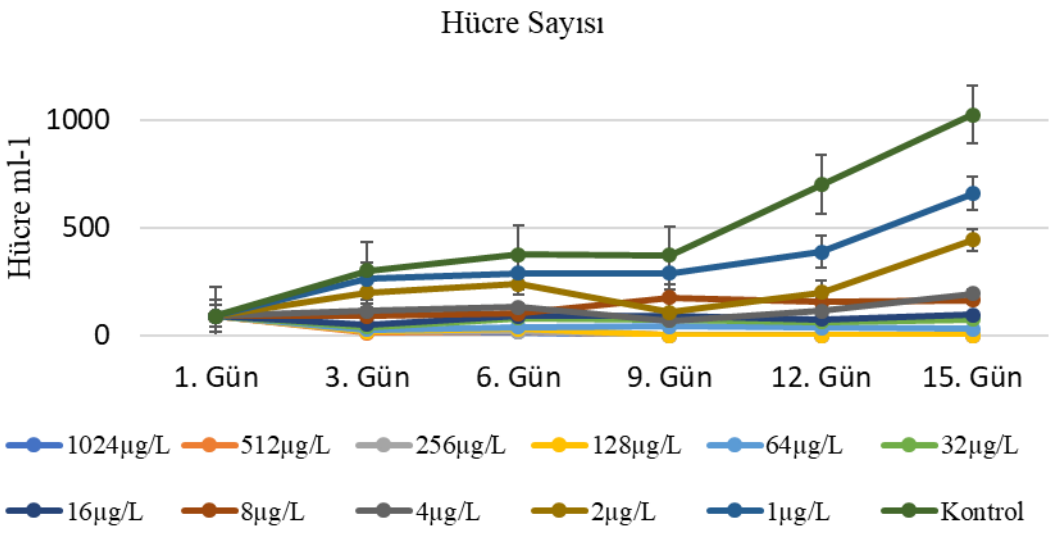


Şekil 4.9. Siprofloksasin üzerinde klorofil-*a* değerleri

4.5.3 Hücre Yoğunluğu

Mikroskop üzerinde yapılan sayımlarda hücre sayıları Siprofloksasin antibiyotiğinin eklendiği ilk gün tüm dozlarda 90 hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak hesaplanmıştır. Denemelerin 9. gününden itibaren yapılan ölçümlerde $128\mu gL^{-1}$'den daha yüksek dozlarda hücre sayısı 0 olarak sayılmıştır.

Hücre sayıları da yaklaşık olarak optik yoğunluk ve klorofil-*a* değerlerinde olduğu gibi tüm uygulama gruplarında deneme süresince benzer bir değişim sergilemektedir (Şekil 4.10). Ölçülen değerler hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak sırasıyla; Kontrol grubunda denemelerin sonunda 1025 olarak ölçülürken en düşük olarak ise 64 μgL^{-1} Siprofloksasin uygulanan kültürde 30 hücre $ml^{-1}x10^4$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.10. Siprofloksasin üzerinde hücre sayıları değerleri

BÖLÜM 5

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Yaklaşık 3 milyon yıl önce ortaya çıkan fotosentetik siyanobakteriler bugün yaşadığımız dünyanın atmosferinin oluşumunda en önemli organizmalardır. Aynı zamanda "Endosimbiyotik Teori"ye göre bu canlılar ökaryotik organizmalarda bulunan kloroplastların kökenini oluşturdukları düşünülmektedir.

Dünya atmosferinde en çok bulunan gaz olan azotun, amonyum ve formlarına indirgenerek diğer bitkisel organizmalar için yararlı duruma gelmesine azot fiksasyonu denir. Biyolojik olarak azot fiksasyonunu birçok farklı mikroorganizma gerçekleştirebilir. Toprakta bulunan bazı bakteriler baklagiller birlikte simbiyotik olarak önemli azot fikse eden canlılardır.

