



**ANTİMİKROBİYAL BOR BİLEŞİKLERİ
KULLANILARAK TARİHİ TAŞ YAPILARDAKİ
BİYODETERİYORASYONUN ÖNLENMESİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Özlem GÜLMEZ

**Doktora Tezi
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Özlem BARIŞ
2023
(Her Hakkı Saklıdır.)**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**ANTİMİKROBİYAL BOR BİLEŞİKLERİ KULLANILARAK TARİHİ TAŞ
YAPILARDAKİ BİYODETERİYORASYONUN ÖNLENMESİ ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR**

(Research on The Prevention of Biodeterioration of Historic Stone Structures by Using
Antimicrobial Boron Compounds)

DOKTORA TEZİ

Özlem GÜLMEZ

Danışman: Prof. Dr. Özlem BARIŞ

Erzurum
Haziran 2023

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Özlem GÜLMEZ tarafından hazırlanan “Antimikrobiyal Bor Bileşikleri Kullanılarak Tarihi Taş Yapılardaki Biyodeteriorasyonun Önlenmesi Üzerine Araştırmalar” başlıklı çalışması / / 2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Biyoloji Ana Bilim Dalı, Genel Biyoloji Bilim Dalında tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Özlem BARIŞ	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	<i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Mesut TAŞKIN	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Murat ÖZDAL	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Sinan BAYRAM	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Bayburt Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Serap ÇETİNKAYA	Aslı Islak İmzalıdır
	<i>Sivas Cumhuriyet Üniversitesi</i>	

..../.../....

Enstitü Yönetim Kurulunun
tarih ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Özlem BARIŞ danışmanlığında sunulan “Antimikrobiyal Bor Bileşikleri Kullanılarak Tarihi Taş Yapılardaki Biyodeteriorasyonun Önlenmesi Üzerine Araştırmalar” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	21	30
Kuramsal Temeller	4	30
Materyal ve Metot	29	35
Araştırma Bulguları	6	20
Tartışma ve Sonuç	3	20
Tezin Geneli	10	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Özlem GÜLMEZ	Prof. Dr. Özlem BARIŞ
4.7.2023	4.7.2023
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım rahmetli hocam Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR’a teşekkürü bir borç bilirim.

Hocamın vefatından sonra tez çalışmam boyunca destek veren ve şans getiren hocam Saygıdeğer Prof. Dr. Özlem BARIŞ’a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar ortamında bilgi ve görüşlerine başvurduğum Sayın Doç. Dr. Murat ÖZDAL’a teşekkür ederim. Laboratuvar arkadaşlarım Ebru GEZGİNCİOĞLU ve Elif TAN’a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca tüm destek ve duaları ile yanımda olan babam Yusuf GÜLMEZ’e annem Züleyha GÜLMEZ’e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamızı **FDK-2020-8402** kodlu projeyle destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi ‘ne (BAP) teşekkür ederim.

Özlem GÜLMEZ

ÖZET

DOKTORA TEZİ

ANTİMİKROBİYAL BOR BİLEŞİKLERİ KULLANILARAK TARİHİ TAŞ YAPILARDAKİ BİYODETERİYORASYONUN ÖNLENMESİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Özlem GÜLMEZ

Danışman: Prof. Dr. Özlem BARIŞ

Amaç: Erzurum ve çevresindeki tarihi taş yapılarda biyodeteriyorasyona sebep olan organizmaların özellikle liken ve liken ekosisteminde bulunan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal nitelikli borik asit ve boraks kullanılarak inhibisyonu dolayısıyla anti-biyodeteriyoratif ajan olma potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem; Toplanan liken örnekleri öncelikle steril saf su ile yıkandıktan sonra, % 75’lik alkol ile yıkanmıştır. Daha sonra %2’lik HCl çözeltisi içerisinde 3 dk. bekletildi. Bu zaman dilimi sonunda likenler saf su ile iyice yıkandı. Yıkama işleminden sonra steril kurutma kağıdı arasında kurutuldu. Steril fizyolojik su hazırlanarak içerisine 1 cm² ‘lik parçalar steril bistirtü ile kesitler atılarak ve 24 saat boyunca 150 rpm’de çalkalandı. Steril dilüsyon sıvıları hazırlanarak izolasyon işlemlerine devam edildi. Bu amaçla Triptik soy agar (TSA) ve Nutrient agar (NA) hazırlandı. 10⁶ ‘lık seri dilüsyonlardan bu besi yerlerine örnek aktarılarak 20°C ve 30°C’de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra ayrı düşen koloniler morfolojik yapılarına bakılarak saf kültürler olarak izole edildi. Siyanobakteriler için; hazırlanan BG-11 Medyuma dilüsyon sıvısı aktarılarak 21 gün boyunca 25°C’de foto periyodu 12 saat gece 12 saat gündüz olacak şekilde inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan kolonilerden aksenikleştirme yapıldı ve saf kültürler elde edildi. Funguslar ise ilk önce %4 yeast extract ve 2% agar içeren besi yerine dilüsyon sıvısı aktarılarak 25 °C’de 15 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda koloni oluşturan funguslar Patates Dekstorz Agar (PDA) besi yerine aktarılarak saflaştırıldı. İzole edilen mikroorganizmaların tür teşhisi için; bakteri ve siyanobakterilerde 16S rDNA, funguslar için ITS dizi analizleri kullanıldı. Borik asit (BA) ve boraksın (BX) biyosidal etkisi için 0,1M ve 0,5M konsantrasyonları kullanıldı.

Bulgular: Likenlerden 29 farklı bakteri (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Agrococcus*, *Enterococcus*, *Georgenia*, *Dermococcus*, *Planococcus*, *Peribacillus*), 2 siyanobakteri (*Microcystis*) ve 4 fungus türü (*Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Beauveria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Scopulariopsis*, *Coniochaeta*, *Leucostoma*) izole edildi. İzole edilen mikroorganizmaların üzerinde BA ve BX’in biyosidal etkisinin varlığı tespit edildi. 0,5 M konsantrasyonun 0,1M’a karşı etkinliğinin daha fazla olduğu belirlendi. BX’in biyosidal etkisi BA’ya kıyasla daha etkin olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Tarihi taş yapıların deteriorasyonuna sebep olan liken ve liken ekosistemlerin antimikrobiyal bor bileşikleri kullanılarak deteriorasyonunun önlenmesi amaçlanan bu çalışmada BA ve BX’in biyosidal etkisinin var olduğu tespit edildi. Elde edilen bulgular doğrultusunda BA ve BX bu amaçla kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Biyodeteriyorasyon, liken, borik asit, boraks, antibiyodeteratif

Haziran 2023, 107 sayfa

ABSTRACT

Ph. D. DISSERTATION

RESEARCH ON THE PREVENTION OF BIODETERIORATION OF HISTORIC STONE STRUCTURES BY USING ANTIMICROBIAL BORON COMPOUNDS

Özlem GÜLMEZ

Supervisor: Prof. Dr. Özlem BARIŞ

Purpose: It is aimed to determine the potential of organisms that cause biodeterioration in historical stone structures in Erzurum and its surroundings, especially against microorganisms found in lichen and lichen ecosystems, to become anti-biodeteriorative agents due to inhibition by using antimicrobial boric acid and borax.

Method: The collected lichen samples were first washed with sterile distilled water and then washed with 75% alcohol. Then in 2% HCl solution for 3 minutes. kept on hold. At the end of this time period, the lichens were thoroughly washed with pure water. After washing, it was dried between sterile blotting paper. Sterile physiological water was prepared and 1 cm² pieces were cut into it with a sterile scalpel and shaken at 150 rpm for 24 hours. Sterile dilution liquids were prepared and isolation procedures were continued. For this purpose, tryptic soy agar (TSA) and Nutrient agar (NA) were prepared. Samples were transferred from serial dilutions of 10⁶ to these media and incubated for 24 hours at 20°C and 30°C. Then, the separated colonies were isolated as pure cultures by looking at their morphological structures. For cyanobacteria; The dilution liquid was transferred to the prepared BG-11 Medium and incubated for 21 days at 25°C with a photo period of 12 hours at night and 12 hours during the day. Axenicization was performed from the colonies formed as a result of the incubation and pure cultures were obtained. Fungi were first incubated at 25 °C for 15 days by transferring the dilution liquid to the medium containing 4% yeast extract and 2% agar. After incubation, colony forming fungi were transferred to Potato Dextroz Agar (PDA) medium and purified. For species identification of isolated microorganisms; 16Sr DNA regions for bacteria and cyanobacteria and ITS regions for fungi were identified. 0,1 M and 0,5 M concentrations were used for the biocidal effect of boric acid (BA) and borax (BX).

Results: 29 different bacteria from lichens (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Agrococcus*, *Enterococcus*, *Georgenia*, *Dermococcus*, *Planococcus*, *Peribacillus*), 2 cyanobacteria (*Microcystis*) and 24 fungal species (*Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Beauveria*, *Clapsicoccus*, *Beauveria*, *Coniochaeta*, *Leucostoma*) were isolated. The presence of biocidal effects of BA and BX on the isolated microorganisms was determined. It was determined that the 0.5 M concentration was more effective against 0.1 M. It was observed that the biocidal effect of BX was more effective than BA.

Conclusion: In this study, which aims to prevent the degradation of lichen and lichen ecosystems, which cause the deterioration of historical stone structures, by using antimicrobial boron compounds, it was determined that BA and BX have biocidal effects. Based on the findings, it was concluded that BA and BX could be used for this purpose.

Keywords: Biodeterioration, lichen, boron, antibiodeterative

June 2023, 107 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ.....	1
Biyodeteriorasyonun Önlenmesi.....	3
Fiziksel Uygulamalar	3
Biyokimyasal Uygulamalar (Biyosit Uygulamaları)	4
Bor Elementinin Biyosit Olarak Kullanım Potansiyeli.....	4
KURAMSAL TEMELLER.....	7
MATERYAL VE YÖNTEM	18
Çalışılacak Alanın Fiziki ve Coğrafi Özelliklerinin Belirlenmesi	18
Likenlerin Toplanması ve Tür Teşhisi	18
İzolasyon İçin Kullanılacak Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanması	18
Çözeltilerin hazırlanması	18
Besiyerlerinin hazırlanışı	19
Borik asit ve boraks içeren besiyerlerinin hazırlanması	20
Liken Birliğinden Mikroorganizmaların İzolasyonu	20
Bakterilerin izolasyonu	20
Siyanobakterilerin izolasyonu	20
Siyanobakterilerin Aksenikleştirilmesi	20
Filtrasyon, seri seyreltme	20
Steril pipet yardımı ile saflaştırma	21
Antimikrobiyal kimyasallar ile saflaştırma	21
Seri çizgi ekim yoluyla saflaştırma	21
Endofitik fungusların izolasyonu	21
Liken birliğini oluşturan fungusların izolasyonu	21

İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik ve Biyokimyasal Analizleri.....	22
Bakterilerin Gram boyanma özelliğinin belirlenmesi	22
İzole Edilen Bakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi.....	23
İzole edilen bakterilerin farklı tuz oranlarında gelişimlerin belirlenmesi.....	23
İzole edilen bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişimlerin belirlenmesi.....	23
İzole edilen bakterilerin farklı ph aralıklarında gelişimlerin belirlenmesi.....	23
İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi	23
İzole Edilen Bakterilerin Farklı Tuz Oranlarında Gelişimlerin Belirlenmesi	23
İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Geliştirilmesi	23
İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı pH Aralıklarında Gelişimlerin Belirlenmesi.....	24
İzole Edilen Fungusların Morfolojik Analizleri.....	24
İzole edilen fungusların farklı tuz oranlarında geliştirilmesi	24
İzole edilen fungusların farklı sıcaklıklarda geliştirilmesi.....	24
İzole edilen fungusların farklı ph aralıklarında gelişimlerin belirlenmesi	24
Mikroorganizmaların Teşhisi	24
Bakterilerin tür teşhisi	24
Siyanobakterilerin tür teşhisi.....	25
Fungusların tür teşhisi	25
Borik Asidin Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi	26
Bakteri ve Siyanobakterilerin Borik Asit Toleransının Belirlenmesi	26
Fungusların Borik asit Toleransının Belirlenmesi	26
Boraksın (BX) Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi.....	27
Bakteri ve Siyanobakterilerin Boraks Toleransının Belirlenmesi.....	27
Fungusların Boraks Toleransının Belirlenmesi.....	27
Borik Asidin (BA) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi	27
Borik Asidin (BA) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisi	27
Borik Asidin (BA) Funguslar İçin Biyosidal Etkisi	28
Boraksın (BX) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi	28
Boraksın (BX) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisi.....	28
Boraksın (BX) Funguslar İçin Biyosidal Etkisi	28
İstatiksel Analiz.....	29
ARAŞTIRMA BULGULARI	30
Toplanan Likenlerin Tür Teşhisi.....	31
Toplanan Likenlerden İzole Edilen Mikroorganizmalar	35
Bakterilerin İzolasyonu, Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	35

İzole Edilen Bakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi.....	36
Siyanobakterilerin İzolasyonu, Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	40
İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi	40
Fungusların İzolasyonu, Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	41
İzole Edilen Fungusların Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi.....	42
İzole Edilen Mikroorganizmaların Tür Teşhisi.....	46
Bakterilerin tür teşhis sonuçları	46
Siyanobakterilerin tür teşhis sonuçları	47
Fungusların tür teşhis sonuçları	48
Borik Asidin (BA) Antimikrobiyal Etkisi.....	49
Bakteri ve Siyanobakterilerin Borik Asit Toleransının Belirlenmesi	49
Fungusların Borik Asit Toleransının Belirlenmesi	51
Boraksın (BX) Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi.....	55
Bakteri ve Siyanobakterilerin Boraks (BX) Toleransının Belirlenmesi	55
Fungusların Boraks (BX) Toleransının Belirlenmesi	55
Borik Asidin (BA) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi.....	55
Borik Asidin (BA) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi.....	57
Borik Asidin (BA) Funguslar İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi	57
Boraksın (BX) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi.....	58
Boraksın (BX) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi	60
Boraksın (BX) Funguslar İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi.....	60
TARTIŞMA ve SONUÇ	63
Sonuç ve Öneriler.....	79
KAYNAKLAR.....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	94

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çeşitli Canlı Gruplarının Doğal ve Tarihi Taş Yapılar Üzerinde Oluşturdukları Zararlar.....	1
Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Likenlerin Toplandığı Yerler ve Koordinasyon Bilgileri	30
Tablo 3. İzole Edilen Bakterilerin Bazı Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	35
Tablo 4. İzole Edilen Bakterilerin Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Ortamında Gelişmesinin Belirlenmesi	36
Tablo 5. İzole Edilen Bakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Gelişimlerinin Belirlenmesi	38
Tablo 6. İzole Edilen Bakterilerin Farklı pH'larda Gelişimlerinin Belirlenmesi	39
Tablo 7. İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Ortamında Gelişmesinin Belirlenmesi	40
Tablo 8. İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Gelişmesinin Belirlenmesi	41
Tablo 9. İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı pH'larda Gelişimlerinin Belirlenmesi	41
Tablo 10. İzole Edilen Fungusların Morfolojik Analizleri	42
Tablo 11. İzole Edilen Fungusların Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Ortamında Gelişiminin Belirlenmesi	43
Tablo 12. İzole Edilen Fungusların Farklı Sıcaklıklarda Gelişiminin Belirlenmesi.....	44
Tablo 13. İzole Edilen Fungusların Farklı pH Aralıklarında Gelişiminin Belirlenmesi	45
Tablo 14. İzole Edilen Bakterilerin Tür Teşhis Sonuçları Ve İzole Edildikleri Liken Türleri ...	46
Tablo 15. İzole Edilen Siyanobakterilerin Tür Teşhis Sonuçları Ve İzole Edildikleri Liken Türleri.....	47
Tablo 16. İzole Edilen Fungusların Tür Teşhis Sonuçları Ve İzole Edildikleri Liken Türleri ...	48
Tablo 17. BA'ya Karşı Bakterilerin Toleransının Belirlenmesi	50
Tablo 18. BA'ya Karşı Fungusların Toleransının Belirlenmesi	51
Tablo 19. Borik Asidin (BA) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi	55
Tablo 20. Borik Asidin (BA) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisi.....	57
Tablo 21. Borik Asidin (BA) Funguslar İçin Biyosidal Etkisi (Biyomas Miktarlarının Karşılaştırılması)	58
Tablo 22. Boraksın Bakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi	59
Tablo 23. Boraksın (BX) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi.....	60
Tablo 24. Boraksın (BX) Funguslar İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi (Biyomas Miktarlarının Karşılaştırılması).....	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Biyodeteriorasyona Maruz Kalmış Bazı Tarihi Yapılar	3
Şekil 2. Bor Elementinin Farklı Formları.....	5
Şekil 3. Likenin Genel Yapısının Şeması.....	8
Şekil 4. Likenlerin Toprak Süksesyonundaki Mekanizması ve Biyodeteriorasyonu.....	9
Şekil 5. Biyodeteriorasyona Sebep Olan Prokaryotların Taşları Aşındırma Mekanizması	11
Şekil 6. Kalor Tepesinden Toplanan <i>Xanthoria elegans</i> (Link) Th. Fr.	31
Şekil 7. Kalor Tepesinden Toplanan <i>Protoparmeliopsis muralis</i> (Schreb.) M. Choisy, (syn. <i>Lecanora muralis</i> (Schreb.) Rabenh.).....	31
Şekil 8. Kalor Tepesinden <i>Physcia caesia</i> (Hoffm.) Hampe ex Fűrnr.....	32
Şekil 9. Kalor Tepesinden <i>Circinaria calcarea</i> (L.) A. Nordin, Savić & Tibell (Syn. <i>Aspicilia calcarea</i> (L.) Körb.).....	32
Şekil 10. Kalor Tepesinden <i>Rhizoplaca melanophthalma</i> (DC.) Leuckert.....	33
Şekil 11. Kalor Tepesinden <i>Lecanora rupicola</i> (L.) Zahlbr.....	33
Şekil 12. Kalor Tepesinden <i>Lecidea atrobrunnea</i> (Lam. & DC.) Schaer.	34
Şekil 13. Kalor Tepesinden <i>Rhizocarpon geographicum</i> (L.) DC.	34
Şekil 14. Saflaştırılan Siyanobakterilerin Mikroskopik Görüntüleri.....	40
Şekil 15. BA'nın Antibakteriyal Etkisi A: Çeşitli Konsantrasyonlardaki Etkisi, B: Tüm Konsantrasyonlarda Antibakteriyal Etki Görülmediği Bakteriler	50
Şekil 16. OG1 (<i>Fusarium torulosum</i>) BA Toleransının Belirlenmesi	53
Şekil 17. OG5 (<i>Fusarium redolens</i>) BA Toleransının Belirlenmesi.....	53
Şekil 18. OG10 (<i>Fusarium oxysporium</i>) BA Toleransının Belirlenmesi	53
Şekil 19. OG11 (<i>Fusarium nisikodoi</i>) BA Toleransının Belirlenmesi.....	54
Şekil 20. OG14 (<i>Alternaria alternata</i>) BA Toleransının Belirlenmesi.....	54
Şekil 21. OG16 (<i>Alternaria sorghi</i>) BA Toleransının Belirlenmesi	54

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

g	Gram
ml	Mililitre
%	Yüzde
atm	Atmosfer basınç
dk	Dakika
°	Derece
cm ²	Santimetre kare
M	Molar
µl	Mikrolitre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
nm	nanometre

Kısaltmalar

NA	Nutrient agar
TSA	Triptik Soy agar
WA	Water agar
PDA	Patates dekstroze Agar
PDB	Patates dekstroze broth
NB	Nutrient broth
TSB	Triptik soy broth
BA	Borik asit
BX	Boraks

GİRİŞ

Dünya tarihi boyunca insanlar sağlam taşlar kullanarak; sığınaklar, saraylar, camiler, kiliseler, kaleler gibi muhteşem yapılar inşa etmişlerdir (Kakakhel et al. 2019). Kültürel miras olan bu yapıtlar insanların geçmişleri, mühendislik becerileri ve tarihleri gibi birçok şey hakkında bilgi vermektedir. Ayrıca önemli bir turizm kaynağı olup ekonomik katkı sağlamaktadır (Negi and Saethy 2019). Birleşmiş Milletler Eğitim, Bilim ve Kültür Örgütü'nün (UNESCO) raporuna göre sadece 2005 yılında 1,3 trilyon dolar dünya ekonomisine katkıda bulunan kültürel taş yapılar, genellikle sağlam kayalardan yapılmıştır (Alexander and Schieser 2017). Bu taşlar; bakır, nikel, kalsiyum, magnezyum, sodyum, demir ve alüminyum minerallerini içermektedir (Dakal and Camcohor 2012).

Tarihi taş yapılar ile ilgili en büyük endişe, çevre şartları ve canlı organizmalardan kaynaklanan bozulma ve yok olmalarıdır (Crispim et al. 2003). Her ne kadar bu tarihi yapılar periyodik olarak restorasyona tabi tutulsa da çevre kirliliği, biyotik ve abiyotik faktörler yapıların korozyonuna sebep olmaktadır (Kakakhel et al. 2019).

İlk kez Hueck tarafından tanımlanan **biyodeteriorasyon** (biyobozunma); canlı organizmaların fiziksel ya da kimyasal olarak nesnelerin istenmeyen şekilde yapılarını değiştirmesidir. Biyodeteriorasyon ajanı organizmalar; bakteriler, protozoalar, funguslar, algler, likenler, bitkiler ve hayvanlardır (Allsopp et al. 2011; Longo and Viles 2020). Tablo 1'de bu organizmaların taş ve tarihi yapılarda meydana getirdikleri olumsuz etkiler verilmiştir.

Tablo 1. Çeşitli Canlı Gruplarının Doğal ve Tarihi Taş Yapılar Üzerinde Oluşturdukları Zararlar

Organizma	Fiziksel Zarar	Zarar Verme Aktivitesi
Yüksek Bitkiler	Taşların çatlama ve ayrılması	Organik asit sentezlemesi
Hayvanlar	Delikler, kayıplar, yüzey erozyonu ve parçalanma	Dışkı ve idrar
Yosunlar	Rhizoidleri tarafından yapılan fiziksel hasarlar	Mineral ekstraksiyonu ve karbonik asit üretimi
Likenler	Çatlaklar ve yarıklar	Yüksek miktarda aşındırıcı asit üretimi
Alg ve siyanobakteriler	Taşın ufanması	Pigmentasyon ve asit üretimi
Funguslar	Taş yarılması, taşların ufanması	Organik ve inorganik asitlerin üretimi, pigmentasyon ve metal şelatlama
Protozoolar	Taş yüzeyinin aşınması	Metabolik atıklar
Bakteriler	-	Organik ve inorganik asitlerin üretimi, pigmentasyon ve biyofilm oluşturma

Önceleri biyodeteriorasyonu sadece ototrof canlıların yaptığı düşünölmüş; fakat son yıllardaki çalışmalar ile heterotrof canlıların da biyodeteriorasyona sebep oldukları ve bozunmayı hızlandırdıkları bulunmuştur. Tablo 1’de verilen organizmalar tarihi taş yapıların hem estetik yapısını hem de fiziksel ve kimyasal yapısını bozmaktadır. Bozulmayı ürettikleri enzimler ile veya metabolik faaliyetleri sonucu oluşan organik ve inorganik maddeler ile yapmaktadırlar. Biyodeteriorasyon ajanlarının taşlar üzerindeki kolonizasyonu türden türe, organizmadan organizmaya değışmekle birlikte genellikle hayatta kalma şanslarını artıracak adaptif güçleriyle en olumsuz şartlara bile uyum sağlayabilecek şekildedir (Mascalhi 2015).

Tarihi taş yapılar, mağaralar, metal anıtlar ve değerli resimler gibi birçok kültürel miras biyobozunmadan mustarıptır. Di Mortino’ya (2016) göre tarihi taş yapılarda 3 tip biyodeteriorasyon görölmektedir. Bunlar;

Estetik yüzey hasarı; mikroorganizmaların ürettikleri pigment ve biyofilmler ile taşın doğal renginin ve yapısının değışmesi,

Kimyasal hasar; biyodeteriorasyon ajanlarının metabolik faaliyetleri sonucunda ürettikleri organik asitler ve mikrobiyal kaynaklı tuz kristalleri ile taşın korozyonu,

Yapısal hasar; fungus hiflerinin taşā nüfuz ederek taşā çatlatması, ayırması ve su alarak diğör mikroorganizmalar için gerekli şartları sağlamasıdır.

Biyodeteriorasyonu ilk başlatan organizma gurubu alg ve likenlerdir (Nuhoglu et al. 2006). Algler taşların yüzeyinde kimyasal ve mekanik olarak biyobozunmayı başlatırlar. Arkealar, siyanobakteriler ve algler taş yüzeylerde geliştiğinde bu organizmaların ardından hetotrofik bakteriler ve funguslarda taş yüzeyinde çoğalmaktadır (Cutler et al. 2013). Bu mikroorganizmaların gelişmesi için potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) iyonlarının olması yeterlidir (Mazzoli et al. 2018). Bunun yanı sıra taşların yapısındaki mineraller; bakteri, fungus ve likenlerin çoğalması için yeterlidir. Biyobozunmaya(Biyodeteriorasyona) maruz kalmış bazı yapıların resimleri Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Biyodeteriorasyona Maruz Kalmış Bazı Tarihi Yapılar (Liu et al. 2020)

Biyodeteriorasyonun Önlenmesi

Tarihi taş yapılar kültürel mirasımızın ve ekonomimizin önemli unsurlarından biridir. Bu yapıların deformasyonunun önüne geçilmesi ve gelecek kuşaklara aktarılması önem arz etmektedir. Tarihi yapıların bozunmasının engellenmesi iki şekilde gerçekleştirilir; fiziksel ve biyokimyasal.

Fiziksel Uygulamalar

Tarihi yapılardaki mikrofloranın yıllık olarak çeşitli aletler ile (spatul, süpürge ve vakum makinesi) temizlenmesine dayanmaktadır. Son yıllarda ise lazer teknolojisi kullanılarak temizlenmektedir. Ancak bu metot taşları yüzeysel olarak temizlediğinden, etkisi kısa sürelidir ve dolayısıyla kullanışlı bir teknik değildir (Rivas et al. 2018).

Ayrıca mikro floranın gelişimini engellemek veya tamamen durdurmak için düşük frekanslı elektriksel akım, ısı ve ultraviyola (UV) ışınları da kullanılmaktadır. UV ışınları mikroorganizmaların çoğunu etkilese de uzun süreli olmadığı ve uygulayanlar için de zararlı olduğundan kullanımı pek fazla tercih edilmemektedir (Pfendler et al. 2018).

Biyokimyasal Uygulamalar (Biyosit Uygulamaları)

Biyositler; farklı canlı grupları üzerinde öldürücü etkiye sahip olan, organik ve inorganik kimyasal maddelerdir. Biyositler tarihi yapılarda biyobozunmayı engelleyici maddelerdir. Aldehitler, fenol bileşikleri, amidler, asitler, alkoller gibi farklı bileşikler biyosit olarak kullanılmaktadır. Biyositler mikroorganizmaları çeşitli yönlerden etkileyerek (hücre zarı parçalayarak, protein mekanizmasını veya DNA yapısını bozarak) gelişimini engellemektedir. Biyosit olarak kullanılan bazı maddeler; titanium dioksit (TiO_2), esansiyel yağlar, amonyum bikarbonat, çinko oksit (ZnO), lipopeptid, amonyum bromit ve kolloidal gümüş gibi maddelerdir (Stuper et al. 2014; Favero et al. 2018; Vannini et al. 2018; Kukakhel et al. 2019). Biyosit kullanımının en önemli dezavantajı ise diğer canlılar üzerinde de toksik etki göstermeleridir. Kültürel mirası ve taş anıtları korumak için daha etkili biyositler aranmakta ve günümüzde nanopartiküllerin biyosit olarak kullanılabilirliği araştırılmaktadır (Ali et al. 2018; Ortega et al.2019).

Biyosit olarak altın, gümüş, demir, nikel, platin, civa, krom, talyum gibi metaller kullanılmaktadır. Bu metallerin antimikrobiyal özellikleri olmasına rağmen insanlar ve diğer canlılar için toksiktir. Ayrıca bu metallerin mikroorganizmaların ürettikleri asitler ile şelatlanma ve okside olma potansiyelleri yüksektir. Fakat bu metallerin antimikrobiyal özelliklerinden yararlanılmış, toksik, maliyetlerinden dolayı ucuz ve bu metallere göre toksik olmayan ya da daha az toksisiteye sahip antimikrobiyal özelliği olan metaller aranmaktadır. Ülkemizde dünya rezervinin büyük bir kısmı bulunan bor elementi bu bakımdan değerlendirme potansiyeli yüksek olan bir elementtir. Bor elementi yüksek gravimetrik ve hacimsel enerjiye sahiptir. Aynı zamanda bor çok yavaş okside olur (Sangu et al. 2021; Wang et al.2022). Bu özelliklerinin dışında bor elementinin *in vitro* ve *in vivo* olarak antimikrobiyal etkisi saptanmıştır (Farfan-Garcia et al. 2023). Antimikrobiyal ve diğer metallere göre avantajlı özellikleri dikkate alınarak biyodeteriorasyonun önlenmesi için kullanım potansiyeli olan bir element olarak önem arz etmektedir.

Bor Elementinin Biyosit Olarak Kullanım Potansiyeli

Bor, periyodik tabloda B simgesi ile gösterilen, atom numarası 5, atom ağırlığı 10,81 olan, metalle ametal arası yarı iletken özelliğe sahip bir elementtir. Periyodik cetvelin 3A grubunun ilk ve en hafif üyesidir. Borun saf elementi ilk kez, 1808 yılında Fransız kimyager J.L. Gay-Lussac ve Baron L.J. Thenard ile İngiliz kimyager H. Davy tarafından elde edilmiştir. Bor, element olarak çok çeşitli bileşik yapma kapasitesine ve nötronları absorbe etme özelliğinden dolayı sanayinin vazgeçilmez ham maddelerinden biridir.

Bor, yerkabuğunda yaygın olarak bulunan 51. elementtir ve tabiatta hiçbir zaman serbest halde bulunmaz. Doğada yaklaşık 230 çeşit bor minerali olduğu bilinmektedir. Yaygın olarak bulunan bor minerallerinden biri, bir tür aluminoborosilikat minerali olan ve yapısında %10'a kadar bor içerebilen Turmalin'dir. Modern Bor Endüstrisi, 13. yy' da Marco Polo tarafından Tibet' ten Avrupa'ya getirilmesiyle başlamıştır. 1771 yılında, İtalya'nın Tuscani bölgesindeki sıcak su kaynaklarında sassolit bulunduğu anlaşılmıştır. 18. yüzyıl başlarında, İngilizler tarafından "borik asit" denilen bor kaynaklı bir asit üretimi yapılmıştır. Sonraki yüzyılda ise İtalya'da borik asit üretimi başladı ve böylece borun sanayideki önemi yükseldi. Aynı zaman diliminde 1852' de Şili' de endüstriyel anlamda ilk boraks madenciliği başlamıştır.

Dünya'daki önemli bor yatakları Türkiye, Rusya ve ABD'de olup dünya ticari bor rezervleri 4 bölgede toplanmaktadır. Bu rezervler; ABD Kaliforniya Eyaletinin güneyinde yer alan Mojave Çölü, Güney Amerika'da yer alan And Kemer, Türkiye'nin de yer aldığı Güney-Orta Asya Orojenik Kemer ve Doğu Rusya'dır. Dünya bor rezervinin %73'ü Türkiye topraklarındadır. Bor rezervlerimizin 1978 yılında 600 milyon ton olduğu bilinirken yapılan arama çalışmaları ile bugün 3 milyar ton rezerve sahip olduğumuz tespit edilmiştir. Rezerv çalışmaları halen Eti Maden/MTA iş birliği ile sürmektedir. Rezerv açısından dünyada en çok ülkemizde bulunan bor cevherleri; tinkal ($\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ve kolemanit ($2\text{CaO} \cdot 3\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)' tir. Türkiye'de önemli tinkal yatakları Kırka'da;(Eskişehir) kolemanit yatakları ise Emet(Kütahya) ve Bigadiç(Balıkesir) civarında bulunmaktadır. Bunlara ilaveten, Bigadiç'te az miktarda üleksit rezervi mevcuttur Şekil 2'de bor elementinin farklı formları verilmiştir.



Şekil 2. Bor Elementinin Farklı Formları

Yirmi binden fazla türüyle dünya yüzeyinin yaklaşık %10'unu kaplayan likenler çok yavaş büyümelerine rağmen yüz yıllar boyunca canlı kalabilirler. Bununla birlikte birçok stres faktörüne karşı aşırı derecede dirençlidirler. Ayrıca liken birliğinde sadece bir siyanobakteri ve bir fungus bulunmaz, çoğu zaman bir alg bu birliktelikte yer alır. Son zamanlarda ise kaya süksesyonu veya toprak oluşumu, dolayısıyla biyodeteriorasyonun başlaması ve ilerlemesi için liken birliğinde litotrofik, ototrofik, hetotrofik bakteriler, farklı funguslar (Zygomycota, Ascomycota ve Basidiomycota gibi), protozoalar ve yosunlar hatta küçük omurgasız hayvanlar ile mikro ekosistem oluşturduğu bilinmektedir. Likenlerin başlattığı biyodeteriorasyonun ilerleyen zamanlarda farklı ekosistem elemanlarının daha da ilerlettiği bilinen bir gerçektir. Sadece tarihi taş yapılarda değil aynı zamanda etrafında bulunan çıplak taşların yüzeylerinde de yerleştikleri bilinmektedir (Seaward 2015; Mark et al. 2020; Özyiğitoğlu 2020; Thakhur et al. 2022).

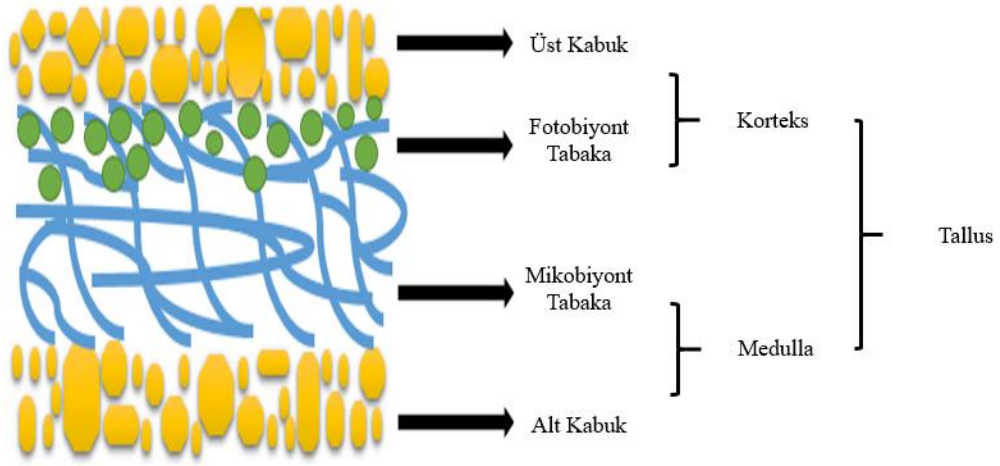
Bu bilgiler göz önüne alındığında tarihi taş yapıların biyodeteriorasyonuna sebep olan likenlerin bu kültürel mirasların etrafındaki diğer taş yüzeylerindeki liken birliklerinin ve ekosisteminde var olan diğer mikroorganizmaların gelişimini engellemek veya tamamen durdurmak için; **bu çalışmada;** Erzurum ve çevresindeki tarihi taş yapılarda biyodeteriorasyona sebep olan organizmaların özellikle liken ve liken ekosisteminde bulunan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal nitelikli borik asit ve boraks kullanılarak inhibisyonu dolayısıyla antibiyodetoratif ajan olma potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Kültürel miraslar içerisinde gösterilen kaleler, hanlar, hamamlar, camiler, kiliseler, heykeller, mozaikler, tablolar biyolojik bozunma ile karşı karşıyadır. Biyolojik bozunma veya diğer ifadeyle biyodeteriorasyon farklı mikro- ve makro-organizmaların biyolojik faaliyetleri sonucunda meydana gelen yapısal olarak bozunmasını ifade etmektedir. Makroorganizmalardan ziyade mikroorganizmaların (siyanobakteri, bakteri, alg, fungus gibi) oluşturduğu biyofilm, asitler, redoks tepkimeleri ve pigment oluşturmalarıyla kültürel miraslar korozyona hatta tamamen bozulmaya sebep olabilmektedirler (Corbu et al. 2022; Macchia et al. 2022; Romani et al. 2022).

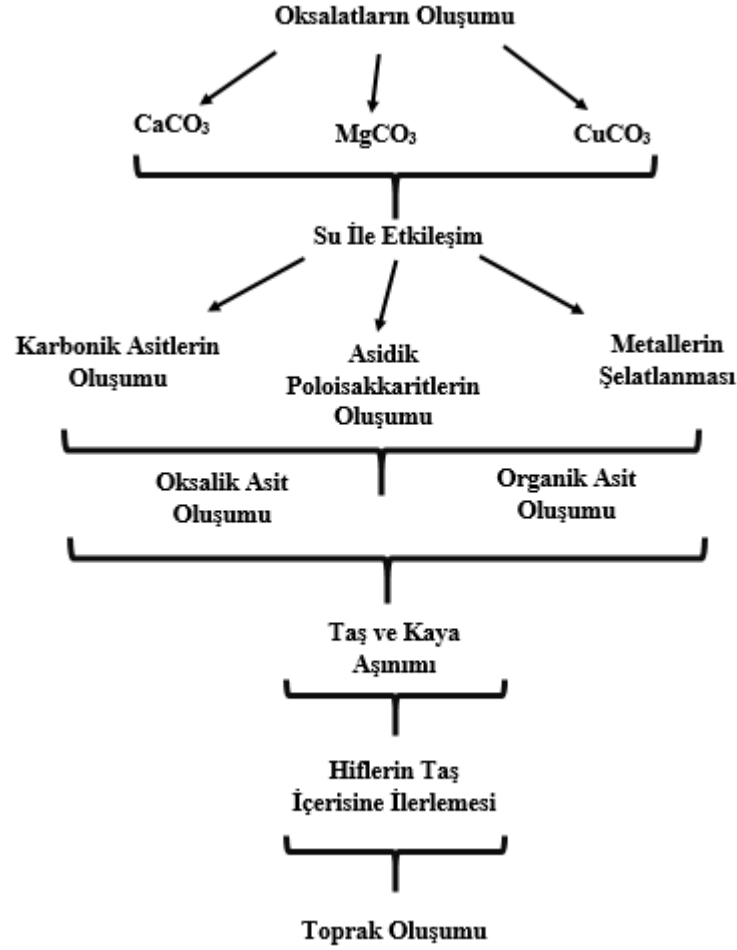
Taş yapılarda, biyodeteriorasyonun başlaması özellikle yüksek kolonizasyon kabiliyetleri ve korozyonuna sebep olmaları nedeniyle en önemli organizma grubu likenlerdir. Bilindiği gibi likenler; siyanobakteri ve fungusların oluşturduğu mutualist birliklerdir. Son yıllarda likenler sadece siyanobakteri ve fungusların oluşturduğu bir birlik değil aynı zamanda diğer mikroorganizmalarında yer aldığı ekosistemler olarak değerlendirilmektedir (Mart et al. 2020). Dünya yüzeyinin yaklaşık %10'unu oluşturan likenler, Bryophyta (kara yosunları) içerisinde incelenmesine rağmen sporla çoğalmaları sebebiyle fungus alemine de dahil edilirler (Küçükkaya 2014; Goga et al. 2018).

Likenlerin oluşum zamanı 600 milyon yıl öncesine dayanmaktadır. Bu birliğin içerisinde alg, heterotrofik ve ototrofik bakteriler, epifitik ya da endofitik funguslar, protozoalar, cıvık mantarlar ve kara yosunları hatta küçük böcekler dâhil olmasıyla bir ekosistem oluştururlar (Spribille et al. 2016; Goga et al. 2018). Likenler; fotobiyont veya fikobiyont olarak isimlendirilen ökaryotik algler, siyanobakteriler ve mikobiyont olarak isimlendirilen funguslardan oluşmaktadır. Likenlerin geliştikleri yüzeylerde görünen kısımlarına tallus denir. Tallus ise korteks ve medulla olarak iki kısma ayrılır. Korteks kısmında genellikle fotobiyont, medullada ise funguslar bulunur (Şekil 3)



Şekil 3. Likenin Genel Yapısının Şeması

Diğer mikroorganizmalar için oldukça zorlayıcı bir ortam olarak çıplak kayalar üzerinde ve birçok ekstrem ekosistemde yaşayan likenler salgıladıkları asitlerle ile kayaların aşınmasına ve süksesyonun başlangıcında yer alarak toprak oluşumuna katılmaktadırlar. Liken birliktelikleri binden fazla sekonder metabolit üretmekte ve bu metabolitlerin çoğu da funguslar tarafından üretilmektedir (Nash 2008). Bu sekonder metabolitleri çoğunluğu organik asitlerdir ve metal şelatlama etkileri vardır. Bu etkiyle taş yüzeylerin kimyasal yapılarının bozunmasına sebep olur. Ayrıca liken talluslarında oksalatlar oluşturulur ve bu oksalatların çoğu magnezyum, kalsiyum ve bakır oksalatlar şeklinde oluşmaktadır. Oksalatlar oluşuktan sonra oksalik asit üretilir, üretilen asit suda çok iyi çözünür ve şelatlamayı kolaylaştırır (Seaward 2003). Bu aşamadan sonra diğer organik asitlerin üretimi başlar ve taş yüzeylerde hem kimyasal hem de fiziksel deformasyonlar gerçekleşir. Bu deformasyonlar sonucunda taş yüzeylerinde oluşan boşluklara fungus hifleri yerleşir ve taşın iç taraflarına doğru büyüme gösterir ve nihai olarak diğer mikroorganizmaların yerleşmesiyle taş tamamen veya kısmen korozyona uğrar (Özyiğitoğlu 2020). Likenler; organik asitler ve diğer mikroorganizmaların tüketeceği karbon kaynağı üreterek hem ekosistem oluşturmakta hem de biyodeteriorasyona sebep olmaktadır (Şekil 4). Liken ekosisteminde yer alan başlıca organizmalar; algler, bakteriler, siyanobakteriler, arkebakteriler, epifitik veya endofitik funguslar, cıvık mantarlar, protozoalar, kara yosunları ve küçük böceklerdir (Lücking et al. 2021; Ress 2021; Kidron and Kronenfeld 2022).



Şekil 4. Likenlerin Toprak Süksesyonundaki Mekanizması ve Biyodeteriorasyonu

Likenler kolonize olduğu taşın özelliğine göre sınıflandırılmaktadır. Yani kalkerli taş, silikatlı taş gibi taş yüzeylerde olmaları türlerinin teşhisinde kolaylık sağlamaktadır. Bu taş yüzeylerdeki likenler basit pH testi ile kısmen karakterize edilebilmektedir. Bu yöntemde ticari satılan hipokloröz asit kullanılır. Likenin bulunduğu taş yüzeye hipokloröz asit dökülür, kabarcık oluşursa kalkerli taş yüzeyinde yaşayan liken kabarcık oluşturmuyorsa silikatlı taş yüzeyinde yaşayan liken olarak belirlenir. Bu işlemden sonra morfolojik özelliklerine göre teşhis anahtarından tür teşhisi yapılır. Likenin türü teşhis anahtarında; tallusun rengi, şekli taş yüzeyle arasındaki mesafesi dikkate alınarak belirlenir. Günümüzde ise kısmi veya tüm genom analizi ile tür teşhisi yapılmaktadır (Khodosovtsev et al. 2022; Yang et al. 2022).

Taş yüzeyinden genellikle *Aspicilia*, *Caloplaca*, *Caloplacaaurantia*, *Lecanora*, *Squamarinacrassa*, *Thyrea*, *Verrucaria*, *Xanthoriaparietina*, *Acarospora strigata*, *Caloplaca arenaria*, *Xantoparmelia verruculifera* cins ve türlerine ait likenler izole edilmiştir (Municchia et al. 2018; Pinheiro et al. 2018).

Barınma ihtiyaçlarının karşılanmasında taş ve kayalar insanlar için en yaygın kullanılan dayanıklı malzemelerdendir. Farklı kıtalarda çeşitli uygarlıklar tarafından şato, kale, heykel ve

ev yapmakta kullanılmıştır. Bu yapılar çeşitli çevresel faktörler (UV, yağmur, rüzgâr) ve bunun yanı sıra makro ve mikroorganizmaların faaliyetleriyle de karşılaşmaktadır. Çeşitli sebeplerden dolayı taş yapıların estetik, fiziksel ve kimyasal yapısı bozulmakta ve dolayısıyla kültürel miraslarda zarar görmektedir (Wu et al. 2021; Costa et al. 2021; Liu et al. 2022; Skipper et al. 2022).

Taş ve kaya üzerine yerleşen likenlerin öncülüğünde diğer mikroorganizmalarda taş yüzeyine hatta taş içerisine yerleşir ve biyodeteriorasyon hızlanır. Taşların veya kayaçların ana yapısını veya baskın bileşenini silikatlar oluşturmakla beraber tarihi taş yapılarda kullanılan taşların kimyasal yapısında bakır, alüminyum, demir, nikel, sodyum, kalsiyum ve magnezyum gibi metaller bulunur. Ayrıca karbonatlar, sülfatlar, nitratlar ve klorürler gibi higroskopik tuzlarda içerir. Bu durum bu yüzeylerde arkelerin özellikle halofilik arkeleri, sülfat ve nitrit-nitrat bakterilerinin yerleşmesi için avantaj sağlamaktadır (Negi and Satevy 2019; Jurado et al. 2021). Bakteriler, kimyasal aktivitelerinden dolayı taşlarla etkileşim içindedirler. Azot fikseden bakteriler, kükürt bakterileri ve heterotrofik bakteriler, taşın yapısındaki organik ve inorganik maddeleri kullanarak kolonize olurlar ve taşın yüzeyini aşındırarak bu yapılara zarar verirler. Ürettikleri nitrik asit, sülfürik asit, nitroz asit, sitrik asit ve laktik asit gibi metabolitler ile taşın yapısını bozarlar (Meng et al 2017; Zhang et al. 2018). *Thiobacillus*, *Bacillus*, *Mixococcus*, *Thiothrix*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Halococcus* ve *Beggiatoa* gibi bakteri grupları, daha çok taş yüzeyinde kolonize olan başlıca bakteri cinsleridir.

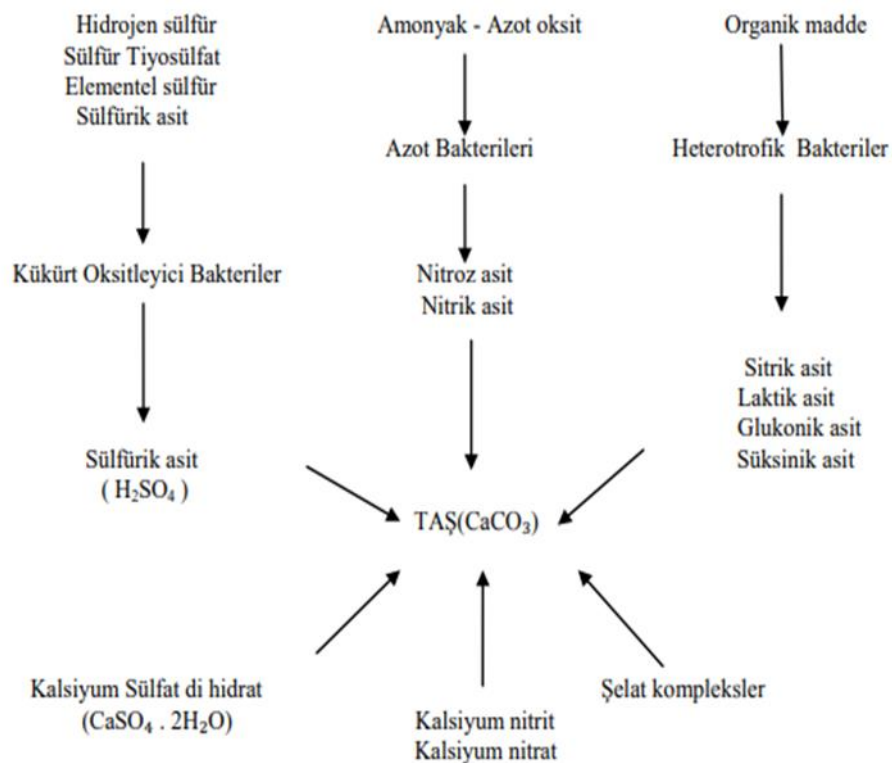
Doğal veya sentetik; kumtaşı, granit, kireçtaşı, dolomit, beton, harç ve tuğla gibi materyaller mikroorganizmalar için özel habitatlardır. Bu habitatlar sıcaklık, UV, rüzgâr ve kuraklık gibi ekstrem koşullar oluşturan abiyotik faktörler ile yüz yüzedirler. Doğal veya sentetik taş yüzeylerde yaşayan organizmalar bu abiyotik faktörlere karşı oldukça dirençlidirler. Özellikle organik herhangi bir kaynak olmadan yaşayan ototrofik mikroorganizmalar bu alanlarda yaşar ve diğer organizmaların yaşamasına olanak sağlar. Bu alanlarda yaşayan ototrofik organizmaların başında siyanobakteriler gelmektedir. Siyanobakteriler kaya ve taş yüzeylerine biyofilm ve polisakkarit üreterek bağlanır ve bu yapıların deteriorasyonuna sebep olur. Ürettikleri karbonhidratlar diğer organizmalar için besin kaynağı olduğundan bu alanlarda mikrobiyal kolonizasyonun oluşmasını da sağlarlar (Hauer et al. 2015; Negi and Sarethy 2019; Keshar et al. 2021).

Siyanobakteriler tek başına yaşayabildikleri gibi ekstrem ortamlarda yaşama şanslarını artırmak için funguslar ile iş birliği kurarak liken birliklerinde de yaşarlar. Bu birliktelik her iki organizma içinde hayatta kalma başarısını artırmaktadır. Taş yüzeylerde liken, dolayısıyla siyanobakteri ve funguslar biyodeteriorasyona sebep olarak kendi yaşam alanlarını

genişletmektedirler. Taş yüzeylerdeki liken birlikteliğindeki siyanobakteriler daha çok karasal siyanobakteriler olduğu yapılan birçok çalışma ile belirlenmiştir. Özellikle heterosit yapıda (çoklu şekil) siyanobakteriler (*Nostoc*, *Syctonema*, *Tolyporix*, *Anobea*), yuvarlak yapıda (*Chroococcus*, *Gleocopsa*, *Aphanotheae*) ve basit filamanetli yapıdaki (*Oscillatoria*) siyanobakteriler taş yapıların bozulmasına neden olmaktadır (Mehta 2022).

Siyanobakterilerin ekstrem ortamlarda yaşayabilmeleri; organik karbon kaynağı olmadan kendi besinlerini inorganik karbon kaynağından sağlamaları ve UV, sıcak, aşırı soğuk havadan etkilenmemeleridir. Ayrıca ürettikleri çeşitli sekonder metabolitler bu organizmaların yaşam mücadelesini kazanmada önemli bir rol oynamaktadır. Her ne kadar tek bir organizma olarak yaşayabilseler de ototrofik organizmalar olduğu için ürettikleri karbonhidratlar *Bacillus* gibi hetotrofik bakterilerin üremesine neden olur. Bu sebepten dolayı kültüre alınsada aksenikleştirme ve tür teşhisinde problem oluşturmaktadır (Temraleva et al.2016; Walther et al. 2020)

Ekstrem koşullara dayanıklı ve biyodeteriorasyona sebep olan tüm prokaryotik organizmaların taş yüzeylerdeki korozyon mekanizması aynıdır. Şekil 5'te bu organizmaların biyodeteriorasyon mekanizması özetlenmiştir.



Şekil 5. Biyodeteriorasyona Sebep Olan Prokaryotların Taşları Aşındırma Mekanizması

Funguslar zorlayıcı ekolojik şartlara dayanabilen ve hayatta kalmak için çeşitli yapısal, metabolik, morfolojik ve genetiksel yapılarında değişiklik yapabilen ve dünya üzerinde hemen

her yerde bulunan hetotrofik organizmalardır. Tablolar, vazolar, ahşaplar, kitaplar, kayalar ve metaller gibi farklı yüzeylerde kolonize olan funguslar yüksek biyodetaratif ajanlar olarak bilinir. Özellikle olumsuz çevre şartlarıyla karşılaşan taş yapılarda kolonize olmaları ve çeşitli metabolik faaliyetleriyle bu yapılarda estetik, fiziksel ve kimyasal bozunmalara sebep olurlar. Diğer mikroorganizmalar gibi ürettikleri asitler, pigmentler, sekonder metabolitler, polisakkaritler ve şelatatlayıcı maddeler ile deteriorasyona neden olurlar. Siyanobakteriler ile liken birliği oluşturarak deteriorasyonu başlatır ve devam ettirirler (Trovao et al. 2019; Trovao et al. 2021; He et al.2022). İster epilitik (taş yüzünde kolonize olan) isterse de endolitik (taş içerisinde kolonize olan) fungus olsun taş yüzeylerde korozyona neden olur. Sıcak ve nemli bölgelerdeki taş yüzeylerde ipliksi funguslar, kurak ve yarı kurak bölgelerdeki taşlarda ise mikrokolonyal funguslar bulunur (Selbmann et al. 2015).

Funguslar, taş matriksini eritecek hidrolitik enzimlere sahiptirler. Ürettikleri sekonder metaboliler (glukonik asit, oksalik asit, süksünik asit ve asetik asit gibi) yüksek aşındırıcı etkiye sahiptirler. Taş yapıların bozulmasını koordineli şekilde yaparlar. Biyojeofiziksel ve biyojeokimyasal yolla taşın içine hiflerini salarlar. Fungusların ürettikleri ekzopolisakkaritler vasıtasıyla taş yüzeyine kolayca yapışırlar ve bu maddeler fungusları mekanik basınçtan korur. Ayrıca demir elementini şelatlayarak taşın aşınmasını hızlandırırlar (Boniek et al. 2017; Guerra et al. 2019; Pinheiro et al. 2018). Taş yüzeylerinden izole edilen başlıca funguslar; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Ulocladium*, *Mucor*, *Epicoccum* ve *Aureobasidium*'dur (Miller et al. 2012; Sterflinger et al. 2013; Cruzman et al. 2013; Farooq et al. 2015; Duan et al. 2018).

İnsanlar tarafından inşa edilen kalıcı miras olan taş yapıtların bozunmasında tek hücreli protozoalarında etkisinin olduğu Türkiye ve Brezilya'daki taş yapıların incelenmesiyle son yıllarda bulunmuştur. Taş ve taş yapıların biyodeteriorasyonuna sebep olan protozoolar; *Taxoplasmida*, *Acrasea*, *Actinopyridae*, *Cavostelidae*, *Labyrinthulida*, *Urnulidae* ve *Protococidae*'dir (Falkiewicz et al. 2015).

Mikroorganizmalar dışında yüksek yapılı organizmalarında biyodeteriorasyona sebep olduğu bilinmektedir. Özellikle taş yüzeylerde rahatlıkla yaşamlarını sürdürebilme yeteneğine ve başarısına sahip tohumuz bitkiler hem pigmentasyonla hem de oluşturdukları asitler ve organik madde ile taş yüzeylerde korozyona ve estetik bozunmaya sebep olurlar. Tohumuz bitkilerden olan karayosunları ise taş yapılarda genellikle estetik hasara sebep olurlar. Öldükleri zaman ise bulundukları ortamın humus içeriğini zenginleştirerek diğer organizmaların gelişmesi için ortam hazırlarlar (Dakal and Cameotra 2012). Yüksek yapılı bitkiler farklı ekolojik koşullarda yaşamlarını sürdürebilirler. Tarihi taş yapılar üzerinde veya etrafında

yetişen bitkiler taş yapıların estetik, fiziksel ve kimyasal yapısını bozmaktadır hatta diğer organizmalara ev sahipliği yaptıkları için taş yapılara verdikleri zarar daha da artmaktadır (Di Carlo et al. 2017). Bitki kökleri taş yapının içine nüfuz ederek organik madde ve besinleri biriktirmesiyle ve mikroklimatik koşulları sağlar ve diğer mikroorganizma grupları için kolonizasyonu kolaylaştırır. Böylelikle taşın fiziksel ve kimyasal yapısının bozulmasını hızlandırmaktadır (Motti and Bononami 2018).

Kültürel miras olan tarihi taş yapıların biyodeteriorasyonunda hayvanların rolü ise doğrudan ve dolaylıdır. Doğrudan verdikleri hasar, ezme ve kazıma gibi eylemlerle fiziksel, yüksek miktarda nitrat ve fosfat içeren asitli dışkılarını bırakarak kimyasal hasar oluştururlar. Dolaylı olarak verdikleri zarar ise yaşamsal faaliyetleri sonucunda mikroorganizmalar için substrat oluşturmalarıdır (Allospp et al. 2004).

Somut kültürel miraslar içerisinde yer alan; binalar, anıtlar, dekoratif objeler, doğal oluşumlar ve kitaplar çevresel faktörlerin etkisiyle biyolojik bozunma ile karşı karşıyadır ve bu olgu halan tam çözilememiş önemli bir problemidir (Coutinho et al. 2020; Corba et al. 2022). Kültürel miraslar üzerindeki biyolojik kolonizasyonla mücadele için; mekanik, fiziksel ve kimyasal birçok yöntem kullanılmaktadır. Mekanik uygulamada; neşter, fırçalar ile koloniler uzaklaştırılmaktadır. Fiziksel uygulamalarda ise UV, ısı, radyasyon ve ses dalgaları gibi işlemler yapılmaktadır. Kimyasal uygulamalarda ise ağır metaller, asitler, alkoller, flavonoidler ve çeşitli kimyasal bileşikler uygulanarak kolonizasyonlar yok edilmeye çalışılmıştır. Mekanik ve fiziksel uygulamalar kısa süre için etkili olsa da uzun vadede etkili değil, uygulaması zor ve pahalıdır. Kimyasal uygulama diğer yöntemlere göre daha etkin olsa da kullanılan kimyasallar genellikle toksiktir ve biyodeteriorasyona sebep olan mikroorganizmaların direnç kazanmasına sebep olur. Hatta çevresel faktörler (yağmur, rüzgar ve hayvanlar ile taşınım) ile suya toprağa karışan bu kimyasallar insanlar başta olmak üzere bitki ve hayvan sağlığını da olumsuz etkilemektedir. Son yıllarda ise biyodeteriorasyonun önlenmesinde nanopartiküller, farklı bitki ekstraktları ve esansiyel yağları ve farklı metaller (Ag, Si, Ti) gibi materyaller kullanılmaktadır (Coutinha et al. 2020; Cona et al. 2021; Romani et al. 2021; Corbu et al. 2022; Kang and Ye 2022). Esansiyel yağlar ve bitki ekstraktları toksik olmamaları nedeniyle biyodeteriorasyona karşı kullanılsa da açık alanda kullanımının zor ve etkisinin görülemeyeceğinden, nanopartiküllerin üretiminin ve kullanımı ekonomik olmayacağından daha az maliyetli ve biyosidal etkisi olan kimyasallara göre daha az toksik ya da toksik olmayan kimyasallar kullanmak daha mantıklı ve sürdürülebilirdir.

Bor toprakta, suda ve havada bulunan atom numarası 5 olan bir iz elementtir. Bor metalle ametal arasında yer alan yarı iletken özelliklere sahip olan 230'dan fazla kimyasal

bileşeni ve türevi olan bir metaloid olarak bilinir. Bor, birçok bitkiler, bakteriler, funguslar ve algler için mikro besin elementidir. Ayrıca bor yaşamın kökeninde ve evrimsel süreçte rol alan öncül bir elementtir. Bor, karbon elementi gibi hem kendi kendisiyle hem de başka elementler ile bileşik oluşturabilme kapasitesiyle diğer elementlerden ayrılır ve zengin bir bileşik oluşturma yeteneğine sahiptir (Li et al. 2017; Fink and Uchman 2021; Temel et al. 2023).

Genellikle sodyum ve oksijen ile bileşik oluşturan ve organoboratlar olarak isimlendirilen bor bileşikleri organizmalar için fizyolojik olaylarda kullanılır. Özellikle borik asit ve borun sodyum tuzu (boraks) yaygın olarak antiseptik, bakterisit, sabun, deterjan, yangın geciktirici, gübre, pestisit ve herbisit olarak kullanılmaktadır. Ayrıca cam, porselen, izolasyon malzemesi ve metal alaşımları gibi endüstriyel kullanım alanlarında bulunmaktadır. Ayrıca süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon S transferaz ve glutatyon (GST ve GSH) enzim aktivitelerini yükselttiği, kanseri önlediği ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu için tıpta ve eczacılıkta kullanımı mevcuttur (Uluişik 2018; Nielsen 2018).

Türkiye dünya bor rezervinin %72,1'ine karşılık gelen 1 milyon ton rezerve sahiptir. Bor bileşiklerinin ülkemizdeki bolluğu, düşük maliyeti ve antimikrobiyal etkisi düşünüldüğünde bu kıymetli metaloid farklı alanlarda kullanımı ve ülkemize ekonomik olarak katkı sağlayabileceği yeni alanların ortaya çıkması kuvvetle muhtemeldir. Özellikle tarihi mirasların korunmasında antibiyodetoratif ajan olarak kullanımı yeni kıymetli bir olgu olacaktır. Borun 230'dan fazla türevi mevcut olup ulaşılabilirliği kolay, maliyeti ucuz olan borik asit (BA) ve boraksın (BX) bu alanda kullanımı hem literatüre hem de ülkemiz ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bor ve bileşiklerinin antimikrobiyal etkisi yapılan birçok çalışma ile belirlenmiştir. Bu özellikleri borun farklı boyutlarda farklı bağlanma özellikleri göstererek organizmalarda farklı yapı ve enzimlere bağlanarak sağladığı düşünülmektedir (Yılmaz 2012). Örneğin; borik asidin zayıf asit özellik göstermesi, suda kolay çözünmesi ve yüksek konsantrasyonlarda toksik etki yaratması bu özelliğini kanıtlar niteliktedir (Hernandez-Patlan et al. 2017). Borik asidin sodyum ile kimyasal etkileşimi ile oluşan boraks, diğer bir ifadeyle borun sodyum tuzu olan boraksın antibakteriyal ve antifungal etkisi yapılan birçok çalışmayla kanıtlanmıştır. Özellikle *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes* bakterilerine ve *C. albicans*, *A. niger* gibi mikroorganizmalara karşı yüksek biyosidal etkiye sahiptir (Qaiyyum et al. 2023).

Biyodeteriorasyona sebep olan mikroorganizmalara karşı birçok biyosidal etkisi olan kimyasallar kullanılmıştır. Bu çalışmaların bazıları bu kısımda özetlenmiştir.

2009'da *Botrytis cinerea* kurşuni küf hastalığına sebep olan fungusu karşı Qin et al. boraksın çeşitli konsantrasyonlarını (%0.05, 0,1, 0.2, 0.5 ve 1) denemişler ve spor

germinasyonunu engellediğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda bor türevi olan boraksın antifungal bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Cámara et al. (2011) yaptıkları çalışmada taş ocağının duvarlarındaki mikroorganizma büyümesini engellemek için üç farklı biyosit uygulamışlardır. Bu biyositler; ACTICIDE® LV706 2-n-octyl-3(2 H)- isothiazolone benzalkonium chloride, ACTICIDE® CF 2-n-octyl-3(2 H)- isothiazolone terbutryn ve ACTICIDE® 2-n-octyl-3(2 H)- isothiazolone (f)+3-iodopropynyl butylcarbamate'dır. Bu biyositlerin taş ocağının duvarlarından izole ettikleri mikroorganizmaların gelişimini %80 oranında durdurduklarını tespit etmişlerdir.

Ulocladium chartarum ve *Cladosporium cladosporium* funguslarının taş yüzeylerdeki korozyonunu önlemek için Khamova et al.(2012) nanopatikül karbon (nanodiamond) kullanmışlardır. Çeşitli cihazlar ile (SEM, XRD) taş yüzeyindeki fungus hiflerinin yoğunluğunu ölçmüşler ve çalışma sonucunda nanopatikül karbon ile kaplı biyositlerin biyodeteriorasyonu engelleyebileceğini bulmuşlardır.

Biotin T ve Biotin R biyositleri Rios et al. (2012) tarafından mekanik temizleme uygulaması ile birlikte İspanya'da bir kilisedeki biyobozunmaya sebep olan mikroorganizmalar üzerinde denenmiştir. Çalışma sonucunda Biotin T'nin algler üzerinde, Biotin R'nin ise funguslar üzerinde daha etkili olduğu saptanmıştır.

2015'te Pointer ve ark. yaptıkları çalışmada borik asidin *Candida albicans* üzerindeki inhibitör etkisini belirlemişlerdir. İzole ettikleri 76 suşa karşı borik asidin etkisini araştırmışlar ve en etkili konsantrasyonun %0,1 olduğunu bulmuşlardır.

Lavin ve arkadaşlarının 2015'te yaptıkları çalışmada bahçe kekiği (*Thymus vulgaris*) ve kekik bitkisi (*Origanum vulgare*) uçucu yağlarının biyodeteriorasyona sebep olan *Fusarium* ve *Scopulariopsis* fungusları üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda bu uçucu yağların antifungal özelliklerinin olduğunu, dolayısıyla biyodeteriorasyonu engelleyebileceğini belirtmişlerdir.

Goffredo et al (2017) gümüş ve bakır ile kaplanmış TiO₂ nanopatiküllerin biyodeteriorasyon etkisini belirlemek için yaptıkları çalışmada mikroalglerin büyümesini sınırladığını bulmuşlardır.

Ahmed et al. (2017) yaptıkları çalışmada domateslerde yumuşak çürüklüğe sebep olan *Pectobacterium carotovorum* bakterisine karşı sodyum tetra borat kullanmışlardır. Çalışmada 100mM boraksın bu bakterinin büyümesini ve gelişimini engellediğini belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda bu patojen bakteriye karşı etkili biyosidal olarak boraksın kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Borik asit ve bor türevi olan disodyum oktaborat tetrahidrat Sayın ve ark. 2016 yılında yaptıkları çalışmada antibakteriyal ve antibiyofilm özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmışlar ve çalışma sonucunda Gram negatif ve pozitif bakterilerin gelişimini inhibe ettiğini bulmuşlardır. Ayrıca biyofilm yapılarını da bozduğunu tespit etmiş, tıbbi ve farmakolojik alanlarda bor türevlerinin kullanılabileceğini önermişlerdir.

Krom metalinin biyodeteriorasyona sebep olan organizmaların inhibisyon etkisi Zhang et al. (2017) tarafından çalışılmış ve kromun *Penicillium* küfünün enzimatik reaksiyonlarını hızlandığını ve büyümesini teşvik ettiğini bulmuşlardır. Araştırma sonucuna göre; krom uygulaması *Penicillium* küfünün gelişimini artırmakta ve biodeteriorasyonu bu yolla önlemektedir.

Saç kırana ve kaşıntıya sebep olan *Trichophyton rubrum* fungusuyla mücadelede Schmidit (2017) borik asidi kullanmış ve çalışma sonucunda borik asidin antifungal madde olarak kullanılacağını %0.01 konsantrasyonda borik asidin *T. rubrumun* gelişimini yavaşlattığını ve %0.03 konsantrasyondaki borik asidin ise tamamen durdurduğunu belirlemiştir.

Matteuccil et al. (2019) yaptıkları çalışmada bir biyosit ajanı olan benzalkonium klorür, tarihi yapılarda bozunmaya sebep olan likenler üzerinde denenmiş ve farklı konsantrasyonda yarı kurak iklimlere adapte olan likenler için pek fazla etki etmediğini belirlemişlerdir.

Lavandula angustifolia (lavanta) ve bahçe kekiği esansiyel yağları %10 konsantrasyonda biyobozunmaya sebep olan fototrofik mikroorganizmalar üzerinde denenmiştir (Bruno et al. 2019). Çalışma sonucunda bu esansiyel yağların 15 dk sonunda fotosentez mekanizmasını durdurduğunu tespit edilmiştir.

Erper et al (2019) yaptıkları çalışmada bitkilerde patojen olan *Rhizoctonia solani* fungusunun gelişimini inhibe etmek amacıyla borik asit ve bor türevli maddeler kullanmışlardır. %0,25 ve %0,5'lik konsantrasyonların bu fungusun gelişimini tamamen durdurduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda borik asidin biyosit olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

İlhan ve arkadaşları (2019); borik asidin (H_3BO_3) *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi amacıyla çalışma yapmışlardır. Borik asidin minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimal bakterisidal konsantrasyonu (MBK) *L. monocytogenes* için 1/32 (1.93 mg/ml), *S. aureus* için ise 1/16 (3.80 mg/ml) olarak belirlenmiş ve sonuç olarak, ülkemizin önemli yeraltı zenginliklerinden bor

madeninin bir yan ürünü olan borik asidin, alternatif bir antibakteriyel olarak kullanılabileceği kanısına varmışlardır.

In vitro olarak borik asit ve asetik asit karışımının antibakteriyel etkisini belirlemeye çalışan Rafferty et al. (2019) piyasadaki ıslak mendillerin etkinliğini artırmayı amaçlamışlardır. Bu amaçla borik asit/asetik asit karışımını disk difüzyon yöntemiyle, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Malassezia pachydermatis* bu patojen bakterilere karşı denemişlerdir. Deney sonucunda borik asit/asetik asit karışımı *in vitro* ortamda bu bakterilere karşı etkin olduğu ve daha fazla *in vitro* çalışmaların gerektiğini belirtmişlerdir.



MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışılacak Alanın Fiziki ve Coğrafi Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanacağımız liken türleri Doğu Anadolu Bölgesinden toplanmıştır. Likenlerin toplandığı lokasyonlar; Erzurum Öşvank Kilisesi, Erzurum HaHo Kilisesi (Meryem Ana Kilisesi), Kars Ani Harabeleri, Bitlis Selçuklu Anıt Mezarlıkları, Ağrı İshak Paşa Sarayı, Ardahan Şeytan Kalesi, Erzurum Kalor Tepesi, Erzurum Kalesi ve Üç Kümbetler'den toplanmıştır.

Bu bölgelerin krokisi GPS cihazıyla belirlenmiş ve kayıt altına alınmıştır.

Likenlerin Toplanması ve Tür Teşhisi

Yukarıda saydığımız bölgelerdeki tarihi eserlerin üzerinde bulunan likenler taş yüzeylerin gerek estetik olarak gerekse fiziksel olarak biyolojik bozulmaya uğradığı düşünülen kısımlarda tespit edilmiş ve bu kısımlarda olan likenlerin fiziksel görüntüleri aynı olan likenler bu bölgelerin etrafındaki taşlardan steril bir raspa yardımı ile alınmıştır. Kazıntılar aseptik şartlarda steril tüpler içerisine alınarak, laboratuvara getirilmiş ve çalışma yapılncaya kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Tür teşhisi: Toplanan likenler tür teşhisi için liken bilimci Prof. Dr. Ali Aslan'a steril tüp içinde alınan bölgelerin isimleriyle beraber gönderilmiştir. Prof. Dr. Ali Aslan tarafından morfolojik ve bulunduğu taşların özelliklerine göre teşhisi yapılmıştır.

İzolasyon İçin Kullanılacak Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanması

Çözeltilerin hazırlanması

Fizyolojik su hazırlanışı; 9 g sodyum klorür 1000 ml damıtık su (saf su) içinde çözülmüş ve test tüplerine veya erlenmayere kaplara gerekli miktarlarda (9 ml) konularak sterilize edilmiştir. **%3'lük KOH çözeltisi:** 3 g KOH 100 ml steril saf su içerisinde çözülerek hazırlandı.

Kristal violet: 2 g kristal violet, 20 ml %95'lik etil alkolde çözüldü ve son hacim steril saf su ile 100 ml'ye tamamlandı. Amber şişe içinde buzdolabında muhafaza edildi

Lugol solüsyonu: 1 g iyot ve 0,5 g KI tartıldı, toplam hacim steril saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Safranin: 1 g safranin, 10 ml % 95'lik etil alkolde çözüldü ve son hacim steril saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Malaşit yeşili: 5 g malaşit yeşili, 100 ml steril saf su içinde çözülerek hazırlandı.

%5'lik H₂O₂ çözeltisi: 17 ml % 30'luk H₂O₂'in hacmi steril saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

Besiyerlerinin hazırlanışı

Nutrient agar (NA), Triptik Soy agar (TSA) ve Patates Dekstroz Agar gerekli miktarlarda saf su içerisine konularak 121°C'de 1,5 atm basınçta 15 dk sterilize edilmiştir.

BG-11 medyumun hazırlanışı: aşağıdaki malzemeler ultra saf su içerisine konulmuş ve 121°C ve 1,5 atm'de 30 dk sterilize edilmiştir (Toulupakis et al. 2019)

İçindekiler g/l	BG11
NaNO ₃	1.5
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.036
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.075
KH ₂ PO ₄	0.04
Sitrik Asit	0.006
(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ · 6H ₂ O	0.006
Na ₂ CO ₃	0.020
Na ₂ -EDTA	0.001
H ₃ BO ₃	0.0028
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.00022
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.0018
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.00039
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.00008
Co(NO ₃) ₃ .6H ₂ O	0.00005

Water Agar %4 Medyum hazırlanışı: saf su içerisine % 4 agar konulmuş 121°C ve 1,5 atm'de 30 dk sterilize edilmiştir (Ahmadijan 1967; Yamamoto et al.2002).

Malt Yeast Medyum hazırlanışı: 20 g malt ekstakt, 2 g yeast ekstrakt, 20 g agar 1000 ml saf su içerisine konulmuş 121°C ve 1,5 atm'de 30 dk sterilize edilmiştir (Ahmadijan 1967; Yamamoto 2002).

Borik asit ve boraks içeren besiyerlerinin hazırlanması

Bakteriler için Nutrient Broth, Siyanobakteriler için BG 11 medyum ve funguslar için Patates Dekstroz Broth kullanılmıştır. Borik asit ve boraks miktarları belirlenen oranda bu besiyerlerine konmuş homojenize edilmiştir.