Siyanobakteriler (Mavi-yeşil algler) yüksek bitkilerle benzer fotosentez aktivitesi ile oksijen üreten ve azot fikse eden ender organizmalardır. Prokaryot olan siyanobakteriler yani mavi-yeşil algler fotosentez için gerekli elektronları, ökaryotik alglerin ve diğer bütün bitkilerin yaptığı gibi, su molekülünün parçalanmasıyla elde ederler. Fotosentezde su molekülünün kullanılarak elektron elde edilmesi evrimleşmeseydi, dünyamızda oksijen içeren bir atmosfer olmayacak ve oksijenli solunum yapabilen yüksek organizasyonlu canlılar gelişemeyecekti (Graham, Graham & Wilcox, 2004). Atmosferik azotu (N_2) fikse edebilmeleri bu canlıların diğer önemli özelliklerinden biridir. Heterosist adı verilen özelleşmiş hücreler yardımıyla bu canlılar azot (N_2) fiksasyonu yaparlar (Adams, 2000; Graham & Wilcox, 2000; Schopf, 2000).

Bu çalışma için seçilen antibiyotiklerden *M. aeruginosa* üzerinde en fazla etkiyi siprofloksasinin gösterdiği, bunu sırasıyla ampisilin ve gentamisinin izlediği gözlenmiştir. Mathilda, (2003); Ampisilin'in ve Gentamisin'in *Escherichia coli*'ye karşı etkinliği üzerine yaptığı çalışmada; ampisilinin daha etkin olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da buna paralel olarak ampisilin etkinliğinin gentamisine göre daha etkin olduğu gözlenmiştir.

Su ortamları, antibiyotiklere/antibiyotiğe dirençli (AR) bakterilerin ana havuzları olduğu, ancak suda yaşayan mikroorganizmaların AR genlerinin yayılması/ortaya çıkması üzerindeki rolü hakkındaki bilgiler hala değerlendirilmemiş bir konudur. Siyanobakteriler sucul ekosistemlerde her yerde bulunur ve antibiyotik kirliliğine/direncine maruz kalmalarına rağmen doğal ekosistemlerde AR yayılımında rol oynayıp oynamayacakları bilinmemektedir. Bazı siyanobakteriyel suşlar antibakteriyel aktivite sergiler ve bu nedenle, kendilerini toksik etkilerinden korumak için mekanizmalar geliştirmiş olabilir, bazı siyanobakteriyel suşlar, bazı antibiyotiklere dirençli olarak tanımlanabilmesi gibi nedenler bizi siyanobakterilerin AR genlerini barındırabileceği varsayımına götürür. Çalışmamıza göre gentamisinin en az etkiyi göstermesinin sebebi siyanobakterilerin direnç kazanmış olması bir varsayımdır (Dias vd., 2015).

Siyanobakteriyel hücre duvarının penisilinin enzimatik hareketleri ile bozulabileceği ve β-laktam grubunda yer alan amoksisilinin siyanobakterilerde fotosentezi bozabileceği açıklanmıştır (Dias vd., 2015). Bu da bizim çalışmamızda β-laktam grubununun bir üyesi olan ampisilinin daha etkin olarak bulunmasına açıklık getirmektedir. Ampisilin bakteri hücre duvarı sentezinin inhibisyonunu sağlar. Bu antibiyotik transpeptidaz enzimlerine bağlanarak hücre duvarını oluşturan peptidoglikanların oluşumunu inhibe eder. Ampisilin, transpeptidaz enziminin yapısal analoğudur ve bu enzimin yerine bağlanır. Bu antibiyotiğin kullanımı nedeniyle oluşan enzimler bakteri lizisine yani ölümüne yol açar. Bakterisit etkilidir. Gattullo vd. 2012 ve Liu vd. 2014'e göre ampisilin *M. aeruginosa*'da klorofil-*a* üretimini etkileyerek fotosentezin bozulmasına neden olarak alg büyümesini etkileyebilir. Denemelerde gentamisin ve siprofloksasin'in aksine çok düşük dozlarda dahi klorofil-*a* ölçümü yapılamamıştır. Ampisilinin pigment ve çözünür protein içeriklerini etkilediği

bilinmektedir. Bunun *M. aeruginosa* üzerinde büyümeyi inhibe ettiğini düşünmekteyiz (Gattullo vd., 2012; Liu vd., 2012).