Liken Birliğinden Mikroorganizmaların İzolasyonu

Bakterilerin izolasyonu

Toplanan liken örnekleri öncelikle steril saf su ile yıkandıktan sonra, % 75'lik alkol ile yıkanmıştır. Daha sonra % 2'lik HCl çözeltisi içerisinde 3 dk. bekletilmiştir. Bu zaman dilimi sonunda likenler saf su ile iyice yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra steril kurutma kağıdı arasında kurutulmuştur (Guo et al. 2003; Vinayaka et al. 2016).

Steril fizyolojik su hazırlanarak içerisine 1cm² 'lik parçalar steril bistirü ile kesitler atılmış ve 24 saat boyunca 150 rpm'de çalkalanmıştır. Steril dilüsyon sıvıları hazırlanarak izolasyon işlemlerine devam edilmiştir. Bu amaçla Triptik Soy Agar (TSA) ve Nutrient Agar (NA) hazırlanmıştır. 10⁶ 'lık seri dilüsyonlardan bu besi yerlerine örnek aktarılmış ve 20°C ve 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra ayrı düşen koloniler morfolojik yapılarına bakılarak saf kültürler olarak izole edilmiştir.

Siyanobakterilerin izolasyonu

Hazırlanan BG-11 Medyuma dilüsyon sıvısı aktararak 21 gün boyunca 25 °C'de foto periyodu 12 saat gece 12 saat gündüz olacak şekilde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan kolonilerden aksenikleştirme yapılmış ve saf kültürler elde edilmiştir.

Siyanobakterilerin Aksenikleştirilmesi

Filtrasyon, seri seyreltme

Saflaştırılacak siyanobakteri türleri önce farklı gözenek çaplarına sahip membranlardan süzüldü ve steril kültür ortamı ile yıkanmıştır. Siyanobakteri mukozasında yabancı ve endojen bakteriler ve funguslar bulunduğundan mukozadaki organizmaları parçalamak için ultrasonik ses dalgalarıyla muamele edilmiş ve daha sonra santrifüj yapılmıştır. Bu ön arıtma işlemleri ile ortamdaki bakteri ve fungus yükü azaltıldıktan sonra steril BG 11 (NaNO₃, 15; K₂HPO₄, 0.4; MgSO₄·7H₂O, 0.75; CaCl₂·2H₂O, 0.36; Sitrik asit, 0.06; Demir (III) amonyum sitrat 0.06; Na₂-EDTA, 0.01; Na₂CO₃, 0.2 g/L, 1 ml; iz element solüsyonu; (H₃BO₃, 61; MnSO₄·H₂O, 169; ZnSO₄·7H₂O, 287; CuSO₄·5H₂O, 2.5; NH₄6Mo7O₂₄·4H₂O, 12.5 mg/l besiyerine alınmıştır. Daha sonra Sena ve ark. (2011) yaptıkları gibi seyreltme yapılarak 25 °C'de 20 µmol ışık şiddeti ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda siyanobakterilerin aksenikleştirilmesi için

hazırlanan BG11 agara inokülasyon yapılarak tekrar inkübasyona bırakılmıştır (Biller et al. 2022).

Steril pipet yardımı ile saflaştırma

15 gün boyunca BG 11 sıvı besiyerinde geliştirilen karışık kültürden steril petrilere alınan bir miktar kültür seyreltilmiş (tek hücre düşünceye kadar) ışık mikroskobu altında pastör pipeti yardımıyla tek hücre aktarımı yapılmaya çalışılmıştır. Fakat bu yöntemle tek hücre aktarılamamıştır (Ozturk et al. 2018).

Antimikrobiyal kimyasallar ile saflaştırma

Siyanobakterileri aksenikleştirmede ilk aşama olarak mekanik yöntemlerin denemesinin ardından, bakterileri yok etmek için antibiyotik (gentamicin, streptomisin ve ampicilin), fungusları yok etmek için ise fungusit (tioconazole) kullanılmış tek ya da kombinasyonlar denenerek saflaştırma işlemleri yapılmıştır (Isleten-Hosoglu et al. 2013; Temraleeva et al. 2016; Grossmann et al. 2020).

Seri çizgi ekim yoluyla saflaştırma

BG 11 agara ekilen siyanobakterilerden bir kez alınan örnek 8 ayrı petri kabına çizgi ekim ile ekilmiş ve 2 hafta süre ile oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Her gün petriler kontrol edilmiş ve tek düşen kolonilerden yeni besi yerine ekim yapılmıştır

Endofitik fungusların izolasyonu

Toplanan liken örnekleri öncelikle steril saf su ile yıkandıktan sonra, % 75'lik alkol ile yıkanmıştır. Daha sonra % 2'lik HCl çözeltisi içerisinde 3 dk. bekletilmiştir. Bu zaman dilimi sonunda likenler saf su ile iyice yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra steril kurutma kâğıdı arasında kurutulmuştur (Guo et al. 2003; Vinayaka et al. 2016).

Steril fizyolojik su hazırlanarak içerisine 1cm² 'lik parçalar steril bistirü ile kesitler atılmış ve 24 saat boyunca 150 rpm'de çalkalanmıştır. Steril dilüsyon sıvıları hazırlanarak izolasyon işlemlerine devam edilmiştir. İlk önce 0,4 yeast extract ve % 2 agar (50 mg/l) içeren besi yerine dilüsyon sıvısı aktarılmıştır. 25 °C'de 15 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda koloni oluşturan funguslar PDA besi yerine aktararak saflaştırılmıştır.

Liken birliğini oluşturan fungusların izolasyonu

Liken tallusları steril bıçak ile taş yüzeyinden ayrıldı. Ayrılan parça steril saf su ile 15 dk süre ile yıkandı. Ardından Tween 80 ile (1:10) 30 dk boyunca yıkandı. Bu işlem ardından son kez steril saf su ile 15 dk süre ile yıkandı ve streil iğne öze ile Water Agar (WA) ve Malt-

Yeast agar (MY) besi yerlerine konuldu. 20 °C’de 14:10 foto periyodunda 2 hafta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında 3, 7, 10. ve 15. gün’de besi yerleri kontrol edilmiş ve oluşan koloniler PDA besiyerine alınarak saflaştırılmıştır (Yamamoto 2002; Muggia et al. 2016). Saflaştırılan izolasyonların aynı olduğunu kanıtlamak için bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. İzole edilen fungusların Yamamoto (2002)’ya göre liken simbiyontları olduğu varsayılmıştır.

İzole Edilen Bakterilerin Morfolojik ve Biyokimyasal Analizleri

Morfolojik olarak bakterilerin koloni şekilleri renkleri koloni büyüklükleri belirlenmiş ve saflaştırma yapılmıştır. Bakteri izolatlarının Gram özellikleri hem Gram boyama ile hem de KOH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

KOH yöntemi ile Gram özelliğinin belirlenmesi; lam üzerine, % 3’lük KOH çözeltisinden bir iki damla konmuş ve öze ile alınan bakteri KOH çözeltisi ile 5–10 saniye karıştırıldıktan sonra öze

Bakterilerin Gram boyanma özelliğinin belirlenmesi

Gram özelliğini belirlemek için aşağıdaki protokol uygulanmıştır.

- 24 saatlik genç kültürlerden preparat hazırlanmış,
- Önce kristal viyole ile 1 dakika süreyle boyanmış,
- Boyanın fazlası saf su ile giderilmiş,
- Mordan etkisi için 2 dakika süreyle lügol çözeltisi uygulanmış,
- Saf su ile boyanın fazlası giderilmiş,
- 1 dakika süreyle % 70’lik etil alkol uygulanarak birinci boyanın dekolorizasyon işlemi gerçekleştirilmiş,
- 1 dakika süreyle safranin ile boyanmış,
- Boyanın fazlası gidermek için saf sudan geçirilmiş,
- Preparat kurutularak 100’lük ve immersiyon objektifleriyle incelenmiş,
- Mor menekşe renkli olanlar Gram pozitif, pembemsi veya kırmızı renkli olanlar ise Gram negatif olarak kaydedilmiştir.

Katalaz testi: Elde edilen izolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıkları bu testle belirlenmiştir. Bu nedenle test için 24 saatlik bakteri kültüründen bir öze dolusu alınıp, üzerine 1 damla % 5’lik H₂O₂ ilave edilmiştir. Kabarcık oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley and Prescott 1996).

İzole Edilen Bakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi

İzole edilen bakterilerin farklı tuz oranlarında gelişimlerin belirlenmesi

Çalışmada izole edilen bakterilerin farklı oranlarda tuz içeren besi yerlerinde gelişiminin belirlenmesi için Triytic Soy Broth (TSB) besi yeri kullanılmış ve bu besi yeri içerisine 0,1 M ile 2 M arasında değişen konsantrasyonlarda NaCl konmuş pH 7 'ye ayarlanarak 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda kullanılan tüm bakteri suşlarının 18 saatlik aktif kültürleri kullanılmıştır. 1. gün ve 2. gün sonunda spektrofotometrik (OD₆₀₀) olarak ölçümler alınmış ve bu kayıtlara göre tuz dirençleri belirlenmiş ve bu sonuçlar doğrultusunda tür teşhislerinde faydalanılmıştır (Koutsoumanis 2008).

İzole edilen bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişimlerin belirlenmesi

Çalışmada izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişiminin belirlenmesi için TSB besi yeri kullanılmış, pH 7'ye ayarlanmıştır. 10- 50 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda spektrofotometrik ölçümler alınarak kaydedilmiştir (Gao et al.2011). Bu sonuçlar tür teşhisi için kullanılmıştır.

İzole edilen bakterilerin farklı pH aralıklarında gelişimlerin belirlenmesi

Çalışmada izole edilen bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişiminin belirlenmesi için NB besi yeri kullanılmış ve pH aralıkları 3 ile 13 arasında ayarlanmıştır. Bu besiyerlerine inoküle edilen bakteriler 72 saat oda sıcaklığında 150 rpm'de inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda gelişimleri spektrofotometrik olarak kaydedilmiştir

İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi

İzole Edilen Bakterilerin Farklı Tuz Oranlarında Gelişimlerin Belirlenmesi

İzole edilen siyanobakteriler 0,1 M ile 2 M arasında değişen konsantrasyonlarda tuz içeren BG11 medyuma konulmuş 30 °C'de, pH 7'de 12 saat gece 12 saat gündüz foto periyodunda 21 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda spektrofotometrik ölçümler alınarak kaydedildi (Rai and Abraham 1993).

İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Geliştirilmesi

Siyanobakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişimini belirlemek için; BG11 hazırlanmıştır. Besiyerine inoküle edilen siyanobakteriler 15 günlük aktif kültürlerdir ve 12 saat gece 12 saat gündüz foto periyodunda 21 gün farklı sıcaklıklarda (4-50) inkübe edilmiştir (Layden et al. 2021). İnkübasyon sonucunda spektrofotometrik ölçümler alınarak kaydedilmiştir.

İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı pH Aralıklarında Gelişimlerin Belirlenmesi

Çalışmada izole edilen bakterilerin farklı pH'larda gelişiminin belirlenmesi için BG11 medyum besi yeri kullanılmış ve pH aralıkları 3 ile 13 arasında ayarlanmıştır. Bu besiyerlerine inoküle edilen bakteriler 15 gün oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda gelişimleri spektrofotometrik olarak kaydedilmiştir

İzole Edilen Fungusların Morfolojik Analizleri

İzole edilen fungusları farklı besi yerlerinde geliştirilerek morfolojik yapıları incelenmiştir. Bu amaçla; Czapek agar (CA), Sabroud Dekstroz Agar (SDA), Malt Ekstrakt Agar (MA) ve PDA besi yerleri kullanılmıştır. PDA üzerinde geliştirilen funguslar hazırlanan bu besi yerlerine konulmuş 25 °C'de 1 hafta inkübe edilmiştir.

Fungusların hif ve spor yapılarını belirlemek için laktofenol mavisi kullanılmış ve 100'lük objektifte görüntüleri çekilmiştir.

İzole edilen fungusların farklı tuz oranlarında geliştirilmesi

İzole edilen funguslar 0,1 M ile 2 M arasında değişen konsantrasyonlarda tuz içeren PDB medyuma konulmuş 30°C'de, pH 5,5'de 130 rpm'de 15 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda yaş biyomasları ölçülerek tuz direnci belirlenmiştir (Chen et al. 2016).

İzole edilen fungusların farklı sıcaklıklarda geliştirilmesi

İzole edilen funguslar PDB besiyerine ekilmiş 10 – 50 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda yaş biyomaslar ölçülmüştür (Hasanzadeh et al. 2012).

İzole edilen fungusların farklı pH aralıklarında gelişimlerin belirlenmesi

Çalışmada izole edilen fungusların farklı pH'larda gelişiminin belirlenmesi için PDB besi yeri kullanılmış ve pH aralıkları 3 ile 13 arasında ayarlanmıştır. Bu besiyerlerine inoküle edilen funguslar 96 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda gelişimleri kaydedilmiştir

Mikroorganizmaların Teşhisi

Bakterilerin tür teşhisi

Karşılaştırmalı DNA dizi analizi mikrobiyal tanımlamada en iyi genotipik yöntemdir. En yaygın olan yaklaşım, 16S ribozomal RNA genin 1500 baz dizisinin bir bölümünün veya hepsinin PCR ile çoğaltılması ve DNA dizi analizinin yapılmasıdır. Daha sonra, mikrobiyal baz dizilerini içeren dizi, veri tabanlarındaki diziler ile karşılaştırılmaktadır. Bütün bakterilerde

bulunan ve fonksiyonel olarak korunan bu gen dizisi kullanılarak tür teşhisi yapılabilir. Çalışmamızda izolatların 16S rRNA geni bakımından analizi için; BM Laboratuvar Sistemleri firmasından hizmet alımı yapılmıştır.

Siyanobakterilerin tür teşhisi

PCR çalışmasında universal primer olarak EukA ve EukB primerleriyle, tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir. CYA 359F (5'-GGGGAATYTTCCGCAATGGG -3') CYA 781R (5'-GACTACWGGGGTATCTAATCCCWTT -3') • 95°C 5 dakika – initial denaturation • 30 döngü: — 95°C for 45 saniye - denaturation — 57°C for 45 saniye - annealing — 72°C for 90 saniye – extension • 72°C for 5 dakika – final extension • Sıcaklık 4°C'ye düşürülüp PCR tamamlanmıştır. PCR (kyratec thermocycler) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan %1,5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütüldü ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır. Yaklaşık 1800 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonunuz Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. Örnekleriniz için PCR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek, PCR işleminin başarılı olduğu gözlemlenmiştir. Bileşen Stok Kons. Reak. Kon. PCR Buffer 10X 1X MgCl₂ 25mM 1,5 mM dNTP mix 20 mM 0,2 mM F. Primer 10 µM 0,3 µM R. Primer 10 µM 0,3 µM Taq DNA Polymerase 5U/ µl 2 U DNA template 3 µl PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanır. PCR ürünü saflaştırma aşamasında, elde edilen tek bant örnekler için MAGBIO "HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) saflaştırma kiti kullanılıp, kitin prosedürlerine uyarak saflaştırılmıştır. 5) Sanger Dizileme örnekleriniz için, MacroGen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA). EukA ve EukB primerleriyle elde edilen okumalar, bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır.

Fungusların tür teşhisi

Fungus DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Plant & Fungi DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır. DNA izolasyonundan sonra elde ettiğimiz DNA'ların miktar ve saflığını kontrol etmek için Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirdik. PCR çalışmasında universal primer olarak ITS1 –

ITS4 primerleriyle, tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir.

ITS1 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' ITS4 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'

- 95°C 5 dakika – initial denaturation
- 40 döngü: 95°C for 45 saniye - denaturation 57°C for 45 saniye - annealing — 72°C for 60 saniye – extension • 72°C for 5 dakika – final extension

• Sıcaklık 4°C'ye düşürülüp PCR tamamlanmıştır. PCR (kyratec thermocyclers) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan %1,5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika elektroforezde yürütüldü ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır. Yaklaşık 700 bazlık bölgeyi çoğaltmak için tek aşamalı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonunuz Solis Biodyne (Estonya) FIREPol® DNA Polymerase Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir. Örnekleriniz için PCR sonrasında agaroz jelde tek bant elde edilerek, PCR işleminin başarılı olduğu gözlemlenmiştir.

Borik Asidin Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda borik asidin biyosidal etkisini belirlemek için 0,1 M, 0,25 M, 0,5 M, 0,75 M, 1 M, 1,25 M, 1,5 M, 1,75 M, 2 M ve 2,5 M değişen konsantrasyonlar kullanılmıştır.

Bakteri ve Siyanobakterilerin Borik Asit Toleransının Belirlenmesi

Bakteriler ve siyanobakteriler için Agar Well difüzyon yöntemi kullanılarak borik asidin antibakteriyal etkisi belirlenmiştir. Agarda (NA ve BG11) istenilen çapta delik oluşturmak için agar delici (corkborer) kullanılmış ve her kullanışta alkol içine batırılıp çıkarıldıktan sonra ateşte yakılarak sterilize edilmiştir. Sterilize edilmiş agar delici ile istenilen boyutlardaki kuyular açılmıştır. Bu amaçla gecelik kültürden eküvyon ile agar petrilere yayma ekim yapılmıştır (Gür 2016; EUCAST, 2019). Her kuyucuğa yukarıda belirtilen konsantrasyonlardan 10-µl konulmuş 30°C'de inkübe edilmiştir.

Fungusların Borik asit Toleransının Belirlenmesi

Yukarıda belirtilen konsantrasyonlar PDA besi yerine konulmuş ve katılaştıran agarların tam ortasına 1 cm²'lik aktif fungus kültürleri (PDA üzerinde geliştirilen 4 günlük kültür) konulmuş ve 25 °C'de inkübe edilmiştir. Gelişim evreleri izlenmiş (3. gün ve 7. gün) evreleri kayıt edilerek borik asidin antifungal etkinliği belirlenmiştir (Castilo et al.2010; Kim et al. 2012).

Boraksın (BX) Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda boraksın biyosidal etkisini belirlemek için 0,1 M, 0,25 M, 0,5 M, 0,75 M, 1 M, 1,25 M, 1,5 M, 1,75 M, 2 M ve 2,5 M değişen konsantrasyonlar kullanılmıştır.

Bakteri ve Siyanobakterilerin Boraks Toleransının Belirlenmesi

Bakteriler için Agar well difüzyon yöntemi kullanılarak borik asidin antibakteriyal etkisi belirlenmiştir. Daha sonraki aşamada her petri içine 8mm besi yeri konulmuştur. Agarda (NA) istenilen çapta delik oluşturmak için agar delici (corkborer) kullanılmış ve her kullanışta alkol içine batırılıp çıkarıldıktan sonra ateşte yakılarak sterilize edilmiştir. Sterilize edilmiş agar delici ile istenilen boyutlardaki kuyular açılmıştır. Bu amaçla gecelik kültürden eküvyon ile agar petrilere yayma ekim yapılmıştır (Gür 2016; EUCAST, 2019). Her kuyucuğa yukarıda belirtilen konsantrasyonlardan 10 µl konulmuş 30°C’de inkübe edilmiştir.

Fungusların Boraks Toleransının Belirlenmesi

Yukarıda belirtilen konsantrasyonlar PDA besi yerine konulmuş ve katılaştıran agarların tam ortasına 1cm²’lik aktif fungus kültürleri (PDA üzerinde geliştirilen 4 günlük kültür) konulmuş ve 25°C’de inkübe edilmiştir. Gelişim evreleri izlenmiş (3. gün ve 7. gün evreleri) ve kaydedilerek boraksın antifungal etkinliği belirlenmiştir (Castilo et al.2010; Kim et al. 2012).

Borik Asidin (BA) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi

BX’in biyosidal etkisinin belirlenmesi için sıvı besi yeri kullanılmıştır. Çalışma konsantrasyonları 0,1 M ve 0,5 M olarak belirlenmiş ve tüm deneyler 3 kez tekrar edilmiştir. Bakteriler için ticari Nutrient Broth (NB) hazırlanmış ve belirlenen konsantrasyonda borik asit eklenmiş ve pH değerleri 7 olarak ayarlanmıştır. Çalışma esnasında tüm bakterilerin 18 saatlik aktif kültürleri kullanılmıştır. Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan besi yerleri 250 ml’lik erlenlere 100 ml olacak şekilde konulmuştur. Erlenlere her bakteri için daha önce NB üretilen bakterilerden 1ml inoküle edilerek 120 rpm’de oda sıcaklığında 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişim miktarları 600 nm’de optik yoğunlukları ölçülerek belirlenmiştir (Ahmed and Fujiwara 2010; Raja and Omine 2013; Samreen et al. 2019).

Borik Asidin (BA) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisi

BA’in siyanobakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin belirlenmesi için BG11 medyum içerisine 0,1 M ve 0,5 M BA eklenmiş, 30°C’de 150 rpm’de 12 saat gündüz 12 saat gece olacak şekilde 21 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda OD₆₀₀ ‘de spektro fotometrik ölçüm alınarak kontrollerine göre büyümesi karşılaştırılmıştır (Tadamal and Hideaki Shiraishi 2016).

Borik Asidin (BA) Funguslar İçin Biyosidal Etkisi

BA'in biyosidal etkisinin belirlenmesi için sıvı besi yeri kullanılmıştır. Çalışma konsantrasyonları 0,1 M ve 0,5 M olarak belirlenmiş ve tüm deneyler 3 kez tekrar edilmiştir. Funguslar için ticari Patato Dextrose Broth (PDB) hazırlanmış ve belirlenen konsantrasyonda borik asit eklenmiş ve pH değerleri 5 olarak ayarlanmıştır. Çalışma esnasında tüm fungusların 96 saatlik aktif kültürleri kullanılmıştır. Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan besi yerleri 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde konulmuştur. Erlenlere her fungus için daha önce PDA üzerinde geliştirilen funguslarda 1 cm²'lik parçalar inoküle edilerek 120 rpm'de oda sıcaklığında 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişim miktarları yaş biyomasları ölçülerek belirlenmiştir (Taştan et al. 2016; Villarino et al.2017).

Boraksın (BX) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi

BX'in biyosidal etkisinin belirlenmesi için sıvı besi yeri kullanılmıştır. Çalışma konsantrasyonları 0,1 M ve 0,5 M olarak belirlenmiş ve tüm deneyler 3 kez tekrar edilmiştir. Bakteriler için ticari Nutrient Broth (NB) hazırlanmış ve belirlenen konsantrasyonda borik asit eklenmiş ve pH değerleri 7 olarak ayarlanmıştır. Çalışma esnasında tüm bakterilerin 18 saatlik aktif kültürleri kullanılmıştır. Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan besi yerleri 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde konulmuştur. Erlenlere her bakteri için daha önce NB üretilen bakterilerden 1ml inoküle edilerek 120 rpm'de oda sıcaklığında 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişim miktarları 600 nm'de optik yoğunlukları ölçülerek belirlenmiştir (Ahmed and Fujiwara 2010; Raja and Omine 2013; Samreen et al. 2019).

Boraksın (BX) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisi

BX'in siyanobakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin belirlenmesi için BG11 medyum içerisine 0,1 M ve 0,5 M BA eklenmiş, 30°C'de 150 rpm'de 12 saat gündüz 12 saat gece olacak şekilde 21 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda OD₆₀₀ 'de spektro fotometrik ölçüm alınarak kontrollerine göre büyümesi karşılaştırılmıştır (Tadamal and Hideaki Shiraishi 2016).

Boraksın (BX) Funguslar İçin Biyosidal Etkisi

BA'in biyosidal etkisinin belirlenmesi için sıvı besi yeri kullanılmıştır. Çalışma konsantrasyonları 0,1 M ve 0,5 M olarak belirlenmiş ve tüm deneyler 3 kez tekrar edilmiştir. Funguslar için ticari Patato Dextrose Broth (PDB) hazırlanmış ve belirlenen konsantrasyonda borik asit eklenmiş ve pH değerleri 5 olarak ayarlanmıştır. Çalışma esnasında tüm fungusların 96 saatlik aktif kültürleri kullanılmıştır. Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan besi yerleri 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde konulmuştur. Erlenlere her fungus için daha önce PDA

üzerinde geliştirilen funguslarda 1 cm² 'lik parçalar inoküle edilerek 120 rpm'de oda sıcaklığında 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişim miktarları yaş biyomasları ölçülerek belirlenmiştir (Taştan et al.2016; Villarino et al. 2017).

İstatiksel Analiz

Elde edilen tüm veriler SPSS 22 paket programı kullanılarak varyans analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar $p \leq 0.05$ önem seviyesine göre değerlendirilmiştir.



ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışma boyunca Erzurum ve çevresindeki tarihi taş yapıların bulunduğu lokasyonlardan likenler toplanmıştır. Likenler aseptik koşullarda toplanmış ve bu şartlara uygun olarak laboratuvara getirilmiştir. Toplanan likenler bu tarihi yapıların etrafındaki taşlardan alınmıştır. Toplamda 17 liken örneği toplanmış olup bunların sekizinin tür teşhisi yapılmıştır. Tür teşhisi yapılamayan liken topluluklarından da bakteri ve fungus izolasyonu yapılmıştır. Likenlerin toplandığı yerler ve bu yerlere ait bilgiler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Likenlerin Toplandığı Yerler ve Koordinasyon Bilgileri

Likenin Toplandığı Yer	Koordinat Bilgileri
Erzurum Kalesi	Yükseklik: 1919 m N 39°54'30.813" E 41°16'47.406" N 39°54.513' E 41°16.790'
Erzurum Üç Kümbetler	1922 m N 39°54'17.392" E 41°16'48.787" N 39°54.289' E 41°16.813'
Erzurum Kalor Tepesi	Yükseklik: 1768 M N 40°3'19.238" E 41°17'45.515" N 40°03.320' E 41°17.758'
Erzurum Öşvank Kilisesi	Yükseklik: 1309 m N40°36'54.480" E41°32'39.135" N40°36.908' E 41°32.652'
Erzurum Haho Kilisesi (Meryem Ana Kilisesi)	Yükseklik: 1464 m N 40°30'54.712" E 41°26'58.309" N 40°30.911' E 41°26.971'

Toplanan Likenlerin Tür Teşhisi

Toplanan likenler tür teşhisi için etiketlenmiş ve likenbilimci Prof. Dr. Ali Aslan'a gönderilmiştir. Likenler gönderilmeden önce hipokloröz asit ile muamele edilerek hangi taş yüzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu bilgiler ile Prof. Dr. Ali Aslan tarafından likenlerin tür teşhisi gerçekleştirilmiştir. Tanımlanan liken türleri Şekil 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ve 14'de gösterilmiştir.



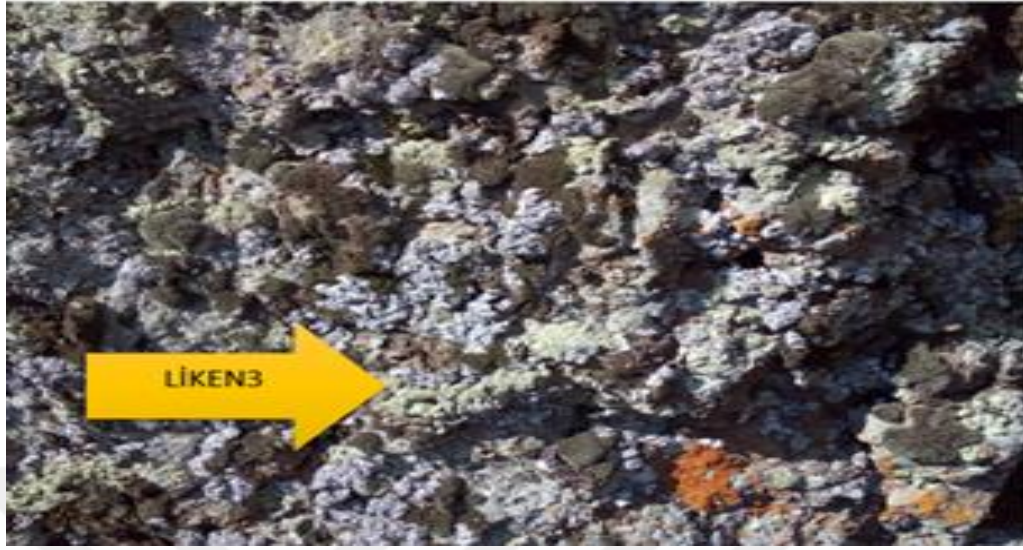
Şekil 6. Kalor Tepesinden Toplanan *Xanthoria elegans* (Link) Th. Fr.

Xanthoria elegans; liken tallusları yapraksıdır. Merkezden bakılınca kabuksu halde bulunur. Genellikle 5 cm boyutunda veya daha küçük olabilir. Turuncu, sarı ve kırmızı tonlarında değişen renklere sahiptir. Hem kalkerli hem de silisyumlu kayaların üzerinde bulunur. Zor şartlara adapte olan bir liken türüdür. 160 nm dalga boyundan daha aşağıdaki dalga boyunu absorbe eder ve dolayısıyla UV radyasyonuna dirençli bir türdür. Bu liken; Ascomycota bölümündeki Lecanoromycetes sınıfına ait, çoğunlukla liken oluşturan mantarların geniş bir ailenin üyesidir (Aubert et al.2007).



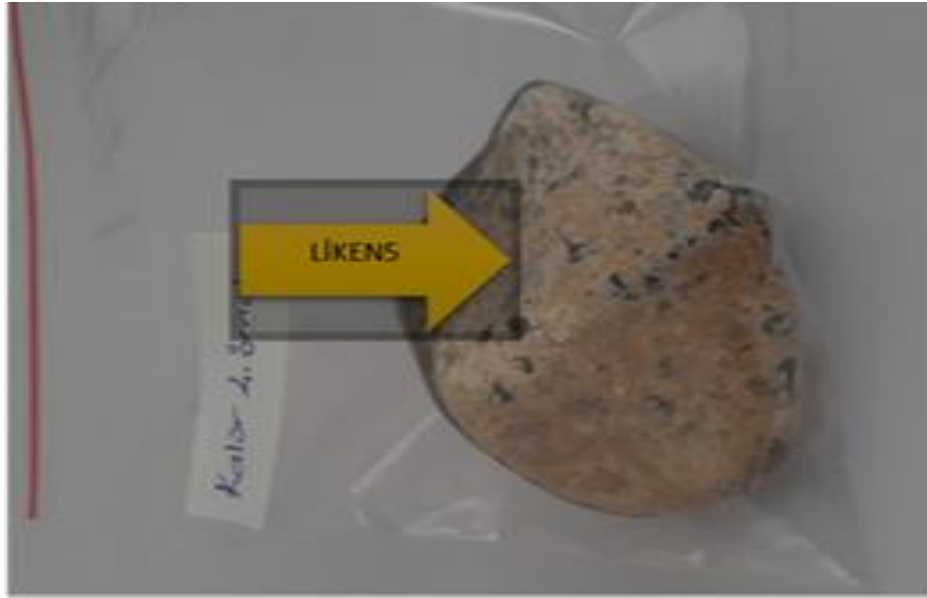
Şekil 7. Kalor Tepesinden Toplanan *Protoparmeliopsis muralis* (Schreb.) M. Choisy, (syn. *Lecanora muralis* (Schreb.) Rabenh.).

Protoparmeliopsis muralis* = *Lecanora muralis; sarımsı yeşil renkte kabuksu bir likendir. Bazalt, kireç taşı, granit, kum taşı gibi kayalar üzerinde yaşayan kozmopolit bir türdür. 1,5- 3,5 cm genişliğinde olabilmektedir (Krzemińska, and Woergoetter 2013).



Şekil 8. Kalor Tepesinden *Physcia caesia* (Hoffm.) Hampe ex Fűrnr.

Physcia caesia; Mavimsi gri renkte yapraksı liken türüdür. Genellikle kireçli taşlarda yaşamasına rağmen bazalt ve silisyumlu kayalar üzerinde de yaşar. Bu liken türü toprak ve ağaç kabuklarında da yaşayabilmektedir. 2-3 cm tallus boyuna sahip rozet şeklindedir (Ranković, et al. 2007).



Şekil 9. Kalor Tepesinden *Circinaria calcarea* (L.) A. Nordin, Savić & Tibell (Syn. *Aspicilia calcarea* (L.) Körb.)

Circinaria calcarea* = *Aspicilia calcarea; dünyanın her yerinde bulunan bu liken türü kalkerli, kalsiferli ve bazik kayalarda yetişir (Owe et al. 2011).



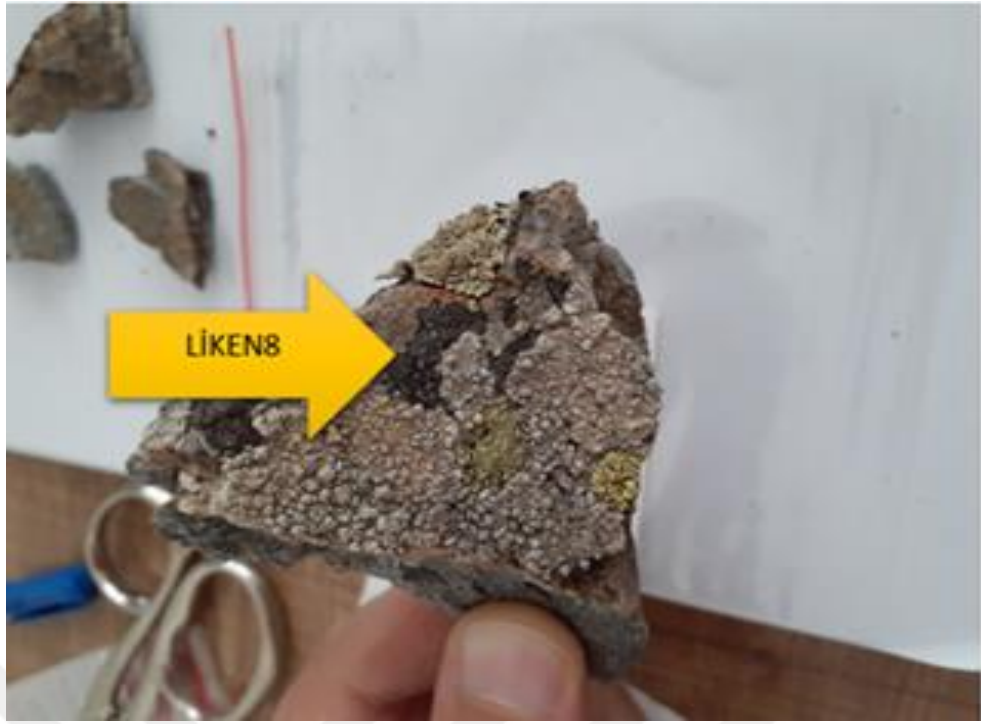
Şekil 10. Kalor Tepesinden *Rhizoplaca melanophthalma* (DC.) Leuckert

Rhizoplaca melanophthalma; yapraksı liken türüdür. Genellikle kalsiyumca fakir olan bazalt, granit kayalar üzerinde gelişir. Fakat kalsiyumca zengin kaya ve ağaç kabuklarında da geliştiği görülmüştür. Bu liken türü kurak bölgelere adapte olmuştur (Leavitt et al. 2011).



Şekil 11. Kalor Tepesinden *Lecanora rupicola* (L.) Zahlbr

Lecanora rupicola; kabuksu liken türüdür. Açık griden koyu griye kadar renklenebilirler. Genellikle silisli kayalarda bulunur (Grube et al. 2004).



Şekil 12. Kalor Tepesinden *Lecidea atrobrunnea* (Lam. & DC.) Schaer.

Lecidea atrobrunnea; koyu kahveremgi kabuksu liken türüdür. Büyüklüğü bulunduğu yere göre değişebilmektedir (Favero-Longo et al.2005).



Şekil 13. Kalor Tepesinden *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC.

Rhizocarpon geographicum; bu liken türü silisli kayalarda ve genellikle soğuk bölgelerde yaşar. Özellikle hava kirliliğinin olmadığı dağlık alanlardaki kayalar üzerinde yaşar. Parlak yeşil renktedir. Siyah fungus hifleri ile sınırları çizilmiş şekilde gözükür (Bradwell and Armstrong 2007).

Toplanan Likenlerden İzole Edilen Mikroorganizmalar

Tez çalışması boyunca toplanan likenlerden bakteri, siyanobakteri ve funguslar izole edilmiştir. Hangi liken türünden ne kadar mikroorganizma izole edildiği belirlenmiştir. *Xanthoria elegans*'tan 17 bakteri, 1 siyanobakteri ve 10 fungus izole edilmiştir. *Protoparmeliopsis muralis*=*Lecanora muralis*'ten 15 bakteri, 1 siyanobakteri ve 13 fungus, *Physcia caesia*'dan 14 bakteri 8 fungus izole edilmiştir. *Circinaria calcarea*= *Aspicilia calcarea*'dan 3 bakteri 5 fungus, *Rhizoplaca melanophthalma*'dan 18 bakteri, 1 siyanobakteri ve 15 fungus, *Lecanora rupicola*'dan 16 bakteri 1 siyanobakteri ve 12 fungus, *Lecidea atrobrunnea*'dan 12 bakteri, 1 siyanobakteri ve 11 fungus ve son olarak *Rhizocarpon geographicum*'dan ise 5 bakteri 6 fungus izole edilmiştir.