Du vd., 2018 yaptıkları çalışmada amoksisilin ile muamele edilmiş alglerde, norfloksasin ise *M. aeruginosa*'da geri dönüşü olmayan bir hasara neden olmuştur. Yapılan benzer çalışmalarda sefradinin, spiramisin ve amoksisilin gibi antibiyotiklerin *M. aeruginosa*'nın büyümesi ve klorofil-*a* sentezi üzerinde önemli etkileri olduğu bulunmuştur (Lützhøft vd., 1999; Chen and Guo 2012; Lui vd., 2012).

Gentamisin gram negatif bakteri hücre duvarında fosfolipidlerin polar başlarına, lipopolisakkaridlere ve dış membran proteinlerine bağlanır, bunun sonucunda ise Mg^{+2} ve Ca^{+2} iyonlarının yerlerinden oynamasına neden olur (Kayaalp 2005). Bu olayın sonucunda hücre duvarındaki normal geçirgenlik fonksiyonu kaybolur. Hücre duvarını ve hücre zarını geçen gentamisin bir daha hücreden dışarı çıkmaz ve sitoplazma içinde kalır. Gentamisin bakterilerde ribozomların 30S alt birimlerine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Bu nedenle mRNA'daki genetik kodun yanlış okunmasına ve yanlış protein sentezine yol açarlar. Bakterisidal etki göstermektedir (Gilbert vd., 2000, Başhan 2009). Bir aminoglikozit olan gentamisinin *M. aeruginosa* üzerinde denemelerin 9. gününden itibaren büyümeyi yavaşlattığı ve durdurucu bir etki gösterdiği sonucunu ortaya çıkarabilir.

Florokinolonlar (FQ'lar), hem insan hem de veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılan bir antibiyotik sınıfıdır. Bu ilaçlar, DNA sarmalının replikasyon ve transkripsiyon için çözülmesinde rol oynayan anahtar bakteriyel enzimleri (DNA giraz ve topoizomeraz IV) inhibe eder. Birinci nesil veya orijinal kinolonlar florlanmamıştır ve nalidiksik asit ve oksolinik asit gibi ilaçları içermektedir (Robinson, Belden, Lydy, 2005). Bizim çalışmamızda en etkin antibiyotiğin kinolon grubuna ait siprofloksasin olarak tespit edilmesi antibiyotiğin etki mekanizması ile ilişkilendirilebilir.

Robinson, 2005 yaptıkları çalışmada *M. aeruginosa*'nın antibiyotiğe duyarlı en hassas türlerden biri olduğunu ve siprofloksasinin bu tür üzerinde etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Ebert vd., 2011, fotoototrofik akuatik türler ile ilgili antibiyotikler Enrofloksasin florokinolon ve siprofloksasinin organizmanın büyümesinin inhibisyonu üzerine etkisini

araştırmışlardır. Enrofloksasin yeşil algler için daha toksikken, siprofloksasinin ise siyanobakteriler için daha toksik olduğunu bildirmişlerdir.

Kovalakova, 2020 derleme çalışmasında, sekiz antibiyotik (eritromisin, trimetoprim, sülfametoksazol, tetrasiklin, oksitetrasiklin, ofloksasin, siprofloksasin ve amoksisilin) üzerindeki son araştırmaları incelemiştir.

Ebert vd., 2011; yaptıkları çalışmada siyanobakterilerin siprofloksasine karşı en hassas tür olduğunu dolayısıyla karşılaştırdıkları üç antibiyotikten en etkin antibiyotiğin siprofloksasin olduğunu bildirmişlerdir.

Lu vd., 2019, siprofloksasin, bakteriyel DNA giraz aktivitesini inhibe eden ve replikasyonuna müdahale eden gram negatif ve pozitif bakterilere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Bakterilerin siprofloksasin tarafından engellenmesinin genel olarak ökaryotlarınkinden daha güçlü olduğunu gösterilmiştir.

Siprofloksasine duyarlı olan bakterilerde DNA sentezini etkileyerek bakterisid etki meydana getirir. Topoizomeraz II ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek DNA sarmalı üzerine etki eder. Bunun sonucunda da bakteri bölünemez, anormal şekilde uzar ve ölür, ayrıca sitoplazma membranını da zedeler. Siprofloksasin gibi kinolon grubu antibiyotiklerin neden olduğu antioksidan yanıt, *M. aeruginosa* büyümesi ile tutarlı sonuçlar göstermiştir. *M. aeruginosa* büyümesi gerilemiş klorofil oranları düşmüştür. Denemelerde kullanılan antibiyotikler içerisinde hücre gelişimini en çok etkileyen ve fitotoksik antibiyotik olarak tespit edilmiştir (Ulutan, 2003).

Sonuç olarak, küresel anlamda düşünüldüğü zaman, ötrofikasyonun sonucu olarak siyanobakterilerin artışları sürekli olarak meydana gelmektedir. Bu artışın sonucunda da, koku, bulanıklık ve su kalitesinde bozulma gibi olaylar meydana gelmektedir. Ayrıca, bazı toksik siyanobakterilerin, suda yaşayan organizmaların ölümü ve insanlar için risk oluşturduğu bilinmektedir. Siyanobakterilerin hem çevreye hem de insanlara yönelik bu tür tehditleri nedeniyle biyolojik özellikleri son yıllarda giderek artan bir oranda araştırılmaktadır (Shang vd., 2015). Sucul ekosistemlere bulaşan antibiyotikler, *M. aeruginosa* üzerinde toksik etkiler ortaya çıkarabilir. Ancak *M. aeruginosa*, ötrofikasyona bağlı siyanobakteri artışlarında bu artışa bağlı olarak meydana gelebilen en yaygın siyanotoksin grubu olan mikrosistinlerin üretiminden sorumlu olan önemli bir türdür. Bu nedenle belirli dozlarda kullanılan antibiyotikler su

ortamlarında zararlı algleri kontrol etmeye yardımcı olabilir. Benzer çalışmaların deneysel olarak yapılması ve doğada zararları olmayan ya da en az olan antibiyotik dozlarının belirlenmesinin, gelecekte karşılaşılacak sucul ekosistemle ilgili problemlerin çözümünde faydalı bilgiler sağlayacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

Abo-State, M. A., Shanab, S. M., Ali, H. E. & Abdullah, M. A. (2015). Screening of antimicrobial activity of selected Egyptian cyanobacterial species. *Journal of Ecology of Health & Environment, 3*(1), 7-13.

Adams, D.G., 2000. Heterocyst formation in cyanobacteria, Current Opinion in Microbiology, 3, 618–624.

Akkurt, Ş. & Oğuz, M. (2019). Atıksu Arıtma Tesislerinde Mikro Kirleticilerin Arıtılabilirliği. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 22*(2), 58-77.

Amin, S. A., Parker, M. S., & Armbrust, E. V. (2012). Interactions between diatoms and bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *76*(3), 667-684.

Aminot, A. & Rey, F. (2001) Chlorophyll a: Determination by spectroscopic methods (s.17). *ICES Techniqnes in Marine Environmental Sciences*.

Andersen, R. A. (Ed.). (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier.

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

Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current opinion in biotechnology*, *19*(3), 260-265.

Batu, A. (2007). *Mogan Gölü, Beytepe Göleti ve Delice Nehri (Kızılırmak) Mavi-Yeşil Algleri Üzerine İncelemeler.* (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Başhan, P (2009). *Gentamisinle Nefrotoksisite Oluşturulan Sıçanlarda L-Argininin Koruyucu Etkisi Üzerine Katyonik Kompetisyonun Olası Katkısı*. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi/Tıp Fakültesi. Adana.

Bilir Baş, E. (2011). *Çevre Enterokoklarında Linkozamidlere İnaktivasyon Yoluyla Direnç*. (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. Aydın.

Boteva, A. A. & Krasnykh, O. P. (2009). The methods of synthesis, modification, and biological activity of 4-quinolones. *Chemistry of Heterocyclic Compounds, 45*(7):757- 85.

Cavalier-Smith, T. (2002). The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of *Protozoa*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52*(2), 297-354.