Bakterilerin İzolasyonu, Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Toplanan liken örneklerinden toplamda 100 bakteri izole edilmiştir. İzole edilen bakteriler renk, koloni, morfolojisi, Gram özelliklerine göre benzer olanlardan tek örnek olarak kabul edilmiştir. Böylelikle izole edilen bakteri sayısı 50'ye indirilmiştir. Tez çalışmasının sürdürülmesi için hazırlanan proje kapsamında 30 tanesi tür teşhisine gönderilmiştir. Teşhise gönderilmeden izole edilen bakteriler morfolojik ve bazı biyokimyasal testlere tabi tutulmuştur. İzole edilen bakterilere kod olarak OG harfleri verilmiştir. Tür teşhisine gönderilen 30 bakteri örneğinden bir tanesi tanımlanamamış ve 29 örneğe ait sonuçlar Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3. İzole Edilen Bakterilerin Bazı Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Bakteri Kodları	Koloni Rengi	Hücre Şekli	Hareket yeteneği	Gram Özeliği	Katalaz Aktivitesi
OG1	Krem	Basil	+	+	+
OG2	Beyaz	Basil	+	+	+
OG3	Beyaz	Basil	+	+	+
OG4	Sarı	Basil	+	-	+
OG5	Koyu sarı	Basil	+	-	+
OG6	Açık turuncu	Kokobasil	+	+	+
OG7	Krem	Basil	+	+	+
OG8	Krem	Basil	+	+	+
OG9	Sarı	Kokobasil	-	+	-
OG10	Turuncu- sarı	Kok	-	+	+
OG11	Parlak sarı	Kok	-	+	-
OG12	Turuncu	Kokobasil		+	+
OG13	Krem	Basil	+	+	+
OG14	Sarı	Kokobasil	-	+	+
OG15	Parlak turuncu	Kok	-	+	+

Tablo 3. (Devamı)

OG16	Krem	Basil	+	+	+
OG17	Beyaz	Basil	+	+	+
OG18	Krem	Basil	+	+	+
OG19	Mat turuncu	Basil	+	-	+
OG20	Krem sarı	Basil	+	-	+
OG21	Açık sarı	Basil	+	-	+
OG22	Krem sarı	Basil	+	-	+
OG23	Sarımsı krem	Basil	+	+	+
OG24	Beyaz	Basil	+	+	+
OG25	Sarı krem	Basil	+	+	+
OG26	Beyaz	Basil	+	+	+
OG27	Sarı	Kok	-	+	-
OG28	Sarı turuncu	Oval	+	+	-
OG29	Turuncu	Oval	+	+	-

İzole edilen bakterilerin 23'ü Gram pozitif, 6'sı Gram negatif özellikte olduğu belirlenmiştir. Bu bakterilerin çoğu hareket yeteneğine sahip olduğu ve hücre şekillerinin ise genellikle basil olduğu görülmüştür (Tablo 3).

İzole Edilen Bakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi

İzole edilen bakteriler farklı ortamlarda geliştirilmiş ve tür teşhisi için bu ortamlardaki gelişimleri kaydedilmiştir. Bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlardaki (0,1 – 2 M) gelişimi incelenmiştir. Belirtilen tuz konsantrasyonlarındaki gelişip gelişmedikleri not edilmiştir. Çizelgede gelişen konsantrasyonlara + gelişmedikleri konsantrasyonlara – işareti konmuştur (Tablo 4).

Tablo 4. İzole Edilen Bakterilerin Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Ortamında Gelişmesinin Belirlenmesi

Bakteri kodu	0,1 M NaCl	0,5 M NaCl	1M NaCl	1,5 M NaCl	2 M NaCl
OG1	+	+	+	-	-
OG2	+	+	+	+	+
OG3	+	+	+	+	+
OG4	+	+	+	+	-
OG5	+	+	+	+	+
OG6	+	+	+	-	-
OG7	+	+	-	-	-

Tablo 4. (Devamı)

OG8	+	+	+	-	-
OG9	+	+	+	-	-
OG10	+	+	+	-	-
OG11	+	+	+	+	+
OG12	+	+	+	-	-
OG13	+	+	+	+	+
OG14	+	+	-	-	-
OG15	+	-	-	-	-
OG16	+	+	+	-	-
OG17	+	+	+	+	+
OG18	+	+	+	+	-
OG19	+	+	+	+	-
OG20	+	+	+	-	-
OG21	+	+	+	-	-
OG22	+	+	+	+	-
OG23	+	+	+	+	+
OG24	+	+	+	-	-
OG25	+	+	+	-	-
OG26	+	+	+	-	-
OG27	+	+	+	-	-
OG28	+	+	+	+	-
OG29	+	+	+	+	-

Tablo 4’de görüldüğü gibi bakterilerin 28’i 1 M tuzda gelişmektedir. Yine büyük bir çoğunluğu 1,5 M tuzda gelişmekte fakat 2 M tuzda 7 tanesi gelişmiştir. Bunun sebebi likenlerin ekstrem koşullarda yaşayabilmeleri dolayısıyla bu birliktelikten izole edilen bakterilerinde bu şartlara adaptasyon sağladığı düşünülmektedir.

İzole edilen bakteriler farklı sıcaklıklarda geliştirilmiş (10 - 50 °C) ve sonuçlar var veya yok şeklinde kaydedilmiştir. Bakterilerin çoğu 10 °C’de gelişim göstermiş sadece OG9, OG15 ve OG24 kodlu bakteriler gelişme göstermemiştir. Aynı zamanda tüm bakteriler 20 ve 30 °C’de gelişim göstermiş, 40 °C’de birkaç bakteri dışında gelişim olmuş ancak 50 °C’de 11 bakteri gelişim göstermiştir (Tablo 5.).

Tablo 5. İzole Edilen Bakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Gelişimlerinin Belirlenmesi

Bakteri kodu	10°C	20°C	30 °C	40°C	50°C
OG1	+	+	+	+	+
OG2	+	+	+	+	+
OG3	+	+	+	+	+
OG4	+	+	+	+	-
OG5	+	+	+	+	-
OG6	+	+	+	-	-
OG7	+	+	+	+	-
OG8	+	+	+	+	+
OG9	-	+	+	+	-
OG10	+	+	+	+	-
OG11	+	+	+	+	+
OG12	+	+	+	-	-
OG13	+	+	+	+	+
OG14	+	+	+	-	-
OG15	-	+	+	+	-
OG16	+	+	+	+	+
OG17	+	+	+	+	+
OG18	+	+	+	+	-
OG19	+	+	+	+	-
OG20	+	+	+	+	+
OG21	+	+	+	+	-
OG22	+	+	+	+	+
OG23	+	+	+	+	+
OG24	-	+	+	+	-
OG25	+	+	+	-	-
OG26	+	+	+	+	+
OG27	+	+	+	+	+
OG28	+	+	+	+	-
OG29	+	+	+	+	-

Tablo 5’de görüldüğü gibi izole edilen bakteriler psikrotolerant ve mezofil bakterilerdir. OG1, 2, 3, 11, 13, 16, 17,20, 22, 23, 26, 27 kodlu bakteriler ise termotolerant olduklarını belirlenmiştir. Bu bakteriler hem psikrotolereant hem de termotolerant olduklarından eurytherm olarak tanımlanabilir. Kaya likenleri aşırı soğuk ve sıcak havaya doğrudan maruz kaldıkları için bu likenlerden izole edilen bakterilerin çoğu psikrotolerant ve termotolerant olduğu söylenebilir.

İzole edilen bakteriler farklı pH'larda geliştirilmiştir. pH aralığı 3 ile 13 olarak denenmiştir. En düşük pH olan 3'te hiçbir bakteri gelişmemiştir. Tüm bakteriler 5, 6, 7 ve 8 pH'da gelişmiştir. Ayrıca en yüksek pH 13'te de herhangi bir bakteri gelişimi görülmemiştir. Bu sebeple en düşük 4, en yüksek 11 pH arasındaki değerler Tablo 6'da verilmiştir.

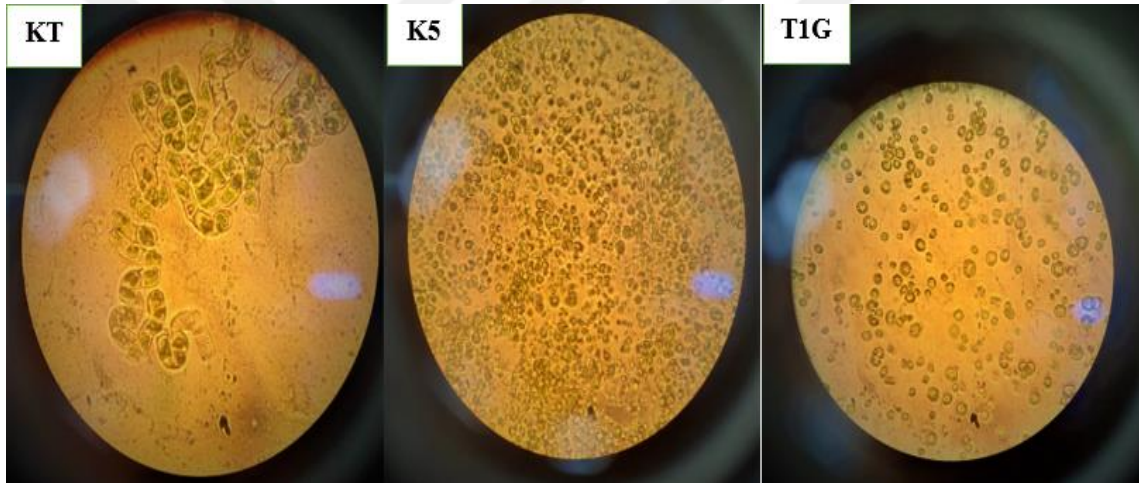
Tablo 6. İzole Edilen Bakterilerin Farklı Ph'larda Gelişimlerinin Belirlenmesi

Bakteri kodu	4pH	9pH	11pH
OG1	+	+	+
OG2	+	+	+
OG3	+	+	+
OG4	-	+	-
OG5	-	+	-
OG6	-	+	-
OG7	+	+	+
OG8	+	+	+
OG9	+	+	-
OG10	+	+	-
OG11	+	+	-
OG12	-	+	-
OG13	+	+	+
OG14	+	+	+
OG15	-	-	-
OG16	+	+	+
OG17	+	+	+
OG18	+	+	+
OG19	+	+	-
OG20	+	+	-
OG21	+	+	-
OG22	+	+	-
OG23	+	+	-
OG24	-	+	-
OG25	+	+	-
OG26	+	+	-
OG27	+	+	+
OG28	-	+	-
OG29	-	+	-

pH 9’da tüm bakteriler gelişmiş, asidik ve bazik pH’larda gelişen birçok bakteri türü olmuştur. Geniş pH’larda gelişmesi bu bakterilerin değişen pH’lara karşı direncinin olduğunu göstermektedir. Geniş pH toleransı izole edilen yerden dolayı olabilir.

Siyanobakterilerin İzolasyonu, Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Liken birliğinden toplamda 5 siyanobakteri izole edilmiştir. İzole edilen bu siyanobakterilerin morfolojik tanısı yapılmıştır. İçlerinden bir tanesinin filamentli diğerlerinin kok şeklinde olduğu görülmüştür (Şekil 14). Gram özelliklerine bakılmış ve negatif oldukları belirlenmiştir. Tür teşhisine beş siyanobakteride gönderilmiştir. Fakat sadece ikisinin tür teşhisi yapılabilmektedir. Tez çalışmasında sadece tür teşhisi yapılan türlerin bulguları verilmiştir. İzole edilen siyanobakterilere kod olarak OG harfleri verilmiştir. Şekil 14’de tez çalışmasında izole edilen ve şekilde verilen kodlarla belirlenen siyanobakterilerin morfolojik görüntüleri verilmiştir.



Şekil 14. Saflaştırılan Siyanobakterilerin Mikroskobik Görüntüleri

İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi

İzole edilen siyanobakteriler farklı tuz konsantrasyonlarında, sıcaklıklarda ve pH’larda geliştirilmiştir.

İzole edilen siyanobakteriler 0,1 M ve 2 M tuz konsantrasyonlarında yetiştirilmiştir. 1 M konsantrasyona kadar gelişim gözlemlenmiş fakat bu değerin üstündeki konsantrasyonlarda herhangi bir gelişme gözlenmemiştir (Tablo 7.).

Tablo 7. İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Ortamında Gelişmesinin Belirlenmesi

Bakteri Kodları	0.1 M NaCl	0.5M NaCl	1M NaCl	1.5M NaCl	2M NaCl
OG1	+	+	+	-	-
OG2	+	+	+	-	-

Farklı tuz konsantrasyonlarda geliştirilen siyanobakterilerin 0,1 ve 0.5 M tuz oranlarında çok iyi gelişme gösterdiği ve 1 M 'da bu konsantrasyonlara göre gelişimin az olduğu belirlenmiştir.

Sıcaklık aralığı 10 ve 50 °C sıcaklık aralığında olacak şekilde siyanobakteriler bu ortamlarda geliştirilmiştir. Sadece 50 °C'de gelişim gözlenmemiştir (Tablo 8.).

Tablo 8. İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Gelişmesinin Belirlenmesi

Bakteri kodları	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
OG1	+	+	+	+	-
OG2	+	+	+	+	-

İzole edilen siyanobakteriler psikrofil ve mezofil özellik göstermesine rağmen termofilik özellik göstermemiştir.

Farklı pH (3-13) aralığında geliştirilen siyanobakteriler 3 pH' da gelişmemiş ve pH 4 ile 9 arasında gelişim göstermiştir. Gelişimin en iyi olduğu pH değerinin 8 ve 9 olduğu görülmüştür (Tablo 9). Spektrofotometrik ölçümler yapılarak gelişim süreçleri değerlendirilmiştir.

Tablo 9. İzole Edilen Siyanobakterilerin Farklı pH'larda Gelişimlerinin Belirlenmesi

Bakteri kodları	pH4	pH 9	pH 11
OG1	+	+	-
OG2	+	+	-

Farklı ortamlarda geliştirilen siyanobakterilerin hemen hemen her ortamda gelişmesi ve bu ortamlara uyum sağlaması ekstrem koşullarda yaşayabilen kaya likenlerinden izole edilmesi olabilir.

Fungusların İzolasyonu, Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Liken birliklerinden toplamda 80 farklı fungus türü izole edilmiştir. Bu fungusların 30 tanesi tür teşhisine gönderilmiş 24 tanesi tanımlanmıştır. Çalışmada tür teşhisi yapılan 24 türün verileri verilmiştir. İzole edilen funguslar koloni rengi, şekline göre saflaştırılmış 3. ve 7. gün hif ve spor yapıları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 10 'da verilmiştir. İzole edilen funguslara kod olarak OG harfleri verilmiştir.

Tablo 10. İzole Edilen Fungusların Morfolojik Analizleri

Fungus kodları	Hif yapısı	Spor yapısı
OG1	Bölmeli	Oval
OG2	Bölmeli	Oval
OG3	Bölmeli	Yuvarlak
OG4	Bölmeli	Yuvarlak
OG5	Bölmeli	Oval
OG6	Bölmeli	Yuvarlak
OG7	Bölmeli	Yuvarlak
OG8	Bölmeli	Yuvarlak
OG9	Bölmeli	Oval
OG10	Bölmeli	Oval
OG11	Bölmeli	Oval
OG12	Bölmeli	Oval
OG13	Bölmeli	Yuvarlak
OG14	Bölmeli	Oval bölmeli
OG15	Bölmeli	Oval
OG16	Bölmeli	Oval bölmeli
OG17	Bölmeli	Yuvarlak
OG18	Bölmeli	Yuvarlak
OG19	Bölmeli	Oval bölmeli
OG20	Bölmeli	Oval
OG21	Bölmeli	Yuvarlak
OG22	Bölmeli	Yuvarlak
OG23	Bölmeli	Oval
OG24	Bölmeli	Yuvarlak

İzole Edilen Fungusların Farklı Ortamlarda Geliştirilmesi

İzole edilen fungus türlerinin farklı ortamlarda gelişiminin belirlenmesi amacıyla besiyerlerinin fiziksel yapısı ve içeriği değiştirilmiştir. Bu ortamlarda fungusların gelişme gösterip göstermedikleri belirlenmiş ve tüm çizelgelerde var veya yok anlamını taşıyan var ise (+) , yok ise (–) konmuştur.

İzole edilen funguslar farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilmiş ve biyomas miktarları karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada 4 fungus türü en yüksek oran olan 2 M tuz

içeren besiyerinde gelişmiştir. 1M tuz içeren besiyerinde bir tür hariç hepsi gelişmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. İzole Edilen Fungusların Farklı Konsantrasyonlardaki Tuz Ortamında Gelişiminin Belirlenmesi

Fungus kodları	0.1M NaCl	0.5M NaCl	1M NaCl	1.5 M NaCl	2MNaCl
OG1	+	+	+	+	-
OG2	+	+	+	-	-
OG3	+	+	+	-	-
OG4	+	+	+	-	-
OG5	+	+	+	+	+
OG6	+	+	+	+	+
OG7	+	+	+	+	+
OG8	+	+	+	+	-
OG9	+	+	+	-	-
OG10	+	+	-	-	-
OG11	+	+	+	-	-
OG12	+	+	+	+	-
OG13	+	+	+	-	-
OG14	+	+	+	+	+
OG15	+	+	+	+	-
OG16	+	+	+	-	-
OG17	+	+	+	-	-
OG18	+	+	+	-	-
OG19	+	+	+	+	-
OG20	+	+	+	+	-
OG21	+	+	+	-	-
OG22	+	+	+	-	-
OG23	+	+	+	-	-
OG24	+	+	+	+	-

Bu sonuçlar doğrultusunda liken birliğinden izole edilen fungusların tuz toleranslarının olduğu görülmektedir. Tuz toleransına sahip olmaları bu organizmalara hayatta kalma veya diğer türlerle rekabetinde avantaj sağladığı söylenebilir.

İzole edilen fungusların tür teşhisine yardımcı olması için farklı sıcaklıklarda (10 - 50 °C) geliştirilmiştir. Fungusların hemen hemen hepsi 40 °C’de geliştiği görülmüştür. Hiçbir türün 50 °C’de gelişmediği belirlenmiştir (Tablo 12).

Tablo 12. İzole Edilen Fungusların Farklı Sıcaklıklarda Gelişiminin Belirlenmesi

Fungus kodları	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C
OG1	+	+	+	+	-
OG2	+	+	+	+	-
OG3	+	+	+	-	-
OG4	+	+	+	+	-
OG5	+	+	+	+	-
OG6	+	+	+	+	-
OG7	+	+	+	+	-
OG8	+	+	+	+	-
OG9	+	+	+	+	-
OG10	+	+	+	-	-
OG11	+	+	+	-	-
OG12	+	+	+	+	-
OG13	+	+	+	+	-
OG14	+	+	+	+	-
OG15	+	+	+	+	-
OG16	+	+	+	-	-
OG17	+	+	+	-	-
OG18	+	+	+	-	-
OG19	+	+	+	+	-
OG20	+	+	+	+	-
OG21	+	+	+	-	-
OG22	+	+	+	-	-
OG23	+	+	+	+	-
OG24	+	+	+	+	-

Elde edilen sonuçlara göre funguslar psikrotolerant ve mezofil özellik taşımaktadırlar. Ayrıca genel bilginin aksine tüm funguslar optimum gelişim sıcaklığının (30 °C) üzerindeki bir sıcaklıkta geliştiklerini göstermektedir. Bu da bu fungusların izole edildiği ortamdaki şartlara uyum sağlayıp bu sıcaklıkları tölere edebildiklerinin bir kanıtı niteliğindedir.

Çalışmada fungusların farklı pH'larda gelişme yeteneklerini belirlemek amacıyla 4 ve 12 pH aralığı denenmiştir. Bilinen genel bilgilerle paralel olarak 4, 5, 6, 7 pH'larda gelişme ve büyüme görülmüştür. Şaşırtıcı olarak 8, 9, 10 hatta 12 pH'larda gelişme kaydedilmiştir. Bu sonuçlar en düşük 4 en yüksek 12 olacak şekilde Tablo 13'de sunulmuştur. Çizelgede tüm aralıklar değil en düşük, orta ve en yüksek olacak şekilde verilmiştir.

Tablo 13. İzole Edilen Fungusların Farklı Ph Aralıklarında Gelişiminin Belirlenmesi

Fungus kodları	4 pH	7 pH	12 pH
OG1	+	+	+
OG2	+	+	-
OG3	+	+	-
OG4	+	+	+
OG5	+	+	+
OG6	+	+	+
OG7	+	+	+
OG8	+	+	+
OG9	+	+	-
OG10	+	+	+
OG11	+	+	-
OG12	+	+	-
OG13	+	+	+
OG14	+	+	+
OG15	+	+	+
OG16	+	+	+
OG17	+	+	-
OG18	+	+	+
OG19	+	+	+
OG20	+	+	+
OG21	+	+	+
OG22	+	+	-
OG23	+	+	+
OG24	+	+	+

Tez çalışması boyunca tüm mikroorganizmalar farklı ortamlarda yetiştirilmiş ve bu organizmaların bulundukları ortam koşullarına adaptasyon yetenekleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ile farklı çalışmalarda bu organizmalar kullanılmıştır. Ayrıca adaptasyon

yeteneklerinin bulundukları liken ekosisteminden kaynaklandığı ve diğer ortamlardan izole edilenlere göre bu yeteneklerinin üstün olduğu kanısına varılmıştır.

İzole Edilen Mikroorganizmaların Tür Teşhisi

Bakterilerin tür teşhis sonuçları

Liken birliğinden izole edilen bakterilerin 30'u tür teşhisine gönderilmiş 29 tanesinin tür teşhisi yapılmıştır. Tür teşhisinin sonucuna göre; 29 bakterinin 12'si *Bacillus*, 4'ü *Pseudomonas*, 3'ü *Enterococcus*, 2'si *Planococcus*, 2'si *Pantoea*, 2'si *Georgenia* cinsine ait bakteriler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca birer tane *Arthrobacter*, *Agrococcus*, *Peribacillus* ve *Dermococcus* cinsi bakteriler tespit edilmiştir. Bu bakterilerin % 87'si toprak bakterisi olup % 13'ü ise fekal kaynaklı bakterilerden oluşmaktadır. Tür tespiti yapıldıktan sonra National Center for Biotechnology Information (NCBI) giriş yapılarak tüm bakteriler için kabul numarası alınmıştır. Bakterilerin bilimsel isimleri ve kabul numaraları Tablo 14'te verilmiştir.

Tablo 14. İzole Edilen Bakterilerin Tür Teşhis Sonuçları Ve İzole Edildikleri Liken Türleri

Bakteri Kodu	Bilimsel Adı	Kabul Numarası	İzole Edildiği Liken Türü
OG1	<i>Bacillus pumilis</i>	OQ283776	<i>Circinaria calcarea</i> = <i>Aspicilia calcarea</i>
OG2	<i>Bacillus paramycoides</i>	OR229768	<i>Rhizocarpon geographicum</i>
OG3	<i>Bacillus cereus</i>	OQ231483	<i>Rhizocarpon geographicum</i>
OG4	<i>Pantoea septica</i>	OQ231487	<i>Xanthoria elegans</i>
OG5	<i>Pantoea agglomerans</i>	OQ231488	<i>Xanthoria elegans</i>
OG6	<i>Planococcus glaciell</i>	OQ231603	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG7	<i>Bacillus pumilis</i>	OQ256796	<i>Physcia caesia</i>
OG8	<i>Bacillus pumilis</i>	OQ256797	<i>Lecanora rupicola</i>
OG9	<i>Enterococcus mundtii</i>	OQ256818	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG10	<i>Agrococcus jenensis</i>	OQ256821	<i>Lecanora rupicola</i>
OG11	<i>Enterococcus sp.</i>	OQ256981	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG12	<i>Planococcus glaciell</i>	OQ283786	<i>Rhizocarpon geographicum</i>
OG13	<i>Bacillus toyonensis</i>	OQ283832	<i>Xanthoria elegans</i>
OG14	<i>Arthrobacter flavus</i>	OQ283842	<i>Xanthoria elegans</i>
OG15	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	OQ283844	<i>Xanthoria elegans</i>
OG16	<i>Bacillus pumilis</i>	OQ283849	<i>Xanthoria elegans</i>

Tablo 14. (Devamı)

OG17	<i>Bacillus mojavenis</i>	OQ300399	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG18	<i>Bacillus safensis</i>	OQ 300401	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG19	<i>Pseudomonas synxantha</i>	OQ300402	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG20	<i>Stutzerimonas stutzeri</i> (<i>Pseudomonas stutzeri</i>)	OQ300403	<i>Lecanora rupicola</i>
OG21	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	OQ300404	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG22	<i>Stutzerimonas stutzeri</i>	OQ300405	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG23	<i>Bacillus thuringiensis</i>	OQ300406	<i>Xanthoria elegans</i>
OG24	<i>Bacillus wiedmannii</i>	OQ300504	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG25	<i>Peribacillus</i> <i>frigoritolerans</i>	OQ300437	<i>Lecidea atrobrunnea</i>
OG26	<i>Bacillus australimaris</i>	OQ306543	<i>Physcia caesia</i>
OG27	<i>Enterococcus durans</i>	OQ301546	<i>Lecidea atrobrunnea</i>
OG28	<i>Georgenia soli</i>	OQ301639	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG29	<i>Georgenia satyanarayanai</i>	OQ301549	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>

İzole edilen bakterilerin yaklaşık %90'nının toprak bakterisi olması tesadüf değildir. Likenler toprak oluşumunu sağladığı için bu birlikteliğin ekosisteminde bu bakterilerin olması doğal bir süreçtir. Fekal kökenli bakterilerin olması ise toplanan likenlerin etrafında hayvanların olması sebebiyle olduğu düşünülmektedir.

Siyanobakterilerin tür teşhis sonuçları

İki farklı liken türünden izole edilen siyanobakterilerin Gram negatif oldukları belirlenmiştir. Morfolojik olarak yuvarlak ve tek hücre yapısına sahip olduğu görülmüştür. Fakat bir sümüksü bir tabaka içinde gruplar halinde bulundukları tespit edilmiştir. Ayrıca tez çalışmasında izole edilen 5 siyanobakteriden en hızlı üreme kapasitesine sahip 3 türden 2'si olduğu da belirlenmiştir. İzole edilen siyanobakterilerin bilimsel adı ve NCBI'dan alınan kabul numaraları Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. İzole Edilen Siyanobakterilerin Tür Teşhis Sonuçları Ve İzole Edildikleri Liken Türleri

Bakteri Kodu	Bilimsel Adı	Kabul Numarası	İzole Edildiği Liken Türü
OG1	<i>Microcystis aeruginosa</i>	OR046312	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG2	<i>Microcystis aeruginosa</i>	OR179928	<i>Lecanora rupicola</i>

İki farklı liken türünden aynı tür siyanobakterinin izole edilmesi aynı tür bakterilerin farklı liken oluşturabilme yeteneklerinin olduğu kanısına varmamıza neden olmuştur.

Fungusların tür teşhis sonuçları

Liken birliklerinden izole edilen fungusların tür teşhis sonuçlarına göre; yirmi dört fungusun dokuzu *Fusarium*, beşi *Aspergillus* ve ikisi *Alternaria* cinsine, sekizinin ise farklı cinslere ait türler olduğu görülmüştür. Fungusların bilimsel adı ve NCBI daki kabul numaraları Tablo 16’da verilmiştir.

Tablo 16. İzole Edilen Fungusların Tür Teşhis Sonuçları Ve İzole Edildikleri Liken Türleri

Fungus Kodları	Bilimsel Adı	Kabul Numarası	İzole Edildiği Liken Türü
OG1	<i>Fusarium torulosum</i>	OQ975298	<i>Physcia caesia</i>
OG2	<i>Fusarium tricinctum</i>	OQ975731	<i>Physcia caesia</i>
OG3	<i>Cleistothelobolus nipigonensis</i>	OQ975314	<i>Xanthoria elegans</i>
OG4	<i>Beauveria bassiana</i>	OQ975728	<i>Lecanora rupicola</i>
OG5	<i>Fusarium redolens</i>	OQ975730	<i>Rhizocarpon geographicum</i>
OG6	<i>Trichoderma simmonsii</i>	OQ975677	<i>Rhizocarpon geographicum</i>
OG7	<i>Fusarium oxysporium</i>	OQ975301	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG8	<i>Aspergillus flavus</i>	OQ975299	<i>Lecidea atrobrunnea</i>
OG9	<i>Fusarium solanii</i>	OQ975313	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG10	<i>Fusarium oxysporium</i>	OQ975306	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG11	<i>Fusarium nisikadoi</i>	OR052079	<i>Lecanora rupicola</i>
OG12	<i>Cladosporium limoniforme</i>	OQ979048	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG13	<i>Aspergillus aflatoxiformes</i>	OR018349	<i>Lecidea atrobrunnea</i>
OG14	<i>Alternaria alternata</i>	ON878366	<i>Xanthoria elegans</i>
OG15	<i>Fusarium languescens</i>	OR018527	
OG16	<i>Alternaria sorghi</i>	OR018535	<i>Xanthoria elegans</i>
OG17	<i>Epicoccum nigrum</i>	OR018536	<i>Lecanora rupicola</i>
OG18	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	OR018537	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>
OG19	<i>Coniochaeta discospora</i>	OR018538	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>

Tablo 16. (Devamı)

OG20	<i>Leucostoma cinctum</i>	OR018541	<i>Lecanora rupicola</i>
OG21	<i>Aspergillus chevolieri</i>	OR025449	<i>Protoparmeliopsis muralis</i> <i>Lecanora muralis</i>
OG22	<i>Aspergillus flavipes</i>	OR025512	<i>Xanthoria elegans</i>
OG23	<i>Fusarium</i> <i>chlamydosporum</i>	OR025584	<i>Lecidea atrobrunnea</i>
OG24	<i>Aspergillus niger</i>	OR025893	<i>Rhizoplaca melanophthalma</i>

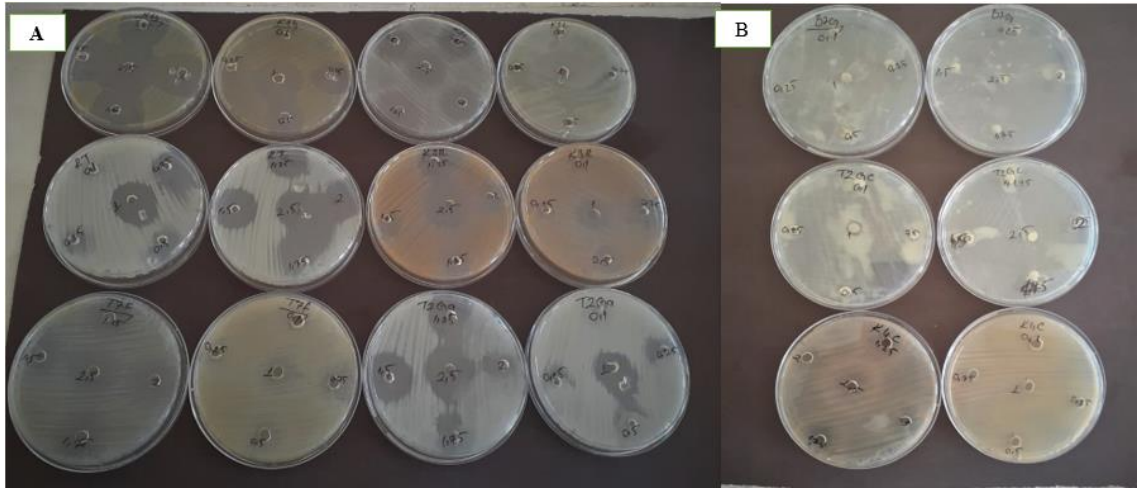
Yapılan araştırma sonuçları, çalışmada izole edilen mantarların tamamının Ascomycota sınıfına ait olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, likenlerin % 50'sinin Ascomycota sınıfındaki mantarlarla simbiyotik ilişki içerisinde olduğunu açıkça kanıtlamaktadır. Bununla birlikte, bu veriler, ekosistemdeki mantarların çoğunun da Ascomycota sınıfına ait olduğunu göstermektedir. Bu durum, sadece liken birliklerinde değil, aynı zamanda ekosistemdeki mantar topluluğunun da genel olarak Ascomycota sınıfına ait olduğunu göstermektedir.

Borik Asidin (BA) Antimikrobiyal Etkisi

Bu amaç doğrultusunda literatür taraması yapılmış ve birçok çalışmada antimikrobiyal etki çalışmalarında molar cinsinden konsantrasyonlar denendiği gözlenmiştir. Bu sebeple çalışmada 0,1 M'den başlayarak 2,5 M'e kadar doz denemesi yapılmıştır. Ayrıca 0,1 M'dan daha düşük dozlarda herhangi bir etki görülmediği için 0.1 M üstü denenmiştir. Ön çalışmalar yapıldıktan sonra BA'e karşı çoğu organizmanın katı vasatta direnç gösterdiği görülmüş ve aynı oranlar sıvı besiyerinde de denenmiştir. Katı vasatta elde edilen sonuçların aksine 0,1 M ve 0,5 M BA konsantrasyonunda antimikrobiyal aktivite görülmüş ve bu dozlar kullanılarak çalışmada izole edilen tüm organizmalara karşı aktivitesi belirlenmiştir.

Bakteri ve Siyanobakterilerin Borik Asit Toleransının Belirlenmesi

Çalışmada siyanobakteriler ve bakteriler için 0,1 M'den başlayarak 2,5 M'e kadar artan konsantrasyon miktarları denenmiştir. Çalışmamız esnasında 1 M borik asit (BA) konsantrasyonundan sonra hazırlanan solüsyonlarda BA'nın çöktüğü gözlemlendi bu problemde solüsyonların ısıtılmasıyla aşılmıştır. Tüm prokaryotlarda 0,1 ve 0,5 M BA konsantrasyonunda büyüme ve gelişme etkilenmemiştir. Genel itibarıyla 0,75 M'den sonra BA bu organizmaların büyümesini engellemiştir. Ancak bazı türlerin en yüksek dozdaki BA karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 15).



Şekil 15. BA'nın Antibakteriyal Etkisi A: Çeşitli Konsantrasyonlardaki Etkisi, B: Tüm Konsantrasyonlarda Antibakteriyal Etki Görülmediği Bakteriler

BA'in antimikrobiyal etkisini belirlemede Agar Kuyucuk Difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada BA'ya karşı bazı bakterilerin direnç gösterdiği belirlendiğinden bu bakterilerin BA toleransını belirlemek amacıyla 6 Gram pozitif 6 Gram negatif bakteri seçilmiş ve denemeler yapılmıştır. Yapılan deneme sonuçları Tablo 17'de verilmiştir. Ayrıca siyanobakteriler içinde aynı konsantrasyonlar kullanılmış ve siyanobakterilerinde 1 M'den itibaren gelişmediği belirlenmiştir.

Tablo 17. BA'ya Karşı Bakterilerin Toleransının Belirlenmesi

Bakteri kodları	0,1M	0,25M	0,5M	0,75M	1M	1,25M	1,5M	1,75M	2M	2,5M
OG2(-)	-	-	-	-	-	-	1	1.2	1.5	2
OG3(-)	-	-	-	-	-	-	1.2	1.7	2.1	3
OG9(+)	-	-	-	1	1.3	1.8	2	2.4	2.9	3.5
OG11(+)	-	-	-	-	-	2	2.3	2.7	3	3.25
OG16(+)	-	-	-	-	-	-	--	-	-	-
OG18(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG19(-)	-	-	-	-	-	1.2	1.8	2.1	2.4	3.4
OG20(-)	-	-	-	-	-	1.3	1.7	2.4	3	3.8
OG21(-)	-	-	-	-	-	1.2	1.9	2.6	3.5	4
OG22(-)	-	-	-	-	-	1	1.5	2.8	3.5	4
OG25(+)	-	-	-	1	1.4	2.3	2.7	3.3	4	4.2
OG28(+)	-	-	-	-	1.3	1.9	2.4	3.3	3.6	4

Elde edilen sonuçlara göre OG16 ve OG18 kodlu bakteriler BA 'ya karşı en dirençli türler olduğu tespit edilmiştir. Gram özelliklerine göre değerlendirildiğinde benzer tepkiler verdikleri gözlenmiştir. En dirençli organizmalar kontrol edildiğinde *Bacillus* cinsine bakteriler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kullanılan dozlar yüksek olmasına rağmen BA 'ya karşı direnç göstermeleri bu organizmaların başka metallere karşı direnç gösterebileceği yargısına ulaşmamızı sağlamıştır.

Fungusların Borik Asit Toleransının Belirlenmesi

Fungusların BA toleransının belirlenmesi için; 1 M'den sonrası denenmiştir. Çünkü ön denemelerde 0,1 M ile 1 M arasında antifungal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmalarda 1 M konsantrasyondan sonrası denenmiş olup inkübasyonun 3. günü ve 7. günü büyüme çapları not edilmiştir (Tablo 18). Ön deneme sonuçlarında çalışmada izole edilen fungusların hepsi denense de toleranslarını göstermek için 14 fungus seçilmiş ve 1 M'den sonraki konsantrasyonlara karşı toleransları katı vasatta Agar Dilisyon yöntemi denenmiştir.