Chen, J. Q., & Guo, R. X. (2012). Access the toxic effect of the antibiotic cefradine and its UV light degradation products on two freshwater algae. *Journal of hazardous materials, 209*, 520-523.

Çelebi H., 2012, *Treatability of Antibiotics In Sequential Buoyant Filter/Aerobic And Multichamber/Aerobic Systems*. (Doktora Tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Çiçek, A., Uysal, E., Köse, E., & Tokatlı, C. (2017). Eskişehir'de yer alan bazı sulama göletlerinin su kalitesinin değerlendirilmesi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 6*, 440-446.

Demirden, P. (2005). *Treatability Of Pharmaceutical İndustry Wastewaters Containing Antibiotic İn Anaerobic/Aerobic Sequential Processes*. (Yüksek Lisans Tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Dias, E., Olvera, M., Jones-Das, D., Vasconcelos, V., Ferrera, E., Managero, V., & Cança, M. (2015). Assessng the antbotc susceptblty of freshwater Cyanobactera spp. Fronters n Mcrobology, 6, 799.

Du, Y., Wang, J., Zhu, F., Mai, D., Xiang, Z., Chen, J., & Guo, R. (2018). Comprehensive assessment of three typical antibiotics on cyanobacteria (Microcystis aeruginosa): The impact and recovery capability. *Ecotoxicology and environmental safety, 160*, 84-93.

Ebert, I., Bachmann, J., Kühnen, U., Küster, A., Kussatz, C., Maletzki, D., & Schlüter, C. (2011). Toxicity of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin and ciprofloxacin to photoautotrophic aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry, 30*(12), 2786-2792.

Foti, C., & Giuffrè, O. (2020). Interaction of Ampicillin and Amoxicillin with Mn2+: A Speciation Study in Aqueous Solution. *Molecules, 25*(14), 3110.

Gattullo, C. E., Bährs, H., Steinberg, C. E., & Loffredo, E. (2012). Removal of bisphenol A by the freshwater green alga Monoraphidium braunii and the role of natural organic matter. *Science of the Total Environment, 416*, 501-506.

Gençoğlu, M. (2019). *Tuzla Lagününün (Karataş) Mikrobiyal Kalitesinin Belirlenmesi, Antibiyotik Dirençlilik Frekansının Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.

Gilbert, D. N. (2000). Aminoglycosides. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principle and Practice of Infectious Diseases*.

Graham, L.E, Graham, J.M., Wilcox, L.W., 2004. Bitki Biyolojisi (Plant Biology), Çeviri Editörü: Işık, K., Palme Yayıncılık, Ankara.

Graham, L.E., Wilcox, L.W. (2000). Algae. Prentice-Hall, Inc.

Guillard, R.R.L. & Sierachiki, M.S., 2005, Counting cells in cultures with the light microscope. In: Andersen, R.A. (Eds.) *Algal Culturing Techniques* (s.239-252). Elsevier Academic Press, London.

Guo, R. X., & Chen, J. Q. (2012). Phytoplankton toxicity of the antibiotic chlortetracycline and its UV light degradation products. *Chemosphere*, *87*(11), 1254-1259.

Gülay, Z. (2017). Antibacterials and their mechanism of action at the bacterial cell. *Turkiye Klinikleri Journal of Infetious Diseases-Special Topics*, *10*(1), 6-19.

Gürses, F. (2004). *Antibiyotik Formülasyon Atıksularının Fenton-Benzeri ve Foto-Fenton-Benzeri İleri Oksidasyon Prosesleri ile Arıtılabilirliğinin İncelenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.

Harvey, R.A., Champe, P.C., Mycek, M.J., Gertner, S.B., & Perper, M.M. (2006). *Pharmacology* (s. 477). Lippincott Williams &Wilkins.

Hişmioğulları, Ş.E. (2004). *Türkiye'de Ruhsatlı Bazı Veteriner Antibakteriyel İlaç Spesiyalitelerinin (Aminoglikozidler ve Sülfamidler) Etken Madde İçerikleri Ve Bazı Saklama Şartlarının Bu Düzeylere Etkisi Üzerine Çalışmalar*. (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.