Fungusların BA'e karşı toleransının belirlenmesinde 1 M'dan sonraki konsantrasyonlar (1,25, 1,5, 1,75, 2 ve 2,5 M) denenmiş ve 1 tür hariç tüm funguslar 1 M BA 'da gelişim göstermiştir. OG12 (*Cladosporium limoniforme*), OG14 (*Alternaria alternata*) ve OG16 (*Alternaria sorghi*) fungusları her konsantsayonda gelişim göstermiştir (Tablo 18). İzole edilen fungusların çoğu 1,25 ve 1.5 M BA'da, OG2 (*Fusarium tricinctum*), OG5 (*Fusarium redolens*) kodlu funguslar ise 1,75 M'de gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca OG11 (*Fusarium nisikodoi*) kodlu fungus ise 1 M 'den başlayarak herhangi bir dozda gelişim göstermemiştir (Çizelge18).

Tablo 18. BA'ya Karşı Fungusların Toleransının Belirlenmesi

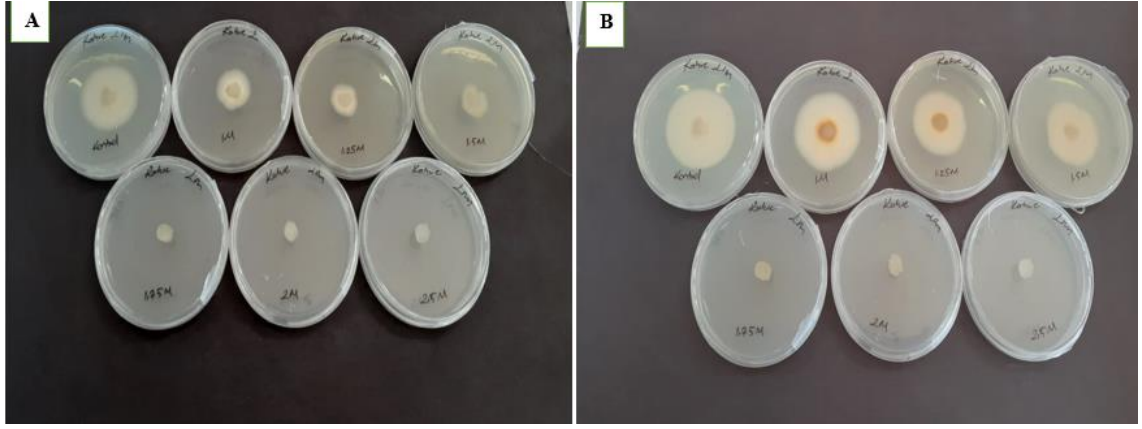
Fungus kodları / Gün	Kontrol	1 M	1,25 M	1,5 M	1,75 M	2 M	2.5 M
OG1/ 3.GÜN	4.5	2.5	2	2	-	-	-
OG1/ 7.GÜN	6	4.7	4	4	-	-	-
OG2/ 3.GÜN	5.5	1.8	1.2	1.2	1.2	-	-
OG2/ 7.GÜN	7	3,5	2.3	2	2	-	-
OG3/ 3.GÜN	2	1.5	1.5	-	-	-	-
OG3/ 7.GÜN	4	3	3	-	-	-	-
OG4/ 3.GÜN	2	1.2	1	-	-	-	-
OG4/ 7.GÜN	3.2	1.8	1.3	-	-	-	-
OG5/ 3.GÜN	6	3	1.5	1.5	1	-	-

Tablo 18. (Devamı)

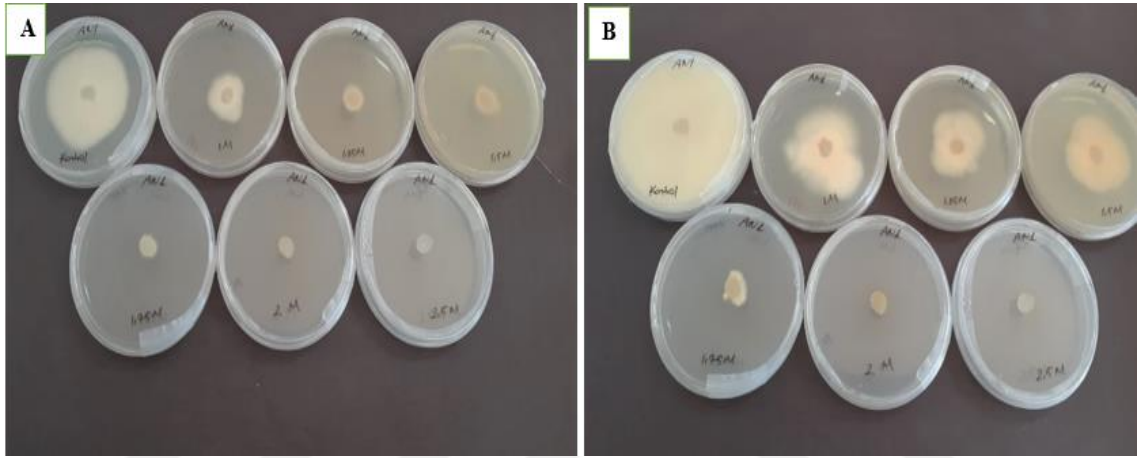
OG5/ 7.GÜN	9	6	4	4	2	-	-
OG6/ 3.GÜN	6	-	-	-	-	-	-
OG6/ 7.GÜN	9	1.8	1.3	-	-	-	-
OG7/ 3.GÜN	3.5	-	-	-	-	-	-
OG7/ 7.GÜN	7	1.5	-	-	-	-	-
OG10/ 3.GÜN	4.5	-	-	-	-	-	-
OG10/ 7.GÜN	7.5	2	-	-	-	-	-
OG11/ 3.GÜN	6	-	-	-	-	-	-
OG11/ 7.GÜN	7.5	-	-	-	-	-	-
OG12/ 3.GÜN	5	4	4	3	2.5	2	1.8
OG12/ 7.GÜN	9	8	6	6	4	3.5	3
OG14/ 3.GÜN	4	3.5	3	3	2	1.7	1.3
OG14/ 7.GÜN	9	8	6	6	4	3	2
OG16/3.GÜN	4	3	3	2	2	1.5	1.5
OG16/ 7.GÜN	7.8	6	6	3	3	2.5	2
OG19/ 3.GÜN	2	-	-	-	-	-	-
OG19/ 7.GÜN	4	2	-	-	-	-	-
OG20/ 3.GÜN	3	1.5	1.5	1.5	-	-	-
OG20/ 7.GÜN	5	2.4	2	2	-	-	-

Tablo 18’de görüldüğü gibi borik asidin her dozunda gelişen türler mevcuttur. Aynı cinisin farklı türleri arasında tolerans kabiliyetleri birbirlerinden farklılık göstermektedir. Ancak liken birliğinden izole edilen türlerin çoğunun borik aside karşı tolerans göstermelerinin sebebi kaya likenlerinden izole edilmesi diğer bir deyişle ekstrem koşullarda yaşamaya uyum sağlamış türler olmasındandır.

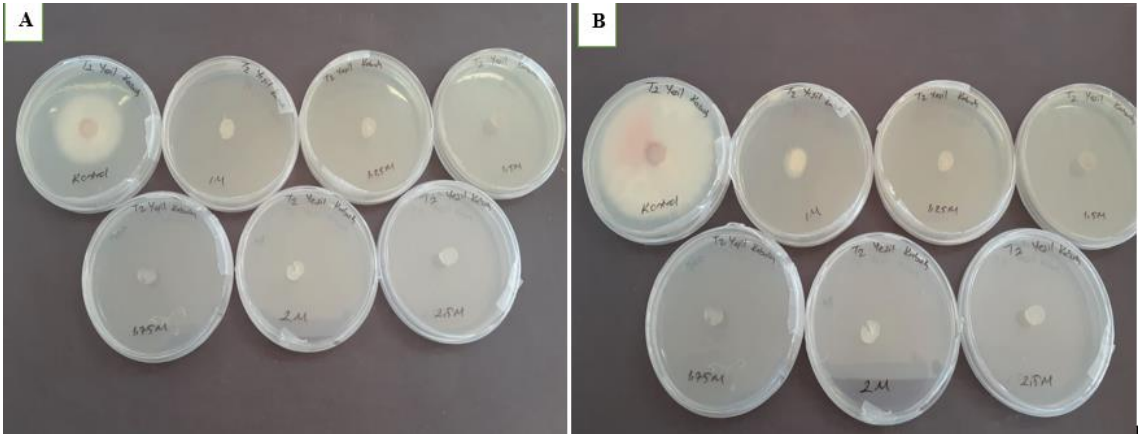
Fungusların BA’ya karşı toleranslarını belirlerken katı vasat kullanılmış ve 3. gün ve 7. gün gelişmeleri incelenmiştir. 3. gün ve 7. gün koloni çapları ölçülerek karşılaştırılmıştır. Tablo 18’de koloni çapları ölçülen fungusların koloni büyüklükleri Şekil 16, 17, 18, 19, 20 ve 21’de verilmiştir. Şekillerde A; 3. gün gelişmeleri, B;7. gün gelişmelerini göstermektedir



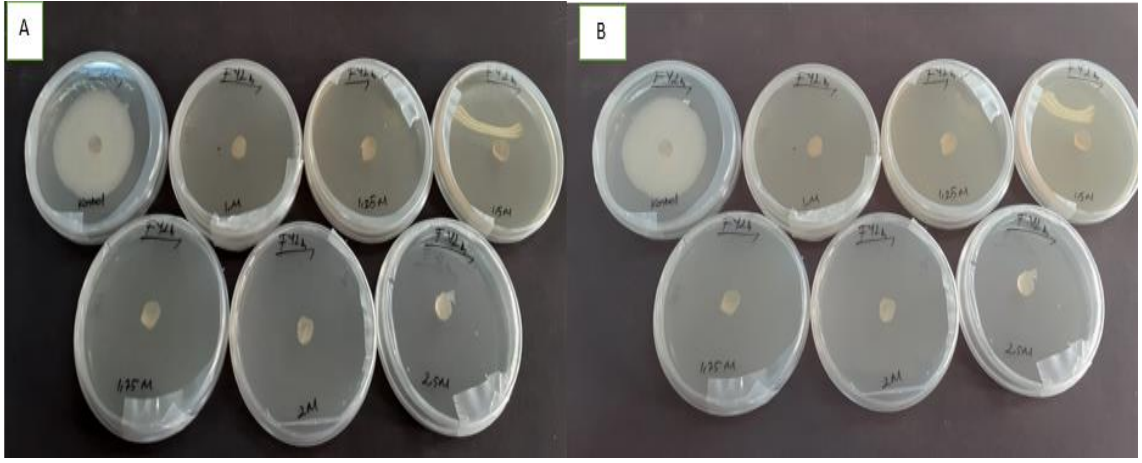
Şekil 16. OG1 (*Fusarium torulosum*) BA Toleransının Belirlenmesi



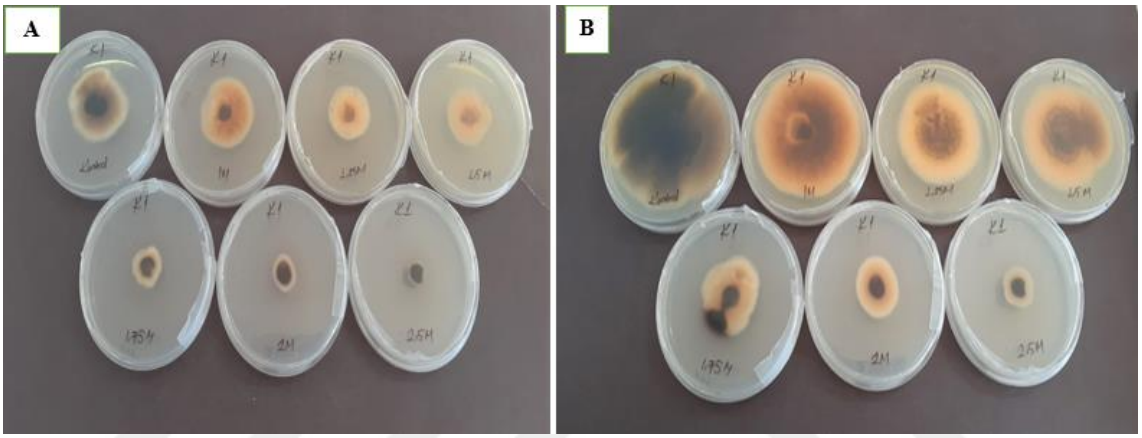
Şekil 17. OG5 (*Fusarium redolens*) BA Toleransının Belirlenmesi



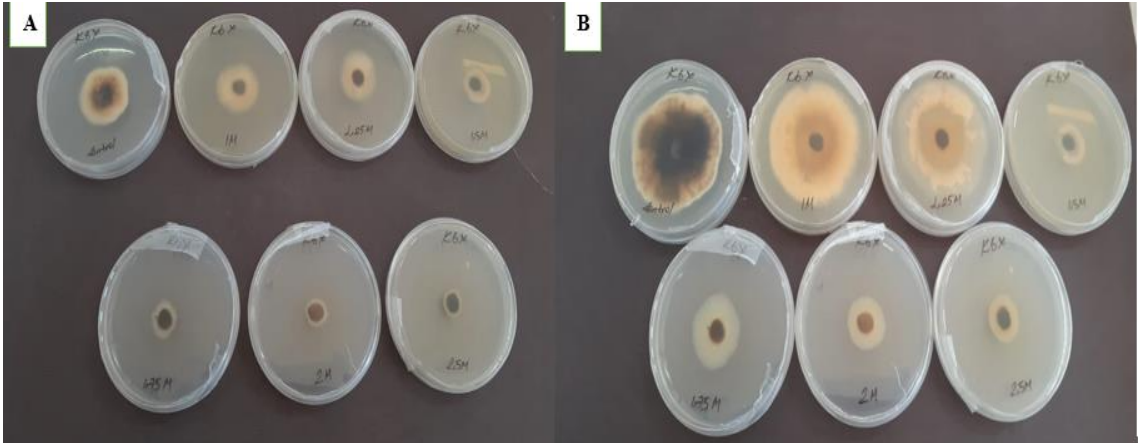
Şekil 18. OG10 (*Fusarium oxysporium*) BA Toleransının Belirlenmesi



Şekil 19. OG11 (*Fusarium nisikodoi*) BA Toleransının Belirlenmesi



Şekil 20. OG14 (*Alternaria alternata*) BA Toleransının Belirlenmesi



Şekil 21. OG16 (*Alternaria sorghi*) BA Toleransının Belirlenmesi

Aynı cinsin farklı türleri BA'ya karşı her dozunda tolerans gösterdiği gibi aynı cinsin farklı türleri tolerans göstermeyebilir (Şekil 16, 17, 18, 19, 20 ve 21).

Bu bulgular aynı ekosistemde yer alan fungusların farklı çevresel koşullara farklı adaptasyon mekanizmalarının olduğunu ve bu mekanizmaların onların bu koşullarda yaşayabilme ve türlerinin devamlılığı için bir başarı oluşturduğunu göstermektedir.

Boraksın (BX) Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda boraksın biyosidal etkisini belirlemek için 0,1 M, 0,25 M, 0,5 M, 0,75 M, 1 M, 1,25 M, 1,5 M, 1,75 M, 2 M ve 2,5 M değişen konsantrasyonlar kullanılmıştır.

Bakteri ve Siyanobakterilerin Boraks (BX) Toleransının Belirlenmesi

Prokaryotların BX'e karşı toleranslarının belirlenmesi için katı vasatta denemeler yapılmıştır. Bakteri ve siyanobakterilerin hiçbirisi herhangi bir dozda gelişimi gözlenmemiştir. Bunun sebebinin BX'in molekül ağırlığının 381,37 g/mol olmasıdır. Ayrıca litrede çözünen madde miktarının borik asitten kat ve kat fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Fungusların Boraks (BX) Toleransının Belirlenmesi

İzole edilen fungusların BX'a karşı toleransını belirlemek için belirtilen (0,1 M-2,5 M) konsantrasyonlar denenmiştir. İzole edilen hiçbir tür gelişim göstermemiştir. OG12 (*Cladosporium limoniforme*), OG14 (*Alternaria alternata*), OG16 (*Alternaria sorghi*) 1 ve 1,25 M 'de spor çimlenmesi görülmüştür. Ayrıca bu fungusların morfolojik ve koloni renklerinde değişim gözlenmiştir. Prokaryotlar için yaptığımız yorum funguslar içinde geçerlidir.

Borik Asidin (BA) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi

BA biyosidal etkisinin belirlenmesinde sıvı kültür kullanılmıştır. Katı vasatta belirlenen dozlar öncelikle denenmiştir. Fakat belirlenen dozlar (0,1 -2,5 M) arasında 1 M'den yüksek dozlarda herhangi bir gelişimin görülmemesi üzerine doz aralıkları 1 M altına çekilmiştir. Bu sebeple sıvı besi yerlerinde 0,1, 0,5, 0,75 ve 1 M denenmiştir. Denemeler sonucunda 0,75 M ile 1 M konsantrasyondaki besi yerlerinde herhangi bir büyüme ve gelişme tespit edilememiştir. 0,1 M ve 0,5 M arasındaki gelişme miktarları Tablo 19'da verilmiştir. Sonuçlar 0,5 Mc Farland'a göre hesaplanmıştır.

Tablo 19. Borik Asidin (BA) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisi

Bakteri kodları	Bilimsel adı	Kontrol (CFU/ml-10 ⁷)	0,1M (CFU/ml-10 ⁷)	0,5M (CFU/ml-10 ⁷)
OG1	<i>Bacillus pumulis</i>	37.51±0,61defg	5.02±0,58fghijk	2.61±0,47efgh
OG2	<i>Bacillus paramycoides</i> .	34.94±0,42jk	3.62±0,57ijklm	2.89±0,48defg
OG3	<i>Bacillus cereus</i>	33.33±0,58kl	7.43±0,41de	1.104±0,45hı
OG4	<i>Pantoea septica</i>	36.74±0,38efghı	3.82±0,50hijklm	1±0,43fghı
OG5	<i>Pantoea agglomerans</i>	35±0,54ij	4.02±0,47ghijklm	3.01±0,48cdef

Tablo 19. (Devamı)

OG6	<i>Planococcus glaci</i>	35.74±0,47ghij	3.42±0,46jklm	1±0,51fghı
OG7	<i>Bacillus pumulis</i>	39±0,44cd	4.52±0,52ghijkl	2,3±0,51fgh
OG8	<i>Bacillus pumulis</i>	38.15±0,57cde	5.62±0,57efg	3.03±0,58cdef
OG9	<i>Enterococcus mundtii</i>	27.31±0,52n	5.02±0,55fghijk	2.75±0,57defgh
OG10	<i>Agrococcus jenensis</i>	27.71±0,62n	2.51±0,58mn	1±0,52fghı
OG11	<i>Enterococcus sp.</i>	31,6±0,54lm	5.83±0,52fghijk	3.01±0,55cdef
OG12	<i>Planococcus glaci</i>	37.31±0,51defg	2.51±0,53mn	1±0,49fghı
OG13	<i>Bacillus toyonensis</i>	37±0,51defgh	7.63±0,49cd	3±0,50cdef
OG14	<i>Arthrobacter flavus</i>	35.14±0,47hij	6.77±0,48def	2.19±0,54fgh
OG15	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	36.5±0,32fghij	1.21±0,51n	0.2±0,55ı
OG16	<i>Bacillus pumulis</i>	31.13±0,60m	5.18±0,50efghij	2.1±0,48fgh
OG17	<i>Bacillus mojavensis</i>	41.5±0,50b	8.72±0,51c	4.34±0,45bcd
OG18	<i>Bacillus safensis</i>	36.54±0,52efghi	10.84±0,55b	6.22±0,48ab
OG19	<i>Pseudomonas synxantha</i>	37.55±0,53cdef	4.82±0,47fghijk	4.62±0,56bc
OG20	<i>Stutzerimonas stutzeri</i>	32±0,54lm	8.86±0,48cd	4.26±0,54bcde
OG21	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	42.2±0,52b	12.85±0,48b	4.24±0,52bcde
OG22	<i>Stutzerimonas stutzeri</i>	31.33±0,57m	3.26±0,50klm	2.19±0,52fghı
OG23	<i>Bacillus thuringiensis</i>	45.18±0,52a	14.5±0,51a	6.43±0,54a
OG24	<i>Bacillus wiedmannii</i>	39.35±0,53c	9±0,55c	4.02±0,50cde
OG25	<i>Peribacillus frigiditolerans</i>	25.1±0,57o	5.02±0,54fghijk	2.41±0,48fgh
OG26	<i>Bacillus australimaris</i>	38.35±0,58cde	5.7±0,51efg	3.03±0,49cdef
OG27	<i>Enterococcus durans</i>	26.9±0,55n	5.5±0,53efgh	1.21±0,48ghı
OG28	<i>Georgenia soli</i>	37.75±0,51efgh	2.82±0,56lm	2.65±0,51defgh
OG29	<i>Georgenia satyanarayanai</i>	27.51±0,52n	5.82±0,56efghı	1.04±0,55fghı

Farklı harfler, P<0.05 anlamlılık düzeyinde gruplar arasındaki anlamlı farkı ifade eder. ± SE anlamına gelir

Tablo 19’da görüldüğü üzere 0,1 M BA’nın biyosidal etkisi tüm bakteriler için % 90 oranındadır. 0,5 M BA’nın biyosidal etkisi ise % 99’lara çıkmıştır. Çalışmada izole edilen *Bacillus* cinsi bakterilerin çoğu 0,1 M ve 0,5 M BA’da diğer bakterilere oranla direnci daha fazladır. Bunun yansıra *Pseudomonas* cinsi bakterilerde *Bacillus* cinsi bakteriler gibi aynı dirence sahip olduğu belirlenmiştir. Her iki cins bakterinin diğer bakterilere oranla metal ya da ağır metal direnci gösterdiği bilinmekte ve bu bulgular bu savı desteklemektedir. Ayrıca katı vasatta 2,5 M’ye kadar artan dozlar denenmiş ve bazı *Bacillus* cinsi bakterilerin yüksek dozlarda bile üreme sağladığı görülmüştür. Şaşırtıcı bir şekilde 2,5 M’den daha düşük dozlarda %90 oranında gelişimleri engellenmiştir. Bu sonuç doğrultusunda katı ortamda metal alınımı ile sıvı ortamda metal alınımı farklı olmalı ki bu kadar farklı sonuçlar elde edilebilsin görüşüne ulaşılmıştır. Nitekim düşük M’lardaki BA’nın bakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin var olması çalışmamızın önemini daha da artırmaktadır. Çünkü biyodeteriorasyonun engellenmesinde maliyetin ve toksik etkinin düşük olması bir avantaj sağlamaktadır.

Borik Asidin (BA) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmada izole edilen siyanobakteriler üzerine BA’nın biyosidal etkisinin belirlenmesi için 0,1 ve 0,5 M BA besiyerleri içine konmuş 15 gün boyunca optimum şartlarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda optik yoğunlukları ölçülerek BA biyosidal etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda her iki konsantrasyondaki BA siyanobakterilerin gelişimini olumsuz etkilemiş ve kontrole kıyasla yaklaşık 0,1 M için % 88 0,5 M içinse % 94 azaltmıştır (Tablo 20).

Tablo 20. Borik Asidin (BA) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisi

Bakteri Kodları	Bilimsel Adı	Kontrol (CFU/ml-10⁶)	0.1M (CFU/ml-10⁷)	0.5M (CFU/ml-10⁷)
OG1	<i>Microcystis aeruginosa</i>	35.74±0,47a	4.58±0,47a	2,11±0,43a
OG2	<i>Microcystis aeruginosa</i>	37.79±0,45a	5,2±0,41a	2.35±0,44a

Farklı harfler, P<0.05 anlamlılık düzeyinde gruplar arasındaki anlamlı olmayan farkı ifade eder. ± SE anlamına gelir

Borik asit siyanobakterilerin gelişmesi için gerekli bir iz element olsa da her maddenin çokluğu gibi borunda fazlalığında da siyanobakterilerin gelişimi durmaktadır.

Borik Asidin (BA) Funguslar İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

BA’nın funguslar üzerindeki biyosidal etkisini belirlemek için iki farklı doz uygulanmış ve sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Yirmi dört fungusun tamamı 0,1 M BA’da biyokütle oluşturduğu gözlenmiştir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında tüm fungusların

biyokütlesi % 80 azalmıştır. OG5, OG9, OG12, OG14, OG15, OG16 ve OG19 kodlu funguslar hariç hiçbir fungus 0,5 M BA’da biyokütle oluşturamamıştır (Tablo 21).

Tablo 21. Borik Asidin (BA) Funguslar İçin Biyosidal Etkisi (Biyomas Miktarlarının Karşılaştırılması)

Fungus Kodları	Bilimsel Adı	Kontrol (g)	0.1 M BA (g)	0.5 M BA (g)
OG1	<i>Fusarium torulosum</i>	6.9±0,51ghij	2.1±0,49fgh	0±0,0d
OG2	<i>Fusarium tricinctum</i>	9.5±0,55de	2.51±0,54efgh	0±0,0d
OG3	<i>Cleistothelobolus nipigonensis</i>	4±0,52l	1±0,54gh	0±0,0d
OG4	<i>Beauveria bassiana</i>	6±0,52ijk	1.83±0,51gh	0±0,0d
OG5	<i>Fusarium redolens</i>	7.3±0,51fgh ₁	2.9±0,47efgh	1.8±0,51c
OG6	<i>Trichoderma simmonsii</i>	5.45±0,56jkl	1.25±0,49gh	0±0,0d
OG7	<i>Fusarium oxysporium</i>	10.83±0,54cd	4±0,51bcd	0±0,0d
OG8	<i>Aspergillus flavus</i>	8.8±0,58def	3.2±0,49cdef	0±0,0d
OG9	<i>Fusarium solanii</i>	11±0,52bc	3.5±0,55bcde	1.52±0,49c
OG10	<i>Fusarium oxysporium</i>	6.43±0,55ghijk	0±0,0 ₁	0±0,0d
OG11	<i>Fusarium nisikadoi</i>	6.2±0,53ijk	1.2±0,53h ₁	0±0,0d
OG12	<i>Cladosporium limoniforme</i>	4.5±0,52l	2±0,53fgh	0.5±0,46d
OG13	<i>Aspergillus aflatoxiformes</i>	7.5±0,56fgh ₁	3.2±0,50def	0±0,0d
OG14	<i>Alternaria alternata</i>	9.4±0,58def	5±0,51b	2.7±0,53b
OG15	<i>Fusarium languescens</i>	8±0,57efg	2.75±0,52defg	1±0,52c
OG16	<i>Alternaria sorghi</i>	10±0,55cd	8±0,48a	5±0,54a
OG17	<i>Epicoccum nigrum</i>	5.6±0,50km	1.2±0,49gh	0±0,0d
OG18	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	7.8±0,50ghij	4±0,49bcd	0±0,0d
OG19	<i>Coniochaeta discospora</i>	8.2±0,57fgh	4.5±0,50bc	1±0,48c
OG20	<i>Leucostoma cinctum</i>	7.8±0,57fgh ₁	2.4±0,52efgh	0±0,0d
OG21	<i>Aspergillus chevolieri</i>	12±0,59b	5±0,56b	0±0,0d
OG22	<i>Aspergillus flavipes</i>	10±0,58cd	2.7±0,54defg	0±0,0d
OG23	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	16±0,52a	2.8±0,51defg	0±0,0d
OG24	<i>Aspergillus niger</i>	9.65±0,56def	2.68±0,55defg	0±0,0d

Farklı harfler, P<0.05 anlamlılık düzeyinde gruplar arasındaki anlamlı farkı ifade eder. ± SE anlamına gelir

Boraksın (BX) Bakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

BX biyosidal etkisinin belirlenmesinde sıvı kültür kullanılmıştır. Katı vasatta belirlenen dozlar denenmiş fakat belirlenen dozlar (0,1 – 2,5 M) arasında 1 M’den yüksek dozlarda

herhangi bir gelişimin görülmemesi üzerine doz aralıkları 1 M altına çekilmiştir. Bu sebeple sıvı besi yerlerinde 0,1, 0,5, 0,75 ve 1 M denenmiştir. Denemeler sonucunda 0,75 M ile 1 M konsantrasyondaki besi yerlerinde herhangi bir büyüme ve gelişme tespit edilememiştir. Bu sebeple BX'in bakteriler üzerine biyosidal etkisinin hangi dozdan başladığını belirlemek için 0,1 M ve 0,5 M BX kullanılmıştır. Sonuçlar 0,5 Mc Farland'a göre hesaplanmıştır.

BX'in bakteriler üzerindeki biyosidal etkisi değerlendirildiğinde; yirmi dokuz türden sadece *Dermococcus nishinomiyaensis* türü 0,1 M BX'te gelişmediği belirlenmiştir. Bunun sebebi insan ve hayvanları doğal mikrobiyotasında bulunan bir bakteri olduğundandır. Bunun yanı sıra yirmi sekiz bakteri 0.1 BX'ta kontrole kıyasla az da olsa gelişim olduğu görülmüştür. 0.1 M BX'in bakteriler üzerindeki biyosidal etkisi %80'in üzerindedir. 0.5 M BA dozu değerlendirildiğinde; tüm bakteriler üzerinde %95 oranında biyosidal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı cinse mensup bakterilerin benzer tepkiler verdiği gözlenmiştir (Tablo 22).

Tablo 22. Boraksın Bakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

Bakteri kodları	Bilimsel Adı	Kontrol (CFU/ml-10 ⁷)	0,1M (CFU/ml10 ⁷)	0,5M (CFU/ml-10 ⁷)
OG1	<i>Bacillus pumilis</i>	38.65±0,29bc	4.35±0,35n	0.86±0,24ijklm
OG2	<i>Bacillus paramycoides</i>	34.54±0,28h	5.62±0,39kl	0.44±0,21mn
OG3	<i>Bacillus cereus</i>	33.33±0,39ij	7.43±0,40hij	1.104±0,26hijl
OG4	<i>Pantoea septica</i>	39.40±0,28ab	2.75±0,41o	0.9±0,41ijklm
OG5	<i>Pantoea agglomerans</i>	37.89±0,31def	2.56±0,51o	0.56±0,26klmn
OG6	<i>Planococcus glaciell</i>	31.21±0,30l	4.5±0,52mn	0±0,0n
OG7	<i>Bacillus pumilis</i>	37.54±0,34f	9.36±0,48ef	0±0,0n
OG8	<i>Bacillus pumilis</i>	36.36±0,40g	10.46±0,48c	0.5±0,40lmn
OG9	<i>Enterococcus mundtii</i>	32.00±0,38kl	6.75±0,53jk	2.17±0,35gh
OG10	<i>Agrococcus jenensis</i>	32.04±0,28ijk	8.75±0,52fg	3.55±0,51c
OG11	<i>Enterococcus sp.</i>	34.84±0,31h	9.40±0,47de	2±0,50h1
OG12	<i>Planococcus glaciell</i>	33±0,38ijk	4.21±0,44mn	1.8±0,34h1
OG13	<i>Bacillus toyonensis</i>	37.77±0,30ef	5.72±0,44kl	2.8±0,52fg
OG14	<i>Arthrobacter flavus</i>	37.31±0,39cdf	8.05±0,49gh	4.58±0,47b
OG15	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	32±0,35jk	0±0,0p	0±0,0n
OG16	<i>Bacillus pumilis</i>	40.36±0,31a	7.55±0,38hij	3.01±0,39cde
OG17	<i>Bacillus mojavensis</i>	35.14±0,35h	7.7±0,39gh1	2.23±0,36efg
OG18	<i>Bacillus safensis</i>	38.20±0,29cde	5.8±0,41kl	1.6±0,39h

Tablo 22. (Devamı)

OG19	<i>Pseudomonas synxantha</i>	37.20±0,32ef	9.48±0,48ef	2.6±0,47def
OG20	<i>Stutzerimonas stutzeri</i> (	38.37±0,33cdf	5.5±0,52lm	0.90±0,45ijklm
OG21	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	37.80±0,32cdf	6.85±0,56ij	1.34±0,42hij
OG22	<i>Stutzerimonas stutzeri</i>	27.69±0,38m	13.69±0,51b	6.18±0,45a
OG23	<i>Bacillus thuringiensis</i>	37.89±0,38def	7.77±0,55ghı	0.9±0,50jklm
OG24	<i>Bacillus wiedmannii</i>	32.33±0,34jkl	8.69±0,48efg	3.55±0,52cd
OG25	<i>Peribacillus frigiditolerans</i>	31.54±0,37kl	10±0,49cd	0.8±0,46ijklm
OG26	<i>Bacillus australimaris</i>	38.15±0,39cdf	17.79±0,44a	3.13±0,39cd
OG27	<i>Enterococcus durans</i>	38.23±0,35cd	8.03±0,39fg	4.44±0,38b
OG28	<i>Georgenia soli</i>	35.34±0,36gh	8.37±0,43gh	2±0,40hı
OG29	<i>Georgenia satyanarayananai</i>	33.47±0,34ı	6.21±0,52jk	1.2±0,45hıjk

Farklı harfler, P<0.05 anlamlılık düzeyinde gruplar arasındaki anlamlı farkı ifade eder. ± SE anlamına gelir

Boraksın (BX) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

BX'ın siyanobakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin belirlenmesi için 0,1 ve 0,5 M konsantrasyon denenmiştir. Bu konsantrasyonların her ikisinde de izole edilen siyanobakteriler için biyosidal etkisi mevcuttur. Siyanobakterilerin gelişimi için 0,03 g/L yeterli olduğu bilinmektedir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında gelişimlerini sağlayan dozdan yaklaşık 15 kat yüksek olan dozda (0,1 M) gelişimleri kontrole göre % 90 oranında azalmıştır. 0,5 M'de ise %100'lük bir orana ulaşmış ve herhangi bir gelişimin görülmemiştir. Ayrıca biyodeteriorasyonun önlenmesi için kullanılan BX bu organizmalar için biyosidal etkisinin her iki dozda var olduğu belirlenmiştir (Tablo 23). Yine Tablo 23'de görüldüğü gibi izole edilen siyanobakteriler aynı tür olmasına rağmen BX'e karşı küçük farklılıklar göstermiştir.

Tablo 23. Boraksın (BX) Siyanobakteriler İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

Bakteri Kodları	Bilimsel Adı	Kontrol (CFU/ml-10⁶)	0,1M (CFU/ml-10⁷)	0,5M (CFU/ml-10⁷)
OG1	<i>Microcystis aeruginosa</i>	32.12±0,47a	3.24±0,47a	0±0,0b
OG2	<i>Microcystis aeruginosa</i>	33.27±0,45a	3.56±0,48a	0.5±0,41a

Farklı harfler, P<0.05 anlamlılık düzeyinde gruplar arasındaki anlamlı olmayan farkı ifade eder. ± SE anlamına gelir

Boraksın (BX) Funguslar İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi

BX'ın funguslar üzerindeki biyosidal etkinin belirlenmesinde 0,1 ve 0,5 M BX kullanılmıştır. Kontrole göre yaş biyomasları kıyaslanarak biyosidal etkinin varlığı belirlenmeye çalışılmıştır. 0,1 M BX'te 24 fungusun 9'u gelişmemiştir. Gelişen 15 tür ise

kontrolleriyle kıyaslanınca % 75 oranında biyomas azalışı belirlenmiştir. 0,5 M BX'te fungusların tamamında herhangi bir gelişme belirlenememiştir. Bunun sebebinin suda çözünen madde miktarına bağlı olarak artan pH olduğu düşünülmüştür. Fungusların optimum 5-6 pH'larda geliştiğini göz önüne alırsak gelişmemelerinin pH ile ilgili olduğunu değerlendirebiliriz (Tablo 24).

Tablo 24. Boraksın (BX) Funguslar İçin Biyosidal Etkisinin Belirlenmesi (Biyomas Miktarlarının Karşılaştırılması)

Fungus kodları	Bilimsel Adı	Kontrol (g)	0,1 M (g)	0,5 M (g)
OG1	<i>Fusarium torulosum</i>	7±0,57gij	0±0,0f	0±0,0
OG2	<i>Fusarium tricinctum</i>	9±0,55bcd	2.5±0,51cd	0±0,0
OG3	<i>Cleistothelobolus nipigonensis</i>	5±0,38klm	0±0,0f	0±0,0
OG4	<i>Beauveria bassiana</i>	8±0,39fghi	0±0,0f	0±0,0
OG5	<i>Fusarium redolens</i>	8.6±0,34cdef	0±0,0f	0±0,0
OG6	<i>Trichoderma simmonsii</i>	8.2±0,34cdefg	0±0,0f	0±0,0
OG7	<i>Fusarium oxysporium</i>	9.5±0,28bc	0±0,0f	0±0,0
OG8	<i>Aspergillus flavus</i>	7±0,29hij	2±0,53de	0±0,0
OG9	<i>Fusarium solanii</i>	7.6±0,35efghi	2.4±0,46cde	0±0,0
OG10	<i>Fusarium oxysporium</i>	9±0,34bcde	0±0,0f	0±0,0
OG11	<i>Fusarium nisikadoi</i>	5±0,37m	2±0,35e	0±0,0
OG12	<i>Cladosporium limoniforme</i>	8.5±0,32cdef	1.7±0,38de	0±0,0
OG13	<i>Aspergillus aflatoxiformes</i>	6.4±0,31ijk	0±0,0f	0±0,0
OG14	<i>Alternaria alternata</i>	6.5±0,29ijk	2±0,28de	0±0,0
OG15	<i>Fusarium languescens</i>	10±0,29b	2.5±0,34cd	0±0,0
OG16	<i>Alternaria sorghi</i>	12±0,44a	3.5±0,29b	0±0,0
OG17	<i>Epicoccum nigrum</i>	5±0,51lm	0±0,0f	0±0,0
OG18	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	8±0,42defgh	3±0,35bc	0±0,0
OG19	<i>Coniochaeta discospora</i>	6±0,46jkl	2.5±0,33de	0±0,0
OG20	<i>Leucostoma cinctum</i>	9.3±0,29bc	4.5±0,31a	0±0,0
OG21	<i>Aspergillus chevolieri</i>	8.5±0,44cdef	3.2±0,41bc	0±0,0
OG22	<i>Aspergillus flavipes</i>	10±0,51b	3.5±0,41bc	0±0,0
OG23	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	6±0,50jkl	2.4±0,39cde	0±0,0
OG24	<i>Aspergillus niger</i>	8±0,51defgh	3.7±0,38b	0±0,0

Farklı harfler, P<0.05 anlamlılık düzeyinde gruplar arasındaki anlamlı farkı ifade eder. ± SE anlamına gelir

Tez çalışması boyunca BA ve BX'in farklı konsantrasyonlardaki biyosidal etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla 0,1 M'den başlayarak artan dozlarda 2,5 M'ye kadar BA ve BX'in mikroorganizmalar üzerindeki ölümcül etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar ile 1 M üzerindeki dozların ölümcül olduğu görülmüş ve daha düşük dozların çalışılmasına karar verilmiştir. 0,1 -1 M arasında her iki bor bileşiğinin biyosidal etkisi belirlenmiştir. 0,75 ve 1 M 'nin bile mikroorganizmalar üstünde ölümcül etkiye sahip olduğu bulunmuştur. 0,1 M ve 0,5 M olan dozlar her iki bor bileşiği için tüm tez boyunca bütün mikroorganizma gruplarında denenmiştir.

Elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde; her iki bor bileşiğinin hem prokaryotlar hem de ökaryot üzerinde biyosidal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Her iki bor bileşiğinin tüm organizmalar üzerinde biyosidal etkisi olsa da aynı dozlar için boraksın borik asitten daha güçlü bir biyosidal etkiye sahip olduğu görülmüştür.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kültürel miraslar içerisinde gösterilen kaleler, hanlar, hamamlar, camiler, kiliseler, heykeller, mozaikler, tablolar biyolojik bozunma ile karşı karşıyadır. Biyolojik bozunma veya diğer ifadeyle biyodeteriorasyon farklı mikro- ve makro-organizmaların biyolojik faaliyetleri sonucunda meydana gelen yapısal olarak bozunmasını ifade etmektedir. Makroorganizmalardan ziyade mikroorganizmaların (siyanobakteri, bakteri, alg, fungus gibi) oluşturduğu biyofilm, asitler, redoks tepkimeleri ve pigment oluşturmalarıyla kültürel miraslar yıgılma, renklenme, korozyon hatta tamamen bozulmaya sebep olabilmektedirler (Corbu et al. 2022). Taş yapılarda biyodeteriorasyonun başlaması için özellikle yüksek kolonizasyon kabiliyetleri ve korozyona sebep olmaları nedeniyle en önemli organizma grubu likenlerdir. Bilindiği gibi likenler; siyanobakteri ve fungusların oluşturduğu mutualist birliklerdir. Son yıllarda likenler sadece siyanobakteri ve fungusların oluşturduğu bir birlik değil aynı zamanda diğer mikroorganizmalarında yer aldığı ekosistemler olarak değerlendirilmektedir (Mart et al. 2020; Macchia et al. 2022; Romani et al. 2022). Liken ekosisteminde bulunan başlıca mikroorganizmalar; bakteriler, siyanobakteriler, funguslar ve mikroskobik alglerden oluşmaktadır. Biyodeteriorasyonu başlatan likenlerin ekosisteminde yer alan bu mikroorganizmalar ile korozyonu daha da ileri safhalara götürdüğü bilinmektedir. Bu çalışmada tarihi taş yapılarda biyodeteriorasyona sebep olan likenler toplanmış ve liken ekosisteminde var olan mikroorganizmalar izole edilmiştir. Likenlerden siyanobakteriler, bakteriler ve funguslar saf kültür olarak elde edilmiştir (Tablo 3, 7 ve 10). Toplanan likenlerden üç farklı organizma grubu izole edilmiş ve bu sonuç likenlerin sadece siyanobakteri ve fungustan değil aynı zamanda bakteri ve epifit (birlik oluşturmayan) funguslardan oluştuğu yani likenler bir mikro ekosistem olduğunu desteklemektedir.

Siyanobakteriler, dünya çapında kutup bölgeleri, çöller, kaplıcalar, okyanuslar ve kayalar gibi aşırı ekstrem yerlerde bulunan hem sucul, hem de karasal ortamlarda yaşayan fotosentetik mikroorganizmalardır. Siyanobakteriler tek başına yaşayabildikleri gibi ekstrem ortamlarda yaşama şanslarını artırmak için funguslar ile iş birliği kurarak liken birliklerinde de bulunabilirler. Bu birliktelik her iki organizma içinde hayatta kalma başarısını artırmaktadır. Taş yüzeylerde liken, dolayısıyla siyanobakteri ve funguslar biyodeteriorasyona sebep olarak kendi yaşam alanlarını genişletmektedirler. Taş yüzeylerde liken birliklerindeki siyanobakteriler daha çok karasal siyanobakteriler olduğu yapılan birçok çalışma ile belirlenmiştir. Özellikle heterocytous yapıda (çoklu şekil) siyanobakteriler (*Nostoc*, *Syctonema*,

Tolyporix, *Anobea*), yuvarlak yapıda (*Chroococcus*, *Gleocopsa*, *Aphanotheae*) ve basit filamanetli yapıdaki (*Oscillatoria*) siyanobakteriler taş yapıların bozulmasına neden olmaktadır (Mehta 2022).

Literatür taraması yapıldığında genellikle biyodeteriorasyona sebep olan siyanobakteri türleri bir önceki paragrafta verilen cinsleri içermektedir. Fakat Lamboardozzi et al.2012’de yaptıkları çalışmada biyodeteriorasyona sebep olan 249 örnek toplanmış ve bir programla bunları analiz etmişlerdir. Şaşırtıcı bir şekilde 249 örnekten sadece bir *Mycroctis* cinsi tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise biyodeteriorasyona sebep olan likenlerden *Microcystis aeruginosa* türü siyanobakteri izole edilmiştir (Tablo 15).

Liken briliğinin bir diğer üyesi olan funguslar; zorlayıcı ekolojik şartlara dayanabilen ve hayatta kalmak için çeşitli yapısal, metabolik, morfolojik ve genetiksel yapılarında değişiklik yapabilen ve dünya üzerinde hemen her yerde bulunan hetotrofik organizmalardır. Tablolar, vazolar, ahşaplar, kitaplar, kayalar ve metaller gibi farklı yüzeylerde kolonize olan funguslar yüksek biyodeterioratif ajanlar olarak bilinir. Olumsuz çevre şartlarıyla karşılaşan taş yapılarda kolonize olmaları ve çeşitli metabolik faaliyetleriyle bu yapılarda estetik, fiziksel ve kimyasal bozunmalara sebep olurlar (Trovao et al. 2019; Trovao et al. 2021; He et al. 2022). Dünya üzerindeki likenlerin büyük çoğunluğu Ascomycota sınıfının üyeleriyle oluşurken çok az kısmı Basidiomycota üyelerinden oluşmaktadır (Stocker 2008). Biyodeteriorasyona sebep olan liken birlikteliklerinden izole edilen fungusların hepsi Ascomycota sınıfına ait olduğu belirlenmiştir ve bu bulgular literatür bilgisiyle uyushmaktadır (Tablo 16). Funguslar zorlayıcı ekolojik şartlara dayanabilen ve hayatta kalmak için çeşitli yapısal, metabolik, morfolojik ve genetiksel yapılarında değişiklik yapabilen ve dünya üzerinde hemen her yerde bulunan hetotrofik organizmalardır. Bu özelliklere sahip olan funguslar taş ve kayalar gibi ekstrem ekosistemlerde bulundukları bilinmektedir. Taş yüzeylerinden izole edilen başlıca funguslar; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Ulocladium*, *Mucor*, *Epicoccum* ve *Aureobasidium*’dur (Miller et al. 2012; Sterflinger et al. 2013; Cruzman et al. 2013; Farooq et al. 2015; Duan et al. 2018). Yapılan çalışmada *Fusarium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* gibi cinslere ait türler izole edilmiştir. Elde edilen türler ile daha önceki çalışmaların verileri benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 16).

Taş ve kaya üzerine yerleşen likenlerin öncülüğünde diğer mikroorganizmalarda taş yüzeyine hatta taş içerisine yerleşerek biyodeteriorasyonu hızlandırır. Taşın fiziksel ve kimyasal yapısına göre diğer mikroorganizmalar faaliyetlerine başlarlar. Taş yüzeylerde arkean, bakteriler şeklinde sırayla yerleşirler. İster arkean ister bakteri olsun taşın yapısındaki

organik ve inorganik maddeleri kullanarak kolonize olurlar ve taşın yüzeyini aşındırarak bu yapılara zarar verirler. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda likenlerin kolonize olduğu taş yüzeylerden *Thiobacillus*, *Bacillus*, *Mixococcus*, *Thiothrix*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Halococcus* ve *Beggiatoa* gibi bakteri grupları, daha çok taş yüzeyinde kolonize olan başlıca bakteri cinsleridir (Meng et al 2017; Zhang et al. 2018). Tez çalışması boyunca 100 bakteri izole edilmiş fakat şartlar gereğince sadece 30 bakteri izolatu tür teşhisine gönderilmiştir. Tür teşhisleri sonucunda; *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Agrococcus*, *Enterococcus* gibi cinslere ait bakteriler olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar gösterdiği izole edilen türler daha önceki çalışmalarda izole edilen türler ile paralellik göstermektedir. Fakat çalışma boyunca arkebakteri izole edilememiştir. Bu elde edilen bulgular arkebakterilerin bu birliktelikte olmadığını göstermez sadece tür teşhisine gönderilen türlerin sayısı fazla olsaydı bu bakterilerden de görülme ihtimalinin artabileceği düşünülmektedir (Tablo 14).

Taş ve kaya yüzeyleri (içleri) gibi ekstrem ortamlar istisnai özelliklerine sahip birçok mikroorganizmayı barındırırlar. Bu mikroorganizmalar yüksek UV, sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, metal yükü ve pH değişimine adapte olmuş ve geliştirdikleri mekanizmalar ile hayatta kalmışlardır (Antranikian et al. 2005; Dib et al. 2008; Gaeta et al. 2020). Bu ekstrem şartlardan biri olan tuzluluk hem yüksek yapıli organizmaların hem de mikroorganizmaların gelişimini etkilemektedir. Mikroorganizmaların tuza tolerans göstermesi hayatta kalma şanslarını artırmaktadır. Taş ve kaya üzerinde yaşayan bakterilerin taşın yapısına bağıli olarak çözünür tuzlar ile sürekli karşılaşmakta ve bu yoğun tuz miktarıyla yaşayabilmek, diğeri organizmalar ile rekabeti kazanmak için modifikasyon ve adaptasyon mekanizmaları geliştirmektedirler. 2013'te yapılan bir çalışmada tuzlu habitatlardan izole edilen bakterilerin %15 konsantrasyonda NaCl miktarında geliştiğı belirlenmiştir. Bu çalışmada izole edilen türler arasında *Bacillus* cinsi bakterilerin olduğu görülmüştür (Ramadoss et al. 2013). Yine tuzlu toprak yapısına sahip olan Thar Çölünden izole edilen *Bacillus* cinsi bakterilerin hem tuz hem de sıcaklık toleransının olduğu tespit edilmiştir (Verma et al. 2020). Ekstrem habitatlardan biri olan okyanusların tuz konsantrasyonları bilindiğı gibi yüksektir. Bu ortamdan izole edilen *Pseudomonas* 'ların yüksek tuz miktarlarında gelişebildiğı bulunmuştur (Bollinger et al. 2018). Fan ve arkadaşlarının (2016) tuzlu ve alkali topraklardan *Arthrobacter* ve *Bacillus* cinsi bakterilerin yüksek tuz toleransına sahip olduğu ve bu organizmaları tuz stresi altındaki bitkiler için kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Tuz konsantrasyonun fazla olduğu bir ekstrem habitat ise tuz gölleridir. Bu alandan izole edilen *Planococcus* cinsi bakterilerin tuz toleransının oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir (Hassan et al. 2020). Tüm bu bilgiler ışığında ekstrem ve tuzcul ortamlardan izole edilen bakterilerin tuz toleransı olduğu görülmektedir. Bu çalışma kapsamında kaya likenlerinden izole edilen bakterilerin 0.1 M ile 2 M arasında değişen konsantrasyonlarda NaCl

toleransları belirlenmiştir. 29 türden hemen hemen hepsinin 1 M tuza kadar olan konsantrasyonlarda geliştikleri görülmüştür. OG2, OG3, OG5, OG11, OG13, OG17, OG22, OG23, OG28 ve OG29 kodlu bakteriler 1.5 M ve 2 M’da da geliştiği gözlenmiştir (Tablo 4). Çalışmada ekstrem habitat olan kaya yüzeylerinden izole edilen *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Planococcus* cinsi bakterilerin tuz toleranslarının olduğu belirlenmiş ve bu sonuçlar kayaların aşınmasıyla ortaya çıkan tuz miktarıyla mücadele etmek için tolerans kazandıkları hatta sadece tuza değil metal dirençlerinin de var olduğu düşünülebilir.

Bakteriler dünya üzerindeki hemen hemen her ekosistemde yaşayan ve yaşadıkları bölgenin getirdiği şartlara iyi uyum sağlayabilen canlılardır. Okyanus diplerindeki hidrotermal bacalar, kaplıcalar, çöller, yanardağ kıyıları, kutuplar, tundralar ve kayalar bakterilerin bulunduğu bazı ekstrem alanlardır. Bu alanlarda yaşayan bakterilerin çeper yapısı, morfolojileri, enzimleri, ürettikleri sekonder metabolitleri, pigmentleri, kendilerini sıcak ve/veya soğuktan koruyacak kabiliyetlere sahip oldukları bilinmektedir (Gayar et al.2017; Penhallurick et al. 2021; Castel et al. 2022). Yapılan birçok çalışmada mezofil değerlerin dışında yer alan bölgelerden *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Arthrobacter* gibi türler izole edilmiştir (Khan et al. 2023).

Gezegeneğimizin % 20’ si 5 °C ve altında sıcaklık ortalamasına sahip habitatlar bulunur. Bu habitatların başında; okyanuslar, derin denizler ve kutup bölgeleri gelmektedir. Belirtilen habitatlarda yaşayan organizmalar zorlu şartlar ile yüzleşmektedirler. Bu zorluklar; yüksek tuzluluk, düşük sıcaklık, besin kıtlığı ve basınçtır. Sayılan koşullar ile yaşayabilmeleri için çeperlerinde, enzimlerinde, ürettikleri yağ asitlerinde ve pigmentlerinde değişiklik ile morfolojik sitoplazmalarında antifriz bileşikler ve buz çekirdekleri oluşturmalarıyla fizyolojik adaptasyon mekanizmaları geliştirmişlerdir. Ekstremofil olarak adlandırılan arkebakterilerin bu alanlarda yaşaması alışlagelmiş bir olgudur. Arkeaların dışında *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Planococcus*, *Arthrobacter*, *Enterococcus*, *Agrococcus* gibi bakterilerin yaşaması herkes için şaşırtıcıdır. Bu bakterilerin yüksek adaptasyon mekanizmalarıyla bu ekstrem habitatlarda yaşamlarını sürdürdükleri bilinmektedir (Yadav et al. 2017; Urbanek et al. 2018; Touchete et al. 2020; Paun et al. 2021).

Taş ve kaya yüzeylerinde aşırı sıcak ve aşırı soğuk olan eurytherm habitatlardır. Bu bölgelerde yaşayan mikroorganizmalar sıcaklık farkı fazla olmasına rağmen geliştirdikleri mekanizmalar ile bu alanlarda yaşamaya adapte olmuşlardır. Yapılan çalışmada kaya likenlerinde izole edilen bakterilerin sıcaklık toleransı belirlenmiş ve 10 °C ile 50 °C arasındaki koşullarda geliştirilmiştir. İzole edilen bakterilerin hepsi 10 °C’de geliştiği görülmüştür ve bu bakterilerin psikrotolerant olduğu kanısına varılmıştır. 20, 30 ve 40 °C’de gelişimin 10°C’den

daha fazla olduğu belirlenmiştir. En yüksek sıcaklık olan 50°C’de ise 13 tür gelişim göstermiştir. Ayrıca OG6 (*Planococcus glaci*), OG12 (*Planococcus glaci*) ve OG25 (*Peribacillus firigotolerans*) bakterileri 40°C ve 50 °C’de gelişmediği kaydedilmiştir (Tablo 4.4). Bunun sebebinin ilgili türlerin psikrofil örnekler olarak değerlendirilmiş ve buna uygun şekilde isimlendirilmiştir (Yadav et al. 2015). Ayrıca literatür bilgilerinde ekstrem sıcak ve soğuk bölgelerden izole edilen cinsler; *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* çalışmamızda da izole edilmiştir (Tablo 14). Yapılan çalışmanın ekstrem sıcaklık farkı olan bölgelerden izole edilen bakteriler ile benzerlik göstermiş ve bu bulgular ilerideki çalışmalar için kaynak oluşturacağı öngörülmektedir. Dahası hem soğuk hem de sıcak toleransı olan *Bacillus*, *Pseudomonas* cinslerine ait türler tespit edilmiştir. Bu bakteriler arasında tür ve izolat farkı yani aynı türün farklı sıcaklıklarda gelişebildiği gözlenmiştir (Tablo 5 ve 14). Hindistan’da bulunan ve soğuk çöl olan Leh Ladakh çölünden soğuğa adapte olmuş *Bacillus*, *Planococcus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Exiguobacterium*, *Alishewanella*, *Brachybacterium*, *Providencia*, *Janthinobacterium*, *Sphingobacterium*, *Kocuria*, *Aurantimonas*, *Citricoccus*, *Cellulosimicrobium*, *Brevundimonas*, *Desemzia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Paracoccus*, *Psychrobacter*, *Sporosarcina*, *Staphylococcus*, *Sinobaca*, *Stenotrophomonas*, *Sanguibacter*, *Vibrio* cinslerine ait bakteriler izole edilmiştir. İzole edilen bu bakterilerin farklı sıcaklıklardaki toleransları belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* cinslerine ait bakterilerin farklı sıcaklıklarda yaşama özelliklerini kullanarak bitki uygulamalarında bu bakterilerin kullanılacağını belirtmişler (Yadav et al. 2015).

Bakteriler, optimum fizyolojik şartları içeren ortamlarda verimli işlev görecektir şekilde uyarlanmıştır. Optimum çevresel koşullardan aşırı varyasyon, bakteriyi strese sokar ve bu da büyümesinin inhibisyonuna, düşük büyüme hızıyla gecikme süresinde bir artışa veya nihai ölümüne neden olur. pH değişimi bakterilerin gelişimini etkileyen önemli bir faktördür. Bildiğimiz gibi çoğu bakterinin optimum gelişim pH’sı alkalidir yani 7 ve 9 arasındadır. Aşırı sıcaklıklarda gelişen mikroorganizmaların keşfi gibi, aşırı pH değerlerine sahip ekosistemlerde bakteri ve arkeler de bulunmuştur. Bakteriler ve arkeler, aşırı asitlik (<pH 2) veya alkalilik (>pH 10) ile başa çıkmak için çeşitli yollar geliştirmiştir. Hem asidofillerin hem de alkalifillerin karşılaştığı zorluk, nötre yakın bir hücre içi pH’yı korumaktır. Hücre içi dengeyi sağlamak için farklı mekanizmalar geliştirdikleri bilinen bir gerçektir (Silliakus et al. 2017; Triptahi et al. 2018; Chowdhury et al. 2021). Fermente gıdalar, maden liçi yapılan alanlar, asitli göller gibi birçok asidofil alanda yaşayan mikroorganizmalar vardır. Özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi toprak kaynaklı ve geniş yaşam aralığı olan bakteriler bu alanlarda da bulunabilen önemli cinslerdir (Liang et al. 2019). Yik ve arkadaşlarının 2018’te yaptıkları çalışmada maden direnç alanından izole edilen *Bacillus*’ların düşük pH’larda yaşamlarını sürdürdüklerini görmüşlerdir

(Yik et al. 2018). Fermente edilmiş gıdaların bulunduğu yerlerden de düşük pH'larda yaşayan *Bacillus* cinsi bakteriler izole edilmiştir (Ragul et al. 2017). Asidofil olan *Bacillus* türlerinin yanında yüksek pH'larda yaşayan alkalifil olan *Bacillus* türleride yaygındır (Liu et al. 2019). Sadece *Bacillus* cinsleri değil aynı zamanda yüksek alkali ortamlarda yaşayan bakteri türleri de mevcuttur. Soda göllerinde yaşayan *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium* bu olguya örnek verilebilir (Shilova et al. 2021). Bu çalışmada 3 ile 13 pH aralığındaki bakterilerin büyüme ve gelişmesi gözlenmiştir. 3 ve 13 pH'da herhangi bir bakteri gelişiminin olmadığı görülmüştür. En düşük pH olarak 4 en yüksek 11 seçilmiş ve denemeler yapılmıştır (Tablo 6). Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en düşük pH 4'te izole edilen bakterilerin %75'i gelişmiştir. pH 9'da sadece OG15 kodlu *Dermaococcus nishinomiyaensis* bakterisi gelişmemiştir. En yüksek pH 11'de ise on bir bakteri türü gelişmiştir (Tablo 6). Geniş pH'larda gelişmesi bu bakterilerin değişen pH'lara karşı direncinin olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar ise geniş pH aralığında yaşayabilen bakterilerin var olduğu bilgisiyle tamamen uyusmaktadır. Ayrıca izole edilen bakteriler arasında *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Enterococcus* cinsine ait bakterilerdir. Bu türler arsında asidofilik ve alkalifilik bakteriler tespit edilmiştir. Ekstrem ortamlarda izole edilen türlerin geniş bir pH toleransının olduğu gözlenmiş ve literatür ile paralel sonuçlardır.

Siyanobakteriler benzersiz morfoloji ve fizyolojiye sahip fotosentetik prokaryot grubudur. Bu aşırı uçlar da dahil olmak üzere çeşitli ekolojik habitatlarda hakim olmalarına izin verir. Bu alanlar; çöller, kaplıcalar, aşırı tuzlu ve alkali havzalar, volkanik yüzeyler olabilir (Temraleeva et al. 2016). Ekstrem ortamlar bir organizmanın katlanabileceğinden fazlası olarak tanımlanabilir. Ekstrem ortamlarda yaşayan ve ekolojik olarak başarı sağlamış en eski gruplardan biri siyanobakterilerdir. Siyanobakteriler; okyanuslardan tatlı suya, topraktan çıplak kayalara, çöllerden buz raflarına, aşırı tuzludan alkaline göllere, yüksek metal konsantrasyonları olan direnç alanlarında başarılı bir şekilde hayatta kalabilir hatta üreyebilirler (Singh et al. 2017). Sucul ve karasal siyanobakteriler ve tüm canlılar için tuzluluk önemli bir abiyotik strestir. Tuzlulukta oluşan ozmotik basıncı azaltabilmek için diğer organizmalar gibi siyanobakterilerden çeşitli metabolik ve morfolojik değişimler göstererek bu alanlarda yaşayabilirler (Pade and Hagamen 2015). Yoğun tuz içeren ekosistemlerden izole edilen siyanobakteriler; *Leptolyngbya*, *Oscillatoria*, *Nodosilinea*, *Anabaena*, *Geitlerinema*, *Gloeocapsa*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Synechococcus*, *Chroococcus* olduğu 2021'de yapılan bir çalışmada kaydedilmiştir (Bowange et al. 2021). Bu çalışmada izole edilen siyanobakterilerin tuz toleranslarının olduğu belirtilmiştir. Özellikle tatlı su ekosistemlerinde alg patlamasına sebep olan *Microcystis aeruginosa* türü üzerinde tuzluluğun etkisi belirlenmeye çalışılmış ve bu türün %15 tuz konsantrasyonunda yaşayabildiklerini gösteren birden fazla çalışmada

vurgulanmıştır (Tanabe et al. 2018; Georges des Aulnois et al. 2019). Bu tez çalışmasında da *M. aueriginosa* siyanobakterisinin tuz konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmış ve elde ettiğimiz bulgular bu türün %10 konsantrasyondaki tuz miktarında geliştiğini bu konsantrasyonun üstünde gelişimin olmadığı belirlenmiştir (Tablo 7). Bulgularımız sunulan çalışmalarla benzer nitelik taşımaktadır. Kaya yüzeylerinde yaşayan likenlerden izole edildiği için bu miktardaki tuz konsantrasyonunda da geliştiği düşünülmektedir. Tüm canlılar gibi siyanobakterilerinde gelişim ve yaşama sıcaklıkları vardır. Siyanobakterilerin optimum gelişme sıcaklığı 20°C üstü olduğu bilinmektedir (Kumari et al. 2023). 30 ve 35 °C’de biyokütlelerinde patlama yaşandığı 40 °C’de bu büyümenin durduğu da yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Tang et al. 1997; Mohanty et al. 2022). Çalışmamızda izole edilen *M. aueriginosa* siyanobakterisi farklı sıcaklıklarda geliştirilmiş ve sıcaklık toleransı belirlenmiştir (Tablo 8). En yüksek sıcaklık değeri olan 50°C’de gelişim görülmemiştir. Fakat literatür bilgisinde 38 ve 40°C’de gelişimin durduğu söylenmiştir çalışmamızda izole edilen *M. aueriginosa* 40 °C’de gelişim gözlemlenmiştir. Ayrıca optimum gelişim sıcaklığının 20 ve üstü dereceler olduğu vurgulanmıştır. Aynı şekilde çalışmada izole ettiğimiz *M. aueriginosa* 10 °C’de gelişim gösterdiği kaydedilmiştir (Tablo 8). Bunun sebebinin likenin bulunduğu alanda sıcaklık farklarının aşırı olması ve geniş sıcaklık aralıklarına adaptasyon yeteneği geliştirmesinden olduğu öngörülmektedir. Fiziksel büyüme faktörü pH siyanobakterilerin de büyüme ve gelişmesini etkiler. Siyanobakteriler genellikle alkalifik bakterilerdir. Yani optimum gelişmeleri 7-8.5 pH’da olmaktadır. Çok az bir tür 6 pH’da gelişebilmektedir. Bu pH’nın altında gelişim göstermezler veya asidofil değildirler (Padisak and Flores 2021). Bu çalışmada izole edilen siyanobakterilerin farklı pH’larda gelişme potansiyelleri belirlenmiş ve 9 pH’da rahatlıkla geliştiği görülmüştür (Tablo 9). Bu veride literatürdeki alkalifil olması durumunu kanıtlar niteliktedir. Ayrıca çalışmamızda izole edilen *M. aueriginosa* 4 pH ‘da gelişmiştir (Tablo 9). Bu da ekstrem ortamlardan izole edilen organizmaların farklı şartlara uyum sağlar hipotezine uygundur.

Ekstrem habitatlarda filamentli funguslar ile mayaların yaşadıkları bilinmektedir. Bu funguslar; yüksek - düşük sıcaklık, UV, osmotik basınç, tuzluluk, farklı pH seviyeleri, düşük besin miktarı gibi ekstrem şartlarda yaşayabilmeleri için yüksek genetik plastiteye sahiptirler yani bu zorlu şartlarla başa çıkmak için morfolojik ve fizyolojik olarak uyum sağlama kapasitesine sahiptirler (Rosa et al. 2019; Chung et al. 2019; Ibrar et al. 2020). Okyanuslar gibi tuzluluk seviyesi yüksek ortamlardan *Stelletta*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Beauveria*, *Penicillium*, *Cladosporium* ve *Trichoderma* gibi funguslar izole edilmiştir. Geçmişten günümüze kadar farklı tuzlu habitatlardan birçok fungus izole edilmiş ve bu fungusların %25 konsantrasyondaki tuz miktarına toleranslarının olduklarını tespit edilmiştir. Her ne kadar bu

konsantrasyonda hayatta kalsalarda daha düşük olan %15 tuz konsantrasyonunda hayatta kalmalarının yanısıra büyüme ve gelişmelerini devam ettirdikleri tespit edilmiştir (Batista-Garcia et al. 2017; Chung et al. 2019). Bu funguslara halofilik veya halotolerant funguslar denmektedir. Funguslar geniş habitatlarda yaşayabilmek için farklı enzimlere ve sekonder metabolitlere sahiptirler. Özellikle çıplak kayalar gibi ekstrem ortamlarda yaşayabilmek için ürettikleri hidrolitik enzimler ve organik asitlerini kullanırlar. Bu yolla taş yüzeyleri aşındırır ve taşıdaki tuzların minerilizasyonu sağlayarak çeşitli tuzları oluştururlar. Bu farklı tuz konsantrasyonlarında yaşayabilirler. Daha önce yapılan çalışmalarda kayalardan, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* ve *Fusarium* gibi fungusların izole edildiği ve bu fungusların tuz direnci olduğu belirlenmiştir (Chung et al. 2019; Muggia et al. 2021). Bu çalışmada kaya likenlerinde izole edilen fungusların farklı miktarlarda (0.1M - 2M) tuz konsantrasyonlarında gelişimi belirlenmiştir. Hepsinin 0.1 – 0.5 ve 1 M tuz da geliştikleri görülmüştür. İzole edilen fungusların 11'inin 1.5 M tuzda geliştiği belirlenmiştir. 4 fungusun ise en yüksek konsantrasyon olan 2 M'da geliştiği görülmüştür. En yüksek konsantrasyonda gelişen türlerin *Fusarium*, *Trichoderma* ve *Alternaria* olduğu görülmüştür (Tablo 11-16). Bu sonuçlar doğrultusunda kaya likenlerinden izole edilen fungusların tuz toleransının olduğu ve bu özelliği sahip olmalarının bu organizmalara hayatta kalma ve diğer türler ile rekabetinde avantaj sağladığı söylenebilir. Elde edilen sonuçlar daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermiş olup ekstrem habitatlardan izole edilen fungusların farklı zorluklarla başa çıkabilme kapasitelerinin olduğu görüşünü kanıtlar niteliktedir.

Mikroorganizmaların en büyüleyici özellikleri diğer organizmaların yaşayamadığı ekstrem ortamlarda yaşayabilmeleridir. Fiziksel ve kimyasal koşullar ekstremitte yaratırken bu koşullarda mikroorganizmaların hayatına yön vermektedir. Özellikle sıcaklık biyomoleküllerin yapısını ve işlevini koruması için önemli bir faktördür. Ökaryotların yaşayabildiği maksimum sıcaklık seviyesi 62°C olduğu bilinmektedir (De Oliveira and Rodrigues, 2019). Yapılan bir çalışmada çölden izole edilen *Aspergillus*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Penicillium* ve *Nigrospora* cinsi fungusların termotolerant olduğu bulunmuştur. Gelişim sıcaklıklarının 40 °C'ye ulaştığı hatta bazı *Aspergillus* türlerinin 45 °C'de gelişebildikleri gözlenmiştir. Bilindiği gibi fungusların optimum gelişim sıcaklıkları 25 - 30 °C'dir (Sangamesh et al. 2018). Yapılan bu çalışmada çöllerden izole edilen fungusların optimum gelişim sıcaklıklarından farklı bir sıcaklıkta gelişebildikleri kanıtlanmıştır. Funguslar 40 °C'de gelişim gösteriyorsa termofilik fungus olarak tanımlanmaktadır. Termofilik fungusların izole edilebileceği ortamlardan biri kaya yüzeyleridir. Kayalar farklı sıcaklıklarla gündüz gece ve mevsimler gibi farklı zamanlarda yüzleşmektedirler. Bu ortamda yaşayan funguslar sıcaklık farklılıklarına karşı adaptasyon mekanizması geliştirerek hayatta kalabilmektedirler. Bu tez çalışmasında izole edilen funguslar

farklı sıcaklıklarda geliştirilmiş, 40 °C’de hemen hemen tümü gelişmiştir. Bakteriler için uygun değer sayılabilecek bu sıcaklık fungusların gelişimi için yüksek bir sıcaklıktır (Tablo 12). Bu sıcaklıklarda gelişen fungus türleri; *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Coniocheata*, *Leucostoma* cinslerine ait türlerdir (Tablo 16). Ayrıca izole edilen fungusların hiçbirisi hipertermofilik değildir. Ökaryotların en yüksek gelişme sıcaklıkları 61°C olduğu bilinmektedir. Fungusların ise en yüksek gelişim sıcaklığının 50 °C olduğu yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir ve bu çok istisnai bir durum olup sadece *Aspergillus fumigatus* küfünde rastlanmıştır. Yapılan çalışmalar ile fungusların çoğu 40 - 45 °C’de yaşayabilir ve termofilik olarak isimlendirilirler bu sıcaklığın üstünde yaşayan funguslar hipertermofilik olarak kabul edilirler (Maheshwari et al. 2000; de Oliveira et al. 2019). Yapılan bu tez çalışmasında da izole edilen fungusların termofilik olduğu ama hiçbirinin hiper termofilik olmadığı görülmüştür (Tablo 12). Yüksek sıcaklıklara adapte olmuş termofilik funguslar olduğu gibi 20 °C’nin altında yaşayabilen psikrofil funguslarda mevcuttur. Dünyanın büyük çoğunluğu su, buzullar ve kayalar ile kaplı olduğunu düşünürsek bu alanlarda da yaşayabilen ekstreofil fungusların varlığı bizleri şaşırtmamaktadır. Yapılan birçok çalışmada 20 °C’nin altında varlığını sürdürebilen hatta üreyebilen funguslar; genellikle Basidiomycota ve Ascomycota sınıfının üyeleri olduğu belirlenmiştir (Nikitin 2023). Yapılan bu çalışmada 10 ve 20 °C’de kaya likenlerinden izole edilen funguslar geliştirilmiş ve elde edilen sonuçlarda tüm fungusların bu sıcaklıklarda geliştiği görülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde ise izole edilen fungusların psikrofil özellik taşıdığı düşünülmüştür (Tablo 12). Ayrıca tez çalışmasında izole edilen fungusların hepsinin Ascomycota sınıfına ait olması ve farklı sıcaklıklarda gelişim gösterdiği bizden önceki çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 16).

Daha önceleri yaşanmaz, yaşanması imkansız olarak adlandırılan ekstrem habitatların yapılan çalışmalarla biyoçeşitliliğin beklenenden fazla olması bilim insanlarını şaşırtmıştır. Bu alanlarda yaşayan organizmaların özellikleri üzerine birçok çalışma yapılmış ve bu alanlardan izole edilen mikroorganizmaları çeşitli biyoteknolojik süreçlerde kullanılabilme potansiyelleri keşfedilmiştir. Daha önce bahsedildiği gibi funguslar çok farklı ortamlarda bulunur ve kolaylıkla yaşamlarını sürdürebilirler. Düşük pH’ya sahip ve metal iyonlarının yoğunluğunun fazla olduğu asidofil habitatlarda fungusların bulunması istisnai bir durum değildir (Tiquia-Arashiro and Rodrigues 2016). Fungusların çoğu asidotoleranttır, mutlak asidofil değildirler. Düşük pH’larda yaşamlarını sürdürebilirler. Fungusların geniş bir pH toleransları vardır. Bu tolerans aralığı 1 ile 11 arasında değişmektedir. Metal drenajlarında, volkanik kaynaklarda (kayalar) ve asidik endüstriyel alanlarda *Penicillium*, *Candida*, *Aspergillus*, *Phoma*, *Rhodotorula* gibi sayısız fungus izole edilmiştir (Aguilera and González-Toril 2019). Tez çalışmasında izole edilen fungusların asidotolerant özellikleri belirlenmiş ve Tablo 13’te

sunulmuştur. Bu sonuçlara göre izole edilen fungusların hepsinin asidotolerant olduğu görülmüştür. Bakterilere kıyasla alkalifil sayısı az olan funguslarda mevcuttur. Alkalifil mikroorganizmalar 9-11 pH aralığında kolaylıkla gelişebilen ve metabolik aktivitelerini sorunsuz gerçekleştirebilirler. Genellikle funguslar asidik yada nötr pH'larda gelişirler. Şimdiye kadar alkalifilik ortamlarda gelişen 30 fungus türü keşfedilmiş ve bu fungusların hepsinin Ascomycota sınıfına ait olduğu bulunmuştur (Kuarina et al.2022). Alkalifil olan funguslar arasında *Fusarium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Verticillium* yer almaktadır. Yaptığımız çalışmada kaya likenlerinden izole edilen funguslar pH 12'de geliştirilmiş ve kaydedilmiştir (Tablo 13). Sonuçlar değerlendirildiğinde Kuvarina ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzer sonuçların olduğu, 12 pH 'da gelişen fungusların tamamının Ascomycota sınıfına ait olduğu belirlenmiştir (Tablo 16). Elde ettiğimiz sonuçlar ile kaya likenlerinden izole edilen fungusların 11 pH değil 12'de geliştiğini ve alkalifillikten öte hiperalkalfil olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca referans gösterdiğimiz çalışmada alkalifil olan türlerin, *Fusarium*, *Trichoderma* cinslerinin olduğu belirtilmiştir (Kuarina et al. 2022). Yaptığımız çalışmada da *Fusarium*, *Trichoderma* cinslerine ait fungusların 12 pH'da geliştiği gözlemlenirken bunların dışında *Beauveria*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Coniochaeta*, *Leucostoma* cinslerine ait fungusların alkalifil olduğu belirlenmiştir (Tablo 13 ve 16). Bu sonuçlar ışığında söyleyebiliriz ki kaya likenlerinden izole edilen funguslar hem asidofil hem de alkalifil nitelikte geniş bir pH aralığında yaşamaktadır.