Işık, H. (2020). *Gelevera Deresi (Giresun)'nden İzole Edilen Bakterilerin Ağır Metal ve Antibiyotik Direnç Düzeylerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Giresun Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. Giresun.

İkizoğlu, B., & Türkdoğan, F. İ. (2017). Yaygın kullanımlı antibiyotiklerin konvansiyonel arıtma tesislerinde giderimi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, *2*(2), 1-22.

İlhan, O. (2018). *Paşaköy ve Ambarlı İleri Biyolojik Arıtma Tesislerinde Yaygın Antibiyotik Türlerinin Gideriminin Değerlendirilmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Namık Kemal Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Le Page, G., Gunnarsson, L., Trznadel, M., Wedgwood, K. C., Baudrot, V., Snape, J., & Tyler, C. R. (2019). Variability in cyanobacteria sensitivity to antibiotics and implications for environmental risk assessment. *Science of The Total Environment*, *695*, 133804.

Jeffrey, S.W. & Mantoura, R.F.C. (1997). Phytoplankton Pigments İn Oceanography. Guidelines To Modern Methods. S.W. Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. & Wright, S.W. (Ed.), *Development Of Pigment Methods For Oceanography: SCOR-Supported Working Groups And Objectives* (s. 19-36). France: Paris,

Lützhøft, H. C. H., Halling-Sørensen, B., & Jørgensen, S. E. (1999). Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish fish farming. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *36*(1), 1-6.

Kanfer, I., Skinner, M. F. & Walker, R. B. (1998). Analysis of macrolide antibiotics. *Journal of Chromatography A*, *812*(1-2), 255-86.

Kausalya, M. & Rao, G. N. (2015). Antimicrobial activity of marine algae, *Journal of Algal Biomass Utilization, 6* (1), 78-87.

Kayaalp, S. O. (2005). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (11. Baskı), Cilt: 1, Kayaalp SO (edt), Hacettepe-TAŞ Kitapçılık Ltd. Şti., Feryal Matbaacılık San. *ve Tic. Ltd. Şti., Ankara,* 303-52.

Kayılı, E. (2020). *Beyaz Peynirlerde Koagülaz Pozitif Staphylococcus Aureus Varlığının Araştırılması ve Antibiyotik Dirençlilik Düzeyinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.

Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological indicators, 8*(1), 1-13.

Kohanski, M.A., Dwyer, D.J., Collins, J.J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology, 8*(6): 423-435.

Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of *Cyanoprokaryotes* (*Cyanobacterial* genera). *Preslia, 86*(4), 295-335.

Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T. J., Marsalek, B., Feng, M., & Sharma, V. K. (2020). Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere*, 126351.

Köker, L. (2016). *Küçükçekmece Gölü'nde Su ve Sedimentteki Microcystis Genotiplerinin Ve Potansiyel Toksisitelerinin Yıllık Değişimi.* (Doktora Tezi). İstanbul Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Kulis, J., McQuillan, D., Chapman, T., Mawhinney, D., & Meyerhein, R. (2003). Antibotics in New Mexico wastewater and ground water. Reporting Status or Progress, New Mexico, September, 22.

Kum, C., Gökbulut, C., Akar, F., Kırkan, Ş., & Sekkin, S. (2004). Gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Enterococcus seriolicida* izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi, 75(3),* 47-53.

Küçükünsal, S. (2019). *Impact Of Wastewater Treatment Plants On Dıssemınatıon Of Antıbıotıc Resıstance Genes*. (Yüksek Lisans Tezi). Orta Doğu Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Kümmerer, K. (2003). Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *52*(1), 5-7.

Kümmerer, K. (2012). Antibiotics in The Aquatic Environment. Keen, P.L. & Montforts, M. H. M. M. (Eds.), *Resıstance In The Envıronment* (s.325). Germany.

Kützing, F. T. (1846). Kurze Mittheilung über einige kieselschalige Diatomeen. *Botanischen Zeitung*, *4*(14), 247-248.

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

Liu, Y., Gao, B., Yue, Q., Guan, Y., Wang, Y., & Huang, L. (2012). Influences of two antibiotic contaminants on the production, release and toxicity of microcystins. *Ecotoxicology and environmental safety*, *77*, 79-87.

Liu, Y., Zhang, J., Gao, B., & Feng, S. (2014). Combined effects of two antibiotic contaminants on *Microcystis aeruginosa*. *Journal of hazardous materials*, *279*, 148-155.

Lorenzen, C. J. (1967). Determination of chlorophyll and pheo-pigments: spectrophotometric equations 1. *Limnology and oceanography*, *12*(2), 343-346.

Lu, T., Zhu, Y., Ke, M., Peijnenburg, W. J. G. M., Zhang, M., Wang, T., & Qian, H. (2019). Evaluation of the taxonomic and functional variation of freshwater plankton communities induced by trace amounts of the antibiotic ciprofloxacin. *Environment international*, *126*, 268-278.

Mathilda, A. (2003). *Efektivitas In Vitro Ampisilin, Gentamisin dan Kombinasinya Terhadap Escherichia coli* (Doctoral dissertation, Universitas Kristen Maranatha).

Nogales, B., Lanfranconi, M. P., Piña-Villalonga, J. M., & Bosch, R. (2011). Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, *35*(2), 275-298.

Ötker, H. M. (2002). Oxidative Treatment of Antibiotics in Pharmaceutical Effluents. (Doktora Tezi). Boğaziçi Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Özen, M. (2020). *Uluabat Gölü Toksik Siyanobakteri Türleri ve Toksinlerinin Belirlenmesi*. (Doktora Tezi). Uludağ Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

Özkan, L., Alkaya, E., & Demirer, G.N. (2008). Suyun geri kazanımı ve yeniden kullanımı. *Toplum ve Hekim*, *23*(1), 69-74.

Pabuççu, K. ve Yücer, T. D. (2017). Oscillatoria türlerinin tıbbi özelliklerinin araştırılması. *Gaziosmanpasa Journal of Scientific Research*, *6*(1), 46-59.

Parker, S.P., Bowden, W.B. & Flinn, M.B. (2016). The effect of acid strength and
postacidification reaction time on the determination of chlorophyll a in ethanol extracts of aquatic periphyton. *Limnology and Oceanography Methods*, *14*(12), 839-852.

Pérez, M. J., Falqué, E. & Domínguez, H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Marine Drugs*, *14* (3), 52.

Prieto, A., Barber-Lluch, E., Hernández-Ruiz, M., MartÍnez-GarcÍa, S., Fernández, E., & Teira, E. (2015). Assessing the role of phytoplankton–bacterioplankton coupling in the response of microbial plankton to nutrient additions. *Journal of Plankton Research*, *38*(1), 55-63.

Qian, H., Pan, X., Chen, J., Zhou, D., Chen, Z., Zhang, L., & Fu, Z. (2012). Analyses of gene expression and physiological changes in Microcystis aeruginosa reveal the phytotoxicities of three environmental pollutants. *Ecotoxicology*, *21*(3), 847-859.

Retsema, J., & Fu, W. (2001). Macrolides: structures and microbial targets. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *18*(1), 3-10.

Ritchie, R.J. (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, *89*(1), 27-41.

Robinson, A. A., Belden, J. B., & Lydy, M. J. (2005). Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *24*(2), 423-430.

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

Saygı, Ş., Battal, D., & Şahin, N. (2012). Çevre ve insan sağlığı yönünden ilaç atıklarının önemi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, *16*(2), 82-90.

Schopf, J.W., 2000. The fossil record: Tracing the roots of the cyanobacterial lineage, in: B.A. Whitton, M. Potts (Eds.), The Ecology of Cyanobacteria, Kluwer Academic, The Netherlands, 13–35.

Shang, A. H., Ye, J., Chen, D. H., Lu, X. X., Lu, H. D., Liu, C. N., & Wang, L. M. (2015). Physiological effects of tetracycline antibiotic pollutants on non-target aquatic Microcystis aeruginosa. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, *50*(11), 809-818.

Sidelev, S. I. (2014). Molecular genetics identification of microcystin-producing cyanobacteria taxa in Lake Nero (Russia). *Microbiology*, *83*(5), 709-711.