Doğada her yerde bulunan bakteriler, parçalanma, döngüler gibi yaşamın hemen hemen tüm biyolojik süreçlerinde yer alır. Metallerin, bakteriler üzerine farklı metabolik süreçlerde doğrudan veya dolaylı olarak önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Metallerin birçoğu bakterilerin büyüme ve gelişmesi için lazımken sülfür bakterilerinin ise hayatta kalmaları için enerji kaynaklarını oluşturmaktadır. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Arthrobacter* *Esherichia* gibi bakterilerin birçok metal ve ağır metale karşı toleranslarının olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu organizmaların metallere karşı direnç göstermeleri geliştirdikleri mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Bu mekanizmalar arasında; hücre zarı ve çeperi arasında veya üzerinde tutma, sitoplazma içinde bu metalleri çöktürme örnek verilebilir (Rizvi et al. 2020; Nanda et al. 2019; Abdurashed et al. 2020; Biswas et al. 2021). Metallere benzer özellikte olmakla beraber yarı metal özellik gösteren ve bulunduğu grubun en hafif üyesi olan bor elementi bitkiler başta olmak üzere birçok organizmanın gelişimi için mikro besin elementidir. Birçok sektörde farklı amaçlarla kullanılmakla beraber biyolojik olarak antimikrobiyal ve böcek öldürücü gibi özellikleri de dikkat çekmekte ve çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bor mikro besin elementi olsa da yüksek dozlarda bakteriler ve diğer organizmalar için toksik etki oluşturmaktadır. Borun (özellikle borik asit) toksik etkisi veya

bakterilerin bor toleransı üzerine oldukça fazla çalışma yapılmış ve bora dirençli bakteri türlerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu bakterilerin *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Actinobacter* cinslerine ait türler olduğu görülmüştür (Samreen et al. 2019; Yaman et al. 2019; Sen et al. 2022; Pan et al. 2022). Bu tez çalışmasında kaya likenlerinden izole edilen fungusların bora karşı toleranslarının olup olmadığı belirlenmeye çalışılmış ve 0.1 M ile 2 M arasında artan dozlarda borik asit ve boraks kullanılmıştır. İzole edilen tüm mikroorganizmaların her iki bor bileşiğine karşı toleransının belirlenmesinde katı vasat kullanılmıştır. Bora (Borik asit için) dirençli türlerin *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pseudomoas* cinslerine ait bakteriler olduğu belirlenmiştir (Tablo 14 ve 17). Elde edilen sonuçlara göre OG16 (*Bacillus pumulis*) ve OG18 (*Bacillus safensis*) kodlu bakteriler BA'ya karşı en dirençli türler olduğu tespit edilmiştir. Tüm bakteriler arasında en dirençli organizmalar kontrol edildiğinde *Bacillus* cinsine bakteriler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kullanılan dozlar yüksek olmasına rağmen BA'ya karşı direnç göstermeleri bu organizmaların başka yarı metal, metal elementleri ve tuzlarına karşı direnç gösterebileceğini düşündürülebilir. Tablo 17'de borik asite karşı bakterilerin direnci görülürken boraksa karşı hiçbir bakterinin dirençli olmadığı belirlenmiştir. Bunun sebebinin iki farklı bor bileşiğinin moleküler ağırlıklarının farklı olduğu düşünülmüştür. Borik asitte 1 L'de çözünen madde miktarın yaklaşık 63 gr iken boraksta yaklaşık 382 g olması bakterilerin direncini etkileyen bir faktör olduğunu düşündürmüştür. Bir başka ifadeyle borik asitte (H_3BO_3) 1 molekül bor atomu varken boraksta ($Na_2B_4O_7 \cdot 5H_2O$) 4 molekül bor atomu olmasıyla antimikrobiyal etki göstermiş olmasıdır. Başka bir neden ise literatür taramasında en fazla 300 mM bor kullanılmışken biz çalışmalarımızda en düşük doz olarak 0.1 M kullanmış olmamızdandır. Bir diğer neden ise boraksta borik asit dışındaki metallerin olması (Na) ile multipli etki yaptığı düşünülmüştür (Gündüz et al. 2022; Iyigundogdu and Saribas 2022).

Toprak ve suyun temel mikroorganizmalarından olan fungusların metallere karşı dirençli olduğu bilinmekte ve bu özellikleri biyoremediasyon, biyosorbsiyon gibi biyolojik süreçlerde kullanılmaktadır. Fungusların Hg, Cd gibi ağır metallere karşı oldukça yüksek dirençlerinin var olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Lin et al. 2020). Funguslar metalleri ürettikleri polisakkaritler ile şelatlayarak, ya da çeper yapılarında hapsederek çoğu metale karşı direnç geliştirdikleri söylenmektedir. Metal direnci olan türler arasında; *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Monilia*, *Trichoderma*, *Alternaria* ve *Rhizopus* bulunmaktadır (Lin et al. 2020). Fungusların bor bileşiklerine karşıda toleranslarının olduğu belirlenmiştir. *Cladosporium* cinsi fungusun %5'lik borik asite karşı direnç geliştirdiği, yine *Paxillus* cinsi fungusun 20 ppm'e kadar borda gelişebildiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Ancak her ne kadar bora karşı toleranslı türler olsada bor miktarı arttığında büyüme ve gelişmelerinin engellendiği de görülmüştür (Estevez-Fregoso et al.

2021). Yapılan bu tez çalışmasında kaya likenlerinden izole edilen fungusların bor toleransını belirlemek için 0.1 M ile 2.5 M arasındaki konsantrasyonlar denenmiştir. Bu amaçla borik asit ve boraks kullanılmıştır. 0.1 M ile 1 M arasında kayda değer bir değişim olmadığı için 1M üstü dozlar denenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; OG12 (*Cladosporium limoniforme*), OG14 (*Alternaria alternata*) ve OG16 (*Alternaria sorghi*) fungusları her konsantrasyonda gelişim göstermiştir (Tablo 18). İzole edilen fungusların çoğu 1.25 ve 1.5 M BA'da, OG2 (*Fusarium tricinctum*), OG5 (*Fusarium redolens*) kodlu funguslar ise 1.75 M'da gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca OG11 (*Fusarium nisikodoi*) kodlu fungus ise 1 M'dan başlayarak herhangi bir dozda gelişim göstermemiştir (Tablo 18). Şekil 16, 17, 18, 19, 20 ve 21'de görüldüğü gibi liken birlikteliğinden izole edilen fungusların borik asite karşı toleranslarının olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar dikkate alınırsa daha önceki çalışmalarla paralel olduğu görülmektedir. Fakat boraksa karşı fungusların toleransı belirlenmiş ve OG12 (*Cladosporium limoniforme*), OG14 (*Alternaria alternata*), OG16 (*Alternaria sorghi*) 1 ve 1.25 M 'da spor çimlenmesi görülmüştür. Ayrıca bu fungusların morfolojik ve koloni renklerinde değişim gözlenmiştir. Diğer mikroorganizmalar gibi farklı bor bileşiklerine farklı tolerans göstermeleri benzer sebeplerden dolayı olduğu düşünülmektedir.

Bor toprakta, suda, kayalarda ve havada bulunan atom numarası 5 olan bir iz elementtir. Bor metalle ametal arasında yer alan yarı iletken özelliklere sahip olan 230'dan fazla kimyasal bileşeni ve türevi olan bir metaloid olarak bilinir. Bor, bitkiler, bakteriler, funguslar ve algler için mikro besin elementidir. Ayrıca bor yaşamın kökeninde ve evrimsel süreçte rol alan öncül bir elementtir. Bor, karbon elementi gibi hem kendi kendisiyle hem de başka elementler ile bileşik oluşturabilme kapasitesiyle diğer elementlerden ayrılır ve zengin bir bileşik oluşturma yeteneğine sahiptir (Li et al. 2017; Fink and Uchman 2020; Temel et al. 2023). Özellikle borik asit ve borun sodyum tuzu (boraks) yaygın olarak antiseptik, bakterisit, sabun, deterjan, yangın geciktirici, gübre, pestisit ve herbisit olarak kullanılmaktadır. Ayrıca cam, porselen, izolasyon malzemesi ve metal alaşımları gibi endüstriyel kullanım alanlarında bulunmaktadır. Borun 19 ve 20. yüzyılda toksik etkisinin olduğu fark edilmiştir. Fakat 21. yüzyılda bu iz elementin başta bitkiler olmak üzere birçok organizma için yararlı olduğu gösterilmiştir. Borun çeşitli mikroorganizmalara karşı biyosidal etkisinin olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. BA'nın *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Lactococcus*, *Yersinia* gibi bakteri cinslerine karşı biyosidal etkisinin olduğu belirlenmiştir. Borik asidin biyosidal etkisinin %2 ile %5 oranında olduğu belirlenmiştir (Zan et al. 2013; Prasad et al. 2014; Youn et al. 2016; Biswal et al. 2018; Sana et al. 2021). Boraksın bakteriler üzerine borik asit gibi biyosidal etkisinin olduğu yapılan birkaç çalışma ile belirlenmiştir. Literatür taraması yapıldığında boraksın tek başına biyosidal etkisi belirlenen pek fazla

çalışmanın olmadığı görülmüştür. Genellikle bor nitrit, borotlu cam veya nanapartiküllü boraks şeklinde kullanımları görülmüştür. Kaya ve arkadaşlarının 2023 yılında yaptığı çalışmada %1 ile %3 boraksın hem bakteriler hem de funguslar üzerinde biyosidal etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca bu çalışmada boraksın bakterilerden ise funguslar üzerine etkisinin daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir (Kaya et al.2023). Yaptığımız tez çalışmasında kaya likenlerinden izole edilen 29 bakteri türüne karşı borik asit ve boraksın biyosidal etkisi belirlenmiştir. Tez çalışmasında mikroorganizmaların toleranslarını 0.1 M ile 2.5 M arasında değişen bor bileşikleri ile denemiştir. Ancak biyosidal etki çalışmalarında 0.1 ile 1M arasındaki konsantrasyonlar denenmiş ve 0.75 ile 1M arasında herhangi bir gelişim olmadığı görülünce tez çalışması boyunca sıvı kültürde 0.1 ve 0.5 M bor bileşikleri kullanılmıştır. Bu durumun sebebi olarak metal iyonlarına karşı katı ortamlardan ise sıvı ortamlarda maru kalma oranının daha yüksek olmasıdır (Kumar et al. 2014). Tablo 19’da görüldüğü üzere 0.1 M BA’in biyosidal etkisi tüm bakteriler için %90 oranındadır. 0.5 M BA’in biyosidal etkisi ise %99’lara çıkmıştır. Çalışmada izole edilen *Bacillus* cinsi bakterilerin çoğu 0.1 M ve 0.5 M BA’da diğer bakterilere oranla direnci daha fazladır. Bunun yansıra *Pseudomonas* cinsi bakterilerde *Bacillus* cinsi bakteriler gibi aynı dirence sahip olduğu belirlenmiştir. Her iki cins bakterinin diğer bakterilere oranla metal ya da ağır metal direnci gösterdiği bilinmekte ve bu bulgular bu savı desteklemektedir. Ayrıca katı vasatta 2.5 M’e kadar artan dozlar denenmiş ve bazı *Bacillus* cinsi bakterilerin yüksek dozlarda bile üreme sağladığı görülmüştür. Şaşırtıcı bir şekilde 2.5 M’den daha düşük dozlarda %90 oranında gelişimleri engellenmiştir. Bu sonuç doğrultusunda katı ortamda metal alınımı ile sıvı ortamda metal alınımı farklı olmalı ki bu kadar farklı sonuçlar elde edilebilsin görüşüne ulaşılmıştır. Nitekim düşük M’lardaki BA’in bakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin var olması çalışmamızın önemini daha da artırmaktadır. Çünkü; biyodeteriorasyonun engellenmesinde maliyetin ve toksik etkinin düşük olması bir avantaj sağlamaktadır. Borik asidin biyosidal etkisinin var olduğu yapılan tez çalışmasında belirlenmiştir. 0.5 M BA’nın 0.1 M BA’ya göre bakteriler üzerinde daha fazla biyosidal etkisinin var olduğu tespit edilmiştir (Tablo 19). OG3 (*Bacillus cereus*), OG13 (*Bacillus toyonensis*), OG17 (*Bacillus mojavensis*), OG18 (*Bacillus safensis*), OG20 (*Stutzerimonas stutzeri*), OG21 (*Pseudomonas fluorescens*), OG23 (*Bacillus thuringiensis*), OG24 (*Bacillus wiedmannii*) bakterilerinin her iki doz borik asite karşı dirençlerinin var olduğu görülmüştür. Ayrıca Tablo 19’da görüldüğü gibi Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere göre borik asite karşı dirençlerinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Sonuçlarımız literatür bilgileriyle örtüşmektedir. Boraksın bakteriler üzerine biyosidal etkisi belirlenmiş ve borik asit sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. 0.5 M BX’in 0.1 M BX’e karşı daha yüksek biyosidal etkisinin olduğu görülmüştür. BX’in bakteriler üzerindeki biyosidal etkisi değerlendirildiğinde; 29

türden sadece *Dermococcus nishinomiyaensis* türü 0.1 M BX'te gelişmediği belirlenmiştir. Bunun sebebi insan ve hayvanları doğal florasında bulunan bir bakteri olduğundandır. Bunun yanı sıra 28 bakteri 0.1 BX'te kontrole kıyasla az da olsa gelişim olduğu görülmüştür. 0.1 M BX'ın bakteriler üzerindeki biyosidal etkisi %80'in üzerindedir. 0.5 M BA dozu değerlendirildiğinde; tüm bakteriler üzerinde %95 oranında biyosidal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı cinse mensup bakterilerin benzer tepkiler verdiği gözlenmiştir (Tablo 22). Yine Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 22). Yaptığımız çalışmada ilk defa saf boraksın bakteriler üzerine biyosidal etkisi kanıtlanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar literatüre bu anlamda katkı sağlayacaktır.

Bor dünyada saf halde bulunmayan bir metaldir. Genellikle oksijen ya da diğer elementler ile bileşikler oluşturarak bulunur. Okyanuslarda litrede 5 mg, tatlı sularda litrede 0.5 mg bor bulunur. Borun dünya üzerinde en çok bulunan hali borik asit ve diğeri ise borakstır. Bor bitkiler, alglar ve siyanobakterilerin gelişmesi ve savunma mekanizmaları için gerekli bir iz elementtir. Özellikle siyanobakteriler bor elementini hücre membalarının yapısına katarak tuzluluk stresi ile mücadele etmede kullandıkları bilinmektedir. Bunun yanı sıra boru oluşturdıkları antimikrobiyal maddelerin yapısına katmaktadır. Yapılan bir çalışmada borik asidin *Microcystis aeruginosa* siyanobakterisinin gelişimine etkisi belirlenmiştir. Bu çalışmada 16 mg/L borik asidin bu siyanobakterinin gelişimini inhibe ettiği bulunmuştur (Zhang et al. 2021). Bu tez çalışmasında izole edilen siyanobakteriler üzerine BA'nın biyosidal etkisinin belirlenmesi için 0.1 ve 0.5 M BA besiyerleri içine konmuş 15 gün boyunca optimum şartlarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda optik yoğunlukları ölçülerek BA biyosidal etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda her iki konsantrasyondaki BA siyanobakterilerin gelişimini olumsuz etkilemiş ve kontrole kıyasla yaklaşık %88 ve %96 azaltmıştır (Tablo 20). Bulduğumuz sonuç Zhang ve arkadaşlarının 2021'de yaptığı çalışmayla örtüşmektedir. Boraksın siyanobakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin belirlenmesi üzerine herhangi bir literatür verisine ulaşılamamıştır. Ancak aril borat adı verilen bor bileşiği boraksın yapısına benzemektedir ve bu maddenin siyanobakteriler üzerindeki biyosidal etkisi belirlenmiştir. Bu çalışmada; *Arthrospira*, *Anabaena* ve *Chroococcidiopsis* cinsi siyanobakteriler üzerinde inhibisyona sebep olduğunu bulmuşlardır (Niemczyk et al. 2020). BX'ın siyanobakteriler üzerindeki biyosidal etkisinin belirlenmesi için 0.1 ve 0.5M konsantrasyon denenmiştir. Bu konsantrasyonların her ikisinde de izole edilen siyanobakteriler için biyosidal etkisi mevcuttur. Siyanobakterilerin gelişimi için 0.03 g/L yeterli olduğu bilinmektedir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında gelişimlerini sağlayan dozdan yaklaşık 15 kat yüksek olan dozda (0.1 M) gelişimleri kontrole göre %90 oranında azalmıştır. 0.5 M'da ise %100'lük bir orana ulaşmış ve herhangi bir gelişimin görülmemiştir. Ayrıca biyodeteriorasyonun önlenmesi için kullanılan

BX bu organizmalar için biyosidal etkisinin her iki dozda var olduğu belirlenmiştir (Tablo 23). Yine Tablo 23’de görüldüğü gibi izole edilen siyanobakteriler aynı tür olmasına rağmen BX’a karşı küçük farklılıklar göstermiştir. Ayrıca saf boraksın siyanobakteriler üzerindeki etkisi için ilk çalışma niteliği taşımaktadır.

Binlerce yıldır hayatımızda yer alan funguslar zorlayıcı ekolojik şartlara dayanabilen ve hayatta kalmak için çeşitli yapısal, metabolik, morfolojik ve genetiksel yapılarında değişiklik yapabilen ve dünya üzerinde hemen her yerde bulunan hetotrofik organizmalardır. Biyodegradasyon, biyosorbsiyon, biyolojik döngüleri, besleyicilik özellikleri gibi çok yararlı olmalarının yanı sıra bitki ve insanlarda hastalıkta yapabilirler. Fungusların oluşturduğu hastalıklar ile mücadelede farklı fungusitler kullanıldığı bilinmektedir (Lai et al. 2016; Estevez-Fregoso et al. 2021) Bu amaçla birçok çalışmada borik asit kullanılmış ve *Penicillium Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Choletrotichum*, *Saccharomyces*, *Fusarium* gibi funguslar üzerinde biyosidal etkisinin olduğu belirlenmiştir. 2016’da yapılan bir çalışmada % 0.5’ lik borik asitin *Penicillium expansum* küfünün spor çimlenmesini önlediği bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise %0.04’lük borik asitin *Trichophyton* fungusunun spor çimlenmesini ve biyomas gelişimini engellediği belirlenmiştir (Lai et al. 2016; Schimidth 2017). Yapılan bu çalışmada BA’in funguslar üzerindeki biyosidal etkisini belirlemek için iki farklı doz uygulanmış ve sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. İzole edilen yirmi dört fungusun tamamı 0.1 M BA’te biyokütle oluşturduğu gözlenmiştir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında tüm fungusların biyokütlesi %80 azalmıştır. OG5 (*Fusarium redolens*), OG9 (*Fusarium solanii*), OG12 (*Cladosporium limoniforme*), OG14 (*Alternaria alternata*), OG15 (*Fusarium languescens*), OG16 (*Alternaria sorghi*) ve OG19 (*Coniochaeta discospora*) kodlu funguslar hariç hiçbir fungus 0.5 M BA’te biyokütle oluşturamamıştır (Tablo 21). Elde edilen sonuçlar daha önceki çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar olduğu görülmüştür. Ancak çalışmada uygulanan dozlar diğer çalışmalardakinin kat kat fazla olmasına rağmen bazı türlerin BA’e karşı toleranslarının olduğu yargısına varılmıştır. Borik asidin funguslar üzerindeki antifungal etkisi görüldüğünden borun farklı bileşikleri olan çeşitli türleri olan boraksında antifungal etkiye sahip olacağı düşünüldüğünden birkaç çalışma yapılmıştır. Potasyum borat, sodyum borat ve ortho boratların biyosidal etkisinin olduğu belirlenmiştir. Boraksın farklı formlarının; *Colletotrichum*, *Perenniporia*, *Gloeophyllum*, *Aspergillus niger* ve *Fusarium* gibi fungusların gelişimini engellediği kaydedilmiştir (Saita et al. 2011; Li et al. 2012; Shi et al. 2012). Tez çalışmasında; BX’ın funguslar üzerindeki biyosidal etkinin belirlenmesinde 0.1 ve 0.5 MBX kullanılmıştır. Kontrole göre yaş biyomasları kıyaslanarak biyosidal etkinin varlığı belirlenmeye çalışılmıştır. 0.1 M BX’ta yirmi dört fungusun on dördü gelişmemiştir. Gelişen 15 tür ise kontrolleriyle kıyaslanınca %75 oranında biyomas azalışı

belirlenmiştir. 0.5 M BX'te fungusların tamamında herhangi bir gelişme belirlenememiştir. Bunun sebebinin suda çözünen madde miktarına bağlı olarak artan pH olduğu düşünülmüştür. Fungusların optimum 5-6 pH'larda geliştiğini göz önüne alırsak gelişmemelerinin pH ile ilgili olduğu düşüncesinin kanıtı olduğunu görebiliriz (Tablo 24). Sonuçların daha önceki çalışmalarla benzerlik gösterdiği görülmektedir (Saita et al. 2011; Li et al. 2012; Shi et al. 2012).

Kültürel miraslar listesinde yer alan tarihi taş yapılar insanların geçmişleri, kültürleri gelişmişlik düzeyleri bilgi ve becerilerinin göstergesi olmakla birlikte önemli bir turizm kaynağı oluşturarak ekonomiye önemli katkılar sağlamaktadır. Geçmişten günümüze kaleler, saraylar, hanlar hamamlar ve günümüz mimari örneklerinden olan binalar taş, granit, çimento gibi dayanıklı malzemelerden yapılmıştır. Kullanılan yapı malzemeleri genellikle güçlüdür ve bakır, nikel, kalsiyum, sodyum, magnezyum, demir ve alüminyum gibi birçok mineral içerir. Bu tarihi binalarla ilgili en büyük endişe, çevreden ve canlı organizmalardan kaynaklanan bir dizi bozucu etkiye maruz kalmaları ve dolayısıyla bozulmalarıdır. Basit bir ifadeyle bu taşlar zamanla kum ve toprağa dönüşerek doğal bir geri dönüşüm süreci olmakla birlikte kalıcı bir miras kaybına neden olmaktadır. Bu tarihi yapılar periyodik olarak yenilemeye tabi tutulsa da, çevre koşulları biyotik veya abiyotik faktörlerle hava koşullarına bağlı olarak süreç tekrar başa sarar ve kaldığı yerden bu yapıların korozyonuna devam eder. Sanayileşmenin artması ile ortama salınan amonyak, fosfat gibi bileşiklerin salınımı ile mikroorganizmaların besin maddesine ulaşmasını kolaylaştırarak deteriorasyonu hızlandırmaktadır. Bu taş yapıların üzerinde veya içlerinde yaşayan mikroorganizmalar ürettikleri kimyasallar, pigmentler gibi bileşiklerle bu yapıların estetik, fiziksel ve kimyasal yapısını bozmaktadırlar. Deteriorasyonun önlenmesinde öncelikle mekaniksel olarak mikroorganizmalar temizlenmektedir. Basınçlı su ve buharlı su kullanılarak mikroorganizmalar temizlenmektedir. Bu işlem başlangıçta mikroorganizmaları temizliyor görüngede suyun etkisiyle taşın derinliklerine mikroorganizmaların yerleşmesini sağlamaktadır. Bir diğer mekaniksel temizleme yöntemi ise fırça ve spatüller ile kazıma işlemidir. Bu yöntem uygulaması zor ve tarihi eserlerin aşınmasını kolaylaştırmaktadır. Son yıllarda ise lazer, UV, ses dalgaları ile biyodeteriorasyonu önleme çalışmaları yapılmaktadır. Biyodeteriorasyonun önlenmesinde fiziksel ve mekaniksel önleme çalışmaları yetersiz ve etkisiz kaldığından kimyasal önleme çalışmaları daha çok uygulanmaktadır (Negi and Sarethy 2019; Favero-Longo and Viles, 2020; Sanmartín et al. 2020; Romani et al. 2021; Jhahan et al. 2022).

Antibiyodeterioratif ajan olarak kullanılan kimyasallara biyosit denilmektedir ve taş yüzeylerdeki mikro ve makroorganizmaların öldürülmesinde kullanılmaktadır. Bu amaçla;

alkoller, aldehitler, organik asitler, karbonik esterler, fenoller, antibiyotikler, fungusitler ve ağır metaller gibi kimyasallar kullanılmaktadır. Biyodeteriorasyonun önlenmesinde şimdiye kadar yapılan çalışmalarda; nikel, demir, civa, gümüş, çinko, kobalt, mangan, magnezyum, titanyum gibi metaller kullanılmıştır. Kullanılan bu metaller deteriorasyona sebep olan bakteri, siyanobakteri ve fungusları öldürmüştür. Her ne kadar deteriorasyona neden olan mikroorganizmaları saydığımız metaller öldürmüşse de yağın yağmur ile toprağa ve suya ulaşır bu alanlarda birikerek insanlar başta olmak üzere diğer canlılarında hayatını tehdit etmektedir. Taş yapıların yüzeylerine uygulanırken toksik etki gösterebilirler ve uygulaması pahalıdır. Ayrıca uygulanan bu metallere karşı mikroorganizmalar direnç kazanarak varlıklarını sürdürebilir hatta eskisinden daha etkin hale gelebilirler (Coutinho et al. 2020; Vela-Cano et al. 2021; Romani et al. 2022). Daha sonraki yıllarda ağır metallerin yerine bu ağır metallerin veya diğer metallerin nanopartiküller ile biyodeteriorasyonla mücadele edilmiş etkin sonuçlarda alınmıştır. Nanopartiküllerin kullanılması pahalı ve tekrar eden bir süreç olduğundan kullanımı şartlar düşünüldüğünde uygun olamayacağı aşîkârdır (Piana 2022). Biyodeteriorasyonun önlenmesinde daha çevreci yaklaşımlar benimsenmiş ve bu amaçla bitki esansiyel yağları, ekstreleri, eksudatları, mikro ve makroorganizmaların sekonder metabolitleri gibi birçok doğal ürün kullanılmaktadır (Oliva et al. 2022; Corbu et al. 2022). Çevreci bir yaklaşım olmakla beraber bitki esansiyel yağları gibi bileşikler bitki sekonder metabolitleri, mikrobiyal sekonder metabolitler insanlar ve hayvanlar için toksik etki yaratabilir, kimyasal biyositlere göre daha çabuk bozulabilir ve eldesi ekonomik olmadığı gerçekleriyle tercih edilmemektedir. Sentetik biyositlere ve doğal biyositlere alternatif kullanımı olan, insan - hayvan ve çevre sağlığına zarar vermeyen borun bu alanda kullanımı değerlendirilebilir. Nitekim yapılan bu çalışma ile düşük konsantrasyonlarda kullanılsa bile bor bileşiklerinin kültürel zenginliğimiz olan tarihi taş yapıların korunmasında faydalı olabileceği görülmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada; Erzurum ve çevresindeki tarihi taş yapılarda biyodeteriorasyona sebep olan organizmaların özellikle liken ekosisteminde bulunan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal nitelikli borik asit ve boraks kullanılarak inhibisyonu dolayısıyla antibiyodetoratif ajan olma potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda tarihi taş yapıların etrafındaki taş yüzeylerden likenler toplanmış tür teşhisleri yapılmıştır. Daha sonra liken birlikteliğini oluşturan siyanobakteriler, funguslar ve bakteriler izole edilmiş ve tür teşhisleri yapılmıştır.

Tez çalışması boyunca liken birliklerinden izole edilen mikroorganizmalara karşı BA ve BX'ın farklı konsantrasyonlardaki biyosidal etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla 0.1

M'dan başlayarak artan dozlarda 2.5 M'a kadar BA ve BX'ın mikroorganizmalar üzerindeki ölümcül etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar ile 1 M üzerindeki dozların ölümcül olduğu görülmüş ve daha düşük dozların çalışılmasına karar verilmiştir. 0.1 -1 M arasında her iki bor bileşiğinin biyosidal etkisi belirlenmiştir. 0.75 ve 1 M 'ın bile mikroorganizmalar üstünde ölümcül etkiye sahip olduğu bulunmuştur. 0.1 M ve 0.5 M olan dozlar her iki bor bileşiği için tüm tez boyunca bütün mikroorganizma gruplarında denenmiştir.

Elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde;

- Tez çalışmamızda ülkemizde ilk defa liken ekosisteminden bakteri, siyanobakteri ve filamentöz funguslar çalışılmıştır.
- Liken birliğinden siyanobakteri ve birliği oluşturan fungus ile ekosistemin geçici veya kalıcı parçası bakteriler izolasyonu yapılmıştır.
- Siyanobakterilerin aksenikleştirilmesi ile üniversitemizde ilk defa siyanobakteri saf kültür eldesi bu çalışmada yapılmıştır.
- Siyanobakterilerin aksenikleştirme yöntemi modifiye edilerek yeni bir metot oluşturularak kullanılmıştır.
- Çalışmada izole edilen mikroorganizmaların çeşitli fizyolojik şartlara toleransları belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar ile ekstremofil olarak değerlendirilebilecek mikroorganizmalar farklı çalışmalar için kültür koleksiyonuna alınmıştır.
- Her iki bor bileşiğinin (BA ve BX) hem prokaryotlar hem de ökaryot üzerinde biyosidal etki gösterdiği tespit edilmiştir.
- Boraksın, borik asitten daha güçlü bir biyosidal etkiye sahip olduğu görülmüştür.
- Düşük dozlarda bile her iki bor bileşiğinin antideterioratif ajan olarak kullanılabileceği bulunmuştur.
- Ülkemizin değerli elementi bor için yeni kullanım alanı önerilmiştir.

Bu sonuçlardan yola çıkarak çalışmamızın temel amacı olan biyodeteriorasyona sebep olan organizmaların bor bileşikleriyle büyüme ve gelişmesini durdurarak tarihi taş yapıların uzun zamanlar bozulmadan deforme olmadan kalmasını sağlayabiliriz. Ayrıca ülkemizin ekonomisine borun yeni kullanım alanı ile katkı sağlayacağımıza ve dünyadaki biyodeteriorasyon çalışmalarına katkı sağlandığı düşünülmektedir.

Öneriler;

- Ucuz ve kolay elde edilebilir olan borik asit ve boraksın fiziksel ve mekaniksel uygulamalar ile birlikte kullanımı üzerine araştırmalar yapılabilir.

- 0.75 M ve 1M konsantrasyondaki bor bileşikleri likenlerin üzerine uygulanabilir ve likenlerin gelişim düzeyleri tespit edilebilir.
- Çalışmada kullanılan bor bileşiklerinin mikroorganizmalar üzerindeki yıkıcı etkisinin sebepleri üzerine çalışmalar yapılabilir.
- Tez çalışmasında kullanılan bor bileşikleri dışında farklı bor bileşiklerinin mikroorganizmalar üzerindeki biyosidal etkisi belirlenebilir.



KAYNAKLAR

- Abdulrasheed, M., Roslee, A. F., Zakaria, N. N., Zulkharnain, A., Lee, G. L. Y., Convey, P., Ahmad, S.A., 2020. Effects of heavy metals on diesel metabolism of psychrotolerant strains of *Arthrobacter* sp. from Antarctica. *Journal of Environmental Biology*, 41(5), 966-972.
- Aguilera, A., González-Toril, E., 2019. Eukaryotic life in extreme environments: acidophilic fungi. *Fungi in extreme environments: ecological role and biotechnological significance*, 21-38.
- Ahmadjian, V., 1967. A guide to the algae occurring as lichen symbionts: isolation, culture, cultural physiology, and identification. *Phycologia*, 6(2-3), 127-160.
- Ahmed, F.A., Arif, M., Alvarez, A.M., 2017. Antibacterial effect of potassium tetraborate tetrahydrate against soft rot disease agent *Pectobacterium carotovorum* in tomato. *Frontiers in microbiology*, (8), 1728.
- Alexander, S.A., Schiesser, C.H., 2017. Heteroorganic molecules and bacterial biofilms: Controlling biodeterioration of cultural heritage. *The Free Internet Journal for Organic Chemistry*. 180-222.
- Ali, M.F., Mansour, M., M.A., Badr, N.M., Salem, M.Z.M., 2018. A Study of Biodeterioration and Chromatic Alterations of Painted and Gilded Mummy Cartonnage at the Saqqara Museum Storeroom, Egypt. *Archaeometry*, 60(4), 845-858.
- Allsopp, D., Seal, K.J., Gaylarde, C.C., 2004. Introduction to biodeterioration. Cambridge University Press.
- Allsopp, DENNIS., 2011. Worldwide wastage: the economics of biodeterioration. *Microbiol Today*, (38), 150-153.
- Aubert, S., Juge, C., Boisson, A.M., Gout, E., Bligny, R., 2007. Metabolic processes sustaining the reviviscence of lichen *Xanthoria elegans* (Link) in high mountain environments. *Planta*, 226, 1287-1297.
- Batista-García, R. A., Sutton, T., Jackson, S. A., Tovar-Herrera, O. E., Balcázar-López, E., Sánchez-Carbente, M. D. R., ... & Folch-Mallol, J. L., 2017. Characterization of lignocellulolytic activities from fungi isolated from the deep-sea sponge *Stelletta normani*. *PLoS One*, 12(3), e0173750.
- Biller S. J., Muñoz-Marín M.d.C., Lima S., Matinha-Cardoso Jorge., Tamagnini P., Oliveira P., 2022. Isolation and Characterization of Cyanobacterial Extracellular Vesicles. *Journal of Visualized Experiments*. Page 2 -20.
- Biswas, R., Halder, U., Kabiraj, A., Mondal, A., & Bandopadhyay, R., 2021. Overview on the role of heavy metals tolerance on developing antibiotic resistance in both Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Archives of Microbiology*, 203, 2761-2770.
- Bollinger, A., Thies, S., Katzke, N., Jaeger, K. E., 2020. The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microbial biotechnology*, 13(1), 19-31.
- Bollinger, A., Thies, S., Katzke, N., Jaeger, K. E. 2020. The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microbial biotechnology*, 13(1), 19-31.
- Boniek, D., de Castro Mendes, I., Paiva, C.A.O., de Paula Lana, U.G., Dos Santos, A.F.B., de Resende Stoianoff, M.A., 2017. Ecology and identification of environmental fungi and

- metabolic processes involved in the biodeterioration of Brazilian soapstone historical monuments. *Letters in applied microbiology*, 65(5), 431-438.
- Bowange, R. W. T. M. R. T. K., Jayasinghe, M. M. P. M., Yakandawala, D. M. D., Kumara, K. L. W., Abeynayake, S. W., & Ratnayake, R. R., 2022. Morphological characterization of culturable cyanobacteria isolated from selected extreme ecosystems of Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 51(5).
- Bowange, R. W. T. M. R. T. K., Jayasinghe, M. M. P. M., Yakandawala, D. M. D., Kumara, K. L. W., Abeynayake, S. W., & Ratnayake, R. R., 2022. Morphological characterization of culturable cyanobacteria isolated from selected extreme ecosystems of Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 51(5).
- Bradwell, T., Armstrong, R. A., 2007. Growth rates of *Rhizocarpon geographicum* lichens: a review with new data from Iceland. *Journal of Quaternary Science: Published for the Quaternary Research Association*, 22(4), 311-320.
- Bruno, L., Rugnini, L., Spizzichino, V., Caneve, L., Canini, A., Ellwood, N.T.W., 2019. Biodeterioration of Roman hypogea: the case study of the Catacombs of SS. Marcellino and Pietro (Rome, Italy). *Annals of Microbiology*, 1-10.
- Cámara, B., De los Ríos, A., Urizal, M., De Buergo, M.Á., Varas, MJ., Fort, R., Ascaso, C., 2011. Characterizing the microbial colonization of a dolostone quarry: implications for stone biodeterioration and response to biocide treatments. *Microbial ecology*, 62(2), 299-313.
- Castel, J., Hourdez, S., Pradillon, F., Daguin-Thiébaud, C., Ballenghien, M., Ruault, S., ... & Jollivet, D., 2022. Inter-specific genetic exchange despite strong divergence in deep-sea hydrothermal vent gastropods of the genus *Alviniconcha*. *Genes*, 13(6), 985.
- Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D., 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera* in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and technology*, 57(3), 183-188.
- Chen L., Liu Y., Wu G., Njeri K.V., Shena Q., Zhanga N. and Zhang R., 2016. Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. *Physiologia Plantarum* 158: 34–44. doi:10.1111/ppl.12441.
- Chowdhury, N., Goswami, G., Boro, R. C., & Barooah, M., 2021. A pH-dependent gene expression enables *Bacillus amyloliquefaciens* MBNC to adapt to acid stress. *Current Microbiology*, 78(8), 3104-3114.
- Corbu V. M., Gheorghe-Barbu I., Marinas I. C. , Avramescu S. M. , Pecete I., Geana E. I. and Chifiriuc M. C., 2022. Eco-Friendly Solution Based on *Rosmarinus officinalis* Hydro-Alcoholic Extract to Prevent Biodeterioration of Cultural Heritage Objects and Buildings. *International Journal of Molecular Sciences*. 23, 11463. doi.org/10.3390/ijms231911463.
- Costa T. R. D., Harb L., Khara P., Lanying Z., Hu B. And Christie P. J. 2021. Type IV secretion systems: Advances in structure, function, and activation. *Molecular Microbiology*. 115:436–452. doi: 10.1111/mmi.14670.
- Coutinho M.L., Veiga J.P., Macedo M.F. and Miller A.Z., 2020. Testing the Feasibility of Titanium Dioxide Sol-Gel Coatings on Portuguese Glazed Tiles to Prevent Biological Colonization. *Coatings* 10(12), 1169.
- Crispim C., Gaylarde P., Gaylarde C., 2003. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. *Current Microbiology* (46), 79–82.