Sönmez, A.Y., Hisar, O., Karataş, M., Arslan, G. & Aras, M.S. (2008). *Sular Bilgisi*. Ankara: Nobel.

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

Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research, 32*(11), 3245-3260.

Tokatli, C., Köse, E., & Çiçek, A. (2014). Assessment of the effects of large borate deposits on surface water quality by multi statistical approaches: a case study of seydisuyu stream (Turkey). *Polish Journal of Environmental Studies, 23*(5), 1741-1751.

Topal M, Uslu G., Arslan Topal E.I. & Öbek E. (2012) Antibiyotiklerin kaynakları ve çevresel etkileri, *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 1*(2): 137-152

Topal, M., Şenel, G. U., Topal, E. I. A., & Öbek, E. (2015). Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi, 31*(3), 121-127.

Türkdoğan F. I. & Yetilmezsoy K. (2009). Appraisal of potential environmental risks associated with human antibiotic consumption in Turkey. *Journal of Hazardous Materials, 166*(1), 297-308.

Ulcay, S. Ö. & Kurt, O. (2017). Algae Flora of Germencik-Alangüllü (Aydın, Turkey) Thermal Water. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 13*(3), 601-608.

Ulutan, F. (2003). New Quinolones and Uses in the Treatment of Respiratory Infections. *Flora, 8*(1), 32-39.

Uzun, M. T. (2015). *Bazı Antibiyotik Atıklarının Atık Sulardan Adsorpsiyon Yöntemiyle Giderilmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Sıtkı Koçman Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. Muğla.

Van der Grinten, E., Pikkemaat, M. G., van den Brandhof, E. J., Stroomberg, G. J., & Kraak, M. H. (2010). Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere, 80*(1), 1-6.

Verspagen, J. M. H. (2006). *Benthic-pelagic coupling in the population dynamics of the cyanobacterium Microcystis* (Doctoral dissertation, Utrecht University).

Visser, P. M., Ibelings, B. W., Mur, L. R., & Walsby, A. E. (2005). *The ecophysiology of the harmful cyanobacterium Microcystis*. In Harmful cyanobacteria (s. 109-142). Springer, Dordrecht.

Von Bambeke, F.V., Michot, J.M., von Eldere, J.V. & Tulkens, P.M. (2005). Quinolones in 2005: an update. *Clinical Microbiology and Infection, 11*(6), 256-80.

Wang, Z., Chen, Q., Hu, L., & Wang, M. (2018). Combined effects of binary antibiotic mixture on growth, microcystin production, and extracellular release of Microcystis aeruginosa: application of response surface methodology. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(1), 736-748.

Wang, J., & Wang, S. (2016). Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review. *Journal of Environmental Management*, *182*, 620–640.

Wintermans, J.F.G.M. & De Mots., A. (1965). Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biophysics including Photosynthesis*, *109*(2), 448-453.

Yalap, K. S., & Balcioğlu, I. A. (2008). Oksitetrasiklinin ileri oksidasyon ile arıtımına su bileşenlerinin etkisi. *ITU Journal Series E*: *Water Pollution Control*, *18*(2-3), 51-60.

Yasser, E. N., & Adli, A. (2015). Toxicity of single and mixtures of antibiotics to cyanobacteria. Journal of Environmental & Analytical Toxicology, *5*(3), 1.

Ye, J., Huang, C., Shang, A., Xu, C., & Wu, L. (2020). Characteristics of toxin production and release in *Microcystis aeruginosa* exposed to three tetracycline antibiotics. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(14):16798-16805

Yıldız, İ., Varkal, M. A., & Ünüvar, E. (2014). Günümüzde Sefaloporinler ve Antibiyotik Direnci. *Çocuk Dergisi*, *14*(1), 22-27.

Yunusoğlu, O., Yardım, Y., & Berköz, M. (2020). Çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilere karşı geliştirilen yeni antibiyotikler; dalbavansin, telavansin ve oritavansin. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, *13*(2), 45-54.

Zhang, G. F., Liu, X., Zhang, S., Pan, B., & Liu, M. L. (2018). Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *European journal of medicinal chemistry*, *146*, 599-612.

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimini Lüleburgaz'da tamamladı. 2016 yılında Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. 2018 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.