- Cui, J., Xie, Y., Sun, T., Chen, L., & Zhang, W., 2021. Deciphering and engineering photosynthetic cyanobacteria for heavy metal bioremediation. *Science of The Total Environment*, 761, 144111.
- Cutler, N.A., Oliver, A.E., Viles, H.A., Ahmad, S., Whiteley, A.S., 2013. The characterisation of eukaryotic microbial communities on sandstone buildings in Belfast, UK, using TRFLP and 454 pyrosequencing. *International biodeterioration & biodegradation*, (82), 124-133.
- Dakal, T.C., Cameotra, S.S., 2012. Microbially induced deterioration of architectural heritages: routes and mechanisms involved. *Environmental Sciences Europe* 24:36.
- De los Ríos, A., Pérez-Ortega, S., Wierzbos, J., Ascaso, C., 2012. Differential effects of biocide treatments on saxicolous communities: case study of the Segovia cathedral cloister (Spain). *International biodeterioration & biodegradation*, (67), 64-72.
- de Oliveira, T. B., & Rodrigues, A., 2019. Ecology of thermophilic fungi. *Fungi in extreme environments: ecological role and biotechnological significance*, 39-57.
- Di Carlo, E., Barresi, G., Palla, F., 2017. Biodeterioration. In *Biotechnology and Conservation of Cultural Heritage*. Springer, Cham. 1-30.
- Duan, Y., Wu, F., Wang, W., Gu, J.D., Li, Y., Feng, H., An, L., 2018. Differences of Microbial Community on the wall paintings preserved in situ and ex situ of the Tiantishan Grottoes, China. *International biodeterioration & biodegradation*, (132), 102-113.
- Erper, I., Yıldırım, E., Türkan, M., 2019. Antifungal Effect of Boron Compounds Against Three *Rhizoctonia solani* AG-4 Subgroups Causing Root and Crown Rot. *Gesunde Pflanzen*, 71(1), 61-71.
- Estevez-Fregoso, E., Farfán-García, E. D., García-Coronel, I. H., Martínez-Herrera, E., Alatorre, A., Scorei, R. I., & Soriano-Ursúa, M. A., 2021. Effects of boron-containing compounds in the fungal kingdom. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 65, 126714.
- EUCAST. 2019. Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 7.0.
- Falkiewicz-Dulik, M., Janda, K., Wypych, G., 2015. *Handbook of Material Biodegradation, Biodeterioration, and Biostabilization*. Elsevier.
- Fan, P., Chen, D., He, Y., Zhou, Q., Tian, Y., Gao, L., 2016. Alleviating salt stress in tomato seedlings using *Arthrobacter* and *Bacillus megaterium* isolated from the rhizosphere of wild plants grown on saline-alkaline lands. *International Journal of Phytoremediation*, 18(11), 1113-1121.
- Farfán-García, E. D., Kilic, A., García-Machorro, J., Cuevas-Galindo, M. E., Rubio-Velazquez, B. A., García-Coronel, I. H., Soriano-Ursúa, M. A., 2023. Antimicrobial (viral, bacterial, fungal, and parasitic) mechanisms of action of boron-containing compounds. In *Viral, Parasitic, Bacterial, and Fungal Infections* (pp. 733-754). Academic Press.
- Farooq, M., Hassan, M., Gull, F., 2015. Mycobial deterioration of stone monuments of Dharmarajika, Taxila *Journal of Microbiology & Experimentation*, 2.36.
- Favero-Longo S. E., Brigadeci F., Segimiro A., Voyron S., Cardinali M., Girlanda M., Piervittori R. 2018. Biocide efficacy and consolidant effect on the mycoflora of historical stuccos in indoor environment. *Journal of Cultural Heritage* 34 33–42.
- Favero-Longo, S.E., Benesperi, R., Bertuzzi, S., Bianchi, E., Buffa, G., Giordani, P., Ravera, S., 2017. Species- and site-specific efficacy of commercial biocides and application

- solvents against lichens. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 123, 127-137.
- Favero-Longo, SE., Viles, HA., 2020. A review of the nature, role and control of lithobionts on stone cultural heritage: Weighing-up and managing biodeterioration and bioprotection. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(7), 1-18.
- Fink K. and Uchman M., 2021. Boron cluster compounds as new chemical leads for antimicrobial therapy. Vol 431, 213684.
- G Sangu, K., U Shinde, A., Chopra, S., B Rode, H., 2021. Evading antimicrobial resistance using boron-containing therapeutics. *Future Medicinal Chemistry*, 13(03), 229-232.
- Gao W.H, Chen KF., Yang R.D., Yang F. And Han W.J., 2011. Properties of bacterial cellulose and its influence on the physical properties of paper .*Bio resources*. 6(1), 144-153.
- Georges des Aulnois, M., Roux, P., Caruana, A., Réveillon, D., Briand, E., Hervé, F., ... & Amzil, Z., 2019. Physiological and metabolic responses of freshwater and brackish-water strains of *Microcystis aeruginosa* acclimated to a salinity gradient: Insight into salt tolerance. *Applied and environmental microbiology*, 85(21), e01614-19.
- Goffredo, G.B., Accoroni, S., Totti, C., Romagnoli, T., Valentini, L., Munafo, P., 2017. Titanium dioxide based nanotreatments to inhibit microalgal fouling on building stone surfaces. *Building and Environment*, (112), 209-222.
- Goga M., Ručová D., Kolarčík V., Sabovljević M., Bačkor M., Lang I., 2018. Usnic acid, as a biotic factor, changes the ploidy level in mosses. *Ecology and Evolution*. 8:2781–2787. DOI: 10.1002/ece3.3908.
- Grossmann L., Hinrichs J., Weiss J., 2020. Cultivation and downstream processing of microalgae and cyanobacteria to generate protein-based technofunctional food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol 60, 2961-2989.
- Grube, M., Baloch, E., & Ulf, A. R. U. P. (2004). A phylogenetic study of the *Lecanora rupicola* group (Lecanoraceae, Ascomycota). *Mycological Research*, 108(5), 506-514.
- Guerra, FL., Lopes, W., Cazarolli, JC., Lobato, M., Masuero, AB., Dal Molin, DC., Vainstein, MH., 2019. Biodeterioration of mortar coating in historical buildings: Microclimatic characterization, material, and fungal community. *Building and Environment*, 155, 195-209.
- Guo, L.D., Huang, G.R., Wang, Y., He, W.H., Zheng, W.H., Hyde, K.D., 2003. Molecular identification of white morphotype strains of endophytic fungi from *Pinus tabulaeformis*. *Mycological Research*, (107), 680-68.
- Guzow-Krzemińska, B., Stocker-Woergoetter, E., 2013. In vitro culturing and resynthesis of the mycobiont *Protopermatelia muralis* with algal bionts. *The Lichenologist*, 45(1), 65-76.
- Gündüz, M. K., Bolat, M., Kaymak, G., Berikten, D., Köse, D. A., 2022. Therapeutic effects of newly synthesized boron compounds (BGM and BGD) on hepatocellular carcinoma. *Biological Trace Element Research*, 200, 134-146.
- Gür, D., 2016. Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, Cilt/Volume 46.
- Harley, JP., Prescott, LM., 1996. Laboratory exercises in microbiology.
- Hassan, A. H., Alkhalifah, D. H. M., Al Yousef, S. A., Beemster, G. T., Mousa, A. S., Hozzein, W. N., & AbdElgawad, H., 2020. Salinity stress enhances the antioxidant capacity of

- Bacillus and Planococcus species isolated from saline lake environment. *Frontiers in microbiology*, 11, 561816.
- Hassanzadeh E., Zarghami M., Hassanzadeh Y., 2012. Determining the Main Factors in Declining the Urmia Lake Level by Using System Dynamics Modeling. *Water Resour Manage*. 26:129–145 doi:10.1007/s11269-011-9909-8
- Hernandez-Patlan, D., Solis-Cruz, B., Adhikari, B., Pontin, K. P., Latorre, J. D., Baxter, M. F., Tellez-Isaias, G., 2019. Evaluation of the antimicrobial and intestinal integrity properties of boric acid in broiler chickens infected with *Salmonella enteritidis*: Proof of concept. *Research in veterinary science*, 123, 7-13.
- Isleten-Hosoglu M., Ayyıldız-Tamis D., Zengin G., Elibol M., 2013. Enhanced growth and lipid accumulation by a new *Ettlia texensis* isolate under optimized photoheterotrophic condition. *Bioresource Technology*. Vol 131, 258-265.
- Iyigundogdu, Z., Saribas, I., 2022. The effect of various boron compounds on the antimicrobial activity of hardened mortars. *Construction and Building Materials*, 351, 128958.
- İlhan, Z., Ekin, İ. H., Gülaydın, Ö., 2019. Antimicrobial Activity of Boric Acid Solution Against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Van Veterinary Journal*, 30(3).
- Kakakhel, M.A., Wu, F., Gu, J.D., Feng, H., Shah, K., Wang, W., 2019. Controlling biodeterioration of cultural heritage objects with biocides: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 143, 104721.
- Khamova, T.V., Shilova, O.A., Vlasov, D.Y., Ryabusheva, Y.V., Mikhal'chuk, V.M., Ivanov, V.K., Dolmatov, V.Y., 2012. Bioactive coatings based on nanodiamond-modified epoxy siloxane sols for stone materials. *Inorganic Materials*, 48(7), 702-708.
- Khan, N. F., Zehra, U., Reshi, Z. A., Shah, M. A., Baba, T. R., 2023. Seasonal Dynamics of Bacterial and Fungal Lineages in Extreme Environments. In *Climate Change and Microbial Diversity* (pp. 63-107). Apple Academic Press.
- Khan, N. F., Zehra, U., Reshi, Z. A., Shah, M. A., Baba, T. R., 2023. Seasonal Dynamics of Bacterial and Fungal Lineages in Extreme Environments. In *Climate Change and Microbial Diversity* (pp. 63-107). Apple Academic Press.
- Khodosovtsev A., Darmostuk V., Prylutskyi O. And Kuzemko A., 2022. Silicicolous lichen communities of the Ukrainian Crystalline Shield. *Applied Vegetation Science*. doi.org/10.1111/avsc.12699.
- Kidron, G. J., Kronenfeld, R., 2022. Dew and fog as possible evolutionary drivers? The expansion of crustose and fruticose lichens in the Negev is respectively mainly dictated by dew and fog. *Planta*, 255(2), 32.
- Kim, S.W., Jung, J.H., Lamsal, K., Kim, Y.S., Min, J.S., Lee, Y.S., 2012. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40(1), 53-58.
- Koutsoumanis K.P, Stamatiou A.P., Drosinos E.H. and Nychas G.J.E., 2008. Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat microflora. *Food Microbiology* 25,915– 921.
- Kumar, R., Singh, P., Dhir, B., Sharma, A. K., Mehta, D., 2014. Potential of some fungal and bacterial species in bioremediation of heavy metals. *Journal of Nuclear Physics, Material Sciences, Radiation and Applications*, 1(2), 213-223.

- Kumari, N., Pandey, A., Gupta, A., Mishra, S., & Sinha, R. P., 2023. Characterization of UV-screening pigment scytonemin from cyanobacteria inhabiting diverse habitats of Varanasi, India. *Biologia*, 78(2), 319-330.
- Kuvarina, A. E., Rogozhin, E. A., Sykonnikov, M. A., Timofeeva, A. V., Serebryakova, M. V., Fedorova, N. V., Sadykova, V. S., 2022. Isolation and Characterization of a Novel Hydrophobin, Sa-HFB1, with Antifungal Activity from an Alkaliphilic Fungus, *Sodiomyces alkalinus*. *Journal of Fungi*, 8(7), 659.
- Küçükaya A.G., 2014. Yapı Taşlarının Restorasyonu (restoration of building stones). Özlem Printing Press, İstanbul
- Lavin, P., de Saravia, S.G., Guiamet, P., 2016. Scopulariopsis sp. and Fusarium sp. in the documentary heritage: evaluation of their biodeterioration ability and antifungal effect of two essential oils. *Microbial ecology*, 71(3), 628-633.
- Layden T.J., Kremer C.T., Brubaker D.L., Kolk, M. A., Trout-Haney J. V., Vasseur, D. A. and Fey S. B., 2021. Thermal acclimation influences the growth and toxin production of freshwater cyanobacteria. *Limnology and Oceanography*. doi: 10.1002/lol2.10197. 34,42.
- Leavitt, S. D., Fankhauser, J. D., Leavitt, D. H., Porter, L. D., Johnson, L. A., & Clair, L.L.S., 2011. Complex patterns of speciation in cosmopolitan “rock posy” lichens—Discovering and delimiting cryptic fungal species in the lichen-forming *Rhizoplaca melanophthalma* species-complex (Lecanoraceae, Ascomycota). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59(3), 587-602.
- Li W.L., Chen X., Jian T., Chen T.T., Li J. And Wang L.S., 2017. From planar boron clusters to borophenes and metalloborophenes . *Nature Reviews Chemistry*. 1,0071.
- Li, Y., Yang, Z., Bi, Y., Zhang, J., & Wang, D., 2012. Antifungal effect of borates against *Fusarium sulphureum* on potato tubers and its possible mechanisms of action. *Postharvest biology and technology*, 74, 55-61.
- Liang, Y., Chen, J. Q., Mei, J., Chang, J. J., Wang, Q. Y., Wan, G. S., & Yin, B. Y., 2019. Characterization of Cu and Cd biosorption by *Pseudomonas* sp. strain DC-B3 isolated from metal mine soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 4035-4046.
- Lin, Y., Xiao, W., Ye, Y., Wu, C., Hu, Y., & Shi, H., 2020. Adaptation of soil fungi to heavy metal contamination in paddy fields—a case study in eastern China. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 27819-27830.
- Liu X., Qian Y., Wu F., Wang Y., Wang W. and Gu J.D. 2022. Biofilms on stone monuments: biodeterioration or bioprotection?. *Trends in Microbiology* Vol 30, 816-819.
- Liu, G. H., Narsing Rao, M. P., Dong, Z. Y., Wang, J. P., Chen, Z., Liu, B., & Li, W.J., 2019. Two novel alkaliphiles, *Bacillus alkalisoli* sp. nov., and *Bacillus solitudinis* sp. nov., isolated from saline-alkali soil. *Extremophiles*, 23, 759-764.
- Liu, X., Meng, H., Wang, Y., Katayama, Y., Gu, J.D., 2018. Water is a critical factor in evaluating and assessing microbial colonization and destruction of Angkor sandstone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 9-16.
- Liu, Z., Fu, T., Hu, C., Shen, D., Macchioni, N., Sozzi, L., Feng, Z., 2018. Microbial community analysis and biodeterioration of waterlogged archaeological wood from the Nanhai No. 1 shipwreck during storage. *Scientific reports*, 8(1), 7170.

- Lombardozi, V., Castrignanò, T., D'antonio, M., Municchia, A. C., Caneva, G., 2012. An interactive database for an ecological analysis of stone biopitting. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 73, 8-15.
- Lücking R., Leavitt S. D., Hawksworth D. L. 2021. Species in lichen forming fungi: balancing between conceptual and practical considerations, and between phenotype and phylogenomics. *Fungal Diversity* 109:99–154.
- Macchia, A., Strangis, R., De Angelis, S., Cersosimo, M., Docci, A., Ricca, M., La Russa, M. F., 2022. Deep Eutectic Solvents (DESS): Preliminary Results for Their Use Such as Biocides in the Building Cultural Heritage. *Materials*, 15(11), 4005.
- Macedo, M.F., Miller, A.Z., Dionísio, M.A., Saiz-Jimenez, C., 2009. Biodiversity of cyanobacteria and green algae on monuments in the Mediterranean Basin: an overview. *Society for General Microbiology*.
- Mark K., Laanisto L., Bueno C. G. , Niinemets U., Keller C. And Scheidegger C., 2020. Contrasting co-occurrence patterns of photobiont and cystobasidiomycete yeast associated with common epiphytic lichen species. *New Phytologist*(2020)227:1362–1375 doi:10.1111/nph.16475.
- Mascalchi, M., Osticioli, I., Riminesi, C., Cuzman, OA., Salvadori, B., Siano, S., 2015. Preliminary investigation of combined laser and microwave treatment for stone biodeterioration. *Studies in Conservation*, 60(sup1), S19-S27.
- Matteucci, E., Scarcella, A.V., Croveri, P., Marengo, A., Borghi, A., Benelli, C., Favero-Longo, S.E., 2019. Lichens and other lithobionts on the carbonate rock surfaces of the heritage site of the tomb of Lazarus (Palestinian territories): diversity, biodeterioration, and control issues in a semi-arid environment. *Annals of Microbiology*, 1-14.
- Mazzoli, R., Giuffrida, M.G., Pessione, E., 2018. Back to the past: “find the guilty bug—microorganisms involved in the biodeterioration of archeological and historical artifacts”. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(15), 6393-6407.
- Meng, H., Katayama, Y., Gu, J.D., 2017. More wide occurrence and dominance of ammonia-oxidizing archaea than bacteria at three Angkor sandstone temples of Bayon, Phnom Krom and Wat Athvea in Cambodia. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 117, 78-88.
- Miller, A.Z., Sanmartín, P., Pereira-Pardo, L., Dionísio, A., Sáiz-Jiménez, C., Macedo, M.F., Prieto, B., 2012. Bioreceptivity of building stones: a review. *Science of the total environment*, 426, 1-12.
- Mohanty, B., Majedi, S.M., Pavagadhi, S., Te, S. H., Boo, C.Y., Gin, K. Y. H., Swarup, S., 2022. Effects of Light and Temperature on the Metabolic Profiling of Two Habitat-Dependent Bloom-Forming Cyanobacteria. *Metabolites*, 12(5), 406.
- Motti, R., and Bonanomi, G., 2018. Vascular plant colonisation of four castles in southern Italy: Effects of substrate bioreceptivity, local environment factors and current management. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 26-33.
- Motti, R., Bonanomi, G., Stinca, A., 2020. Deteriogenic flora of the Phlegraean Fields Archaeological Park: ecological analysis and management guidelines. *Nordic Journal of Botany*, 38(5).
- Muggia, L., Fleischhacker, A., Kopun, T., Grube, M., 2016. Extremotolerant fungi from alpine rock lichens and their phylogenetic relationships. *Fungal Diversity*, 76, 119.

- Muggia, L., Quan, Y., Gueidan, C., Al-Hatmi, A. M., Grube, M., & de Hoog, S., 2021. Sequence data from isolated lichen-associated melanized fungi enhance delimitation of two new lineages within Chaetothyriomycetidae. *Mycological Progress*, 20, 911-927.
- Municchia, A.C., Bartoli, F., Taniguchi, Y., Giordani, P., Caneva, G., 2018. Evaluation of the biodeterioration activity of lichens in the Cave Church of Üzümlü (Cappadocia, Turkey). *International biodeterioration & biodegradation*, 127, 160-169.
- Nanda, M., Kumar, V., Sharma, D. K., 2019. Multimetal tolerance mechanisms in bacteria: The resistance strategies acquired by bacteria that can be exploited to 'clean-up' heavy metal contaminants from water. *Aquatic toxicology*, 212, 1-10.
- Nash T.H., 2008. Nitrogen, its metabolism and potential contribution to ecosystems. *Lichen Biology*. 216-233. doi.org/10.1017/CBO9780511790478.012.
- Negi, A., Sarethy, I. P., 2019. Microbial Biodeterioration of Cultural Heritage: Events, Colonization, and Analyses. *Microbial ecology*, 1-16.
- Nielsen F.H. 2018. Boron in Aging and Longevity. *Trace Elements and Minerals in Health and Longevity*. pp 163–177.
- Nikitin, D.A. 2023.. Ecological characteristics of Antarctic fungi. In *Doklady Biological Sciences* (Vol. 508, No. 1, pp. 32-54). Moscow: Pleiades Publishing.
- Nuhoglu, Y., Oguz, E., Uslu, H., Ozbek, A., Ipekoglu, B., Ocak, I., Hasenekoglu, I., 2006. The accelerating effects of the microorganisms on biodeterioration of stone monuments under air pollution and continental-cold climatic conditions in Erzurum, Turkey. *Science of the Total Environment*, (364), 272–283.
- Nural Yaman, B., Deniz Sonmez, G., Aytar Celik, P., Korkmaz, F., Mutlu, M. B., & Cabuk, A., 2019. Culture-dependent diversity of boron-tolerant bacteria from boron mine tailings pond and solid wastes. *Water and Environment Journal*, 33(4), 574-581.
- Ortega-Morales, O., Montero-Muñoz, J. L., Neto, J.A.B., Beech, I.B., Sunner, J., Gaylarde, C., 2019. Deterioration and microbial colonization of cultural heritage stone buildings in polluted and unpolluted tropical and subtropical climates: A meta-analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 143, 104734.
- Owe-Larsson, B., Nordin, A., Tibell, L., Sohrabi, M., 2011. *Circinaria arida* sp. nova and the 'Aspicilia desertorum' complex. *Bibliotheca Lichenologica*, 106, 235-246.
- Ozturk, S., Aslim, B., 2010. Modification of exopolysaccharide composition and production by three cyanobacterial isolates under salt stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 17, 595-602.
- Özyiğitoğlu G., 2020. Use of Lichens in Biological Monitoring of Air Quality. *Environmental Concerns and Sustainable Development*. DOI: 10.1007/978-981-13-5889-0_3.
- Padisak, J., Naselli-Flores, L., 2021. Phytoplankton in extreme environments: importance and consequences of habitat permanency. *Hydrobiologia*, 848(1), 157-176.
- Pan, Y., Zheng, H., Li, G., Li, Y., Jiang, J., Chen, J., Li, R., 2022. Antibiotic-Like Activity of Atomic Layer Boron Nitride for Combating Resistant Bacteria. *ACS nano*, 16(5), 7674-7688.
- Patrick Di Martino., 2016. . Biodeterioration of Stone Monuments. *The Open Conference Proceedings Journal*, 7 (Suppl 1: M1), pp.12-13.
- Paun, V. I., Lavin, P., Chifiriuc, M. C., & Purcarea, C., 2021. First report on antibiotic resistance and antimicrobial activity of bacterial isolates from 13,000-year old cave ice core. *Scientific Reports*, 11(1), 1-15.

- Penhallurick, R. W., Durnal, M. D., Harold, A., & Ichiye, T., 2021. Adaptations for Pressure and Temperature in Dihydrofolate Reductases. *Microorganisms*, 9(8), 1706.
- Pfendler, S., Borderie, F., Boust, F., Alaoui-Sosse, L., Alaoui-Sosse, B., Aleya, L., 2018. Comparison of biocides, allelopathic substances and UV-C as treatments for biofilm proliferation on heritage monuments. *Journal of Cultural Heritage*, 33, 117-124.
- Pinheiro, A.C., Mesquita, N., Trovão, J., Soares, F., Tiago, I., Coelho, C., Portugal, A., 2018. Limestone biodeterioration: A review on the Portuguese cultural heritage scenario. *Journal of Cultural Heritage*.
- Pointer, Benjamin R., Michael P. Boyer, and Martin Schmidt., 2015. "Boric acid destabilizes the hyphal cytoskeleton and inhibits invasive growth of *Candida albicans*." *Yeast* 32.4 (2015): 389-398.
- Qaiyyum I. A., Rahmani S., Qaiyyum S. A., Kalam M. A., 2023. Therapeutic application of Tankar (Borax) According to Unani system of Medicine: A Review. *International Journal of Novel Research and Development*. Vol 8, 2456-4184.
- Qin, G., Zong, Y., Chen, Q., Hua, D., Tian, S., 2010. Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of action. *International Journal of Food Microbiology*, 138(1-2), 145-150.
- Rafferty R., Robinson V. H., Harris J., Argyle S. A. and Nuttall T. J., 2019. A pilot study of the in vitro antimicrobial activity and in vivo residual activity of chlorhexidine and acetic acid/boric acid impregnated cleansing wipes. *BMC Veterinary Research*. 15:382.
- Rai A..K., Abraham G., 1993. Salinity tolerance and growth analysis of the cyanobacterium *Anabaena doliolum*. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*. 51:724-731
- Raja C.E. And Omine K., 2013. Characterization of boron tolerant bacteria isolated from a fly ash dumping site for bacterial boron remediation. *Environmental Geochemistry And Health*. 35, 431–438.
- Ranković, B., Mišić, M., Sukdolak, S., Milosavljević, D., 2007. Antimicrobial activity of the lichens *Aspicilia cinerea*, *Collema cristatum*, *Ochrolechia androgyna*, *Physcia aipolia* and *Physcia caesia*. *Italian journal of food science*, 19(4).
- Rees P.A., 2021. Protoctists, monerans, fungi, lichens and acellular organisms. *Authors Info And Affiliations*. 33,49.
- Ríos A. de los., Pérez-Ortega S., Wierchos J., Ascaso C., 2012. Differential effects of biocide treatments on saxicolous communities: Case study of the Segovia cathedral cloister (Spain). *International Biodeterioration & Biodegradation* 67, 64-72.
- Rivas, T., Pozo-Antonio, J.S., de Silanes, M.L., Ramil, A., López, A.J., 2018. Laser versus scalpel cleaning of crustose lichens on granite. *Applied Surface Science*, (440), 467-476.
- Rizvi, A., Ahmed, B., Zaidi, A., Khan, M.S., 2020. Biosorption of heavy metals by dry biomass of metal tolerant bacterial biosorbents: an efficient metal clean-up strategy. *Environmental monitoring and assessment*, 192, 1-21.
- Romani M., Warscheid T., Nicole L., Marcon L., Martino P. D., Suzuki M. T., Lebaron P., Lami R. 2022. Current and future chemical treatments to fight biodeterioration of outdoor building materials and associated biofilms: Moving away from ecotoxic and towards efficient, sustainable solutions. *Science of The Total Environment*. doi.org/10.1016/j.scitotenv. Vol 802, 149846.

- Saita, K., Nagaoka, S., Shirosaki, T., Horikawa, M., Matsuda, S., Ihara, H., 2012. Preparation and characterization of dispersible chitosan particles with borate crosslinking and their antimicrobial and antifungal activity. *Carbohydrate research*, 349, 52-58.
- Salvadori, O., Municchia, A.C., 2016. The role of fungi and lichens in the biodeterioration of stone monuments. In *The Open Conference Proceedings Journal* (Vol. 7, No. 1).
- Samreen T., Zahir Z..A., Naveed M. and Asghar M., 2019. Boron Tolerant Phosphorus Solubilizing *Bacillus* spp. MN-54 Improved Canola Growth in Alkaline Calcareous Soils. *International Journal Of Agriculture & Biology*. 21: 538–546.
- Samreen, T., Zahir, Z. A., Naveed, M., Asghar, M., 2019. Boron tolerant phosphorus solubilizing *Bacillus* spp. MN-54 improved canola growth in alkaline calcareous soils. *Int J Agric Biol*, 21(3), 538-546.
- Sayin, Z., Ucan, U.S., Sakmanoglu, A., 2016. Antibacterial and antibiofilm effects of boron on different bacteria. *Biological trace element research*, 173(1), 241-246.
- Schmidt, M., 2017. Boric acid inhibition of *Trichophyton rubrum* growth and conidia formation. *Biological trace element research*, 180(2), 349-354.
- Seaward M.R.D., 2015. Lichens as agents of biodeterioration. *Recent Advances in Lichenology*. DOI: 10.1007/978-81-322-2181-4_9.
- Seaward, P. (2003). *The Cavalier Parliament and the reconstruction of the old regime, 1661-1667*. Cambridge University Press.
- Sen, S., Mondal, N., Ghosh, W., Chakraborty, R., 2022. Inducible boron resistance via active efflux in *Lysinibacillus* and *Enterococcus* isolates from boron-contaminated agricultural soil. *Biometals*, 1-14.
- Shi, X., Li, B., Qin, G., & Tian, S., 2012. Mechanism of antifungal action of borate against *Colletotrichum gloeosporioides* related to mitochondrial degradation in spores. *Postharvest Biology and Technology*, 67, 138-143.
- Shilova, A.V., Maksimov, A.Y., Maksimova, Y. G., 2021. Isolation and Identification of Alkalitolerant Bacteria with Hydrolytic Activity from a Soda Sludge Storage. *Microbiology*, 90, 166-175.
- Siliakus, M. F., van der Oost, J., & Kengen, S. W., 2017. Adaptations of archaeal and bacterial membranes to variations in temperature, pH and pressure. *Extremophiles*, 21, 651-670.
- Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Prasad, S. M., 2017. Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: current status and future prospects. *Frontiers in microbiology*, 8, 515.
- Skipper P.A. 1., Skipper L. K. And Dixon R., 2022. A metagenomic analysis of the bacterial microbiome of limestone, and the role of associated biofilms in the biodeterioration of heritage stone surfaces. *Scientific Reports*. 12:4877. doi.org/10.1038/s41598-022-08851-4.
- Spribile T., Resl P., Ahti T., Pérez-Ortega S., Tønsberg T., Mayrhofer H. and Lumbsch H.T., 2016. Molecular systematics of the wood-inhabiting, lichen-forming genus *Xylographa* (Baeomycetales, Ostropomycetidae) with eight new species. *Symbolae Botanicae Upsalienses*. 37(1): 1–87.
- Sterflinger, K., Little, B., Pinar, G., Pinzari, F., de los Rios, A., Gu, J.D., 2018. Future directions and challenges in biodeterioration research on historic materials and cultural properties. *International Biodeterioration & Biodegradation*, (129), 10-12.

- Stocker-Wörgötter, E., 2008. Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Natural product reports*, 25(1), 188-200.
- Tadama S. And Shiraishi H., 2016. Growth of the edible microalga *Arthrospira platensis* in relation to boron supply. *International Journal of Geomate*. Vol. 12, 90-95.
- Taştan B. E., Çakir D.N. and Dönmez G. 2016. A new and effective approach to boron removal by using novel boron-specific fungi isolated from boron mining wastewater. *Water Science and Technology*. 73 (3): 543–549.
- Temel H., Atlan M., Türkmenoğlu B., Ertas A., Erdonmez D. and Koca Çalışkan U. 2023. In silico and biological activity evaluation of quercetin-boron hybrid compounds, anti-quorum sensing effect as alternative potential against microbial resistance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. Volume 77, 127139.
- Temraleeva A.D., Dronova S.A., Moskalenko S.V. and Didovich S. V. 2016. Modern Methods for Isolation, Purification, and Cultivation of Soil Cyanobacteria. *Microbiology* Vol. 85 , 389–399. Doi: 10.1134/S0026261716040159.
- Thakur M., Shrikhandia SP P. and Kumar V., 2022. A Lichens-Mediated Mechanism for Environmental Biodeterioration. *Air, Soil and Water Research* Vol 15: 1–10. doi/10.1177/11786221221131004.
- Touchette, D., 2020. Metabolic activity assessment of polar microorganisms and metabolic characterization of the cold-adapted *Rhodotorula* yeast JG1b. McGill University (Canada).
- Touloupakis, E., Tartari, G., Zittelli, G.C., Torzillo, G., 2019. Growth and photosynthetic performance of *Chlamydomodium fusiforme* cells cultivated in BG 11 and Bristol media. *Journal of Applied Phycology*, 1-8.
- Tripathi, B. M., Stegen, J. C., Kim, M., Dong, K., Adams, J. M., Lee, Y. K., 2018. Soil pH mediates the balance between stochastic and deterministic assembly of bacteria. *The ISME journal*, 12(4), 1072-1083.
- Uluişik, İ., Karakaya, H.C ve Koç, A., 2018. Borun biyolojik sistemlerdeki önemi. *Tıp ve Biyolojide Eser Elementler Dergisi* , 45 , 156-162.
- Urbanek, A. K., Rymowicz, W., & Mirończuk, A. M., 2018. Degradation of plastics and plastic-degrading bacteria in cold marine habitats. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 7669-7678.
- Vannini, A., Contardo, T., Paoli, L., Scattoni, M., Favero-Longo, S.E., Loppi, S., 2018. Application of commercial biocides to lichens: Does a physiological recovery occur over time?. *International Biodeterioration & Biodegradation*, (129), 189-192.
- Verma, S., Kumar, R., Kumar, P., Sharma, D., Gahlot, H., Sharma, P. K., & Meghwanshi, G. K., 2020. Cloning, characterization, and structural modeling of an extremophilic bacterial lipase isolated from saline habitats of the Thar desert. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 192, 557-572.
- Villarino M., Etxebeste O., Mendizabal G., Garzia A., Ugalde U. and Espeso E. A. 2017. Boron Tolerance in *Aspergillus nidulans* Is Sustained by the SltA Pathway Through the SLC-Family Transporters SbtA and SbtB. *Genes*. 8, 188; doi:10.3390
- Vinayaka, K.S., Krishnamurthy, Y.L., Banakar, S., Kekuda, T.P., 2016. Association and variation of endophytic fungi among some macrolichens in central Western Ghats, Southern India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, (5), 115-124.

- Wang J.I.J., Yamoah M.A., Li Q., Karamlou A.H., Dinh T., Kannan B., Braumüller J., Kim D., Melville A. J., Muschinske S.E., Niedzielski B. M., Serniak K., Sung Y., Winik R., Yoder J. L., Schwartz M. E., Watanabe K. , Taniguchi T., Orlando T. P., Gustavsson S., Jarillo-Herrero P. and Oliver W. D., 2022. Hexagonal boron nitride as a low-loss dielectric for superconducting quantum circuits and qubits. *Nature Materials*. 21, 398–403.
- Wu M-H., Chena S-Y., Chend J-W., Xueb K., Chene S-L., Wanga X-M., Chena T., Kanga S-C., Ruif J-P., Thiesg J. E., Bardgeth R. D., and Wang Y-F.2021. Reduced microbial stability in the active layer is associated with carbon loss under alpine permafrost degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 118 (25) e2025321118 <https://doi.org/10.1073/pnas.2025321118>.
- Yadav, A. N., Verma, P., Kumar, V., Sachan, S. G., & Saxena, A. K., 2017. Extreme cold environments: a suitable niche for selection of novel psychrotrophic microbes for biotechnological applications. *Adv Biotechnol Microbiol*, 2(2), 1-4.
- Yamamoto, Y., Kinoshita, Y., Yoshimura I. 2002. Culture of thallus fragments and redifferentiation of lichens. *Protocols in Lichenology*. doi: 10.1007/978-3-642-56359-1_2. 34–46.
- Yang, Q., Cheng, X., Tingting, Z., Liu, X. and Wei, X., 2022. Five New Species of the Lichen-Forming Fungal Genus *Peltula* from China. *Journal of Fungi*. 8, 134. doi.org/10.3390/jof8020134.
- Yilmaz, M. T., 2012. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against se on compounds against several bacterial str al bacterial strains. *Turkish Journal of Medical Sciences*. 42 (Sup.2): 1423-1429. doi:10.3906/sag-1205-83.
- Yik, L. Y., Chin, G. J. W. L., Budiman, C., Joseph, C. G., Musta, B., & Rodrigues, K. F., 2018. Adaptive strategies of *Bacillus thuringiensis* isolated from acid mine drainage site in Sabah, Malaysia. *Indian journal of microbiology*, 58, 165-173.
- Yoshimura, I., Yamamoto, Y., Nakano, T., Finnie, J., 2002. Isolation and culture of lichen photobionts and mycobionts. In *Protocols in lichenology* (pp. 3-33). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Zhang, J., Han, Z., Teng, B., Chen, W., 2017. Biodeterioration process of chromium tanned leather with *Penicillium* sp. *International biodeterioration & biodegradation*, 116, 104-111.
- Zhang, R., Dong, P., Sun, H., & Liu, C., 2021. Combined stresses of boron and salinity on growth of two freshwater algal species. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 107, 147-153.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Özlem GÜLMEZ
Uyruğu:	
Adres:	
E-mail:	
Eğitim	
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı (2017)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi